

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского
Уральского отделения Российской академии наук

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого
Президента России Б.Н. Ельцина»

На правах рукописи

АРТЕМЬЕВ Григорий Андреевич

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА СУБСТАНЦИИ
ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА «ТРИАЗАВИРИН»

05.17.04 – Технология органических веществ

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель – доктор
химических наук, доцент
Уломский Евгений Нарциссович

Екатеринбург – 2017

Оглавление

<i>1 Литературный обзор</i>	8
1.1 “Триазавирин” – новый перспективный противовирусный препарат широкого спектра действия	8
1.1.1 Актуальность создания эффективных противовирусных препаратов	8
1.1.2 Общая характеристика современных противовирусных препаратов	9
1.1.3. Биологические исследования Триазавирина.....	12
1.2 Возможные пути получения субстанции препарата Триазавирин	23
1.2.1 Методы получения 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-онов	24
1.2.2 Получение 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазинов	35
1.2.3 Выводы на основе анализа литературных данных	37
<i>2 Разработка технологии получения субстанции препарата «Триазавирин»</i>	39
2.1 Разработка и оптимизация метода синтеза 3-метилтио-5-амино-1,2,4-триазола ...	39
2.1.1 Синтетические подходы к 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазолу	39
2.1.2 Оптимизация синтеза 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола.....	42
2.1.3 Оптимизация синтеза 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола.....	47
2.2 Оптимизация стадии диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола.....	55
2.2.1 Промышленное использование реакции диазотирования.....	55
2.2.2 Оптимизация диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола	57
2.2.3 Определение теплофизических характеристик процесса диазотирования 5-амино-1,2,4-триазола	59
2.2.4 Контроль протекания диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола с помощью физических методов.....	62
2.3 Оптимизация стадии азосочетания и циклизации	71
2.3.1 Обоснование выбора нитросинтона	71
2.3.2 Выбор оптимальных условий проведения реакции 5-диазо-3-метилтио-1,2,4-триазола с нитроуксусным эфиром	76
2.3.3 Определение теплофизических характеристик реакции 3-метилтио-5-диазо-1,2,4-триазола с нитроуксусным эфиром	78
2.3.4 Фильтрация осадка Триазавирина технического качества	82
2.3.5 Очистка технического Триазавирина	82
2.3.6 Очистка Триазавирина до фармакопейной чистоты.....	84
2.3.7 Анализ гранулометрического состава образующегося в ходе перекристаллизации осадка	85

3 Исходные вещества, методики эксперимента и анализа полученных соединений	88
3.1 Исходное сырье для получения субстанции препарата Триазавирин.....	88
3.2 Аппаратурная схема получения препарата Триазавирин фармакопейного качества	88
3.2.1 Процедура получения и очистки 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола	91
3.2.2 Контроль качества 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола.....	92
3.2.3 Процедура получения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола.....	96
3.2.4 Контроль качества полученного 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола.....	98
3.2.5 Процедура получения препарата «Триазавирин»	105
3.2.6 Определение показателей качества субстанции препарата Триазавирин	111
3.3 Технологическая схема производства препарата Триазавирин	121
4 Безопасность производства.....	126
4.1 Анализ исходного сырья с точки зрения безопасности производства.....	126
4.2 Анализ отходов производства с точки зрения безопасности	129
4.3 Пожаровзрывоопасные свойства сырья, полупродуктов и основного продукта	133
4.4 Категорирование помещений по классам пожаровзрывоопасности	136
4.4.1 Выбор и обоснование расчетного варианта	137
5 Экономический анализ разработанной технологии.....	143
Заключение.....	145
Список основных сокращений.....	147
Список литературы	148

Введение

Актуальность и степень разработанности темы исследования. * Создание новых лекарственных средств, эффективных в отношении вирусных инфекций, является одной из наиболее актуальных и социально-значимых задач. Грипп и респираторные вирусные инфекции в период сезонных эпидемий поражают от 10 до 20% населения планеты. События последних лет, связанные с распространением «птичьего» и «свиного» гриппа, с беспрецедентной смертностью больных от атипичной пневмонии, показали важность усиления защиты населения от гриппа и других ОРЗ. Все это указывает на острую необходимость создания новых противовирусных препаратов.

Совместными усилиями Института органического синтеза УрО РАН и Уральского Федерального университета совместно с НИИ гриппа МЗ РФ и ООО «Завод Медсинтез» при поддержке Федерального агентства по науке и инновациям (госконтракт № 02.435.11.3017 от 5.09.2005 г. по приоритетному направлению «Живые системы») создан противовирусный препарат «Триазавирин» (натриевая соль 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-она, дигидрат). Препарат эффективен в отношении инфекций, вызываемых вирусами гриппа типа А и В, респираторно-синцитальных инфекций и парагриппа. Особенно следует отметить противовирусное действие «Триазавирин» в отношении штамма H5N1 (вирус гриппа птиц), а также штамма H1N1 (свиной грипп). Триазавирин прошел полный цикл клинических исследований и внесен в реестр лекарственных препаратов РФ (Регистрационное удостоверение ЛП-002604 от 28.08.2014 г., ФСП № 002604-280814).

Целью работы является разработка технологии получения субстанции препарата «Триазавирин». Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **основные задачи**: выбор оптимального пути получения данного препарата, оптимизация всех технологических процессов, разработка аппаратурного оформления, технологических режимов, аналитического контроля и критериев безопасности производства, а также создание опытно-промышленного регламента на производство субстанции с учетом экономической составляющей технологии.

Научная новизна и теоретическая значимость. Модифицирован и масштабирован к требованиям промышленного производства лабораторный способ химического синтеза лекарственной субстанции препарата «Триазавирин» и полупродуктов ее синтеза. Промышленный способ получения «Триазавирин» разработан впервые.

* Автор благодарит члена-корр. РАН В.Л. Русинова, академика В.Н. Чарушина и академика О.Н. Чупахина за консультации и ценные советы при выполнении данной работы

Оптимизирован в промышленных условиях метод получения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола за счет конденсации роданида аммония и аминогуанидина. Разработан новый метод получения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола с использованием диметилсульфата. Оптимизирован для промышленных условий метод diazotирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола и дальнейшего сочетания с натриевой солью этилнитроацетата. Предложен новый метод синтеза «Триазавирина» с применением в качестве нитросинтона нитромалонового эфира. Разработаны технологические и аппаратные схемы для всех этапов производства. Впервые использованы для осуществления контроля протекания процесса diazotирования три быстродействующих метода (бесконтактная кондуктометрия, дистанционные микрооптические измерения, импульсное тепловое зондирование), изучены тепловые эффекты процессов diazotирования, а также азосочетания и гетероциклизации. Созданы оригинальные методы анализа субстанции «Триазавирин», а также 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола как ключевого полупродукта с применением методов ВЭЖХ и спектрофотометрии.

Практическая значимость работы. Спроектирован и введен в эксплуатацию участок опытно-промышленного производства субстанции «Триазавирин» мощностью 300 кг/год. Нарботано несколько партий субстанции «Триазавирин», соответствующих требованиям ФСП и пригодных для производства лекарственного препарата «Триазавирин». По разработанной схеме на базе ООО «МБИ-Синтез» (г. Волжский) создана установка получения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола. Подготовлена теоретическая и экспериментальная база для создания промышленного производства субстанции «Триазавирин».

Личный вклад автора заключается в постановке целей и задач исследования, разработке подходов к эффективному промышленному получению препарата «Триазавирин» и необходимых полупродуктов его синтеза. Диссертантом выполнены экспериментальные исследования, проведена интерпретация полученных результатов, сформулированы выводы.

Методология и методы диссертационного исследования основаны на анализе литературных данных по теме работы, выборе наиболее оптимального пути получения субстанции препарата «Триазавирин», отработке технологических режимов всех процессов, изучении тепловых эффектов некоторых процессов. Строение продукта и полупродуктов доказано с использованием различных аналитических методов (измерение температуры плавления, элементный анализ, ЯМР-, ИК-спектроскопия, ВЭЖХ и др.).

Достоверность полученных данных была обеспечена за счет использования современных аналитических методов с целью установления строения и чистоты продукта

и полупродуктов (использовались ЯМР-, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия, элементный анализ, ВЭЖХ, спектрофотометрия, температура плавления).

На защиту выносятся следующие основные положения диссертации:

1. Результаты исследований по отработке метода синтеза 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола, натриевой соли 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-она, дигидрата.
2. Технологическая схема получения препарата «Триазавирин»
3. Аппаратурная схема получения препарата «Триазавирин»
4. Методы анализа качества производимого препарата «Триазавирин», а также ключевых полупродуктов его синтеза.
5. Результаты анализа разработанного производства препарата «Триазавирин» с точки зрения безопасности.
6. Экономический анализ разработанной технологии.

Апробация работы. Работа выполнена в рамках государственного контракта № 02.435.11.3017 от 5.09.2005 г. по приоритетному направлению «Живые системы». Разработаны фармацевтическая статья предприятия (ФСП) на субстанцию «Триазавирин» и опытно-промышленный регламент на производство субстанции «Триазавирин» (ОПР 04739512-01-08). Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на 4 всероссийских конференциях (Всероссийская конференция «Химия нитросоединений и родственных азот-кислородных систем» (Москва, 2009 г.), VII Всероссийская конференция «Химия и медицина, ОРХИМЕД- 2009» (Уфа), 13-я Всероссийская школа-семинар по проблемам физики конденсированного состояния (Екатеринбург, 2012), Всероссийская конференция «Органический синтез: химия и технология» (Екатеринбург, 2012)). Нарботано несколько партий субстанции «Триазавирин», соответствующих требованиям ФСП и пригодных для производства лекарственного препарата «Триазавирин».

Публикации по материалам работы. По материалам диссертации опубликовано 7 статей в реферируемых журналах и сборниках, из них 5 – в рецензируемых научных изданиях, определенных ВАК; получен патент № 2343154 РФ на способ получения субстанции «Триазавирин».

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, 5 глав и выводов. В главе 1 приведен литературный обзор. Главы 2-5 содержат описание собственных результатов. Материал диссертации изложен на 157 страницах машинописного текста. Работа содержит 39 схем, 38 таблиц и 36 рисунков. Список литературы включает 124 наименования.

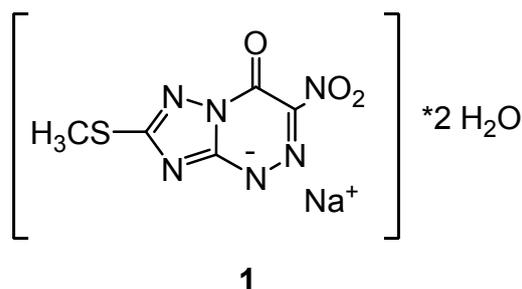
Благодарности. ВЭЖХ исследования проведены совместно с к.х.н. А.А. Тумашовым (ИОС УрО РАН); измерения тепловых эффектов реакций выполнены совместно с к.х.н. Д.С. Копчуком (ИОС УрО РАН); определение характеристик пожаровзрывобезопасности соединений выполнено совместно с к.х.н. С.Г. Алексеевым (Уральский институт ГПС МЧС РФ); теплофизические исследования процесса диазотирования выполнены совместно с д.ф.-м.н. П.В. Скриповым, к.ф.-м.н. Д.В. Волосниковым и к.ф.-м.н. А.Л. Гурашкиным (ИФМ УрО РАН).

1 Литературный обзор

В литературном обзоре приводятся данные по противовирусной активности препарата “Триазавирин” в сравнении с другими широко применяемыми противовирусными препаратами и его потенциальная роль в современной антивирусной терапии, производится анализ литературных данных по методам химического синтеза гетероциклической системы 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она для поиска оптимального метода получения целевого продукта в условиях промышленного производства.

1.1 “Триазавирин” – новый перспективный противовирусный препарат широкого спектра действия

“Триазавирин” – новый синтетический противовирусный препарат широкого спектра действия, лекарственная субстанция которого по химической структуре представляет собой гетероциклическое соединение натрия 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-она дигидрат **1** [1].



Соединение **1** является желтым кристаллическим высокоплавким (более 300 °С) веществом, растворимым в воде, метаноле, ацетоне, диметилформамиде, диметилсульфоксиде, малорастворимым в этаноле, нерастворимым в бензоле, хлороформе и большинстве апротонных растворителей. В нормальных условиях стабильно в виде дигидрата.

Препарат разработан при финансовой поддержке со стороны Федерального агентства по науке и инновациям в рамках приоритетного направления «Живые системы» в Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН, Уральском федеральном университете им. первого Президента России Б.Н. Ельцина совместно с Институтом молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН и Научно-исследовательским институтом гриппа МЗ РФ.

1.1.1 Актуальность создания эффективных противовирусных препаратов

Острые респираторные вирусные инфекции занимают ведущее место в этиологической структуре общей заболеваемости населения и вызываются представителями разных семейств – ортомиксовирусы, парамиксовирусы, коронавирусы,

пикорнавирусы, аденовирусы и герпесвирусы. Наиболее значимыми в эпидемическом отношении являются ортомиксовирусы и парамиксовирусы, которые вызывают острые инфекции верхних и нижних отделов респираторного тракта (ларингиты, трахеиты, бронхиты и пневмонии) [2].

В настоящее время эпидемически значимыми являются 2 подтипа вируса гриппа А - \H3N2\ и \H1N1\, и вирус гриппа типа В. Такая ситуация сложилась в 1977 году, когда в активную циркуляцию вернулись вирусы гриппа А \H1N1\. Итогом такой социркуляции явилось развитие в один и тот же эпидсезон в разных регионах России эпидемий гриппа различной этиологии. В этих условиях создавались предпосылки одновременного инфицирования человека различными возбудителями.

Характерен также и тот факт, что в последние эпидемии клиника гриппа характеризуется увеличением числа тяжелых форм заболевания – 18,5% против 11-12 % в предыдущие годы (1980-1992 гг.), ростом частоты симптомов выраженной интоксикации, осложнений и ростом заболеваемости детей.

При современной эпидемической ситуации, характеризующейся одновременной циркуляцией двух типов вируса гриппа А и В и появлением новых эпидемических вариантов вируса гриппа и других вирусов, важное значение приобретает поиск новых противовирусных препаратов.

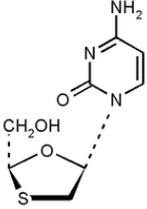
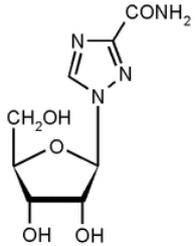
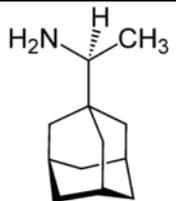
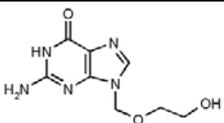
1.1.2 Общая характеристика современных противовирусных препаратов

Химиотерапия вирусных инфекций началась с открытия амантадина и его противогриппозных свойств. Изучение производных адамантана заняло все семидесятые годы. Ремантадин был запатентован в 1983 году, а широкое использование этого препарата началось только в конце 80-х. В начале 90-х годов этот препарат был разрешен к применению во Франции, а затем в США [2].

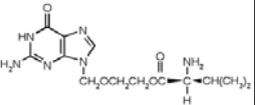
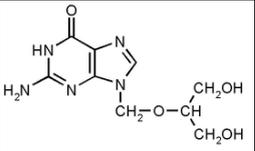
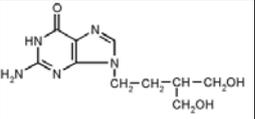
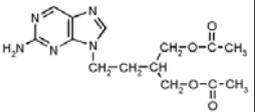
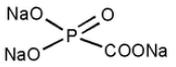
Азидотимидин разрабатывался как противоопухолевый препарат и только в Национальном Институте Здоровья (США) был исследован на действие против ВИЧ, проявив выраженную противовирусную активность *in vitro*. Активное его использование относится к началу 90-х годов.

На современном этапе химиотерапия вирусных инфекций – быстро развивающаяся область медицинской науки. На протяжении длительного времени уделом лечения вирусных инфекций была симптоматическая терапия, да и в последствии лишь очень ограниченное число антивирусных препаратов нашло применение в клинике. Основные противовирусные средства представлены в табл. 1.

Табл. 1

Препарат	Формула	Механизм действия	Спектр действия	Фармакологические свойства
1	2	3	4	5
Ламивудин		Ингибирование вирусной ДНК-полимеразы и обр. транскриптазы	Гепатит (в хронич. стадии), ВИЧ -1	Биодоступность при п\о назначении – 86%, период полувыведения из плазмы – 5-7 часов
Рибавирин		Интерференция с вирусными мРНК – ингибирование синтеза. Эффект индукции интерферона объясняет лечебное действие при гепатите	Лихорадка Ласса, Хантовироз (геморрагическая лихорадка с почечным синдромом), Гепатит С (хронические стадии – с интерфероном-α)	Биодоступность при п\о назначении – 32%, период полувыведения из плазмы – 30-60 ч. незначительная адсорбция при аэрозольном введении
Амантадин		Блокирование ионных каналов белка М2 вируса гриппа и изменение рН лизосом клетки	Вирус гриппа А	Биодоступность при п\о назначении >90%, период полувыведения из плазмы – 10-31 ч., у пациентов старше 60 лет удлиняется
Ремантадин		Блокирование ионных каналов белка М2 и изменение рН лизосом клеток	Вирус гриппа А	Биодоступность при п\о назначении >90%, период полувыведения из плазмы – 25-36 ч., 75% препарата утилизируется в печени
Ацикловир		Метаболизируется до ацикловиртрифосфата, который ингибирует вирусную ДНК-полимеразу	Вирус простого герпеса, Варицеллазостер вирус, Цитомегаловирус, альфа-вирусы, арбовирусы	Биодоступность при п\о назначении – 10-20%, период полувыведения: препарата из плазмы – 2-3 ч., метаболита из клетки – 1-2 ч.

Продолжение табл. 1

1	2		3	4
Валацикло- вир «Валтрекс»		Валиновый эфир ацикловира	Вирус простого гер- песа, Варицелла зостер вирус, Цитомегаловирус, альфа-вирусы, арбовирусы	Биодоступность при п\о назначении – 54%, период полувыведения: из плазмы – 2-3 ч, из клетки – 1-2 ч
Ганцикло- вир		Метаболизируется до ганцикловир- трифосфата, который ингибирует вирусную ДНК – полимеразу	Цитомегаловирус	Биодоступность при п\о назначении 8-9%, период полувыведения препарата из плазмы – 2,5 ч, метаболита из клетки – 12 ч
Пенцикло- вир		Метаболизируется до пенцикловир- трифосфата, который ингибирует вирусную ДНК полимеразу	Вирус простого герпеса	Только местное применение, внутривенная форма в стадии разработки
Фамцикло- вир «Фамвир»		Подобен пенцикловиру	Вирус простого герпеса, Варицелла зостер вирус	Биодоступность при п\о назначении – 77%, период полувыведения препарата из плазмы – 2 ч, метаболита из клетки – 7-20 ч
Фоскарнет		Производное пирофосфата. Ингибирование вирусной ДНК- полимеразы и обратной транскриптазы путем взаимодействия с пирофосфатным сайтом связывания этих ферментов	Цитомегаловирус, ацикловир- резистентные штаммы вируса простого герпеса, Варицелла зостер вируса	Биодоступность при п\о назначении – 0%, период полувыведения из плазмы – 6 ч, трехфазная элиминация депонируется в костном матриксе

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5
Интерферон -альфа	-	Индукция клеточных ферментов – энзимов, которые подавляют синтез вирусных белков, повышение функции презентации вирусных антигенов	Гепатиты В и С, Герпесвирус человека 8 типа, вирус папилломы	Биодоступность при п/о назначении – 0%. Период полувыведения из плазмы 2-3 ч
Интерферон -гамма	-	Стимулирует цитотоксический иммунный ответ	Гепатиты В, С, Д, Герпесвирусы (включая тип 8)	Период полувыведения из плазмы – 1.5-2 ч

Наряду с ограниченным количеством эффективных противовирусных агентов, для большинства из них существуют проблемы токсичности и проявления побочных эффектов. Несмотря на появление новых препаратов и, как следствие, новых возможностей для лечения вирусных инфекций, остро стоит проблема возникновения резистентных штаммов. Появление значительного количества резистентных вирусов, несомненно, повышает требования и к новым противовирусным средствам.

1.1.3. Биологические исследования Триазавирина

1.1.3.1. Результаты предклинических испытаний Триазавирина [3].

1.1.3.1.1 Изучение противовирусного действия Триазавирина

Триазавирин позиционируется в первую очередь как препарат для лечения гриппозной инфекции. Результаты [4] изучения подавления репродукции вируса гриппа А (H5N1) свидетельствуют о том, что Триазавирин в культуре клеток MDCK и концентрации, соответствующей МПК (128 мкг/мл), полностью подавляет цитопатическую активность возбудителя при внесении препарата через 1 ч после инфицирования культуры клеток. В концентрациях 64 мкг/мл и 32 мкг/мл Триазавирин подавляет 90% цитопатической активности вируса.

Для сравнения, у Арбидола в максимально переносимой концентрации (25 мкг/мл) коэффициент ингибирования составил 30%. Тамифлю (Осельтамивир) в концентрации 100 мкг/мл полностью подавлял цитопатическую активность вируса гриппа А (H5N1), а эффективность ремантадина составила 87%. В результате изучения способности Триазавирина подавлять формирование специфического гемагглютинина, установлено, что препарат в максимально переносимой концентрации подавляет репродукцию вируса гриппа на 93,8%, в концентрации 64 мкг/мл – на 89,6%, а в дозе 32 мкг/мл – на 87,5%.

Изучение профилактической эффективности препарата Триазавирин в отношении возбудителя гриппа А (H5N1) в опытах in vivo [5]. Результаты изучения профилактической эффективности в отношении вируса гриппа, штамм

А/курица/Курган/Россия/2/05 (H5N1) в опытах на белых мышах массой 10-12 г, инфицированных интраназально, приведены в табл. 2. Полученные данные свидетельствуют о том, что препарат наиболее эффективен при применении за 5 суток до инфицирования (ежедневно один раз в сутки) в дозе 100 мг/кг массы лабораторного животного. В среднем защита от гибели составила 55.0%, увеличение средней продолжительности жизни (СПЖ) 2.9 суток. Снижение дозы препарата приводило к уменьшению протективной эффективности. При этом следует отметить, что в наименьшей исследуемой дозе (1 мг/кг) протективная эффективность препарата статистически достоверно не отличалась ($p \leq 0,05$) от такового показателя препарата в дозе 100 мг/кг (табл. 2).

Табл. 2

Результаты изучения профилактической эффективности препарата Триазавирин в отношении экспериментальной формы гриппа у белых мышей, интраназально инфицированных вирусом гриппа, штамм А/курица/Курган/02/05/Россия (H5N1) ($n = 3$)

Препарат	Схема введения	Доза препарата, мг/кг	Гибель животных	Защитная эффективность от гибели, % ($X \pm \sigma_x$)	Увеличение СПЖ, сутки ($X \pm \sigma_x$)
1	2	3	4	5	6
Триазавирин	-120 ч, -96 ч, -48 ч, -24 ч, - 1 ч	100	27/60	55,0±2,9	2,9±0,1
		50	41/60	31,7±1,7	2,4±0,1
		10	39/60	35,0±0,0	2,6±0,1
		1	33/60	45,0±2,9	2,9±0,1
Триазавирин	48 ч, -24 ч,	100	41/60	31,7±1,7	2,4±0,1
		50	42/60	30,0±0,0	2,5±0,1
		10	34/60	43,3±1,7	3,1±0,1
		1	36/60	40,0±0,0	3,0±0,1
Триазавирин	-24 ч, -1 ч	100	44/60	26,7±1,7	2,3±0,1
		50	41/60	31,7±1,7	2,5±0,1
		10	40/60	33,3±1,7	2,6±0,1
		1	42/60	30,0±0,0	2,7±0,1
Тамифлю	-120 ч, -96 ч, -48 ч, -24 ч, - 1 ч	13	23/60	61,7±1,7	4,3±0,1
Ремантадин	-120 ч, -96 ч, -48 ч, -24 ч, - 1 ч	16	27/60	55,0±0,0	3,5±0,2
Арбидол	-24 ч, - 1 ч	60	33/60	45,0±0,0	2,6±0,1

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6
Контроль дозы	-	-	60/60	-	-
Контроль стада	-	-	0/60	-	-

Используемый в качестве референс-препарата Арбидол в дозе 30 мг/кг (соответствует дозе для человека – 200 мг/сутки) защищал от гибели в среднем 38% инфицированных белых мышей, увеличение СПЖ в среднем составляло 2.6 суток. Защитная эффективность Тамифлю в дозе 13 мг/кг (соответствует ½ дозы для человека – 75 мг/сутки) – 62%. При этом наблюдалось увеличение СПЖ на 4.3 суток. Ремантадин в отношении экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа А (H5N1), в дозе 16 мг/кг защищал от гибели 55%, увеличение СПЖ – 3.5 суток. Увеличение влияния препаратов при профилактическом применении на уровень накопления вируса в легких инфицированных животных показало, что в первые сутки после инфицирования все изученные препараты полностью подавляли репродукцию возбудителя.

Таким образом, Триазавирин проявил противовирусный эффект при применении его в диапазоне доз от 1 до 100 мг/кг массы животного по профилактическим схемам: за 5 суток до инфицирования, ежедневно, и за 2 суток до инфицирования, ежедневно. Величина профилактической эффективности Триазавирин (в дозе 1 мг/кг) сопоставима с эффективностью Арбидола, при этом доза последнего выше в 30-60 раз. Применение препарата через 1-2 ч после инфицирования (по схеме экстренной профилактики) показало, что Триазавирин в дозе 50 мг/кг массы защищает от гибели 43.3% инфицированных животных, в дозе 100 мг/кг – 48.3%.

При применении Триазавирин в качестве лечебного средства в дозе 1 мг/кг массы животного защитная эффективность составила в среднем 36.7%, в дозе 10 мг/кг – 35.0%, 50 мг/кг – 30.0% и, наконец, 100 мг/кг – 38.8% (табл. 3). Терапевтическая активность Тамифлю в этих условиях составила в среднем 50%, Ремантадина – 38.3%, Арбидола 11.7% (табл. 3) [6].

Триазавирин, Ремантадин и Таимфлю в первые сутки после инфицирования полностью подавляют размножение вируса гриппа А в легких белых мышей. Далее на протяжении длительного срока наблюдения (вплоть до терминальной фазы) эти препараты подавляют уровень накопления вируса гриппа А в легких инфицированных белых мышей более, чем на 3 lg. Арбидол эффективно подавляет размножение вируса гриппа в органе мишени в первые сутки после инфицирования, однако, начиная с 3-х суток эффективность ингибирования значительно снижается и к 5-6 суткам – практически отсутствует.

Табл. 3

Результаты изучения лечебной эффективности препарата Триазавирин в отношении экспериментальной формы гриппа у белых мышей, интраназально инфицированных вирусом гриппа, штамм А/курица/Курган/02/05/Россия (H5N1) ($n = 3$)

Препарат	Схема введения	Доза препарата, мг/кг	Гибель животных	Защитная эффективность от гибели, % ($X \pm \sigma_x$)	Увеличение СПЖ, сутки ($X \pm \sigma_x$)
Триазавирин	+24 ч, +48 ч,	100	37/60	38,3±1,7	2,4±0,0
	+72 ч, +96 ч,	50	42/60	30,0±0,0	2,2±0,1
	+120 ч, +144 ч	10	39/60	35,0±0,0	2,8±0,1
		1	40/60	36,7±1,7	2,8±0,1
Тамифлю	+24 ч, +48 ч, +72 ч, +96 ч, +120 ч, +144 ч	25	30/60	50,0±0,0	3,5±0,1
Ремантадин	+24 ч, +48 ч, +72 ч, +96 ч, +120 ч, +144 ч	30	37/60	38,3±1,7	3,8±0,2
Арбидол	+24 ч, +48 ч, +72 ч, +96 ч, +120 ч, +144 ч	135	53/60	11,7±1,7	0,5±0,1
Контроль дозы	-	-	60/60	-	-
Контроль стада	-	-	0/60	-	-

Следует отметить, что Триазавирин – это противовирусный препарат широкого спектра действия. Установлен отчетливо выраженный эффект применения Триазавирина в опытах на животных, инфицированных вирусом западного энцефаломиелита лошадей. При лечебно-профилактической схеме применения препарата в чистой субстанции защита составила 60%, средняя продолжительность жизни мышей в сравнении с контрольной группой увеличилась на 9.2 суток. В лечебной схеме (доза 50 мг/кг) процент защиты составил 50%, а средняя продолжительность жизни пролеченных животных увеличилась на 5.6 суток. Для сравнения, защита инфицированных вирусом ЗЭЛ животных при аналогичных схемах применения Рибамидила составляет 25 и 20%, а увеличение продолжительности жизни опытных мышей в сравнении с контрольными – всего лишь 1.5-1.8 суток.

Значительную проблему в настоящее время представляют циркулирующие в ряде районов буньявирусные инфекции: конго-крымская геморрагическая лихорадка, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, лихорадки Иссык-Куль, Тягиня, Инко и др. Практически не существует методов лечения (кроме симптоматических) этих

заболеваний. Литературные данные позволяют сделать вывод, что определенные перспективы для использования имеет только Рибавирин (виразол, рибамидил).

Препарат Триазавирин также показал высокую эффективность против вируса лихорадки долины Рифт. Исследования проводили на мышах при инфицирующих дозах вируса 10 и 100 ЛД₅₀. Препарат вводили подкожно и перорально по лечебной схеме многократного введения и по лечебно-профилактической. Результаты представлены в табл. 4.

Табл. 4

Противовирусное действие Триазавирина

Модель вирусной инфекции	Показатель эффективности
1. Венесуэльский энцефаломиелит лошадей (ВЭЛ)	4,0lg
2. Вирус Синдбис	3,9lg
3. Западный энцефаломиелит лошадей (ЗЭЛ)	60-65%
4. Вирус Карельской лихорадки	1,3lg
5. Вирус клещевого энцефалита	40%
8. Вирус парагриппа	60%
9. Вирус респираторно-синцитиальной инфекции	75%
10. Конго-крымская геморрагическая лихорадка	40%
11. Лихорадка долины Рифт	80%

Примечание: индексы эффективности (в %) в опытах *in vivo* и степень ингибирования репродукции вируса (lg ТЦД₅₀) в опытах *in vitro*

1.1.3.1.2 Изучение токсичности

Экспериментальное исследование общей токсичности препарата в период доклинических испытаний включало определение острой, подострой, хронической токсичности, местного раздражающего действия, аллергенных свойств, влияния на иммунную систему и репродуктивную функцию, а также были изучены возможные мутагенные эффекты и риск канцерогенного действия нового препарата.

Токсикометрическое изучение препарата Триазавирин (капсулы 0,25 г) позволило установить, что при остром введении экспериментальным животным (мышам, крысам, собакам) данный препарат практически не оказывает токсического действия. Величины ЛД₅₀ при в/ж введении у мышей и крыс разного пола колеблются от 8100 до 9500 мг/кг. Пероральное введение беспородным собакам в дозе 400 мг/кг не вызывает каких-либо существенных изменений общего состояния, поведения и структуры внутренних органов.

Результаты токсикометрии, данные некропсии и наблюдений за экспериментальными животными в постинтоксикационном периоде острого отравления позволяют отнести препарат «Триазавирин» к V классу практически нетоксичных лекарственных веществ. Состояние переживших острую интоксикацию животных свидетельствует о хорошей переносимости и безвредности препарата в дозах, превышающих терапевтические для человека в десятки раз.

Биохимические и гематологические исследования у крыс проводились у фоновой группы до начала введения препарата, через 30 и 90 дней после ежедневного введения в остальных четырех, включая контрольную группу.

Установлено, что на 30 и 90 сутки исследования у подопытных животных достоверно изменяются показатели крови при введении препарата в максимальной дозе (снижение уровня гемоглобина, содержания эритроцитов, лейкоцитоз, лимфопения и ускорение СОЭ). У самцов и у самок крыс, получавших препарат в дозах 500 и 1000 мг/кг, отмечалось достоверное увеличение активности трансаминаз, щелочной фосфатазы по сравнению с фоном и контролем и снижение уровня кальция в максимальной дозе через 90 дней непрерывного применения препарата. Через месяц после отмены препарата данные показатели возвращались к исходным значениям, то есть выявленные изменения носили функциональный характер.

В результате проведенных некропсии и гистологического исследования было показано, что Триазавирин не вызывает раздражения, воспаления или деструкции тканей желудочно-кишечного тракта, а также не вызывает развития дистрофических или деструктивных изменений внутренних органов и головного мозга опытных животных. Пероральное введение животным капсул Триазавирин в дозах, значительно превышающих максимальные, не приводит к развитию патологических сдвигов со стороны общего состояния и поведения животных, не оказывает заметного токсического воздействия на сердечно-сосудистую деятельность, морфологический состав, биохимические и другие показатели периферической крови и костного мозга, на функциональное состояние печени и почек, белковый, углеводный, жировой и электролитный виды обмена веществ. В ходе хронического введения препарата не наблюдалось летальных эффектов, а изменение исследованных показателей не превышало уровня физиологического варьирования, что свидетельствует об отсутствии или слабой кумуляции препарата.

В целом, можно заключить, что при хроническом введении грызунам и негрызунам обоего пола препарат Триазавирин не обладает хроническими токсическими свойствами.

При изучении специфических видов токсичности были получены следующие результаты:

- Внутрижелудочное введение препарата не оказывает воздействия на репродуктивную функцию самцов и самок крыс. Введение Триазавирин самкам крыс с

1 по 19 день беременности не оказывает эмбриотоксического действия.

- Изучение возможного аллергенного действия препарата Триазавирин на морских свинках обоего пола в дозе 60 мг/кг в течение 5 дней показало, что он не обладает аллергенными свойствами.

- Изучение вероятных иммунотоксических свойств препарата на мышах линии СВА обоего пола продемонстрировало, что препарат Триазавирин при длительном применении не влияет на вес центральных лимфоидных органов. Полученные данные позволяют заключить, что препарат Триазавирин (капсулы 0,25 г) не обладает аллергенными и иммунотоксичными свойствами.

- Триазавирин не обладает мутагенным действием в исследованных тестах, а также не является потенциальным канцерогеном.

1.1.3.2 Результаты 1 фазы клинических испытаний [3]

В исследование были включены здоровые добровольцы обоего пола в возрасте от 18 до 45 лет. Всего участвовало 30 здоровых добровольцев, рандомизированных в 3 равные группы. В ходе испытания лабораторно-инструментальные исследования (осмотр, общий анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи, ЭКГ в 12 стандартных отведениях, АД, ЧСС) проводились на 3, 8, 12, 19 и 23 дни исследования. Исследование включало 3 этапа: изучение фармакокинетики и переносимости при однократном приеме Триазавирин; при многократном режиме дозирования (субъекты принимали препарат ежедневно однократно в течение 7 дней); при многократном режиме дозирования с увеличением кратности приема и суточной дозы препарата. В целом было проанализировано 9 схем приема препарата Триазавирин с эскалацией суточных доз от 250 мг до 1500 мг.

Все группы пациентов, получавших Триазавирин в нарастающих дозировках (максимальная разовая доза – 1000 мг, максимальная суточная доза – 1 500 мг, максимальная курсовая доза – 10 500 мг) завершили исследование без неблагоприятных побочных реакций (НПР), связанных с приемом препарата.

Все зафиксированные в процессе исследования НПР можно разделить на группы – гастроинтестинальные, респираторные, неврологические, кожные, лабораторные, другие. НПР носили транзиторный характер, не требовали проведения дополнительной терапии и нормализовались на фоне приема препарата.

Среди клинических НПР были отмечены: головная боль, катаральные явления, кожный зуд, тошнота, околоушная атерома, гельминтоз. Среди НПР со стороны лабораторных показателей необходимо отметить следующие: транзиторное повышение трансаминаз, уровня билирубина, однократное повышение количества лейкоцитов и эпителиальных клеток в моче. В результате проведенных расчетов статистической значимости числа НПР ни в одной из групп выявлено не было. Отслеживание НПР и динамическое наблюдение за изменениями лабораторных и инструментальных

показателей не позволило выявить определенных закономерностей и достоверной статистической связи с приемом препарата Триазавирин. Колебания величин лабораторных показателей не выходили за пределы физиологических норм ни в одной из 9 испытанных схем применения препарата. НПР наблюдались в разные временные периоды (схемы приема) и не во всех группах, что позволяет сделать заключение об отсутствии связи с приемом препарата.

При анализе фармакокинетических параметров было показано, что максимальные концентрации (C_{\max}) пропорционально увеличивались в зависимости от дозы. C_{\max} были достижимы в среднем через 1 ч после приема дозы, варьируя от 0.5 до 1.5 ч. Из полученных результатов следует, что фаза элиминации носит нелинейный, двухфазный характер. Триазавирин быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте. На начальном этапе выведение препарата происходит с более высокой скоростью, затем замедляется. Период полувыведения в среднем составляет 1,0-1,5 часа. Было показано, что данный препарат обладает незначительной способностью к кумуляции при многократном приеме. При увеличении кратности приема фаза элиминации становилась более сглаженной, элиминация в первой фазе замедлялась в большей степени.

Таким образом, в ходе проведенного исследования была установлена безопасность и хорошая переносимость препарата Триазавирин, он был рекомендован для дальнейших испытаний.

1.1.3.3 Результаты 2 фазы клинических исследований [7]

В результате проведенных испытаний была показана эффективность препарата Триазавирин в этиотропной терапии гриппа, вызванного вирусами как гриппа А, так и гриппа В. Был отмечен ряд преимуществ Триазавирина по отношению к другим препаратам. Так, Тамифлю наиболее эффективен в терапии гриппа А (продолжительность лихорадочного периода значительно короче у пациентов с гриппом А). Для Триазавирина не было отмечено существенной разницы данного параметра для пациентов с гриппом А или В. Так, длительность лихорадки у пациентов с гриппом А при использовании Триазавирина составила 1.6 ± 0.69 дня, для гриппа В 1.5 ± 0.57 дня. Для Тамифлю данный показатель составляет 35.5 ± 23.9 ч (1.5 ± 1.0 дня) и 52.7 ± 31.3 ч (2.2 ± 1.3 дня) соответственно.

Исследование также показало, что уровни повторного выделения вирусов гриппа А и В на 5-е сутки от начала терапии составили 8 и 0% соответственно. Для Тамифлю изоляция вируса на 4-6 день от начала терапии была значительно выше для гриппа В (по разным источникам 33.3 и 51.6 %), чем для гриппа А (12.8 и 15.9%). Однако, в этих исследованиях преобладал вирус гриппа А(H3N2). В исследовании Триазавирина основным этиологическим агентом, изолированным от пациентов, был вирус гриппа А(H1N1)pdm (85%), который реизолировали на 5-е сутки терапии у 8% пациентов. Уровень повторного выделения гриппа А(H1N1)pdm в этот же срок при терапии Тамифлю составлял 26%.

1.1.3.3 Результаты 3 фазы клинических исследований [8]

Исследование проводилось в 4-х исследовательских центрах – ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России (г. Санкт-Петербург), ГБОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова Минздрава (г. Санкт-Петербург), Челябинская государственная медицинская академия (г. Челябинск), Муниципальное автономное учреждение «Городская клиническая больница № 40» (г. Екатеринбург).

За эпидемический период 2012-2013 гг. 127 пациентов от 18 до 65 лет обоего пола были рандомизированы по группам:

1. В первую группу (группа I) вошли 82 пациента с гриппом, которые получали препарат Триазавирин по схеме: 1 капсула (250 мг) 3 раза в день в течение 5 суток.

2. Во вторую группу (группа II) вошли 45 пациентов с гриппом, которые получали препарат Тамифлю (осельтамивир) по схеме: 1 капсула (75 мг) 2 раза в день в течение 5 суток.

В период лечения пациенты получали назначенные препараты и проходили обследование по графику. 93,8% (119 человек) пациентов завершили исследование по протоколу. В группе I выбыло 6 человек, в группе II – 2 человека.

Группы лечения были репрезентативны по демографическим (средний возраст пациентов в группе, соотношение мужчин и женщин в каждой группе), клиническим характеристикам (пиковая температура тела за время исследования) и этиологической структуре заболевания.

У всех пациентов до назначения исследуемого препарата было получено лабораторное подтверждение диагноза грипп. Из 127 человек, включенных в исследование методом экспресс-диагностики у 8 человек был поставлен диагноз грипп типа В, у 5 пациентов – грипп А+В и у 114 – грипп типа А. Таким образом, удельный вес гриппа типа В составил 5,5 %, микст-инфекции (А+В) – 3,9%, гриппа А – 90,6%.

При анализе клинических проявлений заболевания показано, что у всех пациентов отмечено острое начало с повышением температуры тела $\geq 37,5$ °С, наличием проявлений интоксикационного и катарального синдромов различной степени выраженности.

Проведенное клиническое исследование показало, что использование препарата Триазавирин у пациентов с гриппом статистически значительно способствует более быстрой ликвидации основных проявлений инфекционного процесса. Основными параметрами эффективности Триазавирина являлись: время до выздоровления с момента инициации терапии и время до исчезновения симптомов гриппа – температурная реакция (температура более 37,0°С), лихорадочная реакция (температура более 37,8°С), основные симптомы интоксикации (головная боль, миалгии, боли/рези в глазных яблоках), катаральные симптомы (боли/першение в горле, кашель).

По результатам анализа было показано, что на фоне приема препарата Триазавирин сокращалась продолжительность лихорадочного периода, интоксикационного и катарального синдромов, а также острого периода заболевания.

Так, время до выздоровления с момента инициации терапии в группе I (Триазавирин) составило 4,2 дня, в то время как в группе II (Тамифлю) – 5,6 дня. Различия между группой Триазавирин и группой Тамифлю по этому показателю были статистически значимыми: $p = 0,004$.

Сроки нормализации температуры в группе I (Триазавирин) составили 3,2 дня, в то время как в группе II (Тамифлю) – 4,3 дня. Различия между группой пациентов, получавших Триазавирин и группой пациентов, получавших Тамифлю, по срокам нормализации температуры были статистически значимыми: $p = 0,041$. Анализ длительности сохранения повышенной температуры тела показал, что в группе Триазавирин этот показатель статистически значимо ниже, чем в группе Тамифлю.

При этом лихорадочный период (температура тела $\geq 37,8$ °C) незначительно различался по группам. В группе I (Триазавирин) этот показатель составил 1,8 дня, в группе II (Тамифлю) – 2,0 дня.

У пациентов, получавших Триазавирин, было отмечено статистически значимое сокращение продолжительности ряда симптомов интоксикации. Так, длительность головной боли составила в группе I (Триазавирин) – 3,4 дня, в то время как в группе II (Тамифлю) – 4,3 дня. Продолжительность миалгии составила 3,0 дня в группе I (Триазавирин) и 3,8 дня – в группе II (Тамифлю). Боли/рези в глазных яблоках у пациентов группы I (Триазавирин) продолжались в среднем 2,6 дня, в то время как у пациентов группы II, получавших Тамифлю – 3,0 дня. Катаральные симптомы были ярко выражены у всех пациентов, в большей степени у пациентов с гриппом А. Основным проявлением катарального синдрома был сухой кашель. У пациентов, получавших Тамифлю, средняя продолжительность кашля составила 7,8 дней, в то время как в группе I (Триазавирин) – 7,0 дня. Першение/боли в горле пациенты отмечали на протяжении 5,6 дней в группе Тамифлю; 4,7 дня - в группе I (Триазавирин).

Таким образом, выявлено существенное статистически достоверное влияние препарата Триазавирин по сравнению с препаратом Тамифлю на время выздоровления и редукцию основных симптомов заболевания – продолжительность температурной реакции, а также головной боли и миалгий.

Одним из дополнительных критериев эффективности терапии препаратом Триазавирин было время до выздоровления (температура $\leq 37,0$ °C, исчезновение симптомов интоксикации) в зависимости от времени инициации терапии (1-й или 2-й день заболевания) в опытной группе I (Триазавирин) и контрольной группе II (Тамифлю).

В качестве дополнительного параметра эффективности оценивали частоту развития осложнений. Так, у 4 пациентов (8,9%) группы Тамифлю (N=45), были отмечены вторичные осложнения. В группе I (Триазавирин, N=82) у одного пациента отмечено обострение хронического бронхита (1,2%). Суммарная частота осложнений в группе I (Триазавирин) статистически значимо не отличалась от таковой в группе II (Тамифлю) вследствие малого количества участников.

РНК вирусов гриппа до начала терапии (V1) были определены с помощью ПЦР-диагностики у 111 пациентов, что составило 87,4% от общего количества пациентов, включенных в исследование (127 пациентов). Среди них РНК вирусов гриппа типа В были определены у 13 пациентов, что составило 10,2%. У остальных пациентов были идентифицированы РНК вирусов гриппа А: А(Н1N1)pdm2009 – у 82 пациентов (64,6%), А(Н3N2) – у 16 пациентов (12,6%). На 5-е сутки от начала терапии РНК вирусов гриппа определялась у 46 пациентов (37,1%), из них РНК вирусов типа В – у 5 пациентов (4,1%), А(Н1N1)pdm2009 – у 34 пациентов (27,4%), А(Н3N2) – у 7 пациентов (5,6%) .

Таким образом, уровень повторного определения РНК вирусов гриппа у всей популяции пациентов, участвующих в исследовании, независимо от подтипа вируса гриппа составлял около 40%. Что касается пациентов группы I, получавших препарат Триазавирин, то уровень повторного определения РНК вирусов гриппа был существенно ниже по сравнению с группой II пациентов, получавших Тамифлю. Так, для группы I (Триазавирин) уровень повторного выявления РНК вирусов гриппа при ПЦР-диагностике составил 33,3%, для группы II (Тамифлю) – 58,3%.

При попарном сравнении групп при помощи точного критерия Фишера по повторному выявлению РНК вирусов гриппа, были выявлены статистически значимые различия между группами I (Триазавирин) и II (Тамифлю) ($p = 0,015$).

В соответствии с протоколом исследования, всем пациентам назначались средства симптоматической терапии по показаниям (парацетамол, бромгексин, церукал). Большинство пациентов, участвующих в исследовании, принимали парацетамол и бромгексин. Установлено, что применение препарата Триазавирин сокращает продолжительность использования средств симптоматической терапии, полученные различия носят статистически достоверный характер (дисперсионный анализ).

При использовании дисперсионного анализа были выявлены статистически значимые различия по длительности приема и объему парацетамола и длительности приема бромгексина между группами I и II. Так, продолжительность приема жаропонижающего препарата (дни) сократилась примерно на 1 день (0,72 дня).

Использование отхаркивающих препаратов (бромгексин) также сокращалось по длительности (в среднем на 1,4 дня) в группе Триазавирин по сравнению с группой Тамифлю (6,17 дня и 7,55 дня соответственно).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что использование Триазавирин в этиотропной терапии гриппа способствует сокращению продолжительности основных симптомов заболевания: интоксикации, лихорадки, катаральных симптомов, а также снижению продолжительности и тяжести заболевания.

При сравнительной оценке эффективности препаратов Триазавирин и Тамифлю было показано, что по ряду параметров Триазавирин превосходит Тамифлю. Так, в группе пациентов, получавших Триазавирин, время до выздоровления, длительность

температурной реакции, головной боли и миалгий были статистически достоверно ниже, чем в группе Тамифлю.

Уровень повторного выявления РНК вирусов гриппа на 5-е сутки заболевания по результатам ПЦР-диагностики для группы I (Триазавирин) был почти в 2 раза ниже, чем для группы II (Тамифлю).

В результате исследования получены также статистически значимые различия по длительности применения симптоматической терапии (парацетамол, бромгексин), которая в группе Триазавирин была существенно короче, чем в группе Тамифлю.

Таким образом, эффективность терапии препаратом Триазавирин сопоставима с эффективностью Тамифлю, а по некоторым показателям статистически значимо превосходит таковую.

Необходимо отметить, что препараты Триазавирин и Тамифлю хорошо переносились участниками исследования в изучаемых дозовых режимах. Применение препарата Триазавирин не вызывало появления каких-либо жалоб у пациентов.

Проведенные наблюдения за реакциями на получаемое лечение свидетельствуют, что ни в одном случае не развилось каких-либо нежелательных явлений, связанных с приемом Триазавирин. При приеме препарата Тамифлю два пациента отмечали тошноту, которая прошла после окончания приема Тамифлю.

Статистический анализ результатов исследования показал, что использование этиотропного препарата Триазавирин в терапии гриппа обеспечивает сокращение продолжительности заболевания и основных симптомов заболевания: интоксикации, лихорадки, катаральных симптомов. При терапии, начатой на 2-е сутки заболевания, в группе Триазавирин отмечается статистически значимое сокращение длительности заболевания по сравнению с группой Тамифлю. На фоне приема Триазавирин снижается уровень повторного определения РНК вирусов гриппа, частота развития осложнений, а также длительность применения симптоматической терапии, по сравнению с аналогичными показателями в группе пациентов, принимавших Тамифлю. Таким образом, по ряду показателей эффективности Триазавирин статистически значимо превосходит эффективность Тамифлю. Использование препарата является безопасным.

Таким образом, полученные данные позволяют рассматривать Триазавирин как универсальный препарат для лечения гриппа, обладающий явными преимуществами относительно других препаратов.

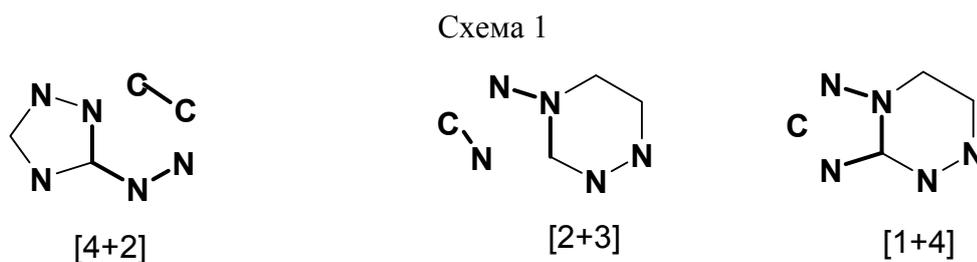
1.2 Возможные пути получения субстанции препарата Триазавирин

Данный раздел литературного обзора посвящен поиску оптимального метода синтеза субстанции препарата «Триазавирин» на основе литературных данных. Отбор наилучшего варианта производился с учетом токсичности исходных соединений, их

доступности, стоимости, выходов на химических стадиях, методов выделения продукта и т.д.

1.2.1 Методы получения 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-онов

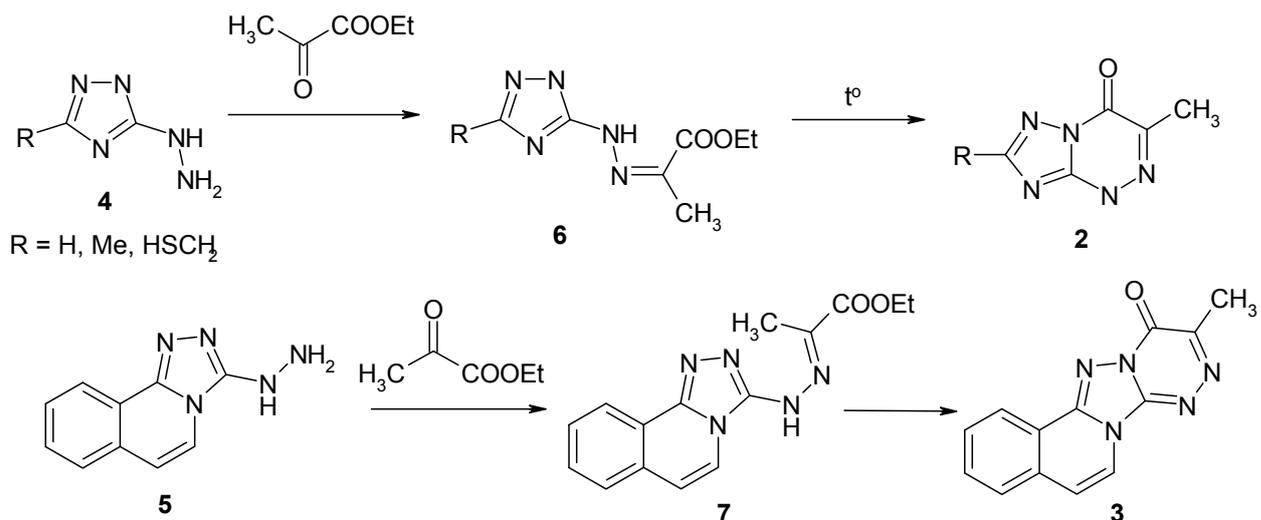
Первая часть данного раздела обзора посвящена методам синтеза 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-онов как базовой гетероциклической структуре целевого препарата. Для построения 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазиновой системы, как и других азоло-1,2,4-триазинов, возможны два стратегических подхода: достройка 1,2,4-триазинового цикла к 1,2,4-триазольному и аннелирование азольного цикла к 1,2,4-триазиновому [9]. При достройке 1,2,4-триазинового цикла в основном используется схема [4+2] – N-C-N-N фрагмент в 1,2,4-триазиновое кольцо поставляется из азольной части и C-C фрагмент из второго реагента (схема 1). Применяется также и схема [3+3]: N-C-N группу атомов поставляет азол и используется C-C-N синтон. При аннелировании азольного цикла к 1,2,4-триазиновому также используются различные варианты [3+2], [4+1] циклизации с применением C-N- или C-синтонов.



Синтез 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазинов, содержащих в положении 6 нитрогруппу, будет рассмотрен отдельно ввиду особого интереса к этим структурам в рамках данной работы с учетом структуры целевого препарата.

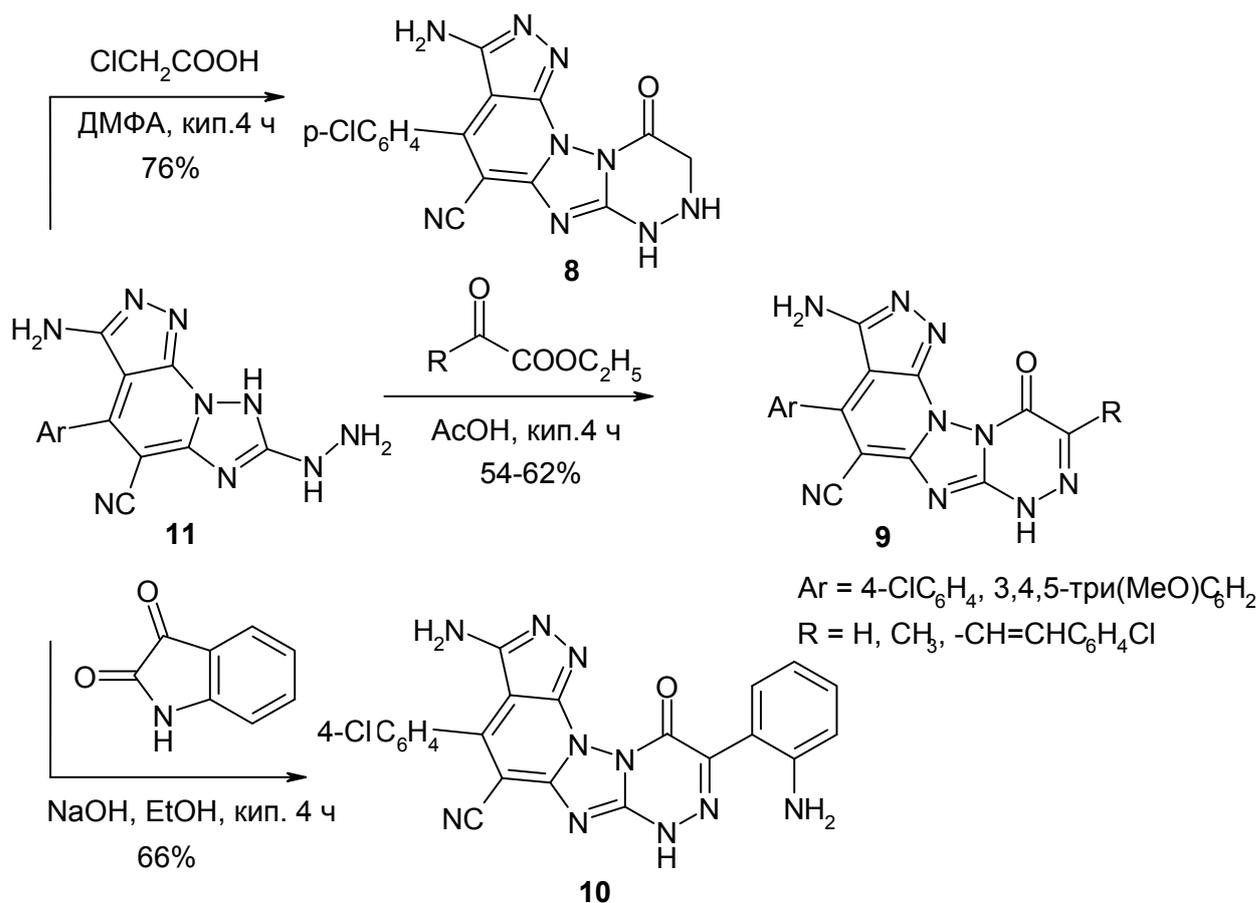
Синтезы по схеме [4+2] при достройке 1,2,4-триазинового цикла к 1,2,4-триазольному. Большинство 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-онов получено по схеме [4+2] с использованием комбинации, при которой для построения 1,2,4-триазинового цикла с азольным реагентом поставляется N-N-C-N-фрагмент. Например, 6-метил-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны **2**, а также их конденсированные аналоги **3** могут быть получены при использовании эфира пировиноградной кислоты в реакции с гидразинотриазолами **4**, **5** [10, 11, 12] (схема 2).

Схема 2



Кроме этого, таким способом получены содержащие фрагмент 1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7(4H)-она сложные полициклические структуры **8-10** при различных вариантах конденсации производных 3-гидразино-1,2,4-триазола **11**. В частности, реакция с эфирами карбоновых кислот приводит к продуктам **9** [13, 14], взаимодействие с монохлоруксусной кислотой позволяет получить полициклическое производное 6,7-дигидро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7(4H)-она **8** [13], а реакция с изатином дает триазоло-1,2,4-триазинон **10** [13] (схема 3).

Схема 3

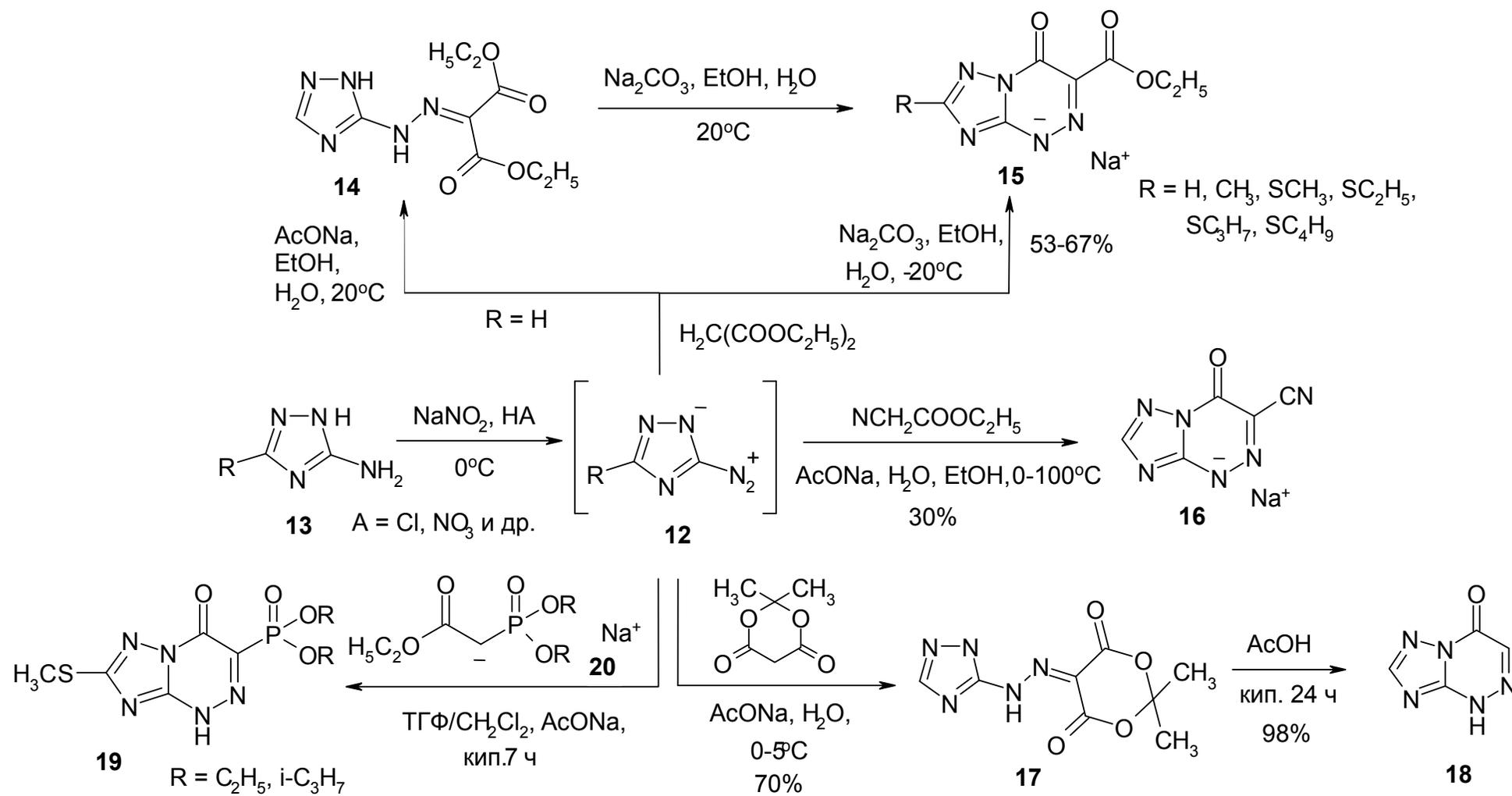


Основным же направлением построения 1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазиновой системы является взаимодействие диазоазолов **12** с СН-активными производными эфиров уксусной кислоты [15, 16, 17, 18, 19] (схема 4). В результате происходит образование азолилгидразонов, циклизующихся в условиях реакции сочетания или после дополнительного нагревания в кислой или щелочной среде. Большой ряд 1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7(4Н)-онов получен при использовании диазо-1,2,4-триазолов и содержащих акцепторные заместители эфиров уксусной кислоты.

Так, при взаимодействии 5-диазо-1,2,4-триазолов **12**, полученных при обработке 5-амино-1,2,4-триазолов **13** азотистой кислотой, с малоновым эфиром получены 1,2,4-триазолилгидразоны **14**, циклизация которых в основных условиях приводит к образованию солей 6-этоксикарбонил-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7(4Н)-онов **15** [15, 16, 17, 20].

Кроме этого, возможно получение циклических продуктов **15** без выделения гидразонов **14** при кипячении реакционной массы или при проведении реакции сочетания в присутствии карбоната натрия и выдержкой при комнатной температуре.

Схема 4



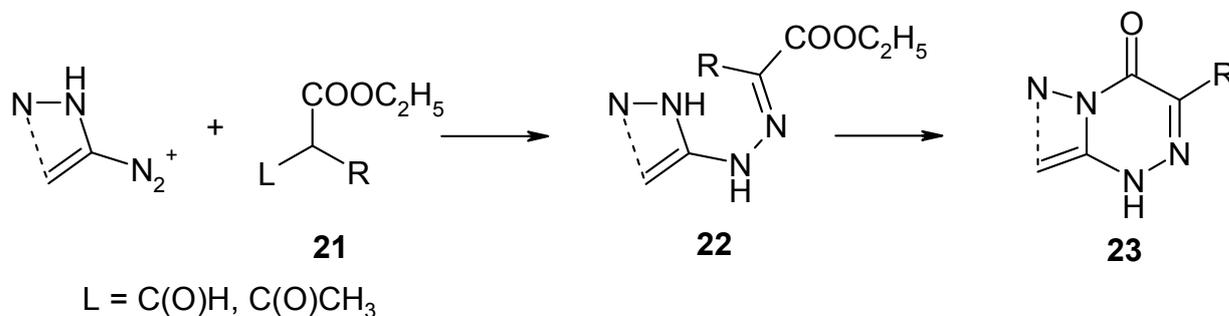
Достаточно высокую реакционную способность проявляет в подобных реакциях циануксусный эфир. Натриевая соль **16** получена без выделения промежуточно образующегося гидразона [15, 21].

Внутримолекулярная циклизация азолилгидразона **17**, полученного с участием кислоты Мельдрума [22], сопровождается гидролизом, декарбоксилированием и приводит к образованию незамещенного 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-она **18**. Данный процесс протекает в мягких условиях и позволяет получать продукт с высоким выходом.

Использование в качестве синтона для построения 1,2,4-триазинового цикла эфиров фосфонуксусной кислоты продемонстрировано в работе [23] на примере синтеза 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-онов **19**. Взаимодействие 3-метилтио-5-диазо-1,2,4-триазола с натриевыми солями СН-активных соединений **20** протекает в смеси ТГФ/дихлорметан в основных условиях за 7 ч.

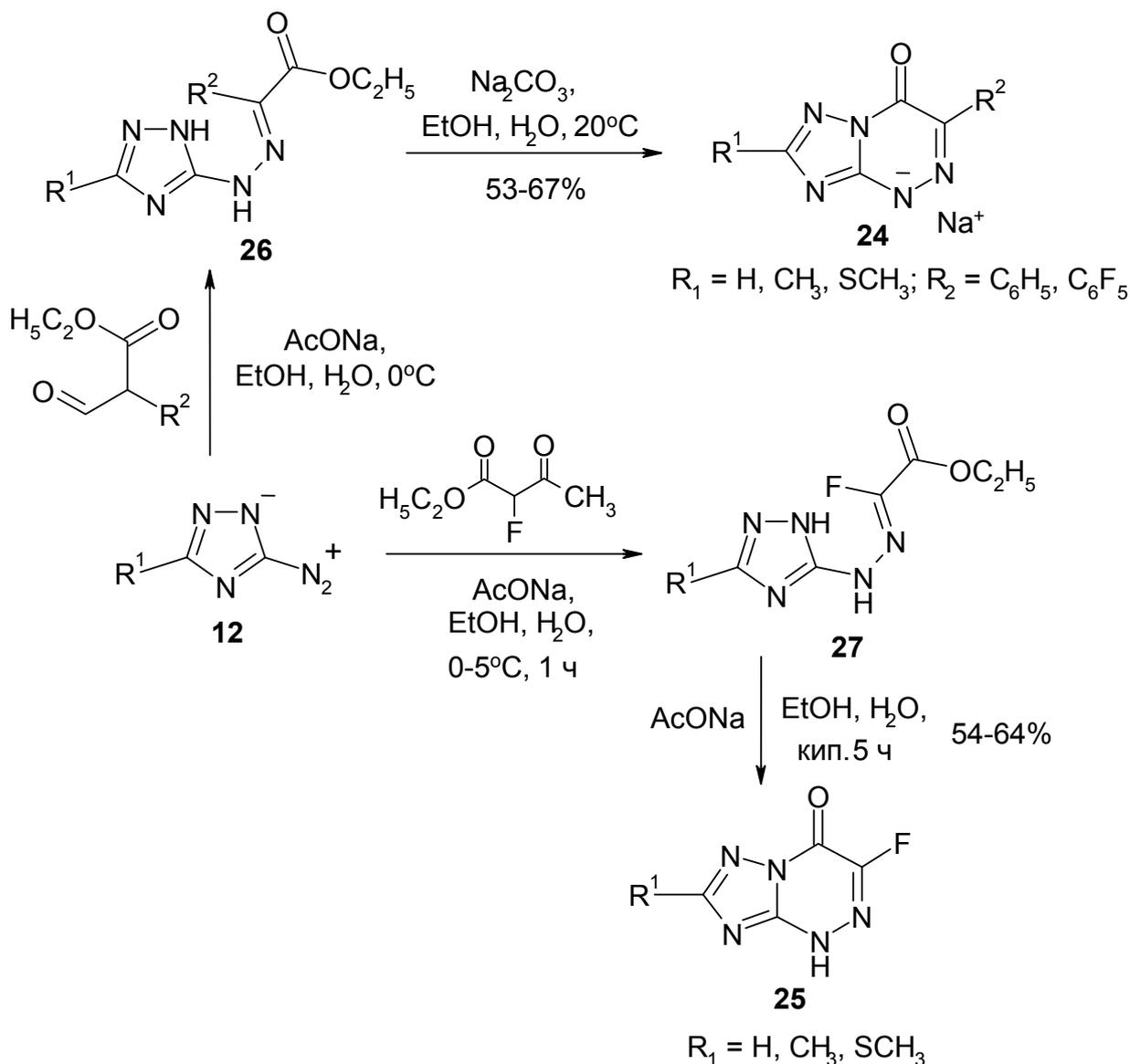
Следует отметить, что не все производные эфира уксусной кислоты гладко реагируют с солями азолилдiazония. Реакционную способность синтона, поставляющего два атома углерода при синтезе азоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-онов по схеме [4+2], возможно повысить введением электрооакцепторных ацильных или этоксикарбонильных групп (L). В условиях реакции азосочетания активированные сложные эфиры **21** легко реагируют с солями азолилдiazония, одновременно теряя группу L. Таким образом, с высокими выходами были получены гидразоны **22** и азоло-1,2,4-триазины **23** [17] (схема 5).

Схема 5



Этот прием, в частности, был использован для получения 6-фенил- и 6-пентафторфенил-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-онов **24**, выделенных в виде натриевых солей [17] (схема 6).

Схема 6

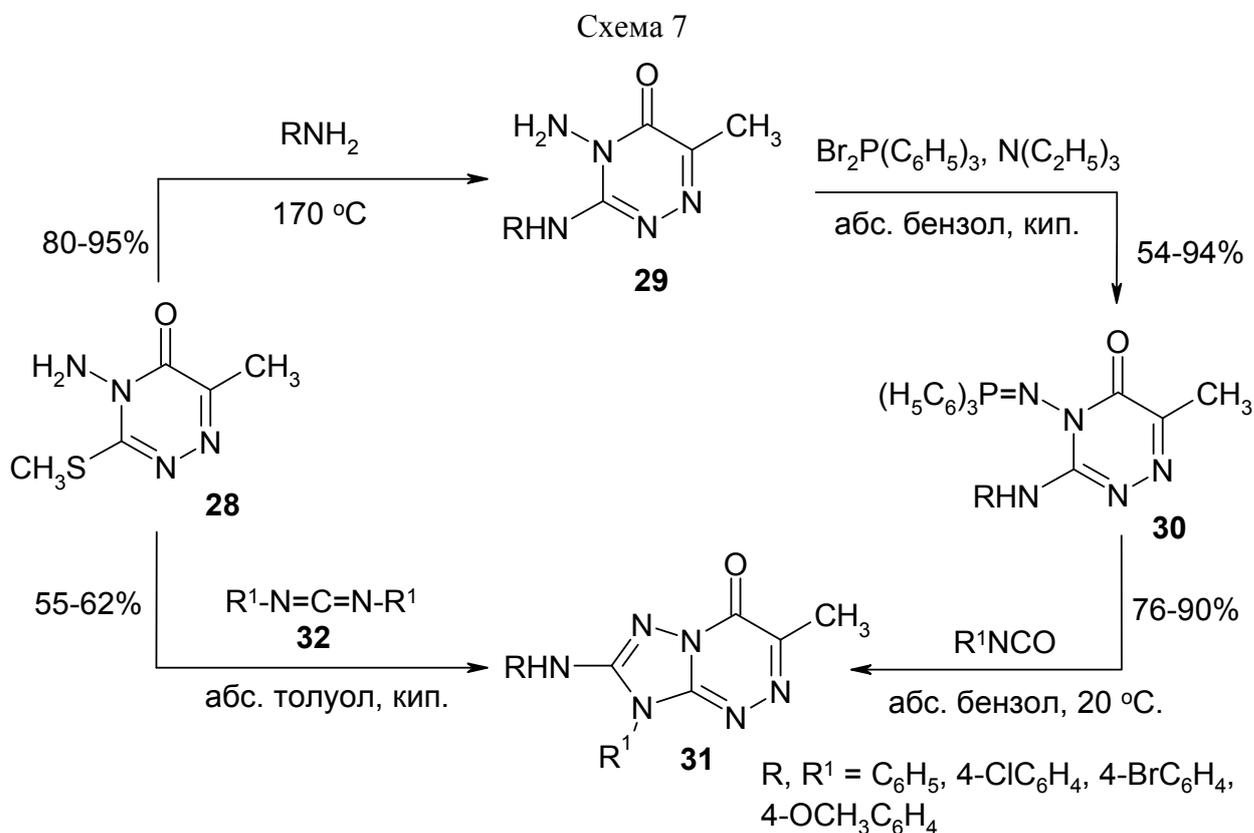


Синтез 6-фтор-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-онов **25** был осуществлен с использованием реакции Яппа-Клингеманна – азосочетанием солей 1,2,4-триазолил-5-дiazония **12** с этил-2-фторацетоацетатом с последующими дезацетилированием и циклизацией [24]. Собственно алкилфторацетаты не вступают в реакции азосочетания из-за пониженной СН-кислотности, поэтому авторы использовали метод активации фторсодержащего синтона ацетильной группой, легко уходящей в условиях азосочетания.

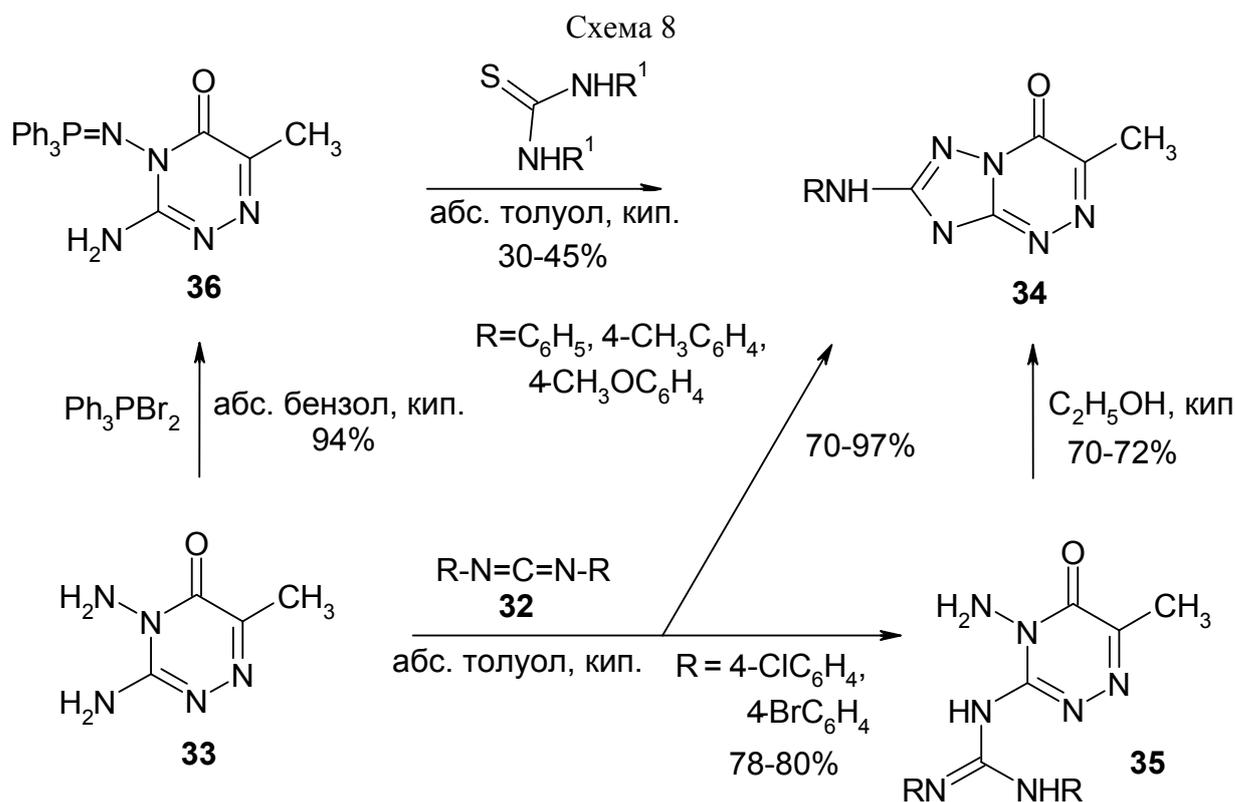
Синтезы на основе дотройки 1,2,4-триазольного цикла к 1,2,4-триазиновому. В ряде случаев для синтеза целевых структур применяется [4+1] циклизация. В частности, в качестве исходного соединения при этом может быть использован 4-амино-3-метилтио-6-метил-1,2,4-триазин-5-он **28** [25]. При нагревании соединения **28** с ариламинами в течение 5 ч при 170 °С были получены с отличными выходами 4-амино-3-ариламино-6-метил-1,2,4-триазин-5-оны **29** (схема 7). Соединения **29** реагируют, в свою очередь, с трифенилфосфиндидбромидом с образованием иминофосфоранов **30**, которые при

действии арилизоцианатов дают целевые 2-ариламино-3-арил-6-метил-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7(4H)-оны **31** с хорошими выходами.

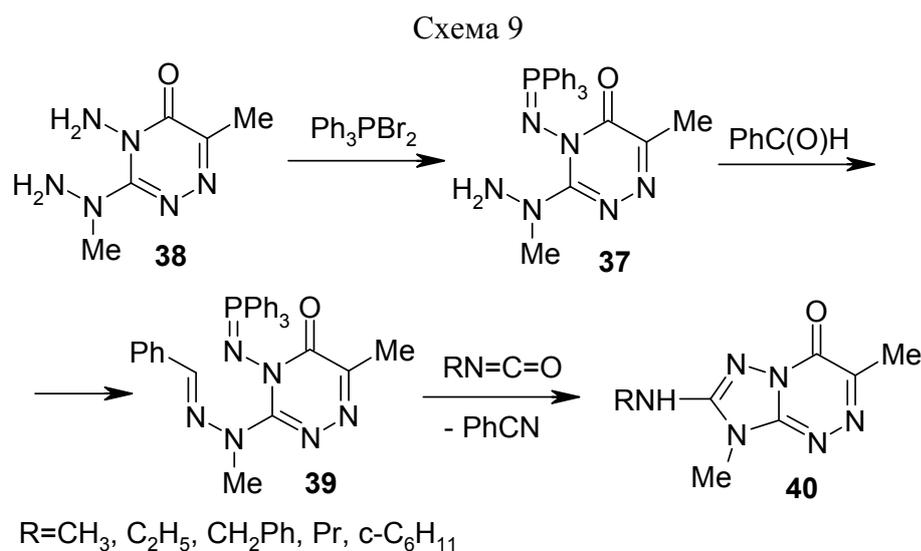
Соединение **31** ($R=R^1=C_6H_5$, 4- BrC_6H_4) было получено также из 4-амино-3-метилтио-6-метил-1,2,4-триазин-5-она **28** более коротким путем при взаимодействии с диарилкарбодимидом **32** (циклизация по типу [3+2]) [26].



При взаимодействии диарилкарбодимидов **32** ($R = C_6H_5, 4-CH_3C_6H_4, 4-CH_3OC_6H_4$) с 3,4-диамино-6-метил-1,2,4-триазин-5(4H)-оном **33** были получены соответствующие 2-ариламино-6-метил-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7(3H)-оны **34** [27] (схема 8). Реакция диарилкарбодимидов **32** (в случае $R = 4-ClC_6H_4, 4-BrC_6H_4$) с 1,2,4-триазином **33** останавливается на стадии гуанидина **35**, который при дополнительном нагревании в этаноле дает соответствующие триазоло-1,2,4-триазины **34**. Второй вариант синтеза соединений **34**: *N*-аминотриазин **33** реагирует с трифенилфосфиндидбромидом в присутствии триэтиламина, в результате чего образуется иминофосфоран **36**, нагревание которого в сухом толуоле с диарилтиомочевинной позволяет получить искомые триазоло-1,2,4-триазины **34** [27].

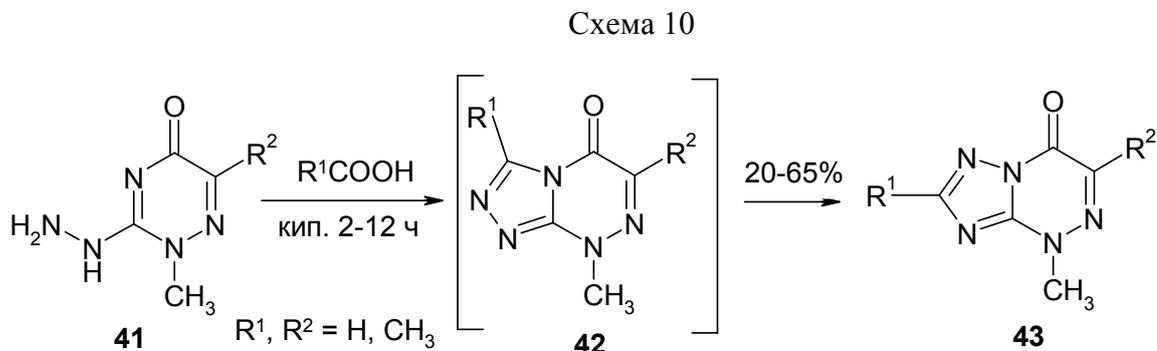


Трифенилфосфинимин **37**, полученный из 4-амино-6-метил-3-(1-метилгидразино)-1,2,3-триазин-5-она **38**, при взаимодействии с бензальдегидом превращается в гидразон **39**, нагревание которого в присутствии алкилизотиоцианатов приводит к образованию 2-алкиламинотриазолотриазинонов **40**, в качестве побочных продуктов образуются трифенилфосфиноксид и бензонитрил [28] (схема 9).

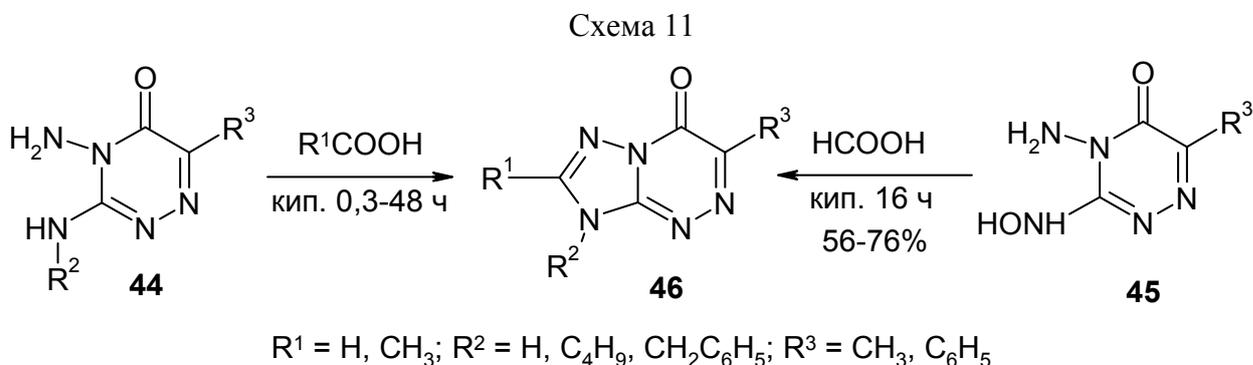


Циклизация 2-метил-3-гидразино-1,2,4-триазин-5(2H)-онов **41** с муравьиной или уксусной кислотой, а также с их ортоэфирами, как C-1 синтонами по схеме [1+4], при

блокированном положении 2 идет исключительно по N-3 атому 1,2,4-триазинового цикла (схема 10). Образующиеся при этом 1,2,4-триазоло[3,4-с]-1,2,4-триазины **42** перегруппировываются в условиях реакции (кислая среда) в 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны **43** [29, 30].

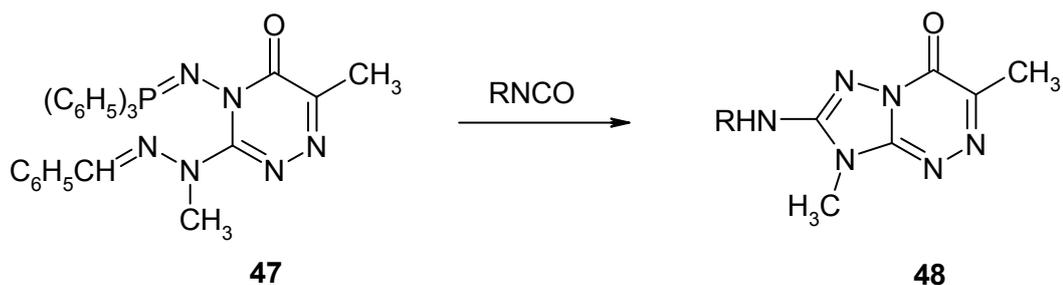


Следующий вариант синтеза по схеме [1+4] представлен реакциями муравьиной, а также уксусной кислоты с 3,4-диамино-6-метил-1,2,4-триазин-5(4Н)-оном **44** и 3-гидроксиламино-4-амино-6- R -1,2,4-триазин-5(4Н)-оном **45** (схема 11). В результате реакции получены 6-метил- и 6-фенил-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-оны **46** [31, 32, 33].



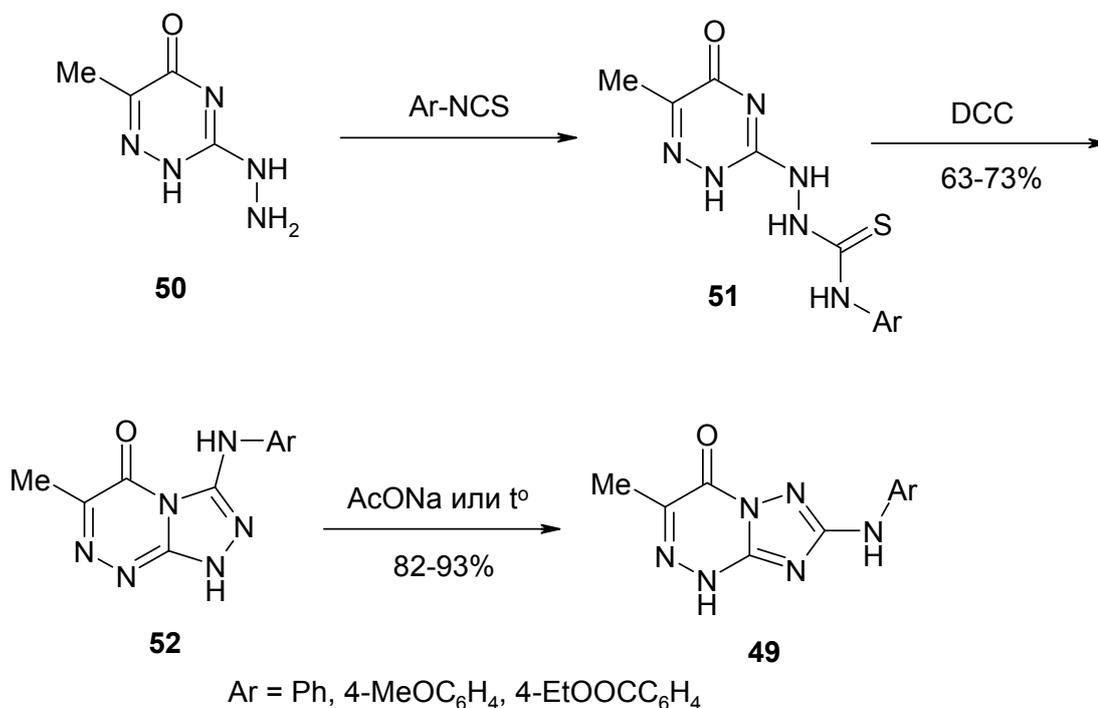
В качестве другого примера синтеза 1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазинов по схеме [1+4] можно привести реакцию аза-Виттига гидразона 1,2,4-триазинона **47**, содержащего иминофосфорановый фрагмент, с алифатическими изоцианатами (схема 12). В результате получены 2-алкиламино-3-метил-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(3Н)-оны **48** [25, 34].

Схема 12



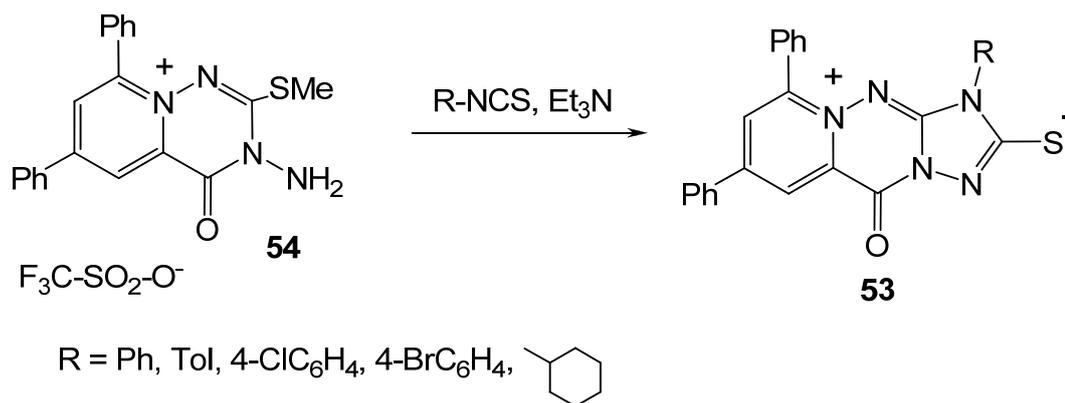
6-Метил-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-оны **49** могут быть получены в результате взаимодействия ароматических изоцианатов с 3-гидразинотриазинонами **50** и последующей циклизации соединений **51** с дальнейшей перегруппировкой промежуточных продуктов **52** [35] (схема 13).

Схема 13



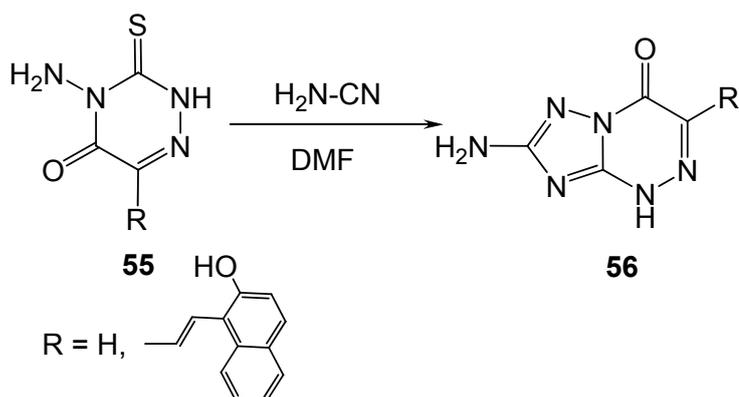
Кроме этого, в литературе описан метод получения бензоаннелированных триазолотриазинов **53** в результате взаимодействия триазинов **54** с изотиоцианатами в присутствии триэтиламина (циклизация по типу [3+2]) [36] (схема 14).

Схема 14



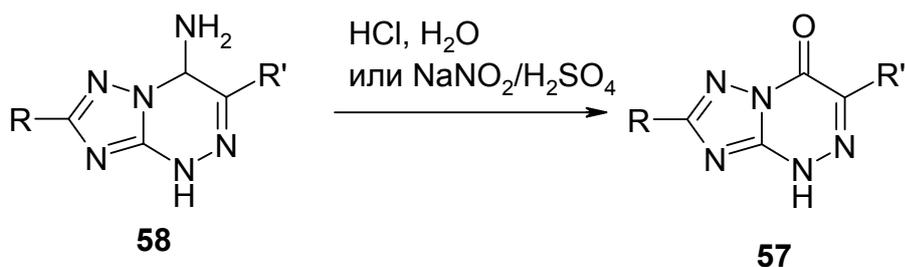
Еще один вариант циклизации по типу [3+2] представлен взаимодействием триазинтионов **55** с цианамидом, в результате чего могут быть получены 2-амино-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7-оны **56** [37] (схема 15).

Схема 15



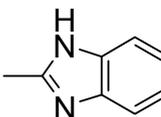
В заключение следует отметить, что получение 1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7-онов **57** также возможно в результате модификации 7-аминопроизводных **58**, в литературе представлен ряд подобных примеров [15, 20, 38, 39] (схема 16).

Схема 16



R = H, SMe, Me

Ar = Ph, 3,5-(CF₃)₂-C₆H₃, C(O)Ph, C(O)NH₂,

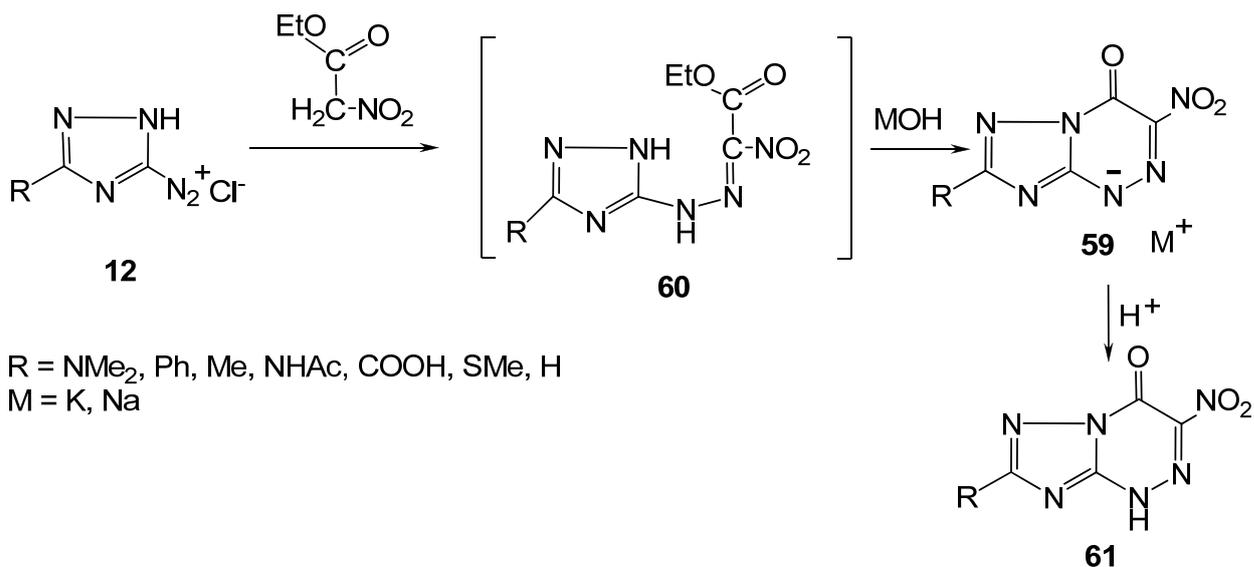


1.2.2 Получение 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазинов

С точки зрения данной работы особый интерес представляют 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазины вследствие структуры целевого препарата, оптимальную схему синтеза которого необходимо выбрать. На кафедре органической химии Уральского политехнического института (в настоящее время УрФУ) разработан ряд методов получения таких нитросоединений [40, 41-49].

Конденсация 3-диазо-1,2,4-триазолов **12** с нитроуксусным эфиром при использовании гидроксида или карбоната натрия в водно-спиртовой смеси сразу в одну стадию приводит к получению солей **59** (схема 17). В реакцию вступают в основном триазолы с донорными заместителями. Реакция идет через стадию гидразона **60** [40, 41, 42, 43, 44, 45].

Схема 17

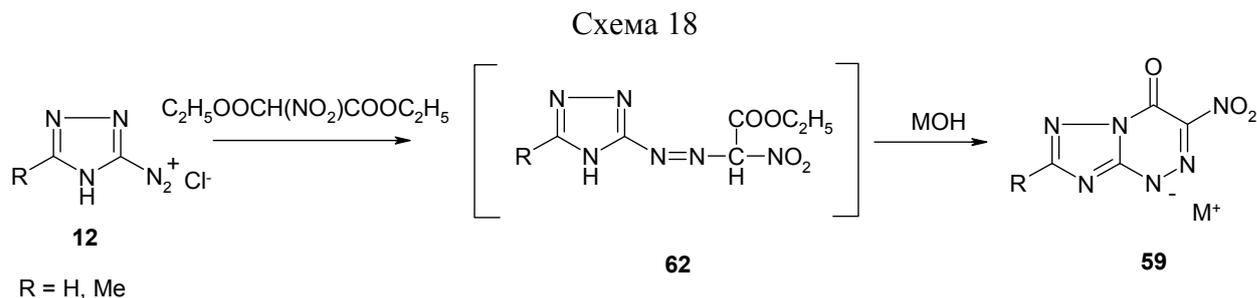


R = NMe₂, Ph, Me, NHAc, COOH, SMe, H

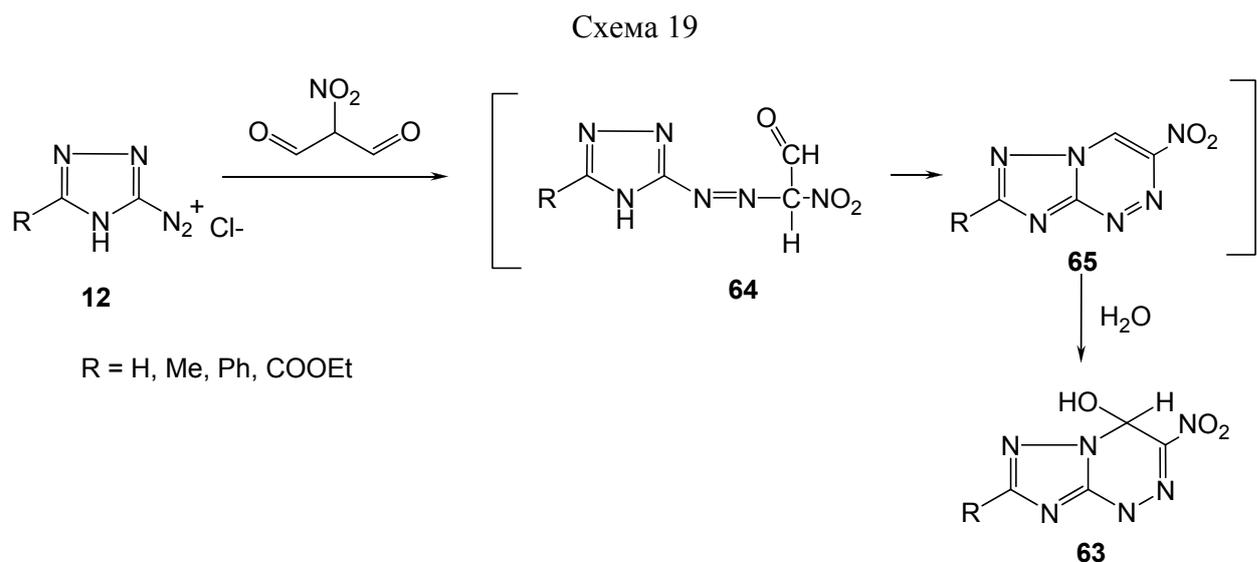
M = K, Na

Обработка кислотой солей **59** позволяет получить *N*-*H*-кислоты **61**.

Для получения солей **59** может быть также использован нитромалоновый эфир [46] (схема 18).

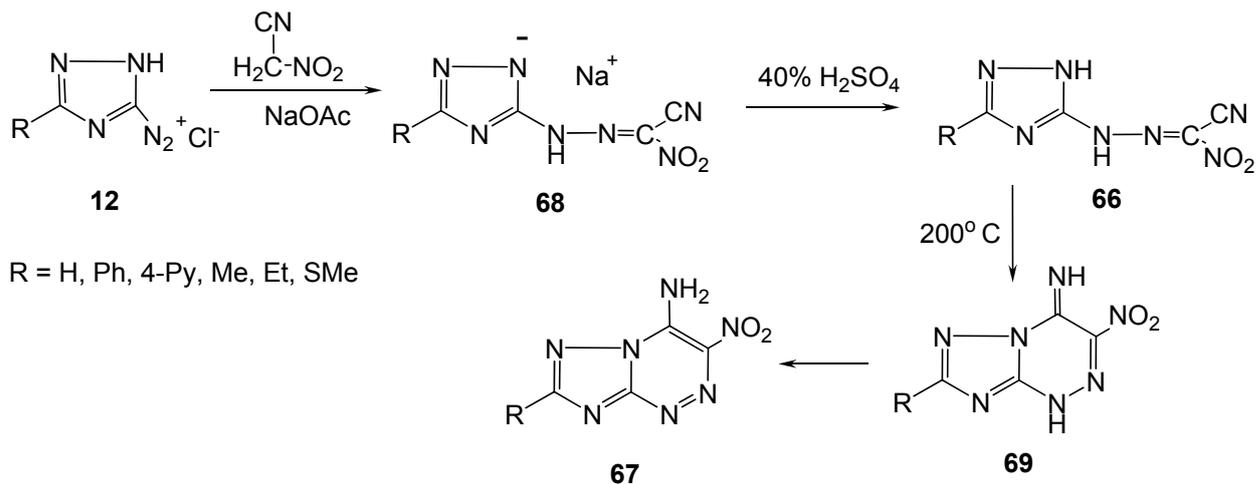


Кроме этого, для получения нитросодержащих триазоло-1,2,4-триазинов возможно использование нитромалнового альдегида. При его взаимодействии с солями диазония **12** в кислой среде получают 6-нитро-7-гидрокси-4,7-дигидроазоло[5,1-с]-1,2,4-триазины **63** [46, 47] (схема 19).



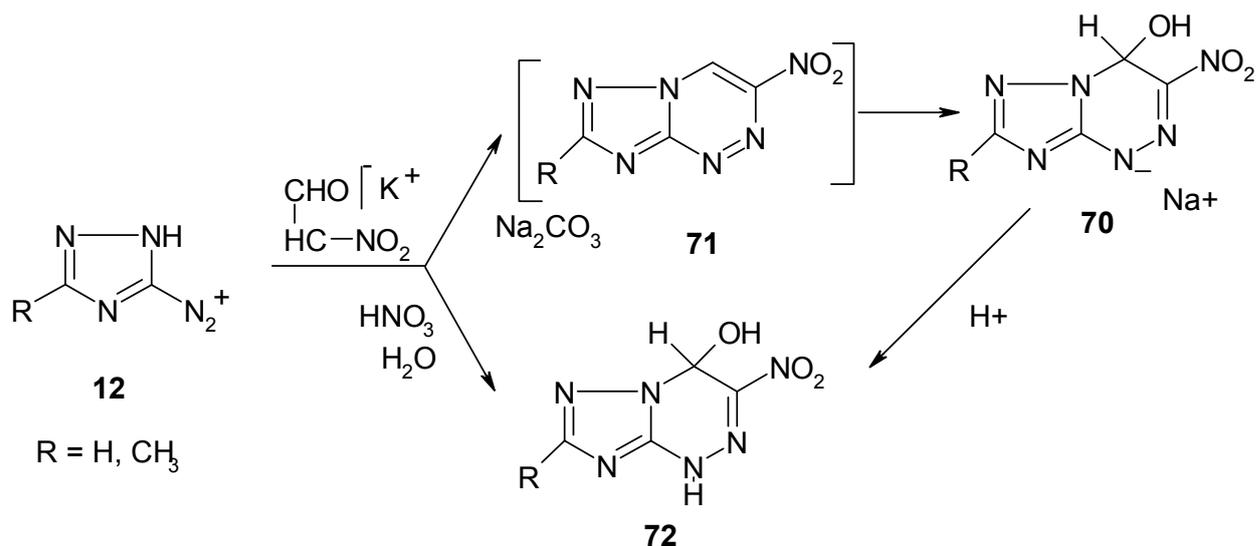
Для построения нитротриазинового цикла также применяется такой многофункциональный синтон, как нитроацетонитрил (НАН). Взаимодействие НАН с диазотриазолами **12** приводит к образованию азолилгидразонов нитрила нитроглиоксалевого кислоты **66**, причем реакция достаточно легко протекает как в кислой, так и в щелочной среде. Реакция циклизации протекает в условиях термоллиза при 180-200 °С с образованием 7-амино-6-нитротриазолотриазинов **67** [48] (схема 20).

Схема 20



Еще один пример C_2 -нитросинтона, который можно использовать для построения нитроазинового цикла – нитроуксусный альдегид (НУА). В отличие от других нитрокарбонильных соединений, нитроуксусный альдегид в свободном виде не существует, используют его в виде калиевой соли или диацетала. Реакционная способность НУА изучена мало, однако альдегидная группа является более реакционноспособной, чем, к примеру, сложноэфирная. При конденсации НУА с диазотриазолами 12 были выделены натриевые соли 6-нитро-7-гидрокси-4,7-дигидротриазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазинов 70, т.е. устойчивые анионные σ -комплексы [49] (схема 21).

Схема 21



1.2.3 Выводы на основе анализа литературных данных

В ходе второго раздела обзора был проведен анализ литературных данных по синтезу 1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазинов-7-онов и 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-

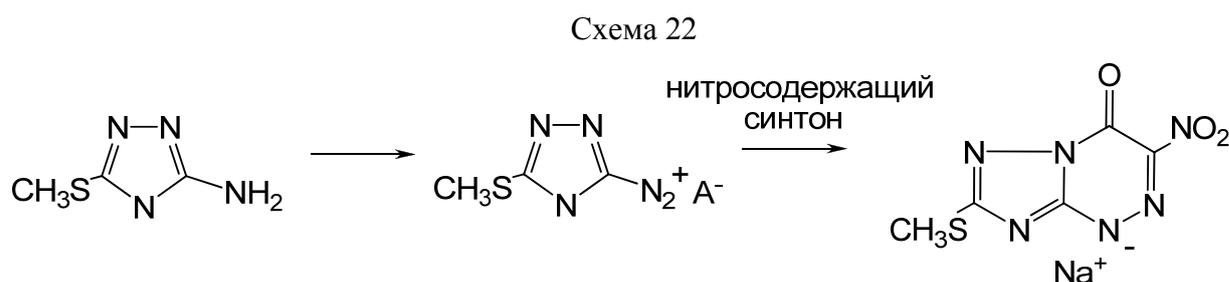
триазинов. Было найдено, что методы получения 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7-онов (а наличие нитрогруппы в 6 положении является принципиально важным с точки зрения данной работы) представлены немногочисленными примерами с использованием в качестве исходных соединений производных 1,2,4-триазола с достройкой 1,2,4-триазинового цикла. Методы получения таких структур на основе производных 1,2,4-триазинов с достройкой триазольного фрагмента в литературе не представлены. Также следует отметить, что синтетические предшественники таких структур, а именно amino- или гидразинофункционализированные 6-нитро-1,2,4-триазин-5-оны также являются неописанными соединениями. Следовательно, реализация в промышленном масштабе синтеза производных 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-7-она с использованием в качестве исходных соединений производных 1,2,4-триазинов выглядит крайне малопривлекательной и ресурсозатратной в связи с необходимостью разработки еще и метода получения исходного 6-нитро-1,2,4-триазин-5-она.

С другой стороны, для различных производных 1,2,4-триазолов, которые представляют значительный интерес благодаря их сферам применения (в частности, они могут использоваться в качестве ингибиторов коррозии [50, 51, 52], фунгицидов [53], лигандов для катионов металлов [54], для получения пленок Ленгмюра-Блоджетт [55], а также в синтезе ряда биологически активных соединений [56, 57]) в литературе представлено значительное количество вариантов синтеза с использованием самых различных исходных соединений, в т.ч. и для 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола (необходимого интермедиата в синтезе «Триазавирин» при получении целевого препарата на основе триазолов). Таким образом, при выборе этого подхода возможно провести поиск оптимального метода синтеза данного промежуточного соединения на основе уже описанных данных, т.е. затраты на проведение данного исследования представляются значительно меньшими.

Таким образом, может быть сделан вывод, что наиболее приемлемый синтетический подход к препарату «Триазавирин» выглядит следующим образом: диазотрование 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола и сочетание, сопровождающееся циклизацией, с нитросодержащим двухуглеродным синтоном. Выбор конкретных условий и реагентов будет представлен в рамках второй главы настоящей работы.

2 Разработка технологии получения субстанции препарата «Триазавирин»

На основании анализа литературных данных и лабораторных исследований, проведенных на кафедре органической и биомолекулярной химии УрФУ, наиболее приемлемой для получения субстанции препарата Триазавирин представляется схема, включающая диазотирование 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола и взаимодействие полученной соли диазония с соответствующим нитросинтоном, поставляющим в триазиновый цикл наряду с нитрогруппой два углеродных атома (схема 22).



В связи с этим для разработки технологии необходимо решить следующие задачи:

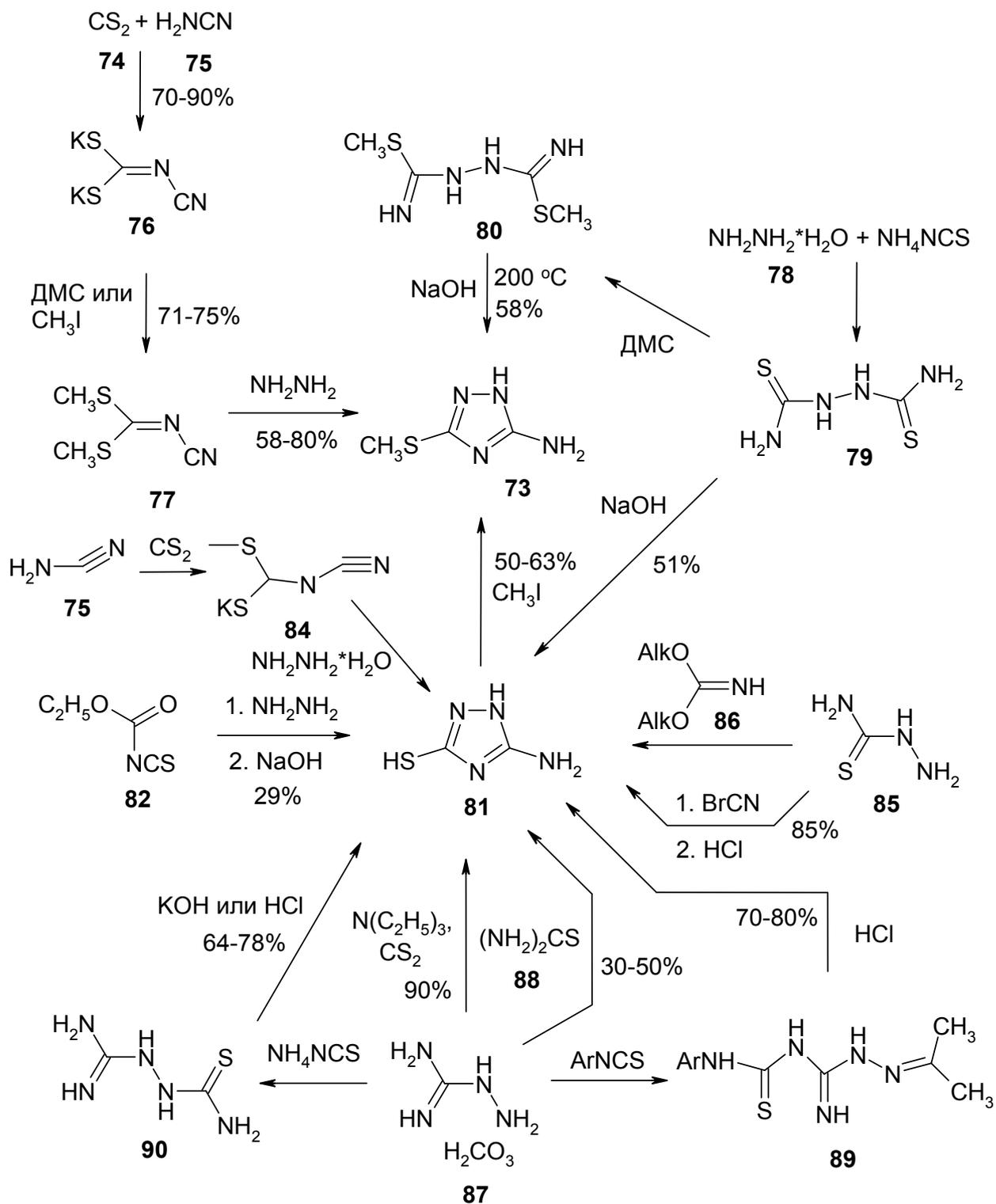
- разработка и оптимизация метода синтеза 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола;
- разработка и оптимизация метода диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола;
- разработка и оптимизация стадии азосочетания 3-диазо-5-метилтио-1,2,4-триазола с получением препарата Триазавирин; выбор оптимального двухуглеродного синтона для данной реакции;
- поиск оптимального метода очистки Триазавирин для получения препарата фармакопейной чистоты;
- разработка технологических схем и аппаратного обеспечения процессов получения всех вышеуказанных полупродуктов и целевого препарата Триазавирин.

2.1 Разработка и оптимизация метода синтеза 3-метилтио-5-амино-1,2,4-триазола

2.1.1 Синтетические подходы к 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазолу

В литературе представлено несколько методов синтеза 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола **73** в результате реакций гетероциклизации (схема 23). В частности, предложено использование в качестве исходных соединений сероуглерода **74** и цианамиды **75**. Образующийся интермедиат **76** был проалкилирован диметилсульфатом [58] или йодистым метилом [59] с образованием соединения **77**. Последующая циклизация с применением гидразина позволяет получить 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазол **73** [60, 61].

Схема 23



Альтернативная схема синтеза предполагает применение гидразингидрата **78** и роданида аммония [62]. Последующие алкилирование диметилсульфатом промежуточного продукта **79** и гетероциклизация в щелочных условиях интермедиата **80** также приводят к целевому продукту.

Следует отметить, что эти два метода синтеза предполагают использование ряда весьма токсичных и горючих соединений (сероуглерод, гидразин и др.), что делает их

малопривлекательными и опасными с точки зрения реализации процесса в промышленном масштабе. Однако, в литературе представлен еще один метод получения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола, заключающийся в алкилировании 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола **81** йодистым метилом [42, 63]. Исходя из этих факторов, а также в связи с широким спектром методов получения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, наиболее предпочтительным выглядит именно этот путь к соединению **73**. Таким образом, для успешного решения поставленных задач необходимо выбрать оптимальный метод синтеза соединения **81**.

Для 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола в литературе представлено значительно большее количество вариантов синтеза по сравнению с 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазолом. В качестве исходного соединения для синтеза может быть использован гидразин **78**. В частности, его взаимодействие с этилоксикарбонилзотиоцианатом **82** с последующей циклизацией в щелочных условиях позволяет получить целевой продукт **81** (схема 23) [64].

Реакция гидразингидрата **78** с роданидом аммония с последующей циклизацией соединения **79** в присутствии NaOH также позволяет получить 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазол **81** [62, 65].

Кроме этого, конденсация сероуглерода **74** с цианамидом **75** с последующим взаимодействием промежуточного продукта **84** с гидразином **78** приводит к получению необходимого меркаптотриазола [66, 67, 68].

Получение 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола **81** возможно и при использовании в качестве исходного соединения тиосемикарбазида **85**. Например, его взаимодействие с эфирами имидоуксусной кислоты **86** приводит к необходимому продукту, хотя и с невысоким выходом [69]. Также взаимодействие тиосемикарбазида **85** с бромцианом с последующей реакцией с соляной кислотой позволяет получить 3-амино-5-меркапто-1,2,4-триазол **81** [70].

Широкий ряд методов получения целевого продукта предложен с использованием в качестве исходного соединения аминогуанидина **87**. В частности, реакция с сероуглеродом **74** в присутствии триэтиламина приводит к 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазолу **81** [71, 72].

Несколько предлагаемых методик предполагают использование конденсации аминогуанидина **87** с тиомочевинной **88** с последующей циклизацией промежуточного продукта в щелочных условиях [63, 73, 74, 75].

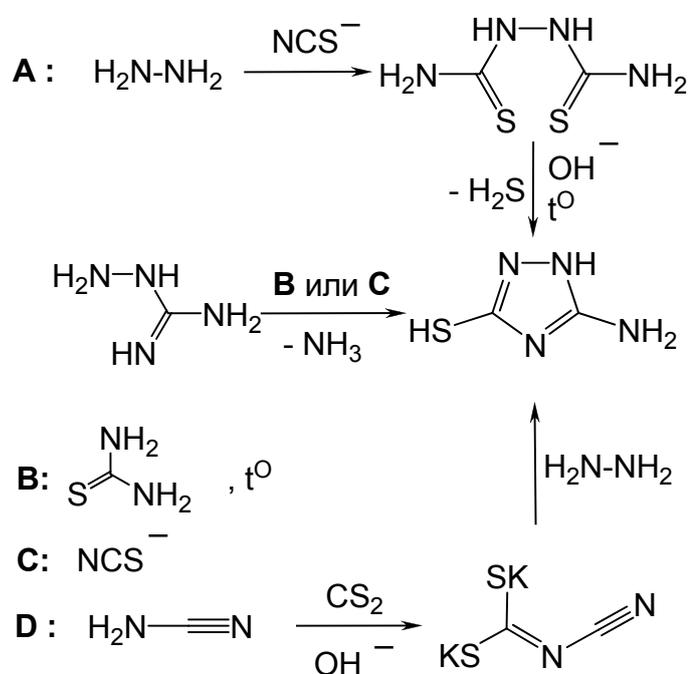
5-Амино-3-меркапто-1,2,4-триазол **81** также может быть получен также в результате взаимодействия аминогуанидина **87** с рядом ароматических изотиоцианатов [72]. Взаимодействие аминогуанидина **87**, например, с фенилизотиоцианатом приводит к продукту **89**, а последующая циклизация позволяет получить 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазол **81** с выходами 70-80% [76].

Также описан синтез целевого продукта с использованием конденсации роданида аммония и карбоната амингуанидина **87** с последующей циклизацией промежуточного продукта **90** в щелочных или кислых условиях [42, 74, 77, 78].

2.1.2 Оптимизация синтеза 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола

Описанные выше методы получения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, представленные в литературе, в ходе работы были проанализированы с точки зрения применения в промышленном производстве, часть подходов была сразу исключена из рассмотрения ввиду применения дорогих, малоустойчивых или опасных реагентов. Наиболее приемлемые методы получения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола представлены на схеме 24.

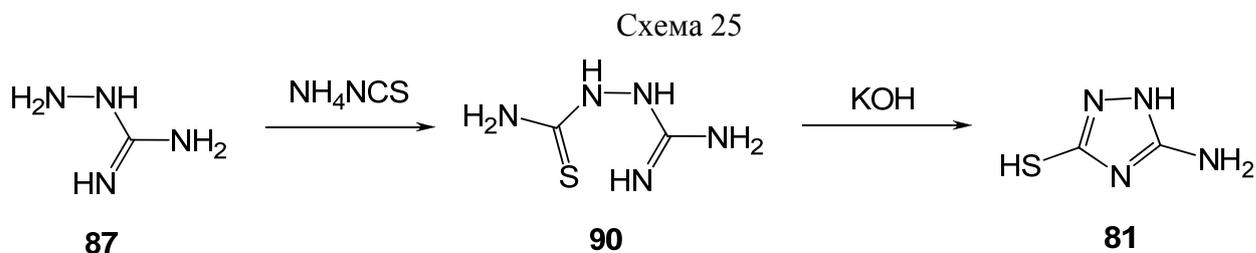
Схема 24



Эти схемы были проанализированы с точки зрения применения в промышленном производстве. В частности, путь D предполагал использование в синтезе высокотоксичного и горючего сероуглерода, а также неустойчивого при хранении и дорогостоящего цианмида, что существенно усложняет утилизацию отходов производства и удорожает аппаратное оформление процесса. Таким образом, данный метод был признан нецелесообразным. Аналогично был отвергнут и путь A, предполагающий использование в качестве исходного вещества высокотоксичного гидразина и образование на второй стадии синтеза большого количества сероводорода. Эксперименты по сплавлению бикарбоната амингуанидина с тиомочевинной (путь B) показали, что в результате взаимодействия происходит затвердевание реакционной массы, что крайне неблагоприятно сказывается на стадии выделения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-

триазола. В связи с этим от использования пути В также пришлось отказаться. Следовательно, на основании анализа токсичности реагентов, продуктов реакций и технологичности и экономичности процессов был избран путь С, представляющий собой конденсацию роданида с аминогуанидином.

В рамках данной работы была выполнена оптимизация методики получения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола из аминогуанидина с NH_4NCS (схема 25) [74, 75].



Процесс состоит из двух стадий: конденсация роданид-аниона и аминогуанидина (в дальнейшем первая стадия) с образованием 4-тиокарбамоиламиногуанидина **90** и гетероциклизация (в дальнейшем вторая стадия) с образованием 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола **81**. Далее представлена первоначальная методика проведения синтеза, использованная в качестве прототипа:

Первая стадия процесса: Смесь карбоната аминогуанидина (500 г, 3.67 моль), роданида аммония (279 г, 3.67 моль) и воды (184 мл) нагревают при перемешивании при температуре 90-100 °С в течение 30 мин (выделяется аммиак). Затем к нагретой до 100 °С смеси при перемешивании начинают по каплям прибавлять концентрированную соляную кислоту (440 мл, 4.84 моль) в течение 2 ч, затем раствор нагревают еще в течение 1 ч при той же температуре (начинается кристаллизация гидрохлорида гуанидилтиомочевины).

Вторая стадия процесса: К реакционной смеси без охлаждения осторожно прибавляют раствор гидроксида калия (235 г, 4.19 моль) в воде (235 мл) при температуре до 100 °С и нагревают до 100 °С в течение 1.5 ч (раствор становится черно-зеленым). Реакционную смесь нейтрализуют концентрированной соляной кислотой (~200 мл) до $\text{pH} = 1$, осадок отделяют фильтрованием, промывают водой и сырой продукт отправляют на стадию очистки. С этой целью его помещают в стакан с водой (500 мл) и при легком нагревании добавляют 50% раствор гидроксида калия до $\text{pH} = 10$. Раствор профильтровывают, к фильтрату добавляют концентрированную соляную кислоту до $\text{pH} = 1$, образовавшийся осадок продукта отделяют фильтрованием, промывают холодной водой и сушат при 100 °С. Выход 272.5 г (2.35 моль, 64%).

В ходе проведенного исследования, кроме масштабирования данной методики получения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, был применен еще ряд изменений,

улучшающих процедуру с точки зрения промышленного использования. Далее представлены изученные факторы оптимизации:

1. Природа катиона в соли роданида (аммоний, калий);
2. Температурный режим первой стадии;
3. Природа кислоты (соляная кислота, серная кислота);
4. Температурный режим второй стадии;
5. Степень чистоты 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола

Данные по оптимизации усреднялись на основании результатов четырех проведенных экспериментов.

Определение влияния природы катиона роданистой соли. В ходе исследования была изучена зависимость выхода 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола от природы катиона роданистой соли в ряду: роданистый аммоний, роданистый калий. Результаты исследований приведены в табл. 5.

Табл. 5

Выходы 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, полученные при использовании роданида аммония или калия

Выход, %									
Роданид аммония					Роданид калия				
1	2	3	4	Сред.	1	2	3	4	Сред.
56,2	54,0	55,2	58,6	56,0	34,3	30,6	32,8	31,9	32,4

Низкий выход 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола при использовании роданида калия объясняется, вероятнее всего, нелетучестью образующегося в результате обменной реакции бикарбоната калия, в отличие от бикарбоната аммония, что способно привести к реакции обратной деструкции промежуточного продукта до исходных соединений. Таким образом, на основании приведенных данных, роданид аммония является более предпочтительным реагентом по сравнению с роданидом калия.

Оптимизация температурного режима первой стадии процесса. Проведение оптимизации процесса на этой стадии имело целью выяснение влияния повышения температуры реакционной массы на выход 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола. При высокой концентрации исходных соединений, а также бикарбоната аммония, образующегося в процессе реакции, максимальная температура, достигаемая в реакционной массе при кипении воды, составляет 105 °С. Таким образом, исследования по оптимизации температурного режима первой стадии синтеза 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола были ограничены диапазонами: 90-95, 95-100, 100-105 °С и температура кипения реакционной массы. Результаты приведены в табл. 6.

Табл. 6

Выходы 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, полученные при различных температурных режимах на первой стадии процесса

№	Температура, °С	Выходы, %				
		1	2	3	4	средний
1	90-95	53,5	51,6	51,3	52,2	52,1
2	95-100	55,5	55,8	53,4	54,5	54,1
3	100-105	57,2	56,5	57,9	56,5	57,0
4	Кипение	59,2	61,2	59,6	59,0	59,8

Таким образом, повышение температуры первой стадии до температуры кипения реакционной смеси приводит к некоторому стабильному повышению выхода 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, не нуждается в специальном терморегулировании и, таким образом, является наиболее предпочтительным температурным режимом первой стадии процесса для промышленного использования.

Влияние природы используемой кислоты на выход 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола. Исследования влияния природы кислоты показало, что использование соляной кислоты обуславливает ряд факторов опасности для персонала и коррозии металлических конструкций технологического оборудования. Замена соляной кислоты серной позволяет исключить действие паров HCl на персонал и оборудование. В экспериментах по оптимизации процесса было использовано количество двухосновной серной кислоты, эквивалентное количеству соляной кислоты, применяемому ранее с учетом количества воды, присутствующему в серной и соляной кислотах. Результаты экспериментов приведены в табл. 7.

Табл. 7

Выходы 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, полученные при использовании соляной и серной кислот на первой химической стадии синтеза

Выход, %									
Соляная кислота					Серная кислота				
1	2	3	4	Сред.	1	2	3	4	Сред.
56,3	55,8	56,8	57,1	56,5	56,2	56,7	55,5	56,5	56,2

Установлено, что при переходе от соляной к серной кислоте имеет место незначительное снижение выхода продукта, однако, с точки зрения безопасности работы персонала и сохранности оборудования данная замена является важным параметром оптимизации процесса получения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола.

Оптимизация температурного режима второй стадии синтеза. Исследование влияния температуры реакционной смеси на выход целевого полупродукта проводилось в двух условиях: при 100-110 °С и при кипении реакционной массы (110 °С). Результаты синтеза при этих условиях приведены в табл. 8.

Табл. 8

Выходы 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, полученные при различных температурных режимах на второй стадии процесса

№	Температура, °С	Выходы, %				
		1	2	3	4	Средний
1	100-105	55,7	55,0	55,2	54,4	55,0
2	Кипение (110)	59,4	60,0	60,3	59,7	59,9

Из приведенных результатов видно, что проведение второй стадии синтеза при кипении стабильно повышает производительность процесса. Таким образом, проведение второй стадии процесса при кипячении оказалось более предпочтительным.

Оптимизация стадии очистки 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола. В этой части исследования варьировалось количество щелочно-кислотных переосаждений целевого продукта. Данные элементного анализа полученных образцов представлены в табл. 9.

Табл. 9

Данные элементного анализа 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола при одно- и двукратном переосаждении

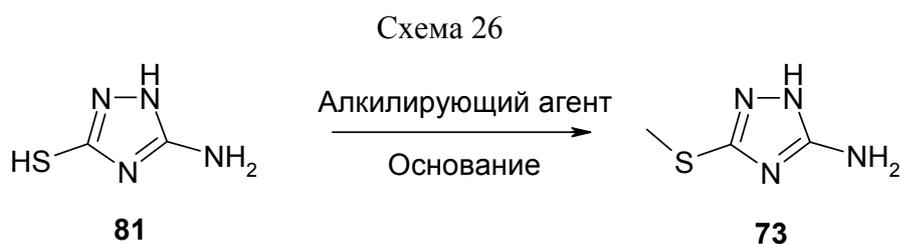
№	Количество переосаждений	Найдено, %		
		С	Н	N
1	Вычисленные значения	20,68	3,47	48,24
2	Однократное	21,25	3,67	48,56
3	Однократное	22,20	3,94	48,28
4	Однократное	20,93	4,02	49,10
5	Однократное	21,40	4,40	48,82
6	Однократное, среднее	21,45	4,01	48,69
7	Δ (выч – средн)	-0,77	-0,54	-0,45
8	Двукратное	20,75	3,54	48,43
9	Двукратное	20,84	3,61	48,33
10	Двукратное	20,51	3,66	48,21
11	Двукратное	20,60	3,37	48,18
12	Двукратное, среднее	20,68	3,55	48,29

Согласно приведенным данным, двукратное переосаждение 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола является достаточным для получения продукта требуемого качества.

2.1.3 Оптимизация синтеза 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола

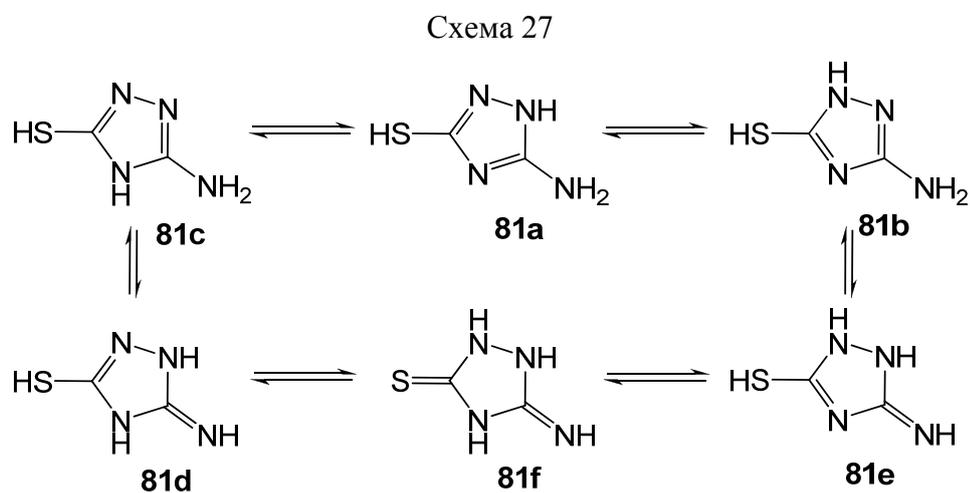
В ходе разработки технологии были выполнены исследования оптимизации S-алкилирования 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола **81** (схема 26). Наиболее важными для оптимизации синтеза 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола являются следующие факторы:

1. Природа основания для алкилирования
2. Природа растворителя и алкилирующего реагента



Выбор основания для проведения синтеза 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола.

Выбор основания для алкилирования 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола определяет региоселективность реакции, поскольку данное соединение находится в нескольких таутомерных формах, из которых основной является структура **81f** [79] (схема 27).



Создание оптимальных кислотно-основных условий является важным фактором избирательного алкилирования. С целью выявления оптимальных условий алкилирования было проведено кислотно-основное титрование иминотиоуразола (рис. 1, табл. 10, схема 28).

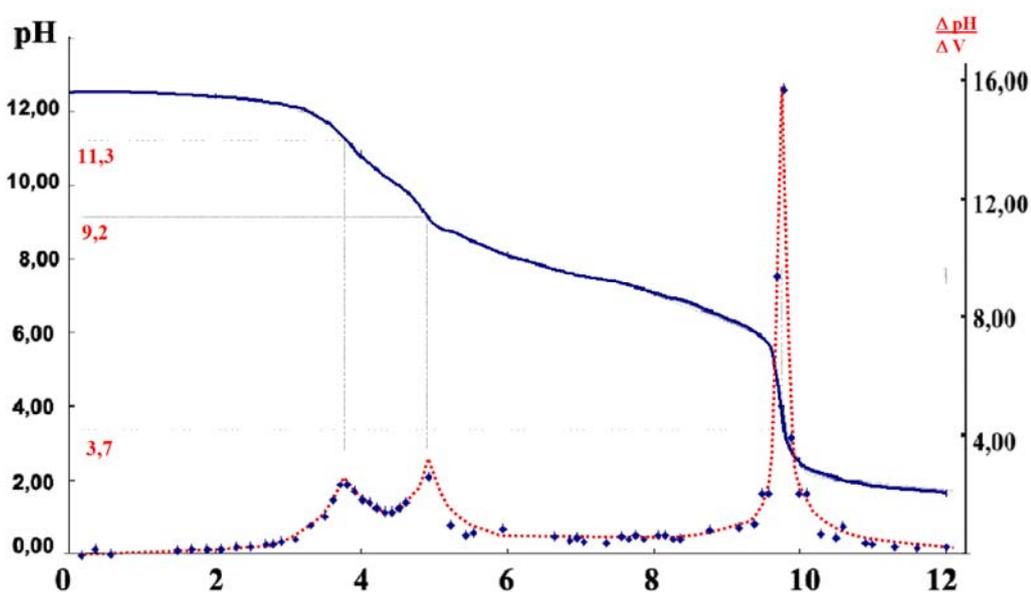
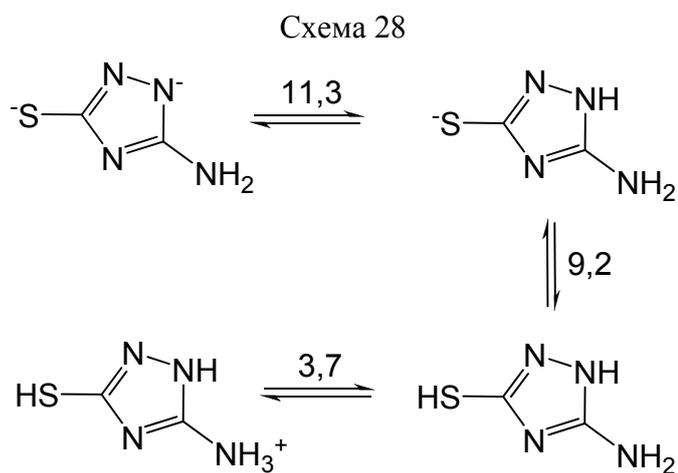


Рис. 1. Результаты титрования щелочного раствора
5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола **81** 0,01 М соляной кислотой

Табл. 10

Результаты титрования щелочного раствора 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола

V (HCl), мл	pH	Δ pH	Δ V	Δ pH/ΔV (HCl)
1	2	3	4	5
0	12,53	-	-	-
0,3	12,55	-0,02	0,3	-0,067
0,7	12,56	-0,01	0,4	-0,025
1,6	12,48	0,08	0,9	0,089
1,8	12,45	0,03	0,2	0,150
2,0	12,42	0,03	0,2	0,150
2,2	12,39	0,03	0,2	0,150
2,4	12,35	0,04	0,2	0,200

Продолжение табл. 10

1	2	3	4	5
2,6	12,31	0,04	0,2	0,200
2,8	12,25	0,06	0,2	0,300
2,9	12,22	0,03	0,1	0,300
3,0	12,18	0,04	0,1	0,400
3,2	12,08	0,10	0,2	0,500
3,4	11,89	0,19	0,2	0,950
3,6	11,64	0,25	0,2	1,250
3,7	11,46	0,18	0,1	1,800
3,8	11,23	0,23	0,1	2,300
3,9	11,00	0,23	0,1	2,300
4,0	10,79	0,21	0,1	2,100
4,1	10,61	0,18	0,1	1,800
4,2	10,44	0,17	0,1	1,700
4,3	10,29	0,15	0,1	1,500
4,4	10,15	0,14	0,1	1,400
4,5	10,01	0,14	0,1	1,400
4,6	9,86	0,15	0,1	1,500
4,7	9,69	0,17	0,1	1,700
5,0	8,95	0,74	0,3	2,467
5,3	8,70	0,25	0,3	0,833
5,5	8,52	0,18	0,2	0,900
5,6	8,44	0,08	0,1	0,800
6,0	8,11	0,33	0,4	0,825
6,7	7,70	0,41	0,7	0,586
6,9	7,61	0,09	0,2	0,450
7,0	7,56	0,05	0,1	0,500
7,1	7,52	0,04	0,1	0,400
7,4	7,42	0,10	0,3	0,333
7,6	7,31	0,11	0,2	0,550
7,7	7,26	0,05	0,1	0,500
7,8	7,20	0,06	0,1	0,600
7,9	7,15	0,05	0,1	0,500
8,1	7,03	0,12	0,2	0,600
8,2	6,97	0,06	0,1	0,600
8,3	6,92	0,05	0,1	0,500
8,4	6,87	0,05	0,1	0,500
8,8	6,55	0,32	0,4	0,800
9,2	6,20	0,35	0,4	0,875
9,4	6,00	0,20	0,2	1,000
9,5	5,80	0,20	0,1	2,000

Продолжение табл. 10

1	2	3	4	5
9,6	5,60	0,20	0,1	2,000
9,7	4,66	0,94	0,1	9,400
9,8	3,09	1,57	0,1	15,700
9,9	2,70	0,39	0,1	3,900
10,0	2,50	0,20	0,1	2,000
10,1	2,30	0,20	0,1	2,000
10,3	2,17	0,13	0,2	0,650
10,5	2,07	0,10	0,2	0,500
10,6	1,98	0,09	0,1	0,900
10,9	1,87	0,11	0,3	0,367
11,0	1,84	0,03	0,1	0,300
11,3	1,78	0,06	0,3	0,200
11,6	1,73	0,05	0,3	0,167
12,0	1,65	0,08	0,4	0,200

Таким образом, региоселективное алкилирование 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола необходимо осуществлять в диапазоне pH от 9 до 10, в присутствии триэтиламина, гидроксидов натрия или калия [80].

Выбор растворителя и алкилирующего агента. Лабораторный метод получения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола предполагает использование в качестве алкилирующего агента йодистого метила в присутствии гидроксида натрия в качестве основания в водно-этанольной смеси, при этом методика синтеза целевого продукта выглядит следующим образом [63]:

В колбу загружают 80 г (0.69 моль) 3-амино-5-меркапто-1,2,4-триазола, раствор 30 г (0.75 моль) гидроксида натрия в 800 мл воды и 320 мл этанола. Смесь перемешивают до полного растворения осадка, затем по каплям прибавляют 50 мл (0.803 моль) йодистого метила, поддерживая температуру внутри колбы не выше 40 °С. Раствор перемешивают 1.5-2 ч при комнатной температуре, профильтровывают, фильтрат концентрируют на 2/3 объема. Остаток оставляют на ночь при комнатной температуре, выпавший осадок отфильтровывают, сушат, кристаллизуют из этанола. Выход 45.7 г (0.31 моль, 51%).

Нами было установлено, что масштабирование этого синтеза при температуре 20 – 40 °С приводило к целевому 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазолу с выходами до 56% в случае использования в качестве оснований гидроксидов натрия или калия и до 62% при использовании триэтиламина (табл. 11). Однако, для получения продукта приемлемого качества в обязательном порядке требовалось проведение реакции в этаноле, а не в воде или водно-этанольной смеси, что обуславливает необходимость упаривания реакционной массы для выделения продукта. Кроме этого, следует отметить высокую стоимость

йодистого метила и триэтиламина. Также использование йодистого метила потенциально может являться причиной загрязнения продукта иодидами, т.е. возникает необходимость контроля их содержания. Таким образом, для промышленного производства данный метод был признан неэффективным.

Для установления возможности замены метилирующего агента в ходе исследования были опробованы диметилсульфат и метил-*n*-толуолсульфонат. Попытки использовать метил-*n*-толуолсульфонат как метилирующий агент при применении в качестве оснований триэтиламина в этаноле, NaOH или KOH в воде или в водно-этанольных смесях показали его непригодность для данной реакции, анализ реакционной массы соответствовал смеси исходных компонентов (табл. 11).

В ходе исследования нами был разработан метод алкилирования 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола дешевым и селективным метилирующим агентом диметилсульфатом (табл. 11). Установлено, что при *S*-метилировании в разработанных оптимальных условиях используются обе метильные группы ДМС, что в свою очередь позволяет проводить взаимодействие при мольном соотношении реагентов триазол : диметилсульфат : KOH = 2 : 1 : 2. Конверсия реагентов в этих условиях близка к количественной, что позволяет получать целевой метилтриазол высокой чистоты, не требующий дополнительной очистки с использованием органических растворителей с выходом около 60%, сопоставимым с таковым при использовании более дорогого йодистого метила в качестве алкилирующего агента. Следует отметить, что ранее в литературе подобный метод метилирования 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола описан не был.

Сводная таблица результатов исследования способов
получения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола

Метилирующий реагент	Основание	Растворитель	Выделение и очистка	Результат
1	2	3	4	5
Йодистый метил	Гидроксид калия	Вода	Осадок, промывка на фильтре	Примеси KI, выход 62%
		Вода +этанол	Осадок, промывка на фильтре	Примеси KI, выход 56%
		Этанол	Раствор, упаривание, осаждение хлороформом	Выход 56%, товарное качество
	Гидроксид натрия	Вода	Осадок, промывка на фильтре	Примеси NaI, выход 60%
		Вода+этанол	Осадок, промывка на фильтре	Примеси NaI, выход 58%
		Этанол	Раствор, упаривание, осаждение хлороформом	Выход 56%, товарное качество
	Триэтил-амин	Вода	Суспензия, промывка на фильтре	Выход 5-7%, примеси не изучались
		Вода+этанол	Раствор с небольшим количеством осадка, фильтрование осадка, упаривание и переосаждение раствора	В осадке продукт не обнаружен. При переосаждении выход 11%, примеси.
		Этанол	Раствор, упаривание, осаждение хлороформом	Выход 62%, товарное качество

1	2	3	4	5
Диметилсульфат	Гидроксид калия	Вода	Осадок, промывка на фильтре	Примесь метилсульфата (4% мол.), выход 45%
		Вода +Спирт	Осадок, промывка на фильтре	Выход 60%, товарное качество
		Спирт	Раствор вязкий, упаривание, осаждение хлороформом	Примесь метилсульфата (10% мол.), выход 59%
	Гидроксид натрия	Вода	Осадок, промывка на фильтре	Примесь метилсульфата (4% мол.), выход 45%
		Вода +Спирт	Осадок, промывка на фильтре	Примесь метилсульфата (4% мол.), выход 59%
		Спирт	Раствор вязкий, упаривание, осаждение хлороформом	Примесь метилсульфата (10% мол.), выход 59%
	Триэтил-амин	Вода	Суспензия, промывка на фильтре	Выход 5-7%, примеси не изучались
		Вода +Спирт	Раствор с небольшим количеством осадка, фильтрование осадка, упаривание и переосаждение раствора	В осадке продукт не обнаружен. При переосаждении выход 11%, примеси.
		Спирт	Раствор, упаривание, осаждение хлороформом	Выход 32%, примеси метилсульфата

1	2	3	4	5
Метил- <i>n</i> -толуолсульфонат	Гидроксид калия	Вода	Суспензия, тепловой эффект отсутствует	Отсутствие продукта
		Вода+этанол	Осадок, фильтрация, упаривание,	Отсутствие продукта
		Этанол	раствор	Отсутствие продукта
	Гидроксид натрия	Вода	Суспензия, тепловой эффект отсутствует	Отсутствие продукта
		Вода+этанол	-	-
		Этанол	-	-
	Триэтил-амин	Вода	-	-
		Вода+этанол	-	-
		Этанол	Раствор, тепловой эффект отсутствует	Отсутствие продукта

В ходе дальнейших опытов было найдено, что увеличение количества диметилсульфата и щелочи по отношению к 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазолу не приводит к увеличению выхода целевого продукта. Кроме этого, качество 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола снижалось, для получения продукта необходимого качества требовалась дополнительная очистка. Использование более дешевой натриевой щелочи приводило в сопоставимых условиях к более низким выходам и некоторому снижению чистоты целевого триазола, чем при использовании едкого кали.

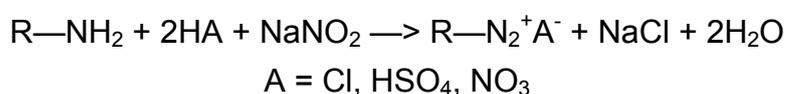
Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что оптимальным является использование диметилсульфата в присутствии КОН в водно-этанольной среде (50% этанола (об.)) при мольном соотношении 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазол: диметилсульфат : КОН = 2 : 1 : 2. Оптимальная температура 40 °С. При повышении температуры реакционной массы выше 50 °С наблюдалось ухудшение качества конечного продукта, были зафиксированы изомерные продукты метилирования 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола. Повышение содержания этанола в растворителе выше 50% приводило к снижению выхода продукта вследствие повышения его растворимости, а понижение – к снижению чистоты продукта.

2.2 Оптимизация стадии diazotирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола

2.2.1 Промышленное использование реакции diazotирования

Ввиду использования в ходе получения Триазавирина реакции diazotирования, имеющей ряд особенностей и нечасто применяемой в производстве, далее приведены краткие литературные сведения по использованию данной реакции для получения продуктов в промышленном масштабе.

Diazotирование представляет собой взаимодействие ароматических аминов с азотистой кислотой с образованием ароматического diazosоединения [19, 81, 82, 83, 84]. Обычно при diazotировании пользуются нитритом натрия в присутствии избытка неорганической кислоты (могут быть использованы, например, соляная, серная или азотная кислоты):



Реакция diazotирования была открыта в 1858 г. Петером Гриссом. Diazotирование используют в производстве ряда соединений ароматического ряда, например азокрасителей, а также некоторых лекарственных препаратов (салазопиридазин, дакарбазин и др.). Реакции солей diaзония с выделением азота используют при региоселективном получении ароматических галогенопроизводных (например, 2,4-дихлортолуола), а также для введения атома йода в ароматическое ядро при отсутствии электронодонорных заместителей (например, в синтезе рентгеноконтрастных средств).

Diazotирование имеет ряд особенностей, которые необходимо учитывать при проведении данной реакции:

1. Избыток кислоты на 1 моль амина должен быть не менее 2.5-3 молей. В случае недостатка кислоты возникает дефицит нитрозирующего агента и непрореагировавший амин вступает в реакцию *N*- или *C*-азосочетания. Азоаминосоединение (триазен) при добавлении кислоты расщепляется на исходные компоненты. В случае образования азосоединения реакция обычно является необратимой и, вследствие этого, чистый целевой продукт получить при этом не удастся.
2. Количество нитрита натрия должно быть близко к расчетному. Его недостаток ведет к получению диарилтриазена, избыток приводит к частичному замещению diaзониевой группы на нитрогруппу, давая соответствующую примесь.
3. Реакция протекает с выделением большого количества тепла и проводится при температуре не выше 5 °С. Температурные ограничения связаны с тем, что соли diaзония очень чувствительны к нагреванию и при повышении температуры

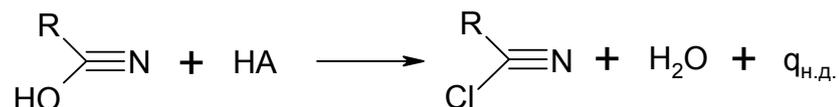
разлагаются до фенолов. В свою очередь, фенолы могут вступать в реакцию с солями диазония с образованием азосоединений. В результате этого раствор соли диазония готовят непосредственно перед использованием в том же отделении цеха.

Для расчета теплового эффекта диазотирования было предложено разделить процесс на несколько реакций [85]. К ним относятся:

а) Разложение соли:



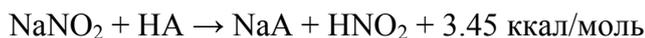
б) Нейтрализация диазогидратов:



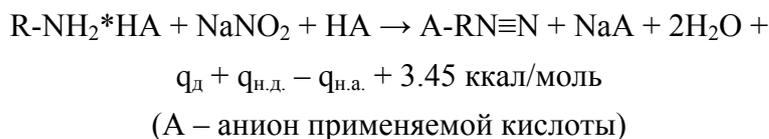
в) Диазотирование:



г) Разложение нитрита натрия используемой кислотой:



Итоговое суммарное уравнение реакции:



Таким образом, тепловой эффект диазотирования (в кДж) определяется следующим образом:

$$Q_{\text{р-и}} = 1000 \cdot 4,19 \cdot G \cdot ((q_{\text{д}} + q_{\text{н.д.}} - q_{\text{н.а.}}) + 3.45\delta) / M, \text{ где:}$$

G – количество загружаемого амина, кг;

$q_{\text{д}}$ - теплота диазотирования, ккал/моль;

$q_{\text{н.д.}}$ – теплота нейтрализации диазогидратов, ккал/моль;

$q_{\text{н.а.}}$ – теплота нейтрализации амина, ккал/моль;

δ – избыток нитрита натрия, % от теории;

M – мольная масса исходного амина, кг/моль;

В табл. 12 приведены данные, определенные экспериментально ранее и значения теплот диазотирования для некоторых ароматических аминов (в ходе этих опытов использовалась соляная кислота).

Табл. 12

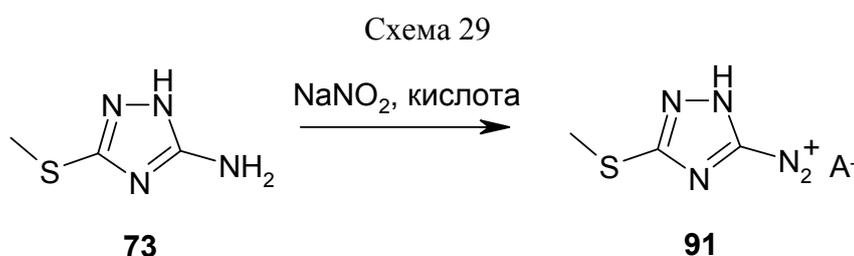
Исходное аминосоединение	Q _{на} , ккал/моль	Q _{нд} , ккал/моль	Q _д , ккал/моль	Теплота реакции, кДж/моль амина
Анилин	7,40	11,68	18,52	109,99
<i>o</i> -Нитроанилин	1,81	8,00	12,47	92,64
<i>n</i> -Нитроанилин	1,81	8,00	12,53	92,89
<i>n</i> -Толуидин	7,60	13,00	18,29	113,72
<i>o</i> -Анизидин	7,50	13,01	18,38	114,55
Аминоазобензол	1,77	10,28	12,56	102,74
Сульфаниловая кислота	3,15	8,50	15,01	99,76
<i>o</i> -Толуидин	7,49	12,06	19,97	117,28

Диазотирование обычно проводят в стальной или чугунной эмалированной аппаратуре с лопастной или пропеллерной мешалкой, снабженной рубашкой и в некоторых случаях свинцовым змеевиком для эффективного охлаждения рассолом. Также для защиты аппарата может быть использована футеровка. Слив реакционной массы обычно осуществляется через нижний выпуск. Известно [86] использование аппарата для непрерывного диазотирования.

Последующей химической стадией технологического процесса является диазотирование 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола с получением раствора 3-метилтио-1,2,4-триазолил-5-дiazония хлорида (выделение соли diaзония небезопасно вследствие ее высокой взрывоопасности в твердом виде), который сразу же используется для проведения реакции азосочетания.

2.2.2 Оптимизация диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола

Основные исследования по оптимизации стадии диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола в лабораторных условиях были выполнены ранее [17, 45] (схема 29).



Далее представлена лабораторная методика получения препарата Триазавирин, использованная в качестве основы:

К 140 г воды при перемешивании добавляют 72.9 г (0.56 моль) 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола и 117 мл концентрированной соляной кислоты. Реакционную массу охлаждают до $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ и прибавляют раствор 38.82 г (0.56 моль) нитрита натрия в 84 мл воды с такой скоростью, чтобы температура реакционной массы не превышала $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. По окончании добавления реакционную массу перемешивают в течение 30 мин при температуре от -5 до $0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Раствор натриевой соли этилнитроацетата готовится отдельно: к 61 мл (0.55 моль) этилнитроацетата прибавляют раствор 156.1 г (1.47 моль) карбоната натрия в 605 мл воды при перемешивании. Реакционную массу охлаждают до $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ и добавляют раствор соли диазония, полученный ранее, таким образом, чтобы температура реакционной массы не превышала $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. После реакционную массу выдерживают в течение 2 ч при комнатной температуре. Образовавшийся осадок отфильтровывают с использованием нутч-фильтра и порциями добавляют к 240 мл 50% уксусной кислоты (выделяется углекислый газ). После окончания выделения газа суспензию нагревают до кипения и охлаждают до комнатной температуры. Осадок отфильтровывают и промывают водой в количестве 80 мл и сушат в вакуум-сушильном шкафу при температуре $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 12 ч. Технический препарат суспендируют в 370 мл воды, нагревают полученную смесь до кипения и проводят горячее фильтрование. Фильтрат охлаждают до комнатной температуры, выпавший осадок отфильтровывают, промывают дистиллированной водой в количестве 80 мл и сушат в течение 12 ч при $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Полученное соединение помещают в 200 мл этанола при перемешивании. Суспензию нагревают до $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин, охлаждают до комнатной температуры, осадок отфильтровывают и сушат в течение 12 ч при $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Выход 100 г (0.35 моль, 62.5 %).

В рамках данной работы было выполнено масштабирование данного синтеза и при этом рассмотрено влияние двух факторов на выход целевого препарата:

1. Природа кислоты, используемой на стадии диазотирования.
2. Выбор температурного режима на стадии диазотирования.

Выбор кислоты на стадии диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола. Оптимизация процесса диазотирования подбором кислоты в ходе работы оценивалась по величине выхода Триазавирина. Были исследованы следующие кислоты, чаще всего используемые в процессах диазотирования аминов: азотная, серная, соляная и уксусная [87]. Диазотирование проводилось при температуре от -3 до $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Результаты приведены в табл. 13.

Выходы Триазавирина в зависимости от природы
использованной кислоты на стадии диазотирования

№	Кислота	Выходы, %				
		1	2	3	4	средний
1	Азотная	29,4	26,7	28,3	30,4	28,7
2	Серная	16,3	18,2	14,2	17,1	16,5
3	Соляная	48,4	48,5	49,2	47,7	48,5
4	Уксусная	15,3	12,3	14,7	13,1	13,9

Неудовлетворительные выходы целевого продукта при использовании серной и уксусной кислот объясняются плохой растворимостью 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола в реакционной смеси на стадии диазотирования. Наиболее стабильные выходы Триазавирина наблюдаются при использовании соляной кислоты, менее удовлетворительные результаты получены при использовании азотной кислоты.

Выбор температурного режима на стадии диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола. Анализ влияния температуры процесса диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола был осуществлен в диапазоне от -10 до +5 °С при использовании соляной кислоты. Результаты исследования приведены в табл. 14.

Табл. 14

Выходы Триазавирина в зависимости от температуры на стадии диазотирования

№	Температура, °С	Выходы, %				
		1	2	3	4	средний
1	от -10 до 5	51,7	48,9	49,4	50,1	50,0
2	от -5 до 0	29,3	29,6	30,1	29,2	29,6
3	от 0 до 5	8,3	6,6	6,9	7,2	7,2

Наилучший выход наблюдается при проведении реакции в условиях охлаждения до -10 -- -5 °С. В температурном диапазоне 0 – 5 °С, обычном для солей арилдиазония [87], триазолилдиазоний недостаточно устойчив, а при более высоких температурах (до 10 °С) очень быстро разлагается. Таким образом, оптимальным для проведения диазотирования является температурный диапазон -10 -- -5 °С.

2.2.3 Определение теплофизических характеристик процесса диазотирования 5-амино-1,2,4-триазола

С учетом того факта, что диазотирование обычно является крайне экзотермичной реакцией, в ходе работы был изучен тепловой эффект данного превращения. Измерения тепловых эффектов производились с использованием установки на базе стеклянного

реактора *BuchiGlassUster* объемом 1 л (рис. 2) фирмы *SYSTAG* (Швейцария). Система фиксирует отвод или добавление тепла, необходимое для поддержания заданной температуры операции, тем самым определяя тепловой эффект происходящих процессов с учетом количества реакционной массы, ее теплоемкости, а также аналогичных характеристик добавляемых в ходе процесса компонентов [88] (рис. 3). Для обеспечения точности измерений до и после непосредственно химического процесса системой выполняются калибровки.

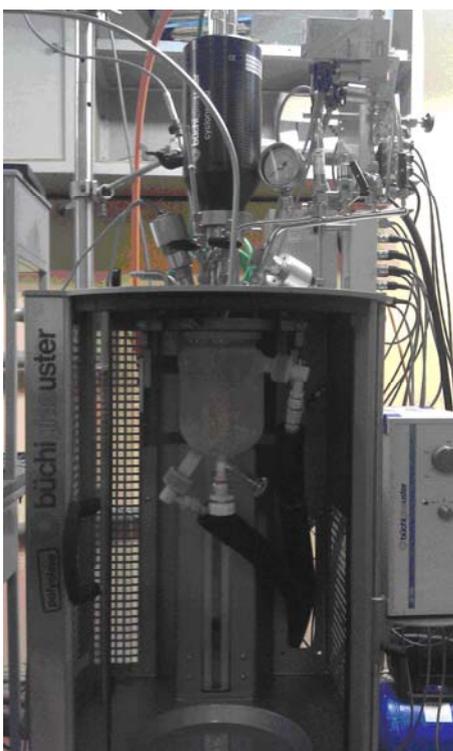


Рис. 2. Общий вид установки для измерения теплового эффекта реакций

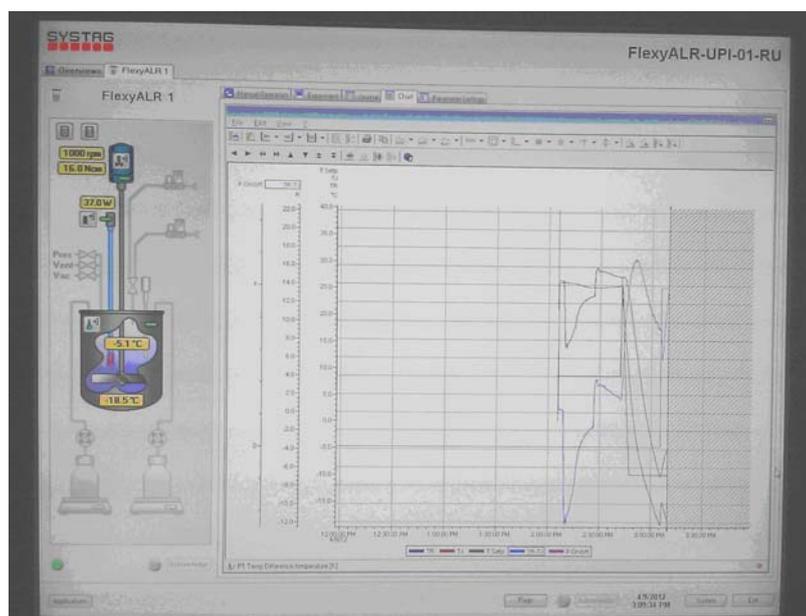
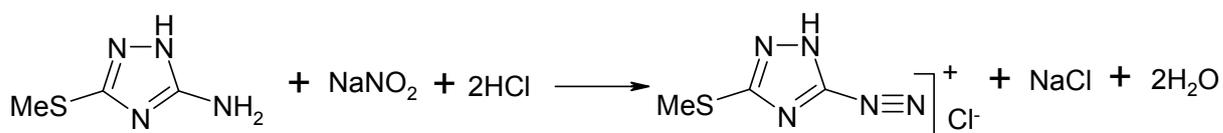


Рис. 3. Ход измерения теплового эффекта

Происходящий процесс может быть описан реакциями, представленными на схеме 30.

Схема 30



Вторая реакция на схеме 30 описывает разложение избытка нитрита натрия. Загрузка исходного триазола составляла 25 г ($n_1 = 0.298$ моль). Принимается, что весь исходный триазол вступил в реакцию с образованием соли диазония. На рис. 4 представлена динамика отвода тепла в ходе проведения процесса диазотирования.

Протеканию собственно диазотирования соответствует участок 2700-3810 с, участки до и после процесса соответствуют периодам калибровки системы для измерений. Количество выделившегося в ходе диазотирования тепла определяется как интеграл данной функции в диапазоне 2700-3810 с. Проведение данной математической операции привело к результату $Q_1 = -5059$ Дж (реакция экзотермическая). Таким образом, теплота процесса диазотирования составляет: $Q_{\text{диазот.}} = Q_1/n_1 = 5059/0.298 = 16977$ Дж/моль (16.98 кДж/моль).

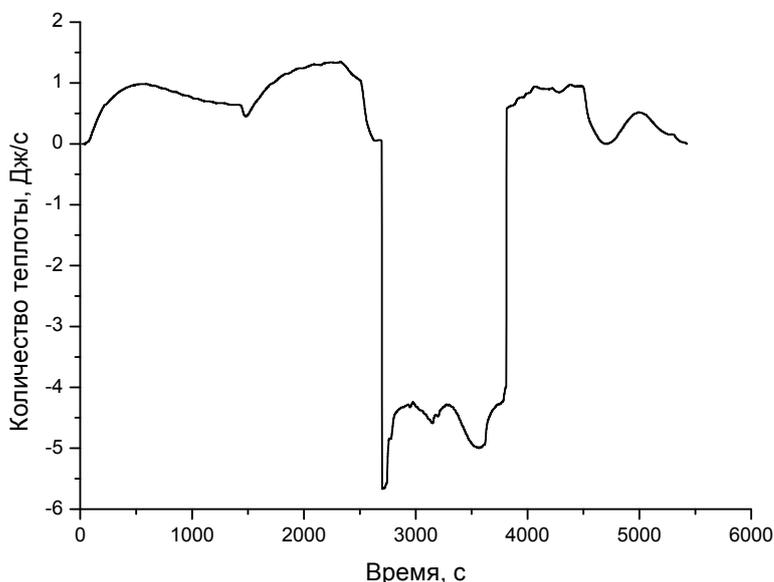


Рис. 4. Динамика выделения теплоты при проведении процесса диазотирования

Полученный результат является несколько более низким по сравнению с ранее описанными значениями теплот диазотирования аминов ароматического ряда. Это может быть связано с отличиями структуры гетероциклического ароматического амина. Тем не менее, в ходе реализации диазотирования в промышленном масштабе необходим значительный отвод тепла и интенсивное перемешивание.

При реализации синтеза в промышленном масштабе принципиальных изменений в лабораторную методику не вносилось. С учетом коррозионной активности соляной кислоты, реакция проводилась в стеклянном реакторе *BuchiGlassUster* объемом 10 л с интенсивным перемешиванием и охлаждением через рубашку (хладагент охлаждается термостатом *Huber*). Было найдено, что температура реакционной массы в ходе диазотирования не должна превышать -7 °С, полученный раствор соли диазония сразу же

направляется на стадию азосочетания и циклизации, длительное его хранение недопустимо. В ходе работы загрузка исходного 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола была повышена по сравнению с лабораторной методикой до 1 кг.

2.2.4 Контроль протекания диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола с помощью физических методов

Для данной химической стадии определение точки окончания процесса является крайне актуальной задачей. В ходе работы для решения этой проблемы были опробованы средства контроля, основанные на измерениях физических параметров системы. Такие инструменты для мониторинга реакционноспособных систем продолжительное время применяются в лабораторной практике и в производственном секторе [89]. Суть их применения состоит в поиске подходящего физического параметра, количественное изменение которого в ходе реакции может быть связано с ее определенной стадией, и выборе методики его измерения, отвечающей сформулированным выше требованиям. Примененный подход основан на применении трех взаимодополняющих друг друга методов: метода бесконтактной кондуктометрии, дистанционных микрооптических измерений и импульсного теплового зондирования. Задачей исследования является настройка каждого метода на отслеживание соответствующих признаков, сопровождающих как появление полезного продукта, так и изменение состава реакционной массы или образование побочных продуктов реакции, которые играют роль своеобразных маркеров. Таким образом, параметры функции воздействия в каждом случае выбираются в соответствии с конкретными условиями реакции.

Эквивалентом, непосредственно измеряемым в опыте, для всех трех методов служит изменение падения напряжения во времени. Это обстоятельство позволило воспользоваться ранее выполненными разработками Института теплофизики УрО РАН по применению быстродействующих аналого-цифровых преобразователей (АЦП) и программного обеспечения для непрерывного контроля выбранных параметров [90, 91, 92] и вывода результатов на один компьютер. Программа предназначена для записи процессов импульсного нагрева и последующего охлаждения теплового зонда, записи показаний кондуктометра, оптического датчика и термодатчика в автоматическом режиме. Сбор данных осуществляется через выносной АЦП L-Card E14-440. Программа выполняет фильтрацию и предварительную обработку первоначальных данных, а также исключает неправдоподобные значения. Полученные в опыте данные выводятся на экран и записываются в файлы (для примера см. рис. 5). Программа обладает гибкими настройками режимов работы АЦП, отображения и обработки получаемых данных.

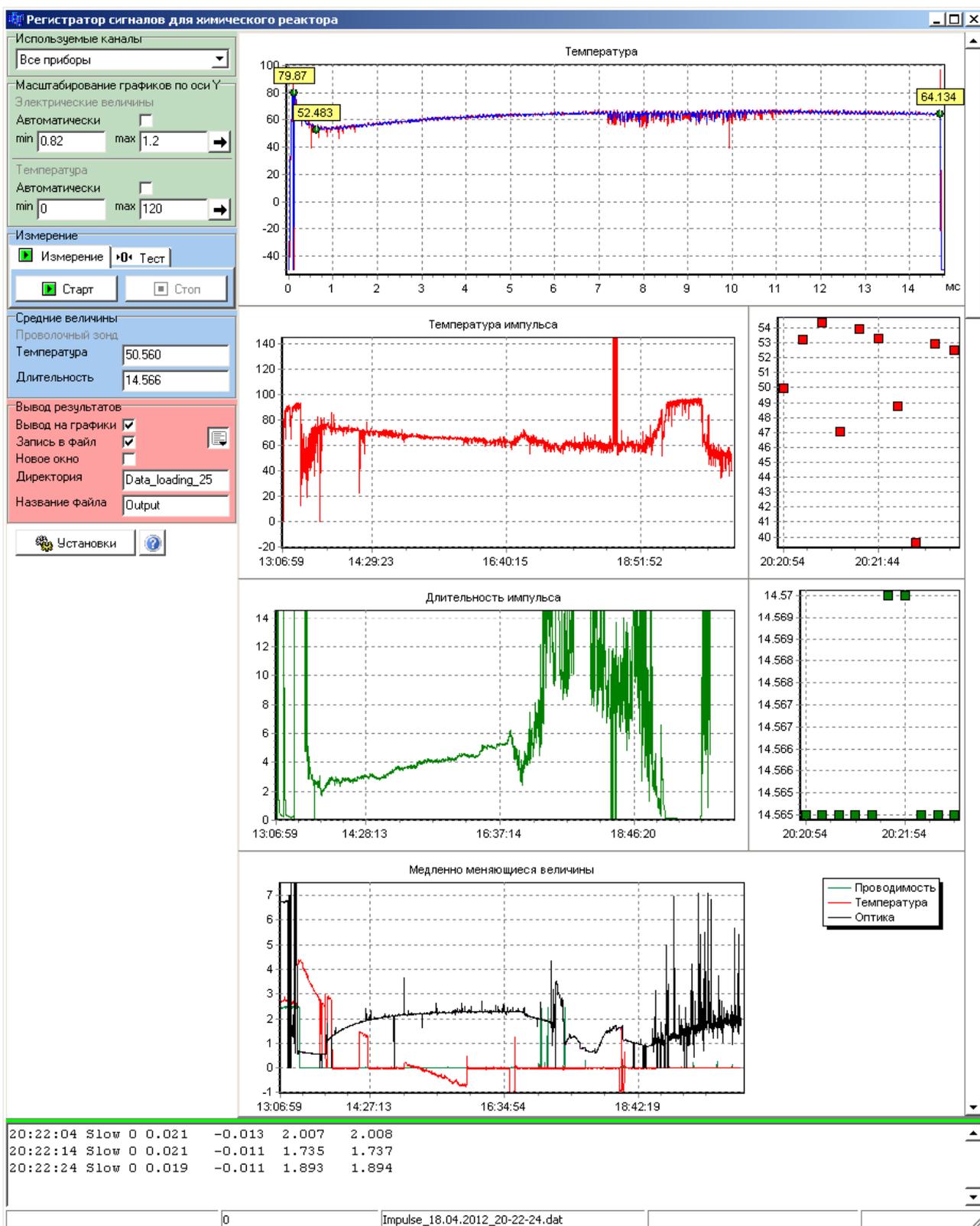


Рис. 5. Графический интерфейс программной оболочки. Верхний график – изменение температуры проволочного зонда от длительности импульса в миллисекундах с выделением характерных точек. На остальных графиках представлены изменения сигналов с датчиков в ходе реакции; текущее время записано в часах/минутах/секундах.

Рассмотрим последовательно примененные в данном опыте методы. Применимость метода импульсного теплового зондирования (см. блок I на рис. 6) основана на

универсальности взаимосвязи тепловых свойств веществ со структурой и фазовым состоянием составляющих их молекул. Методика измерений основана на импульсном нагреве микрообъема вещества как удобном инструменте контроля его текущего состава. Суть измерений состоит в выявлении параметров отклика на импульсное тепловыделение в исследуемой среде при заданных параметрах функции нагрева $P(t)$, где P – мощность тепловыделения, t – время от начала воздействия. Характерная продолжительность опыта составляет единицы миллисекунд. Подача функции нагрева и регистрация сигнала-отклика осуществляется посредством проволочного зонда диаметром 20 мкм. Зонд служит одновременно нагревателем и термометром сопротивления [93]. Ход химического превращения контролируется по характерному изменению теплового сопротивления системы зонд-вещество [92, 94], отслеживаемому по изменению амплитудных и временных параметров отклика [94, 95, 96]. Опыты показали, что при определенных параметрах функции нагрева формируется сильный и воспроизводимый отклик на появление в системе нового компонента, в частности, летучих примесей [90, 91] или наноразмерных частиц оксидов металлов [92] в базовой жидкости. В данной работе контроль изменения теплофизических свойств среды осуществлялся по значениям амплитуды (температуры зонда в характерной точке) и длительности импульса термокомпенсации при заданном тепловом возмущении. Применение процедуры преобразования сигнала-отклика в цифровую форму и его последующей обработки в компьютере позволило регистрировать изменение отслеживаемых значений в ходе реакции с точностью в 0.1%.

При постановке метода измерений оптических свойств жидкой среды, несущих информацию о её составе, выбор был сделан в пользу дистанционных оптических измерений посредством оптоволоконного кабеля. Особенность подхода заключается в необходимости передачи зондирующего излучения и отраженной компоненты по одному и тому же кабелю. Зондом служит торец световода из волокна SMF-28 с внешним диаметром 125 мкм и диаметром световедущей жилы 9 мкм. Ввиду существенно малого размера зонд, во-первых, может быть размещен в любом удобном месте реактора. Во-вторых, он не является источником методически вносимых возмущений. Принцип действия примененного волоконно-оптического рефрактометра (торцевого рефлектометра) состоит в прецизионном измерении интенсивности излучения, отраженного от сколотого торца одномодового волоконного световода [97]. Для измерений была применена схема (см. блок II на рис. 6), включающая излучатель, волоконно-оптический разветвитель, фотоприемник и систему усиления и преобразования сигналов в цифровой вид [98]. Коэффициент отражения зависит от эффективного показателя преломления основной моды световода, а также от показателя преломления жидкой среды, в которую помещен зонд. В актуальном диапазоне изменения температуры показатель преломления кварцевого световода может быть принят постоянным. Таким образом, изменение во времени интенсивности отраженного сигнала несет информацию

об изменении показателя преломления жидкости. Опыт показал, что изменение относительных значений показателя преломления в ходе реакции может отслеживаться с точностью в 0.1%.

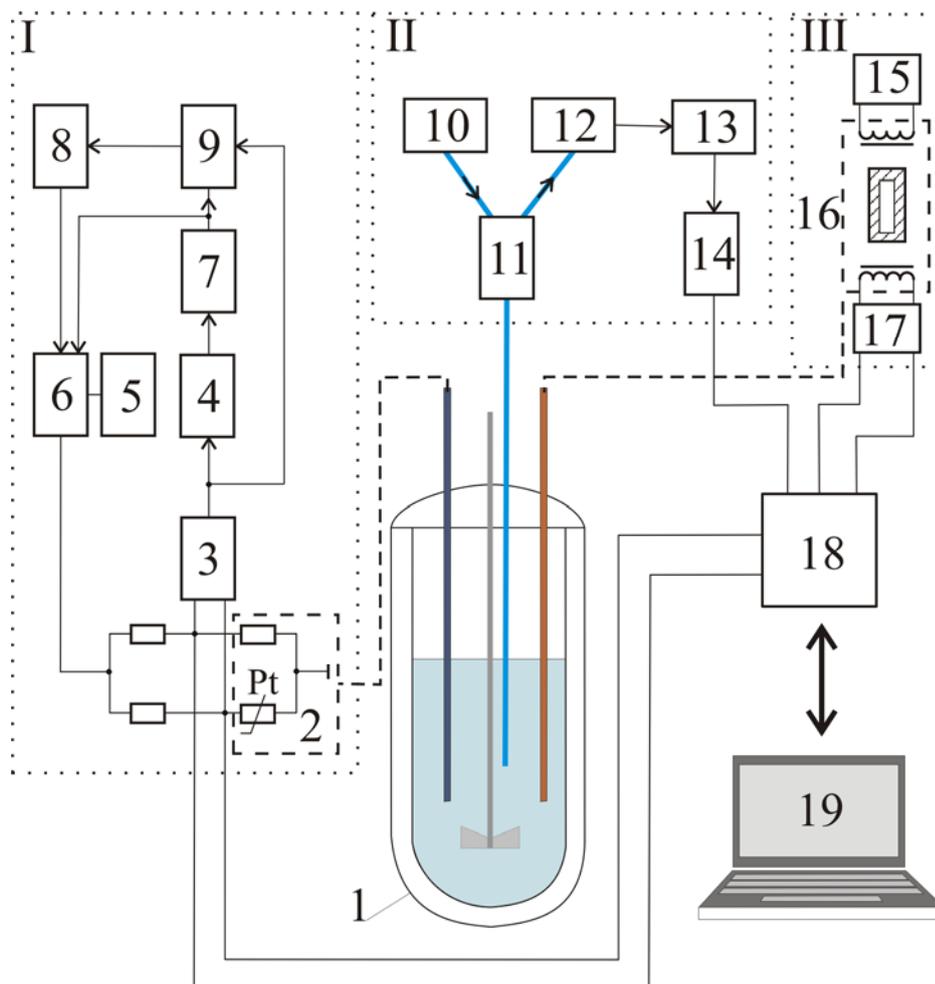


Рис. 6. Блок-схема установки: 1 – химический реактор с жидкостной рубашкой охлаждения. Блок I: Pt – проволочный зонд; 2 – низкоомная часть мостовой схемы, располагается в корпусе измерительного щупа, погружаемого в реактор; 3 – дифференциальный усилитель; 4 – дифференциальный компаратор; 5 – источник питания; 6 – коммутатор питания; 7 – триггер; 8 – схема быстрого нагрева; 9 – микропроцессор.

Блок II: 10 – излучатель с длиной волны излучения 1550 нм; 11 – Y-разветвитель; 12 – фотоприемник; 13, 14 – преобразователь и усилитель аналогового сигнала.

Блок III: 15 – источник опорного напряжения; 16 – измерительный преобразователь, содержащий питающие сердечник и обмотку, жидкостный виток и измерительные сердечник и обмотку; 17 – токовый датчик. Датчики в блоках I и III, погружаемые в реактор, обведены пунктирными линиями.

Устройство преобразования и обработки сигнала-отклика: 18 – АЦП L-Card E14-440; 19 – компьютер.

Применимость метода кондуктометрии [99] для контроля реакции diazotирования обусловлена различным содержанием свободных носителей заряда в реакционной массе на разных стадиях реакции. Исходные компоненты представляют собой раствор

потенциальных электролитов, состоящих из молекул с сильно полярными связями. Образование полезного продукта, т.е. соли диазония, сопровождается ее частичным растворением и сопутствующей электролитической диссоциацией. Таким образом, ионная сила раствора также меняется в ходе реакционного процесса.

Исходя из условий задачи, были разработаны варианты как контактного, так и бесконтактного устройства (см. блок III на рис. 6), отслеживающие изменения электрической проводимости реакционной массы. Контактный датчик отличается широким рабочим диапазоном и малыми габаритными размерами. По этим параметрам датчик был выбран для проведения пробного мониторинга реакции. Вместе с тем, бесконтактное исполнение измерительного преобразователя представляется более перспективным для работы в агрессивных средах. В основу работы бесконтактного устройства положено явление электромагнитной индукции. Источник опорного сигнала генерирует переменный ток эталонного напряжения. Создание переменного магнитного поля, возникающего вокруг питающей катушки, сопровождается наведением ЭДС в обмотке измерительной катушки. Величина наведенной ЭДС прямо пропорциональна электрическому сопротивлению витка анализируемой жидкости. Предусмотрена возможность регулировки частоты и амплитуды напряжения в пределах $0.05 \div 100$ кГц и $0.02 \div 4.0$ В соответственно. Регулировка производится при настройке устройства под конкретные условия реакции. Данное обстоятельство делает возможным проведение измерений электропроводности в диапазоне от 0.01 до 1000 мСм/см. Изменение проводимости в ходе реакции может отслеживаться с точностью в 1%. Корпус датчика выполнен из полипропилена и стекла, резьбовые соединения герметизированы химически стойкими уплотнителями. Для замыкания жидкостного витка в корпусе предусмотрено сквозное отверстие.

Опыты с тестовыми образцами. Косвенный характер метода предполагает проведение калибровочных измерений на чистых компонентах и растворах с их известным содержанием [95]. В ходе работы были проведены подробные измерения на тестовых образцах – исходных компонентах реакции и их растворах. В целом, опыты показали достаточность уровня чувствительности методик к изменению содержания компонентов реакции. Выбор диапазонов измерения отслеживаемых величин осуществлен в опытах с водой, этанолом и водным раствором этанола и соляной кислоты (в соотношении 1:1:2) как компонентами, используемыми в ходе реакции diazotирования (рис. 7).

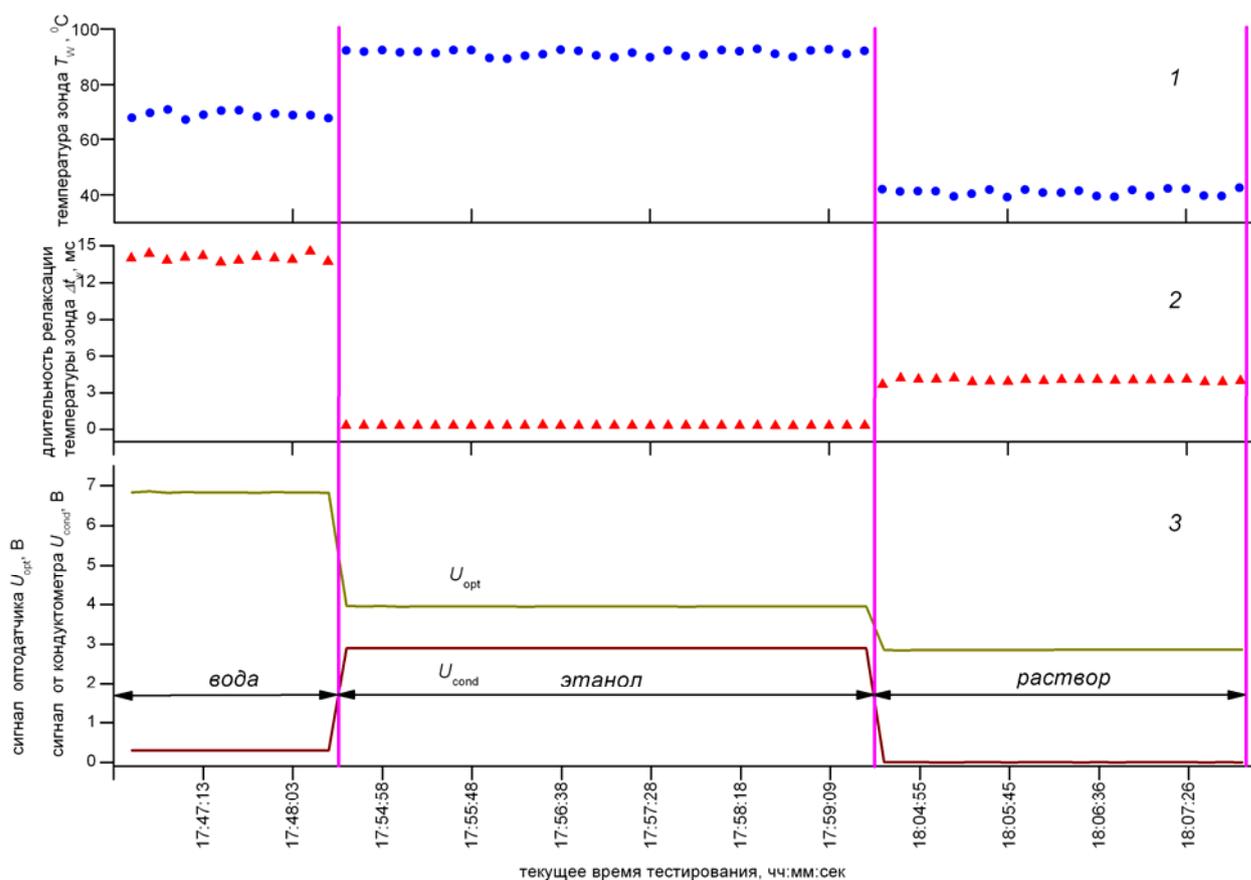


Рис. 7. Опыты с тестовыми образцами. Графики 1 и 2 – методика импульсного нагрева; график 3 – методики оптических (U_{opt}) и кондуктометрических измерений (U_{cond}). Запись данных с датчиков производилась с периодом в 10 секунд.

Результаты опыта в реакторе. Опыт по контролю реакции проведен в реакторе с мешалкой и принудительным охлаждением. Был использован стеклянный реактор с рубашкой производства фирмы *Lenz* рабочим объемом 2 л и охлаждающий термостат с открытой ванной производства фирмы *Huber* (рис. 8). Максимальная мощность охлаждения составляет 0.26 кВт. Мешалка производства фирмы *ИКА* имеет возможность регулирования частоты вращения вала в диапазоне 50 - 2000 об/мин. Запись данных с датчиков производилась с периодом в 10 с. Результаты опыта представлены на рис. 9. Для их обсуждения далее будут рассмотрены характерные стадии реакции diazotирования.

I стадия: *загрузка и охлаждение*. Загрузка в реактор компонентов реакции: 1 часть воды, 1 часть этилового спирта, 2 части соляной кислоты, порошкообразный 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазол. Включение охлаждения и перемешивания. Температура в течение 3.5 часов плавно уменьшается от 44 °С до -9 °С (рис. 9а, оранжевая линия с символом T_0). За первые 30 мин реакционная масса из прозрачной становится матовой. Принимаются меры по теплоизоляции внешней оболочки реактора. Датчики отслеживают снижение начальной температуры.

Методика термоимпульсного зондирования реагирует на снижение температуры среды уменьшением характерного значения температуры импульсно нагреваемого зонда (рис. 9a, синие точки с символом T_w) и увеличением времени нагрева до заданного значения (рис. 9b, красные точки). Амплитуда сигнала оптоволоконного датчика повышается в два раза (рис. 9c, темно-зеленая линия). Данные с контактного варианта кондуктометра меняются незначительно в ходе реакции (рис. 9c, бордовая линия). Как выяснилось, причина состоит в загрязнении контактных поверхностей измерительных электродов частицами взвеси, содержащейся в реакционной массе.

II стадия: *начало дозирования нитрита натрия*. Начало дозирования нитрита натрия сопровождается изменением цвета реакционной массы с матового на желтый цвет. Данные с термоимпульсного датчика свидетельствуют об интенсификации теплосъема с поверхности платинового зонда, данные с оптического датчика – об изменении показателя преломления, эквивалентном увеличению плотности реакционной массы. Изменения тепловых и оптических свойств мы связываем с появлением и накоплением полезных продуктов реакции.

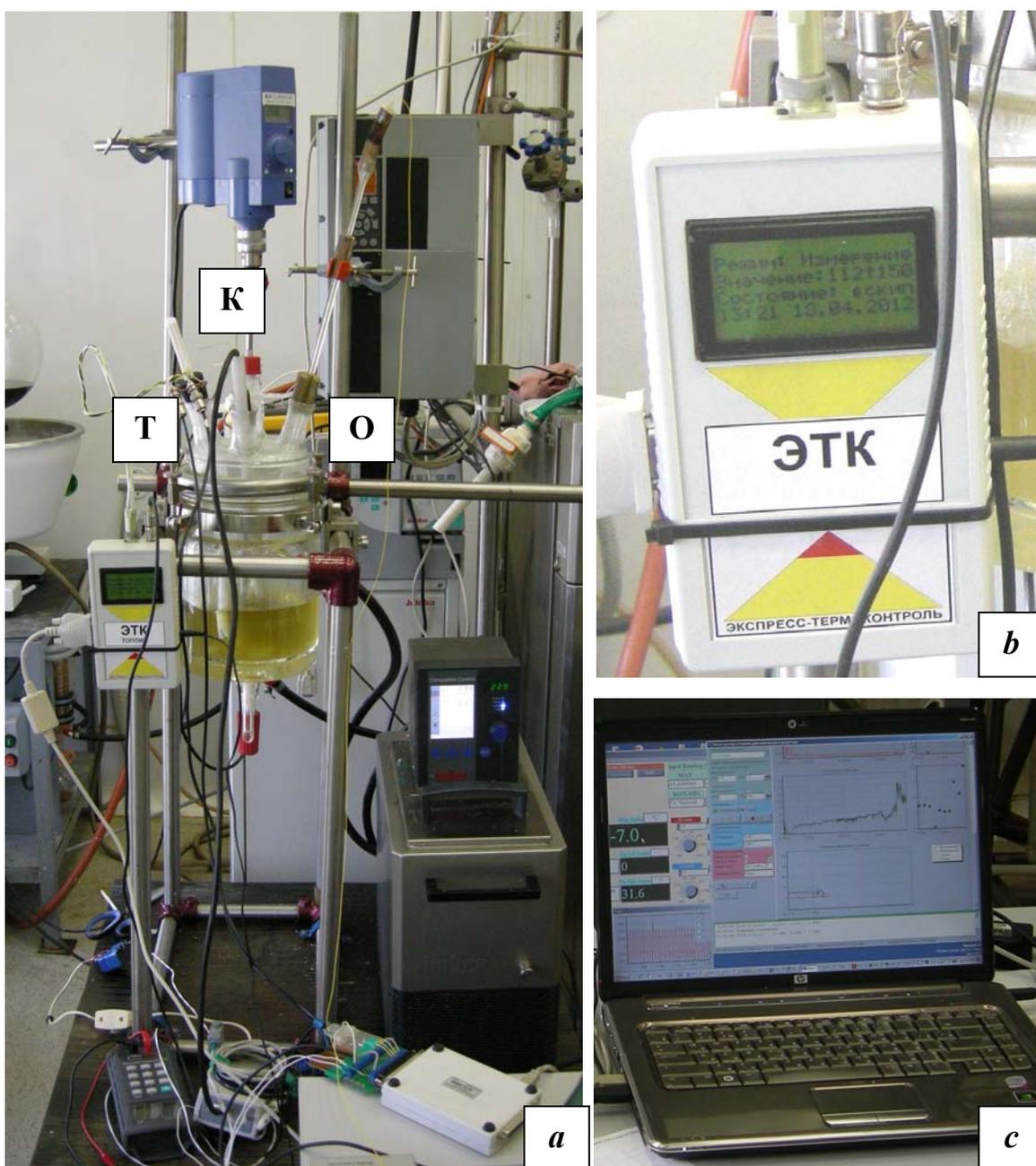


Рис. 8. На фотографии «а» представлен химический реактор с находящимися в нем датчиками: «Т» – термоимпульсным, «К» – кондуктометрическим, «О» – оптическим. На фото «b» – блок микроконтроллера для осуществления импульсного нагрева. На фото «с» – ноутбук с программным обеспечением. На мониторе отображаются данные с датчиков в режиме реального времени.

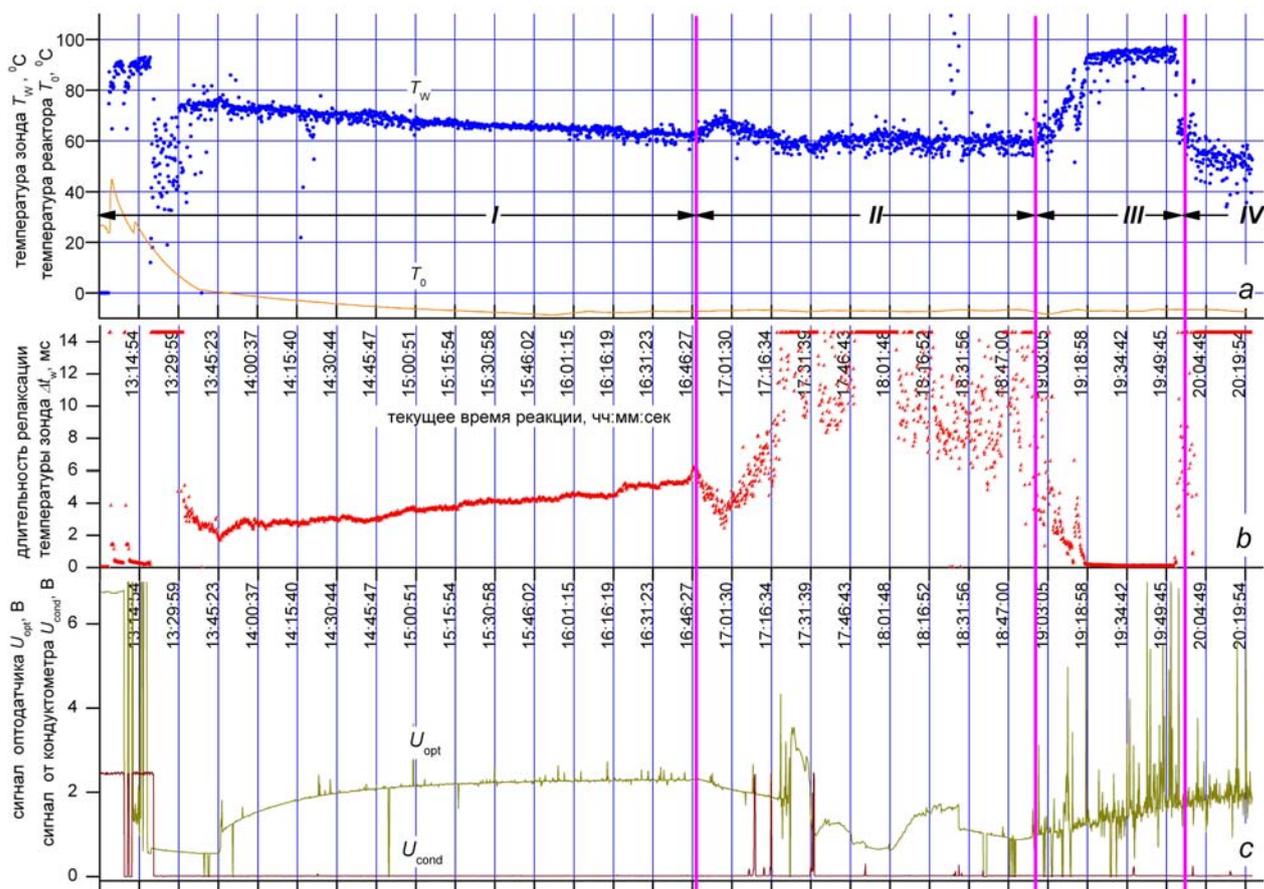


Рис. 9. Онлайн данные с датчиков контроля реакции диазотирования. По оси «x» отмечено текущее время реакции в часах, минутах, секундах. Пояснения в тексте.

III стадия: *интенсивное газообразование*. Оптический и термоимпульсный методы однозначно указывают на появление газа: амплитуды сигналов с оптоволоконного датчика близки к сигналам на воздухе; интенсивность теплообмена зонда со средой существенно уменьшилась (рис. 9b), очевидно, в связи с нарушением сплошности жидкой фазы. Существует несколько возможностей образования газа в реакционной массе диазотирования. Первый механизм обусловлен выделением газов NO и/или NO₂, образующихся при взаимодействии нитрита натрия с соляной кислотой по следующей реакции: $\text{NaNO}_2 + \text{HCl} = \text{NaCl} + \text{HNO}_2$ с последующим разложением азотистой кислоты до NO и NO₂. Фактически, речь идет о паразитном процессе связанным, вероятно, с недостатком основного реагента, а также с избытком соляной кислоты и нитрита натрия. Этот процесс может быть использован в качестве маркерной реакции, которая указывает на завершение целевой реакции синтеза или существенное уменьшение скорости ее протекания.

Второй из предполагаемых механизмов выделения газа связан с разрушением собственно продукта реакции: $\text{R-N}_2^+ + \text{H}_2\text{O} = \text{R-OH} + \text{N}_2\uparrow + \text{H}^+$. Подобный процесс может быть обусловлен уменьшением кислотности и повышением температуры реакционной среды, а также взаимодействием с материалом поверхности датчика. Данная реакция также может быть использована как источник аналитического сигнала при соотношении

отклика датчика и концентрации соли диазония в реакционной массе. В конце стадии был проведен визуальный тест на растворимость реакционной массы, который указал на незначительность остатка исходного реагента.

IV стадия: *окончание реакции*. В начале четвертой стадии визуальный тест подтвердил отсутствие исходного триазола. В течении 3.3 ч насосной станцией было закачено 567 г 35.5%-го раствора нитрита натрия. Датчики указывают на сокращение интенсивного газообразования, что косвенно подтверждает завершение реакции.

В итоге можно заключить, что совместное применение трех быстродействующих методов, как взаимодополняющих инструментов, оказалось существенно полезным как для анализа исходных компонентов, так и для организации контроля хода реакции диазотирования в технологической установке. Освоение техники миниатюризации зондов и их сопряжения с установкой создало принципиальную возможность для отслеживания процессов с микросекундным разрешением по времени и характерной толщиной анализируемого слоя вещества в единицы микрометров. В итоге, задача разработки недорогих методов косвенного контроля, действующих в режиме реального времени с достаточной чувствительностью и гибкими функциональными возможностями стала не только актуальной, но и выполнимой. Для дальнейшего развития методики контроля, необходимо решить проблемы, связанные с влиянием внешних факторов, а именно, процессов загрузки, охлаждения, механических воздействий на параметры регистрируемых датчиками сигналов. В частности, опыты по мониторингу реакции продемонстрировали неуместность использования контактного варианта кондуктометрического датчика в данной реакционной среде.

Таким образом, использование данных методов может позволить проводить успешный контроль протекания процесса диазотирования, определить момент окончания реакции. В итоге проведенных экспериментов в рамках данной работы создан задел для реализации непрерывного процесса диазотирования 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола.

2.3 Оптимизация стадии азосочетания и циклизации

Полученная в ходе предыдущего этапа соль диазония без выделения в виде раствора направляется на следующую стадию химического процесса. Для разработки технологически приемлемого метода синтеза, основываясь на имеющихся подходах к получению необходимого препарата, были проведены сравнительные исследования различных возможных способов получения Триазавирина, а также оценка доступности исходного сырья.

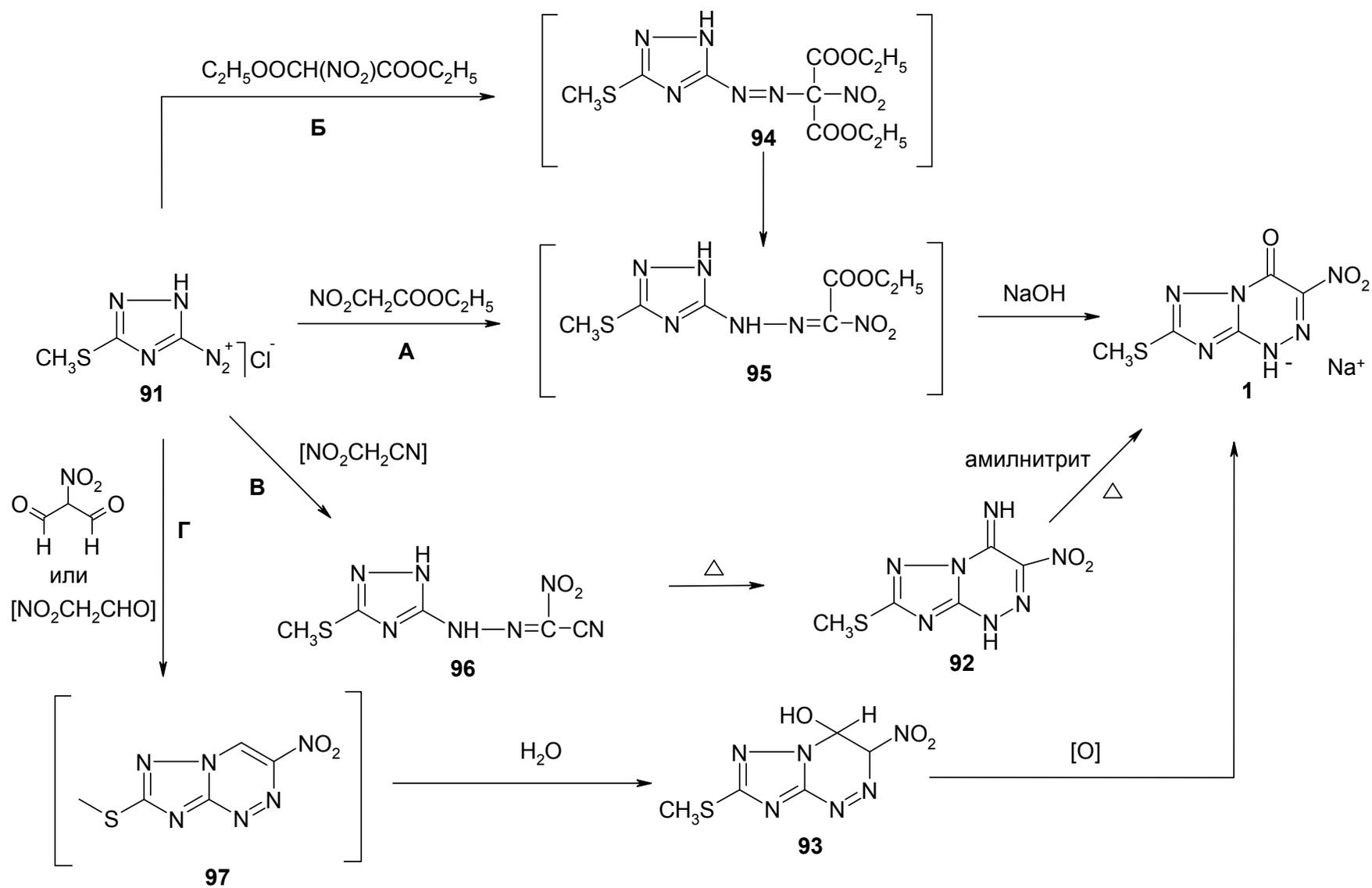
2.3.1 Обоснование выбора нитросинтона

При производстве Триазавирина в качестве азосоставляющей могут быть использованы: нитроуксусный эфир, нитроацетонитрил, нитромалоновый эфир, нитромалоновый альдегид или нитроуксусный альдегид (подробно методы циклизации

были рассмотрены в разделе 1.2.2 литературного обзора). Таким образом, могут быть выбраны четыре основных направления получения Триазавирина с использованием различных нитросинтонов (схема 31).

Как видно из схемы 31, постройка каркаса триазолотриазина с нитрогруппой в триазиновом цикле выполняется во всех случаях, однако наиболее приемлемыми являются варианты **A** и **B** вследствие того, что в результате протекания азосочетания и циклизации *сразу, в одну стадию* образуется необходимая структура целевого продукта (не требуются дополнительные стадии для получения карбонильной группы в положении 7). В остальных случаях возникает необходимость проведения дополнительных химических стадий с целью корректной функционализации положения 7 триазолотриазиновой системы. Так, малоцелесообразным для промышленного производства выглядит использование нитроацетонитрила (направление **B**). Триазавирин в этом случае может быть получен только через стадию получения иминосоединения **92** с последующим диазотированием и заменой диазогруппы на оксигруппу. Применение нитроуксусного или нитромалонового альдегидов (путь **Г**) также представляется малоцелесообразным в разработке опытно-промышленного метода синтеза Триазавирина ввиду необходимости окисления образующегося продукта **93**. Также для данных нитросинтонов следует отметить сложность использования в производстве, а также пожаровзрывоопасность при хранении, особенно в больших объемах.

Схема 31



Следовательно, наиболее подходящими реагентами для получения Триазавиринна являются этиловый эфир нитроуксусной кислоты (НУЭ, путь А) и диэтиловый эфир нитромалоновой кислоты (НМЭ, путь Б) (реакция по схеме Яппа-Клингемана) при взаимодействии с 5-диазо-3-метилтио-1,2,4-триазолом. Проведенные первичные эксперименты показали в обоих случаях достаточно высокие выходы натриевой (или калиевой) соли Триазавиринна. Таким образом, дальнейшие изыскания были направлены на поиск оптимального из данных двух вариантов с учетом различных факторов.

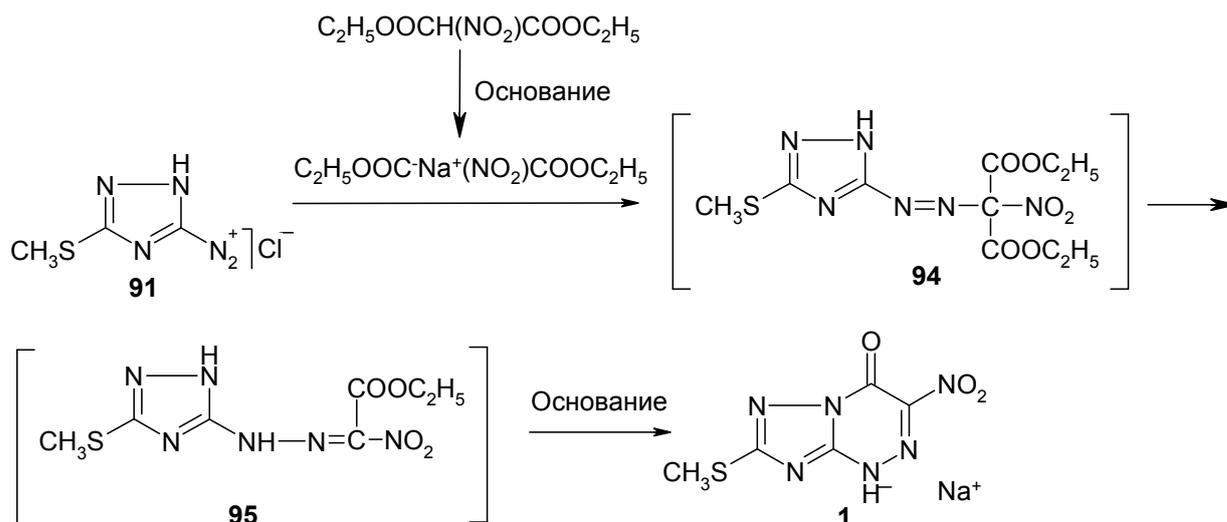
В табл. 15 приведена цена исходного сырья различных фирм-производителей химических реактивов (стоимость реактивов аналитического качества; цены соответствуют 2013 г.

Табл. 15

Реактив	Цена в рублях за 1 гр.			
	Aldrich	Merck	Fluka	Janssen
Нитроуксусный эфир	131	110	100	98
Нитромалоновый эфир	16	44	41	19

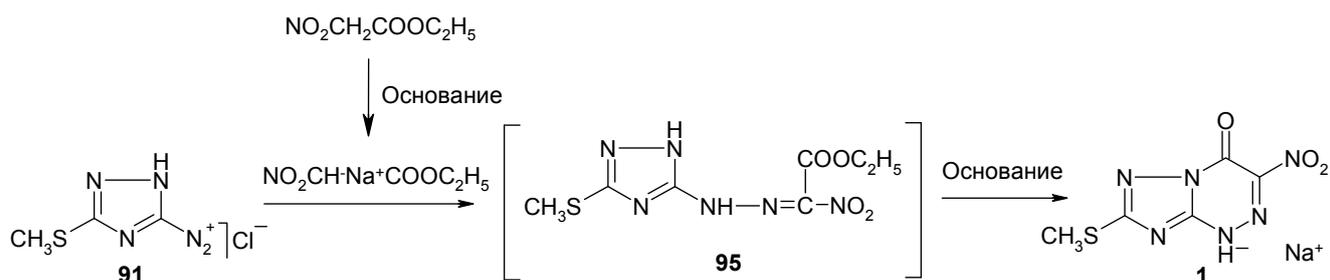
Для выбора оптимального метода синтеза были проведены лабораторные эксперименты по оценке двух выбранных способов получения Триазавиринна. Данные реакции протекают в примерно одинаковых условиях при 0-25 °С в водно-органической среде в присутствии оснований. Отдельно *in situ* были получены натриевые соли этилового эфира нитроуксусной кислоты и диэтилового эфира нитромалоновой кислоты. В частности, путь Б был реализован с использованием в качестве основания карбоната натрия или гидроксида натрия. В качестве растворителей были использованы смеси воды с этанолом, а также с пропанолом-2 (схема 32).

Схема 32



Аналогичным образом был реализован и путь А с отдельным приготовлением натриевой соли эфира нитроуксусной кислоты (схема 33).

Схема 33



Приведенные в табл. 16 сравнительные данные по результатам экспериментов свидетельствуют в пользу использования для синтеза Триазавирин нитроуксусного эфира, несмотря на большую его стоимость. Аналогичный вывод может быть сделан в результате анализа свойств нитроэфиров (их взрывобезопасность, склонность к самовозгоранию, а также разложению при хранении). В ходе наших экспериментов было установлено, что нитроэфиры обеспечивают устойчивое воспроизведение синтеза Триазавирин с приемлемым выходом только в том случае, если используется свежеперегнаный реактив. С этой точки зрения НУЭ более технологичен при производстве, его температура кипения составляет 105-107 °С при 25 мм рт.ст. [100] (табл. 16), в то время как температура кипения нитромалонового эфира составляет 78-80 °С при 0.2 мм рт. ст. [101], т.е. для проведения перегонки нитромалонового эфира требуется более сложная аппаратура, обеспечивающая достижение необходимого вакуума.

Таким образом можно заключить, что для промышленного производства значительно больший интерес представляет этиловый эфир нитроуксусной кислоты.

Данный факт также подтверждается проведенными в ходе работы экспериментами по стабильности нитроэфиров при хранении (табл. 16).

Табл. 16

Технологические характеристики нитроэфиров

Эфир	Температура кипения, °С/ мм рт. ст.	Темп. перегонки, °С/ мм. рт. ст.	ПДК расч., мг/м ³ (класс опасности)	Темп. саморазложения, °С	Темп. вспышки, °С	Стойкость при хранении (1 год)
НУЭ	105-107 при 25 мм рт.ст.	105±15 при 22±2 мм рт.ст.	5 (III)	314	101	Пожелтение. Запаха окислов азота нет
НМЭ	78-80 при 0.2 мм рт.ст.	78-84 при 0.2 мм рт.ст.	1 (II)	270	72	Разлагается (почернение, отчетливый запах окислов азота)

Таким образом, дальнейший ряд экспериментов по подбору оптимальных условий получения Триазавирин был проведен с использованием нитроуксусного эфира.

2.3.2 Выбор оптимальных условий проведения реакции 5-диазо-3-метилтио-1,2,4-триазола с нитроуксусным эфиром

В ходе исследования были найдены оптимальные условия проведения реакций азосочетания и циклизации с получением препарата Триазавирин. Далее представлены изученные факторы оптимизации:

1. Природа основания, используемого в ходе реакций азосочетания;
2. Температурный режим реакции азосочетания;
3. Значение рН в ходе реакции азосочетания.

Данные по оптимизации усреднялись на основании результатов четырех проведенных экспериментов.

Изучение влияния природы основания. В ходе работы проверена эффективность использования различных оснований в ходе реакции азосочетания 5-диазо-3-метилтио-1,2,4-триазола с нитроуксусным эфиром. В частности, были опробованы едкий натр, карбонат и бикарбонат натрия, ацетат натрия. Результаты представлены в табл. 17.

Табл. 17

Выходы Триазавирина, полученные при различных температурных режимах на первой стадии процесса

№	Используемое основание	Выходы, %				
		1	2	3	4	средний
1	Едкий натр	41,1	42,2	41,6	41,1	41,5
2	Карбонат натрия	51,1	49,8	50,4	49,5	50,2
3	Бикарбонат натрия	38,9	40,0	39,1	40,0	39,5
4	Ацетат натрия	24,2	25,6	26,1	24,1	25,0

Таким образом, Триазавирин получается при использовании всех данных вариантов, но наиболее высокий выход продукта соответствующего качества удается получить при использовании карбоната натрия. Подбор условий показал, что наиболее эффективно реакция протекает при использовании натриевой соли этилнитроацетата, полученной *in situ* в водном растворе.

Изучение влияния температурного режима процесса. В ходе работы был проведен ряд температурных режимов проведения стадии азосочетания и циклизации. Были проверены следующие температурные диапазоны: -5...0 °С; 0...5 °С; 5...10 °С. Полученные результаты представлены в табл. 18.

Табл. 18

Выходы Триазавирина, полученные при различных температурных режимах стадии азосочетания

№	Диапазон температур, °С	Выходы, %				
		1	2	3	4	средний
1	-5...0	39,5	41,0	40,3	39,6	40,1
2	0...5	50,1	51,0	49,8	49,9	50,2
3	5...10	32,4	34,5	34,1	31,4	33,1

Таким образом, синтез Триазавирина предпочтительно проводить при температуре реакционной массы в диапазоне 0...5 °С.

Изучение влияния значения рН в ходе процесса. Первичные опыты показали, что крайне важным является значение рН среды, в которой протекает реакция. Для оптимизации данного параметра был проведен ряд синтезов с поддержанием различных значений рН среды: 7-8, 9-10, 11-12. Результаты представлены в табл. 19.

Выходы Триазавирина, полученные при различных значениях рН в ходе стадии азосочетания

№	Значение рН	Выходы, %				
		1	2	3	4	средний
1	7-8	41,3	43,1	42,4	41,2	42,0
2	9-10	49,9	51,0	50,5	49,8	50,3
3	11-12	33,4	35,0	34,5	33,1	34,0

Было найдено, что оптимальным является диапазон рН 9-10. Данный факт, вероятно, связан с тем, что триазольный цикл при данных значениях рН находится в форме, наиболее благоприятствующей процессу циклизации (см. раздел 2.1.3). Было найдено, что наилучшим способом поддержания данного значения рН является добавление раствора карбоната натрия при контроле рН. Следует отметить, что при выполнении этих условий в ходе процесса происходит устойчивое образование осадка субстанции Триазавирина, что крайне положительно сказывается на технологичности этой операции.

2.3.3 Определение теплофизических характеристик реакции 3-метилтио-5-диазо-1,2,4-триазола с нитроуксусным эфиром

Для теоретической оценки происходящих химических процессов и получения данных для расчета аппаратов в ходе работы были изучены тепловые эффекты реакций получения натриевой соли этилнитроацетата, а также азосочетания и циклизации. Эксперименты были проведены на установке на базе стеклянного реактора *BuchiGlassUster* объемом 1 л *SYSTAG* (Швейцария) (см. выше рис. 2, 3, стр. 58).

Процесс получения натриевой соли этилнитроацетата представлен на схеме 34.

Схема 34



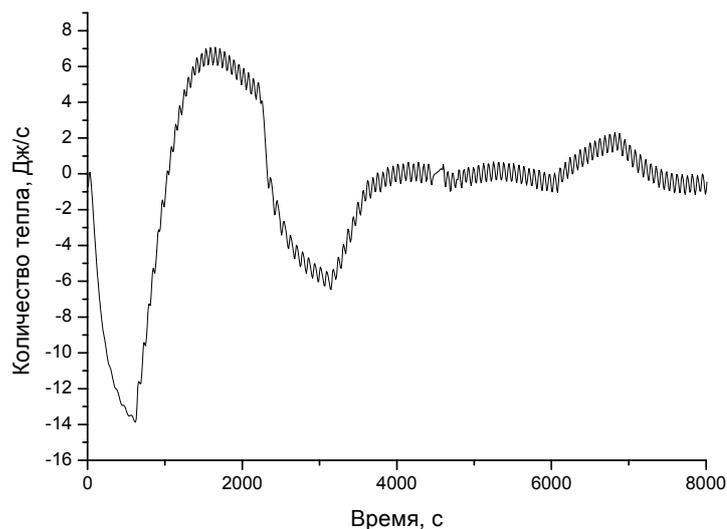
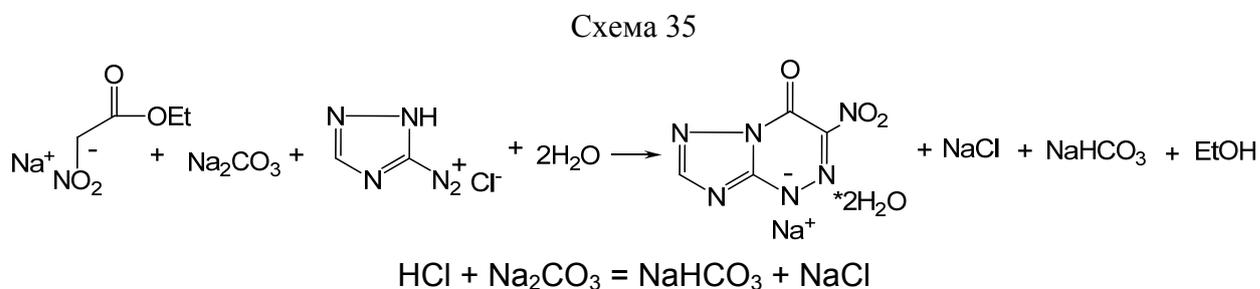


Рис. 10. Выделение теплоты в ходе синтеза
натриевой соли этилнитроацетата

Загрузка исходного этилнитроацетата составляла 42.9 г ($n_2 = 0.322$ моль). Принимается, что этилнитроацетат полностью превратился в натриевую соль в ходе данного процесса. На рис. 10 представлена зарегистрированная динамика отвода тепла в ходе протекания реакции.

Протеканию химического процесса на данном графике соответствует участок 4000-6000 с. Тепловой эффект процесса был вычислен интегрированием графика в данном диапазоне, полученное значение составляет $Q_2 = -109.55$ Дж (реакция экзотермическая). С учетом количества этилнитроацетата, использованного для эксперимента, тепловой эффект составляет: $Q_{\text{соль}} = Q_2/n_2 = 109.55/0.322 = 339.9$ Дж/моль этилнитроацетата.

Суммарная химическая реакция процесса азосочетания и циклизации представлена на схеме 35 (реакция была изучена на примере 3-амино-1,2,4-триазола).



Кроме этого, в ходе процесса происходит нейтрализация хлороводорода, содержащегося в реакционной массе, получаемой в ходе этапа diazotирования (вторая реакция на схеме 35).

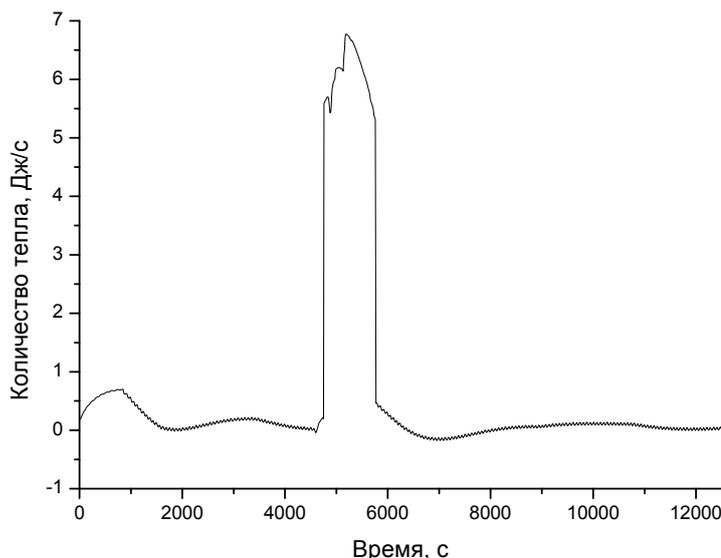


Рис. 11. Поглощение теплоты в ходе синтеза
6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она

Загрузка исходного 3-амино-1,2,4-триазола составляла 21.5 г ($n_3 = 0.256$ моль). Принимается, что это же количество молей 1,2,4-триазолил-3-диазония хлорида прореагировало в ходе азосочетания и последующих процессов. На рис. 11 представлена зарегистрированная динамика добавления тепла в ходе протекания синтеза.

Интегрирование данного графика в области протекания реакции (основной максимум) позволяет определить общее количество теплоты, поглощенное в ходе процесса. В результате данной математической операции было получено значение $Q_3 = 6109$ Дж (реакция эндотермическая).

Следовательно, с учетом количества молей соли диазония, отрицательный тепловой эффект протекающих реакций составляет $Q_{\text{сочет.}} = Q_3/n_3 = 6109/0.256 = 23863$ Дж/моль (23.86 кДж/моль). Для конкретизации тепловых эффектов по реакциям был выполнен ряд расчетных операций.

- Тепловой эффект нейтрализации хлороводорода может быть рассчитан теоретически. Изменение энтальпии системы при протекании реакции ΔH определяется следующим образом:

$$\Delta H = H^0(\text{NaCl}) + H^0(\text{NaHCO}_3) - H^0(\text{HCl}) - H^0(\text{Na}_2\text{CO}_3)$$

где H^0 – энтальпия образования вещества, кДж/моль;

Изменение энтальпии составляет: $\Delta H = -411.1 - 947.7 - (-92.31) - (-1131) = -135.49$ кДж/моль HCl (реакция является экзотермической).

Примечание: энтальпии образования соединений были приняты согласно [102].

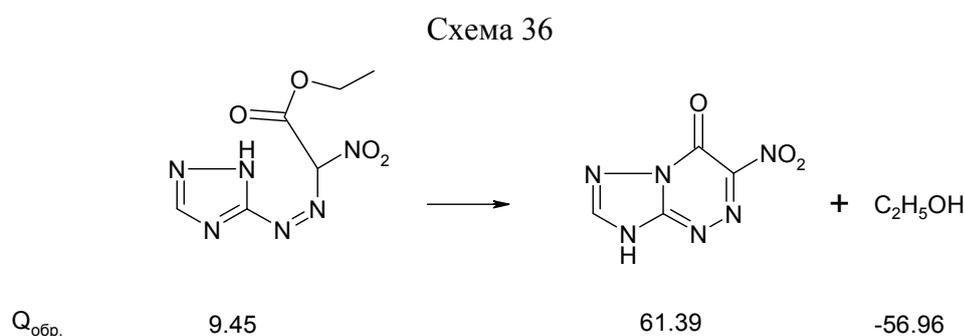
Теплота нейтрализации хлороводорода в рассматриваемом процессе $Q_{\text{нейтр.}}$ определяется следующим образом:

$$Q_{\text{нейтр.}} = \Delta H \cdot m_{(\text{HCl})} / M_{(\text{HCl})},$$

где $m_{(\text{HCl})}$ – масса хлороводорода, кг; $M_{(\text{HCl})}$ – молярная масса хлороводорода, кг/моль.

Количество остаточного хлороводорода принимается равным 3 г на основании проведенных анализов: $Q_{\text{нейтр.}} = \Delta H \cdot m_{(\text{HCl})} / M_{(\text{HCl})} = 135.49 \cdot 0.003 / (36.46 \cdot 10^{-3}) = 11.14$ кДж.

- Тепловой эффект реакции гетероциклизации может быть рассчитан с применением квантово-химических расчетов, которые были проведены в пакете *HyperChem Professional 7.1*. Оптимизация геометрии молекулы осуществлялась полуэмпирическим методом PM3. Расчет электронного строения и энергии молекулы осуществлялся методом функционала плотности (DFT) в базисе 6-31G* B3LYP. Значения теплот образования (в ккал/моль), полученные в результате расчета, приведены на схеме 36.



Тепловой эффект реакции определяется как сумма теплот образования продуктов за вычетом суммы теплот образования исходных веществ. Тогда теплота процесса гетероциклизации: $Q_{\text{гет., мол.}} = -56.96 + 61.39 - 9.45 = -5.02$ ккал/моль (-21.03 кДж/моль, реакция эндотермическая).

Таким образом, тепловой эффект оставшихся процессов операции (реакций азосочетания и образования натриевой соли): $Q_{\text{ост.}} = Q_{\text{сочет.}} - Q_{\text{нейтр.}} - Q_{\text{гет.}} = -23.86 - (-21.03) - 11.14 = -13.97$ кДж.

Приведенные выше результаты измерения теплового эффекта образования натриевой соли этилнитроацетата показали очень низкий тепловой эффект данного процесса. Таким образом, теплота образования натриевой соли Триазавирина также, вероятно, является незначительной. Следовательно, полученная величина $Q_{\text{ост.}}$ практически полностью определяется процессом азосочетания.

Полученный в рамках данного эксперимента тепловой эффект реакции серьезно отличается по сравнению с приведенными в литературе значениями (в частности, в случае проведения азосочетания с β -нафтолом, фенолом, анилином и другими ароматическими азосоставляющими был зафиксирован положительный тепловой эффект [85]). Данное

различие может быть объяснено принципиально иной структурой азосоставляющей и, следовательно, значительными отличиями реакции.

Полученные тепловые эффекты процессов получения 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она сведены в табл. 20.

Табл. 20

Тепловые эффекты процессов получения 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она, полученные с использованием системы реакционной калориметрии *FlexuSys* производства фирмы *SYSTAG* (Швейцария)

Стадия синтеза	Химический процесс	Тепловой эффект, кДж/моль
Диазотирование 3-амино-1,2,4-триазола	Диазотирование	+16.98
Получение натриевой соли этилнитроацетата	Взаимодействие этилнитроацетата и карбоната натрия	+0.34
Получение натриевой соли 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она	Нейтрализация хлороводорода	+11.14
	Азосочетание и образование натриевой соли 6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она	-13.97
	Гетероциклизация	-21.03
	Итого все процессы данной стадии	-23.86

2.3.4 Фильтрация осадка Триазавирина технического качества

Отдельного обсуждения заслуживает процесс фильтрации осадка технического Триазавирина, образующегося в ходе данной операции. Осадок представляет собой аморфную массу с очень низкой порозностью, в результате чего при проведении обычной фильтрации с использованием нутч-фильтра данная операция требует значительных затрат времени (до 12 ч), что является проблемой с точки зрения технологичности процесса.

Существенно увеличить скорость фильтрации на нутч-фильтре удалось при постоянном съеме образующегося осадка, т.е. становится очевидно, что перспективным для проведения данной операции в приемлемые сроки является барабанный вакуум-фильтр, где такой режим обеспечивается постоянно конструкцией аппарата. В ходе работы были проведены первичные испытания с применением барабанного вакуум-фильтра с положительными результатами. Внедрение данного аппарата будет объектом дальнейших испытаний в ходе улучшения технологии получения препарата Триазавирин.

2.3.5 Очистка технического Триазавирина

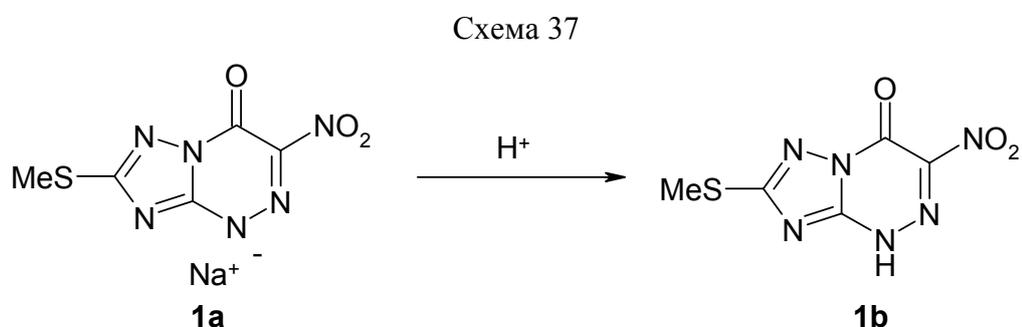
Качество Триазавирина, образующегося в виде осадка в результате проведения азосочетания и циклизации, является недостаточным с точки зрения практического

использования препарата. Таким образом, очевидной стала необходимость разработки метода очистки Триазавирина с получением препарата необходимой чистоты и минимальными потерями целевого продукта в ходе данной операции.

Проведенные анализы показали, что основными примесями Триазавирина, выпадающими в осадок совместно с ним в условиях реакции циклизации, являются карбонат натрия, гидрокарбонат натрия и хлорид натрия. При этом доля целевого продукта в осадке составляет 45-50% (масс.).

Лабораторная методика получения Триазавирина предполагает использование переосаждения из ледяной уксусной кислоты. При этом карбонат и гидрокарбонат натрия могут быть удалены из раствора в результате их превращения в угольную кислоту с последующим ее разложением до углекислого газа и воды в результате действия уксусной кислоты как более сильной. Следует отметить, что Триазавирин при этом не превращается в соответствующую *NH*-кислоту в результате более сильного его кислотного характера (ранее для ряда аналогов Триазавирина были измерены значения pK_a , они находились в пределах 1.1-1.32 [103]).

В ходе работы был проведен ряд опытов по модификации данного процесса очистки. Так, были испытаны некоторые минеральные кислоты с целью удешевления процесса (соляная, серная). Однако, в ходе данных опытов в результате слишком сильного характера данных кислот происходило превращение Триазавирина **1a** в соответствующую *NH*-кислоту **1b** (схема 37).



Кислота **1b** является соединением, практически нерастворимым в воде, причем в ходе данной операции устойчивого образования ее осадка не происходило, *NH*-кислота представляла собой аморфную массу, для ее выделения требовалось проведение экстракции органическим растворителем, что усложняет аппаратную схему процесса и требует закупки дополнительного оборудования (делительная воронка для промышленных производств), а также требует применения дополнительных органических растворителей, что ухудшает процесс с экологической точки зрения. Следовательно, хотя этот метод и позволяет осуществить очистку Триазавирина, но вследствие удорожания и усложнения процесса такой метод очистки был признан нежелательным.

Таким образом, использование уксусной кислоты, предложенное в лабораторной методике, оказалось наиболее эффективным. Однако, в ходе данной работы была установлена возможность применения не ледяной уксусной кислоты, а смеси уксусной кислоты с водой в соотношении 0.15:1. В ходе опытов было определено оптимальное количество этой смеси по отношению к массе препарата. Таким образом, себестоимость процесса была существенно уменьшена за счет сокращения требуемого количества уксусной кислоты.

Как и при использовании ледяной уксусной кислоты, полученный в ходе азосочетания осадок при кратковременном нагревании до температуры кипения данной смеси (примерно 100 °С) растворяется. В ходе процесса наблюдалось значительное образование углекислого газа, что свидетельствует о взаимодействии карбоната и гидрокарбоната натрия с уксусной кислотой. Последующее охлаждение привело к образованию нового осадка, который оказался в основном натриевой солью Триазавирина (доля целевого продукта в высушенном осадке составляла 95-97%). Таким образом, чистота продукта, полученного в ходе данного этапа, все равно не соответствовала фармакопейным требованиям, и дальнейшие изыскания были направлены на поиск метода окончательной очистки Триазавирина.

2.3.6 Очистка Триазавирина до фармакопейной чистоты

Наиболее часто используемым и легко реализуемым в промышленности методом очистки продуктов органического синтеза является перекристаллизация. Проведенные эксперименты по растворимости препарата показали применимость для его перекристаллизации смесей этилового спирта и воды в различных соотношениях. В ходе работы был выполнен подбор оптимального их соотношения с целью гарантированного проведения перекристаллизации субстанции Триазавирина с получением продукта необходимого качества и минимальными потерями продукта. Так, перекристаллизация из смеси этанол-вода (1:1) хотя и приводила к получению продукта надлежащего качества, но при этом требовалось слишком большое количество растворителя (растворимость при температуре кипения составляла 0.1 кг субстанции на 1 л смеси), что не очень приемлемо. Перекристаллизация из чистой воды хотя и требовала значительно меньшего количества растворителя (растворимость в точке кипения составляла 1 кг субстанции на 2 л смеси), но качество образующегося продукта при этом получалось неудовлетворительным (цвет не соответствовал фармакопейным требованиям: получаемая субстанция имела красно-коричневый оттенок, что недопустимо, и при этом требовалась дополнительная очистка, что и производилось в лабораторной методике). В ходе дальнейших исследований было установлено, что для проведения перекристаллизации целесообразно использовать смесь с содержанием этилового спирта 34% об. (28% масс.). При этом растворимость субстанции составляет при 87 °С (точка кипения) 136 г/1 л смеси, образующийся в результате процедуры продукт соответствует фармакопейным требованиям. Было найдено, что

применение обработки этиловым спиртом осадка, полученного в результате данного варианта перекристаллизации, не требуется, что позволяет упростить технологию получения Триазавирина. Результаты экспериментов по перекристаллизации собраны в табл. 21

Табл. 21

№	Смесь растворителей для перекристаллизации	Растворимость, г/л смеси растворителей	Средний выход Триазавирина, %	Соответствие продукта фармакопейным требованиям
1	Вода	500	57	Не соответствует
2	Этанол-вода (10:90, об.)	460	60	Не соответствует
3	Этанол-вода (20:80, об.)	390	64	Не соответствует
4	Этанол-вода (30:70, об.)	220	70	Соответствует
5	Этанол-вода (34:66, об.)	136	78	Соответствует
6	Этанол-вода (40:60, об.)	120	77	Соответствует
7	Этанол-вода (1:1, об.)	100	80	Соответствует

Необходимо отметить, что сушка продукта должна быть произведена без доступа солнечного света к субстанции. В случае нарушения данного требования возможно изменение окраски препарата от желтой до желто-зеленой, что не соответствует фармакопейным требованиям. В рамках данной работы сушка выполнялась с использованием вакуум-сушильного шкафа.

В технологический процесс были также включены вспомогательные работы, направленные на поддержание микробиологической чистоты помещений, рабочей одежды и персонала. Все последние стадии организованы в соответствии с требованиями GMP. Сушка субстанции и фасовка готовой продукции производились в отдельном специализированном помещении с высокой кратностью обмена воздушных масс со специально подготовленным воздухом тройной фильтрации и постоянной влажностью.

В результате проведенной технологической работы удалось сократить количество технологических стадий с 24 в первоначальном варианте до 19 в существующем технологическом процессе. Общий выход препарата Триазавирин в расчете на 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазол составил 50 %, что сопоставимо с выходом при применении лабораторной методики (62.5 %) при увеличении загрузки в 13.7 раза.

2.3.7 Анализ гранулометрического состава образующегося в ходе перекристаллизации осадка

Гранулометрический состав продукта, используемого в качестве лекарственного средства, является крайне важной его характеристикой для создания ГЛФ (капсулы или

таблетки). В ходе настоящей работы было выполнено исследование влияния скорости охлаждения раствора, полученного в ходе перекристаллизации в описанных выше условиях, на гранулометрический состав полученного осадка. Были проведены четыре эксперимента, в ходе которых 100 г субстанции растворялись при нагреве до температуры кипения в 740 мл смеси этанол-вода (34:66, об.). Далее в первом случае было выполнено медленное охлаждение смеси с использованием термостата, во втором случае охлаждение было естественным, на воздухе до 20 °С. Третий и четвертый эксперимент проводились с принудительным быстрым и очень быстрым охлаждением соответственно до 20 °С (в качестве теплоносителя использовалась холодная вода). Табл. 22 содержит данные о выходах на стадии перекристаллизации. На рис. 12 представлены кривые снижения температуры при перекристаллизации в ходе проведенных экспериментов.

Табл. 22

Режим охлаждения	Выход продукта на стадии перекристаллизации, %			Средний выход, %
	1	2	3	
1	75,9	73,1	74,8	74,6
2	77,0	78,5	77,3	77,6
3	77,6	80,1	79,3	79,0
4	81,9	84,1	84,2	83,4

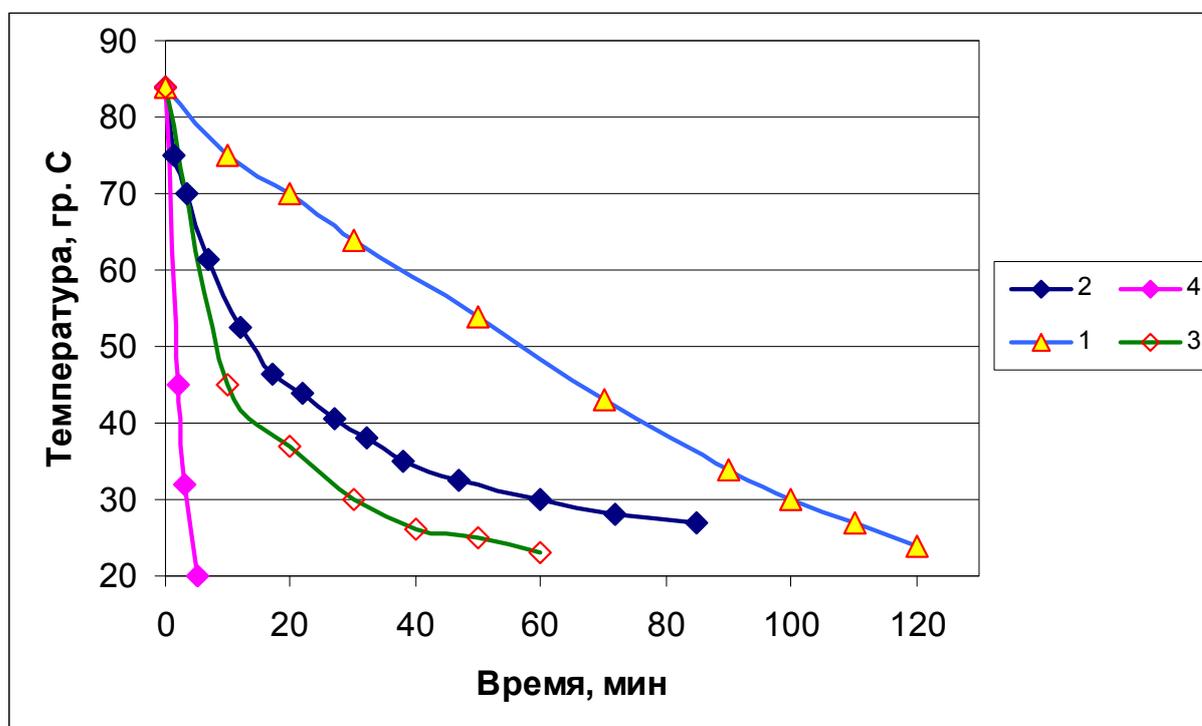


Рис. 12. Кривые снижения температуры раствора субстанции при различных режимах охлаждения

В ходе исследования был проанализирован гранулометрический состав [104] полученных в результате опытов осадков субстанции Триазавирина (данные получены с помощью просеивания полученных образцов на стандартных ситах). Результаты представлены в табл. 23 и на рис. 13.

Табл. 23

Фракция, мм	1	2	3	4
2,5 – 1,6	2,15 %	0,8 %	0 %	0 %
1,6 – 1,0	4,89 %	1,3 %	0,54 %	0 %
1,0 – 0,2	65,42 %	53,5 %	11,23 %	4,1 %
0,2 – 0,1	26,93 %	33,6 %	42,34 %	45,3 %
0,1 – 0,05	0,61 %	9,04 %	41,67 %	35,3 %
0,05 – 0	0 %	0 %	4,22 %	6 %

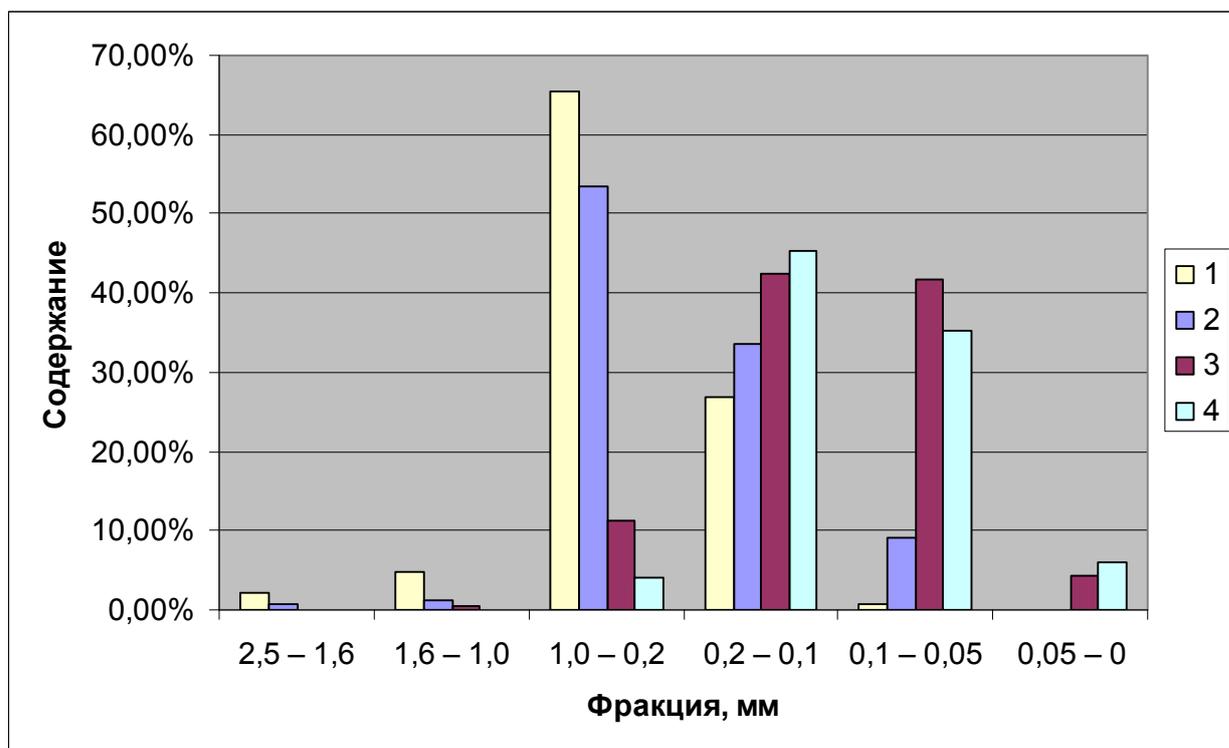


Рис. 13. Фракционный состав осадков субстанции Триазавирина при различных вариантах охлаждения

Таким образом, медленное охлаждение обеспечивает получение более крупных кристаллов при несколько меньшем выходе субстанции на стадии перекристаллизации. В итоге можно заключить, что оптимальным является второй режим естественного охлаждения (второй режим).

3 Исходные вещества, методики эксперимента и анализа полученных соединений

3.1 Исходное сырье для получения субстанции препарата Триазавирин

Использованные в качестве исходных соединения и методы их очистки представлены в табл. 24.

Табл. 24

Компонент сырья	Минимально допустимое содержание основного вещества, %	Очистка
Аминогуанидина карбонат	98	Не требуется
Аммония роданид	98	Не требуется
Кислота серная	99	Не требуется
Калия гидроксид	97	Не требуется
Кислота соляная	35	Не требуется
Диметилсульфат	97	Не требуется
Ацетонитрил	99	Не требуется
Спирт этиловый	96	Не требуется
Натрия нитрит	97	Не требуется
Этилнитроацетат	99	Перегонка в вакууме
Натрия карбонат	97	Не требуется
Кислота уксусная	99	Не требуется

3.2 Аппаратурная схема получения препарата Триазавирин фармакопейного качества

В ходе работы было подобрано оборудование для опытно-промышленного производства препарата «Триазавирин» мощностью 300 кг/год, создана аппаратурная схема производства. Аппаратурная схема включает следующие основные узлы:

1. Аппараты для синтеза и выделения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола в составе: реактор химический стеклянный с дозирующим оборудованием, нутч-фильтр, вакуум-сушильный шкаф.
2. Аппараты для синтеза 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола в составе: реактор химический стеклянный с дозирующим оборудованием, нутч-фильтр, вакуум-сушильный шкаф.
3. Аппараты для синтеза и очистки субстанции Триазавирин в составе: синтетический комплекс, состоящий из химического стеклянного реактора с дозирующим

оборудованием, соединенный линией выгрузки раствора соли диазония с реактором стеклянным химическим, нутч-фильтр, вакуум-сушильный шкаф. Все материалы, контактирующие с субстанцией, соответствуют требованиям GMP. Разработанная аппаратурная схема представлена на рис. 14, спецификация оборудования приведена в табл. 25.

Данный раздел содержит описание оптимизированных процедур получения на оборудовании Технологической группы ИОС УрО РАН и разработанных методов контроля качества для:

- 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола
- 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола
- препарата Триазавирин технического качества
- препарата Триазавирин фармакопейной чистоты.

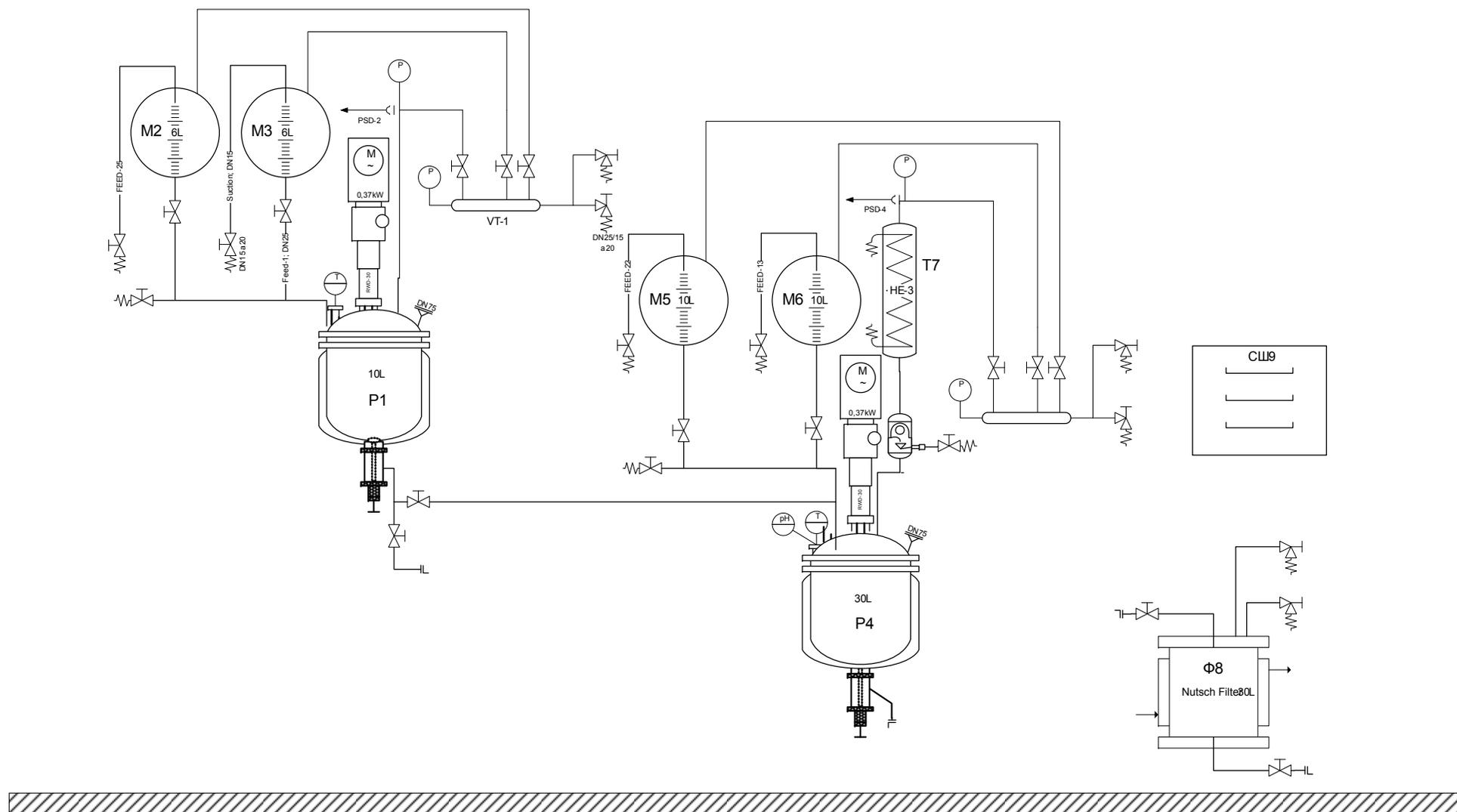


Рис. 14. Аппаратурная схема получения препарата «Гриазавирин»

Спецификация оборудования

Табл. 25

№	Обозначение	Наименование	Характеристики
1	P1	Реактор из боросиликатного стекла объемом 10 л	Снабжен рубашкой для охлаждения и нагрева реакционной массы
2	M2	Мерник из боросиликатного стекла объемом 6 л	
3	M3	Мерник из боросиликатного стекла объемом 6 л	
4	P4	Реактор из боросиликатного стекла объемом 10 л	Снабжен рубашкой для охлаждения и нагрева реакционной массы
5	M5	Мерник из боросиликатного стекла объемом 10 л	
6	M6	Мерник из боросиликатного стекла объемом 10 л	
7	T7	Теплообменник к реактору P4	
8	Ф8	Нутч-фильтр, объем верхней емкости 30 л	Снабжен рубашкой для охлаждения и нагрева фильтруемой массы

3.2.1 Процедура получения и очистки 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола

В реактор P4 загружают через люк аминогуанидина карбонат (10.1 кг, 74.3 моль), аммония роданид (5.65 кг, 74.3 моль) и воду (3.7 л). В реакторе P4 включают перемешивание и нагревают смесь до температуры 100 °С путем подачи теплоносителя в рубашку аппарата, в теплообменник T7 подают холодную воду для конденсации паров. Смесь перемешивают при данной температуре в течение 30 мин (выделяющийся аммиак направляют в ловушку). Смесь нагревают до 105 °С путем подачи теплоносителя в рубашку аппарата, в мерник M5 с помощью вакуума загружают раствор кислоты серной (2.65 л, 98 моль) в воде (7.1 л) и постепенно прибавляют данный раствор к реакционной массе в реакторе P4 в течение 2 ч. После этого раствор нагревают еще в течение 1 ч при той же температуре и перемешивании (начинается кристаллизация гидрохлорида гуанидилтиомочевины). В мерник M6 с помощью вакуума загружают раствор калия гидроксида (4.8 кг, 85.7 моль) в воде (4.8 л). Данный раствор постепенно прибавляют к реакционной смеси в реакторе P4 с такой скоростью, чтобы температура смеси не поднималась выше 100 °С. После добавления раствора итоговую реакционную массу нагревают при перемешивании 1.5 ч при кипении. В мерник M5 загружают с помощью вакуума концентрированную кислоту соляную (4 л) и направляют ее в реактор P4, pH

смеси при этом должен быть равен 1 или менее, иначе требуется добавление кислоты соляной до достижения данного значения. Смесь охлаждают до 20 °С путем подачи теплоносителя в рубашку аппарата. Итоговую смесь направляют с помощью вакуума в верхнюю емкость нутч-фильтра Ф8, где выделившийся осадок отделяют фильтрованием через слой полотна «Бельтинг», промывают водой в количестве 2 л. Полученный продукт отправляют на стадию очистки. Фильтрат направляют в реактор Р4, а затем в сборник жидких отходов для дальнейшей нейтрализации.

Полученный осадок помещают в аппарат Р4 через люк, добавляют воду (10.1 л). Включают перемешивание, нагревают полученную смесь до 35 °С путем подачи теплоносителя в рубашку аппарата. В мерник М6 загружают с помощью вакуума 50% раствор калия гидроксида (2 л). Раствор добавляют в реактор Р4 до достижения рН = 10, при необходимости в мерник М6 загружают дополнительное количество раствора калия гидроксида и добавляют его в реактор Р4. Итоговый раствор с помощью вакуума передают в верхнюю емкость нутч-фильтра Ф8, раствор профильтровывают, осадок направляют в сборник твердых отходов, фильтрат направляют в реактор Р4. В реакторе Р4 включают перемешивание. В мерник М5 загружают концентрированную кислоту соляную (2 л), которую добавляют в реактор Р3 для достижения в реакционной массе рН = 1 или менее, полученную смесь перемешивают в течение 1 ч. Итоговую суспензию при помощи вакуума направляют в верхнюю емкость нутч-фильтра Ф8, осадок отфильтровывают через слой полотна «Бельтинг», дважды промывают холодной водой (по 2 л). Фильтрат направляют в реактор Р4, а затем в сборник жидких отходов. Данную процедуру очистки повторяют аналогичным образом еще один раз. Осадок, полученный в результате второго переосаждения сушат при 100 °С в вакууме с применением вакуум-сушильного шкафа СШ9. Средний выход 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола составляет 5 кг (43.2 моль, 58%). Аппаратурная схема данных процессов представлена на рис. 15 и 16.

3.2.2 Контроль качества 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола

Чистота полупродукта была подтверждена данными элементного анализа (см. табл. 9, раздел 2.1.2), данными ЯМР ¹Н спектроскопии (рис. 17), ИК-спектроскопии [105] (рис. 18), масс-спектрометрии (электроспрей), а также ряда других параметров. В частности, полученный полупродукт представляет собой бесцветный порошок, растворимый в воде, диметилсульфоксиде, диметилформамиде, не растворимый в хлороформе, имеющий температуру плавления 306-308 °С [69].

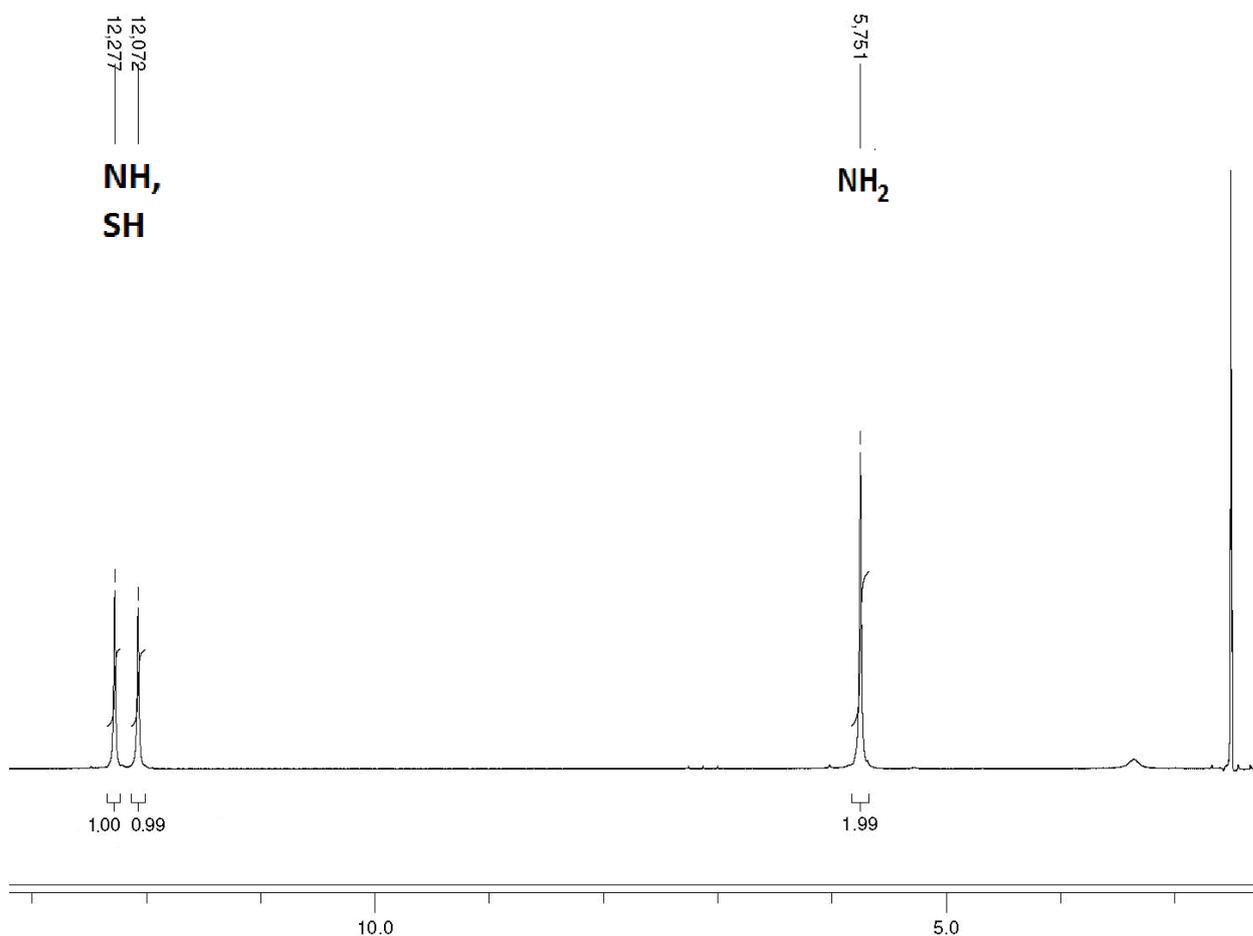


Рис. 17. ЯМР ^1H спектр 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола в ДМСО- d_6

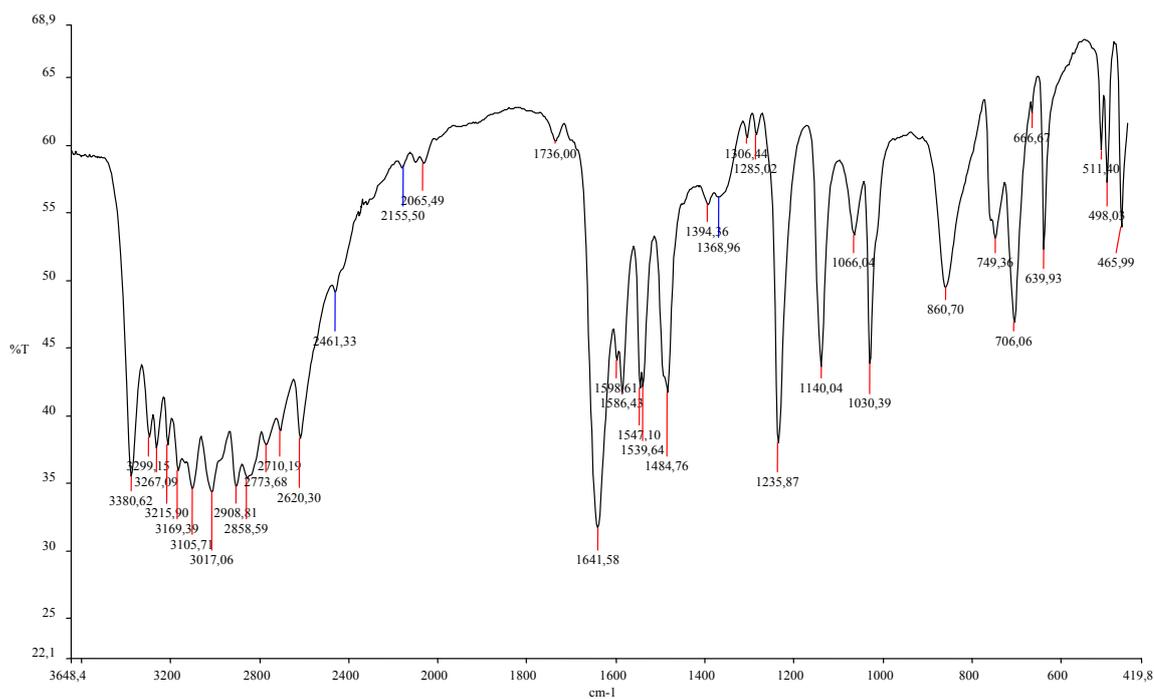


Рис. 18. ИК спектр 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола

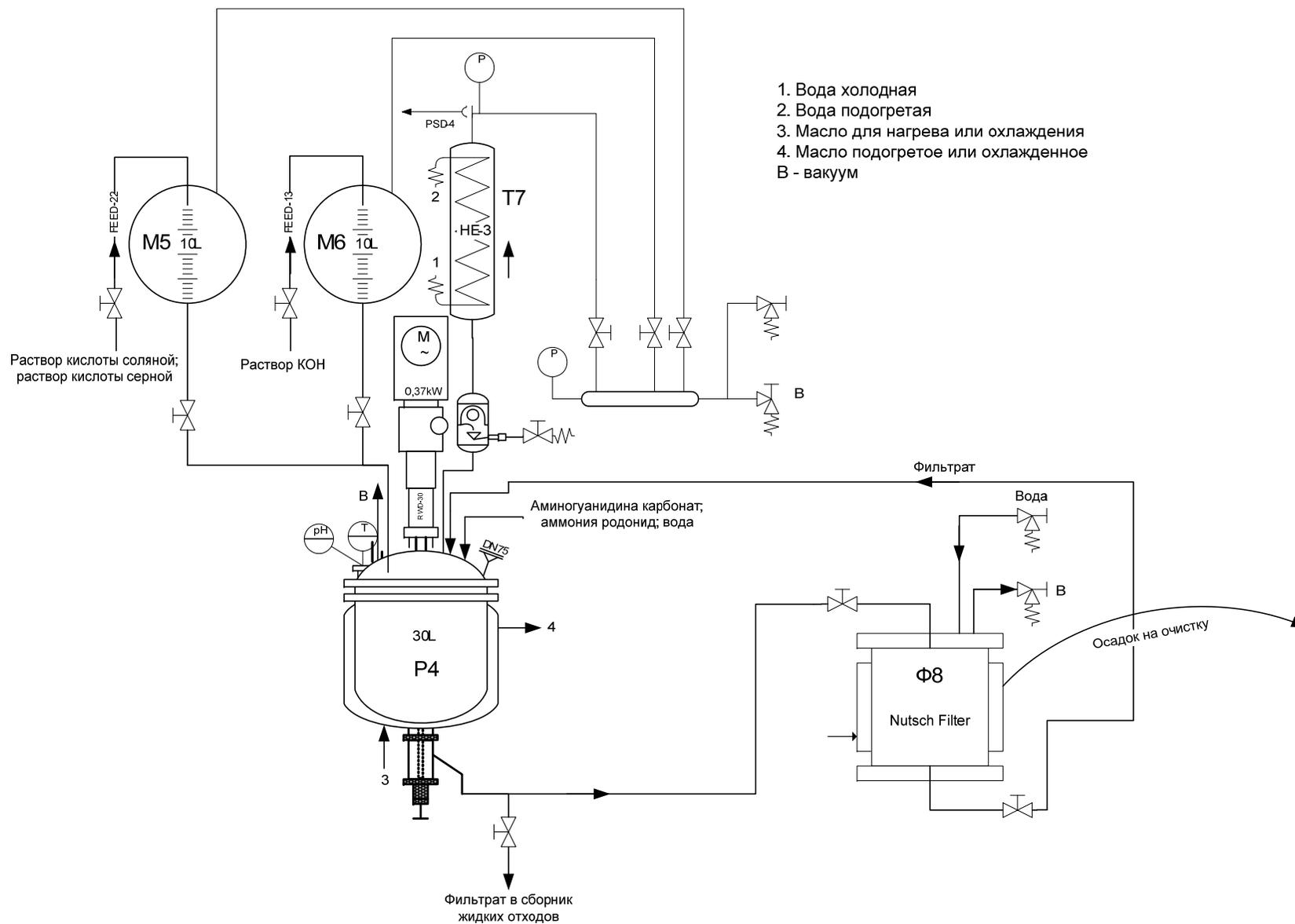


Рис. 15. Аппаратурная схема получения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола

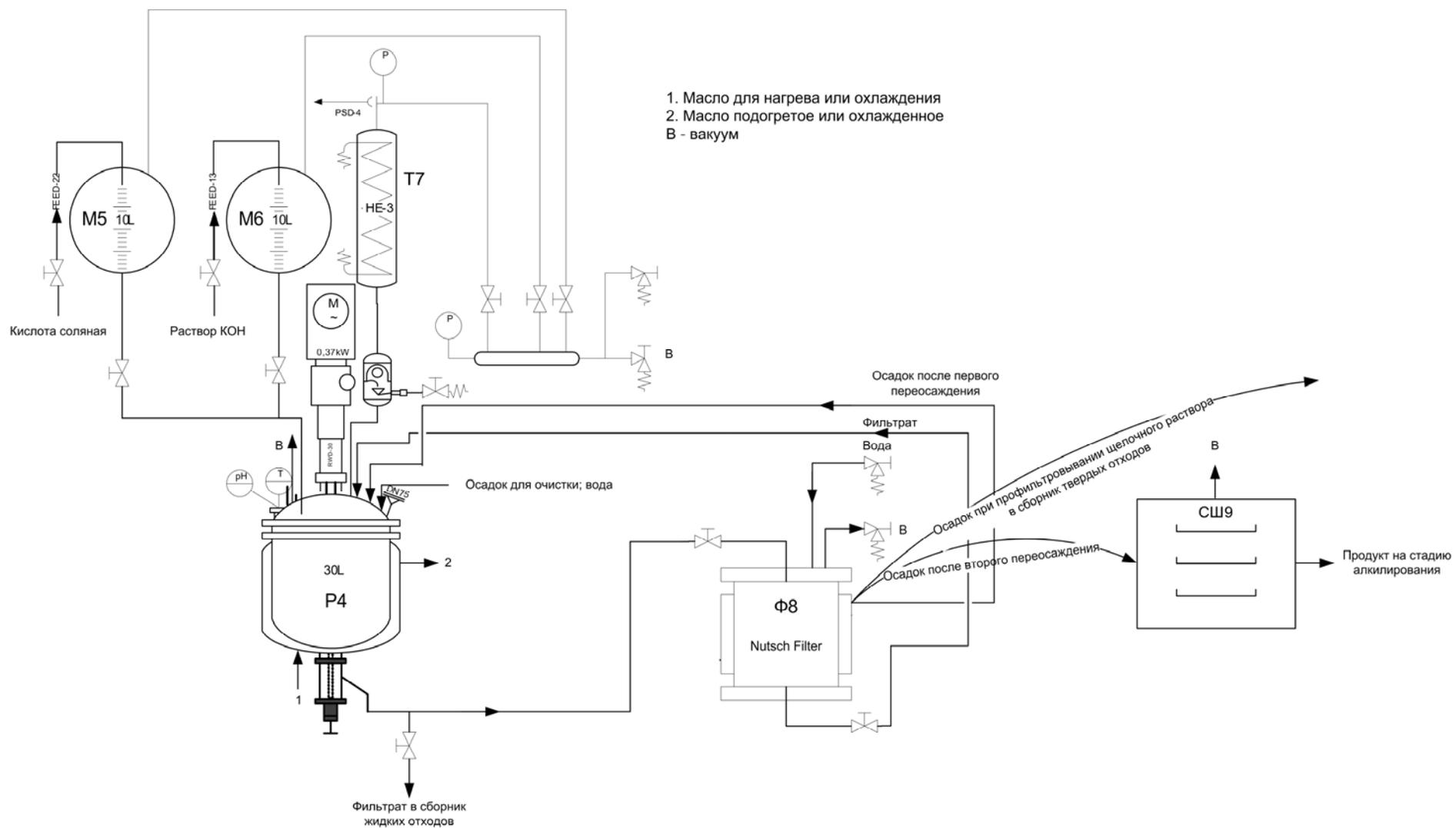


Рис. 16. Аппаратурная схема очистки 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола

3.2.3 Процедура получения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола

В мерник М5 с помощью вакуума загружают 15.5 л смеси вода-этанол (1:1), которую затем направляют в реактор Р4. Через люк в реактор Р4 загружают калия гидроксид (4.82 кг, 86 моль), включают перемешивание, ожидают получения истинного раствора. Затем в реактор Р4 через люк загружают 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазол (10 кг, 86 моль) и перемешивают полученную смесь в течение 1 ч. Далее реакционную массу нагревают до 40 °С путем подачи теплоносителя в рубашку аппарата. В мерник М6 с помощью вакуума загружают диметилсульфат (5.42 кг, 43 моль) и постепенно добавляют его в реакционную массу при данной температуре и при перемешивании. После добавления метилирующего агента реакционную массу перемешивают при той же температуре еще в течение 1 ч, после чего охлаждают до 20 °С путем подачи теплоносителя в рубашку аппарата. Итоговую реакционную массу с помощью вакуума передают в верхнюю емкость нутч-филтра Ф8, осадок отфильтровывают через слой полотна «Бельтинг» и промывают ацетонитрилом в объеме 5 л. Фильтрат направляют в реактор Р4, а затем в сборник жидких отходов. Полупродукт сушат с использованием вакуум-сушильного шкафа СШ9. Средний выход 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола составляет 6.71 кг (51.6 моль, 60%). Аппаратурная схема данного процесса представлена на рис. 19.

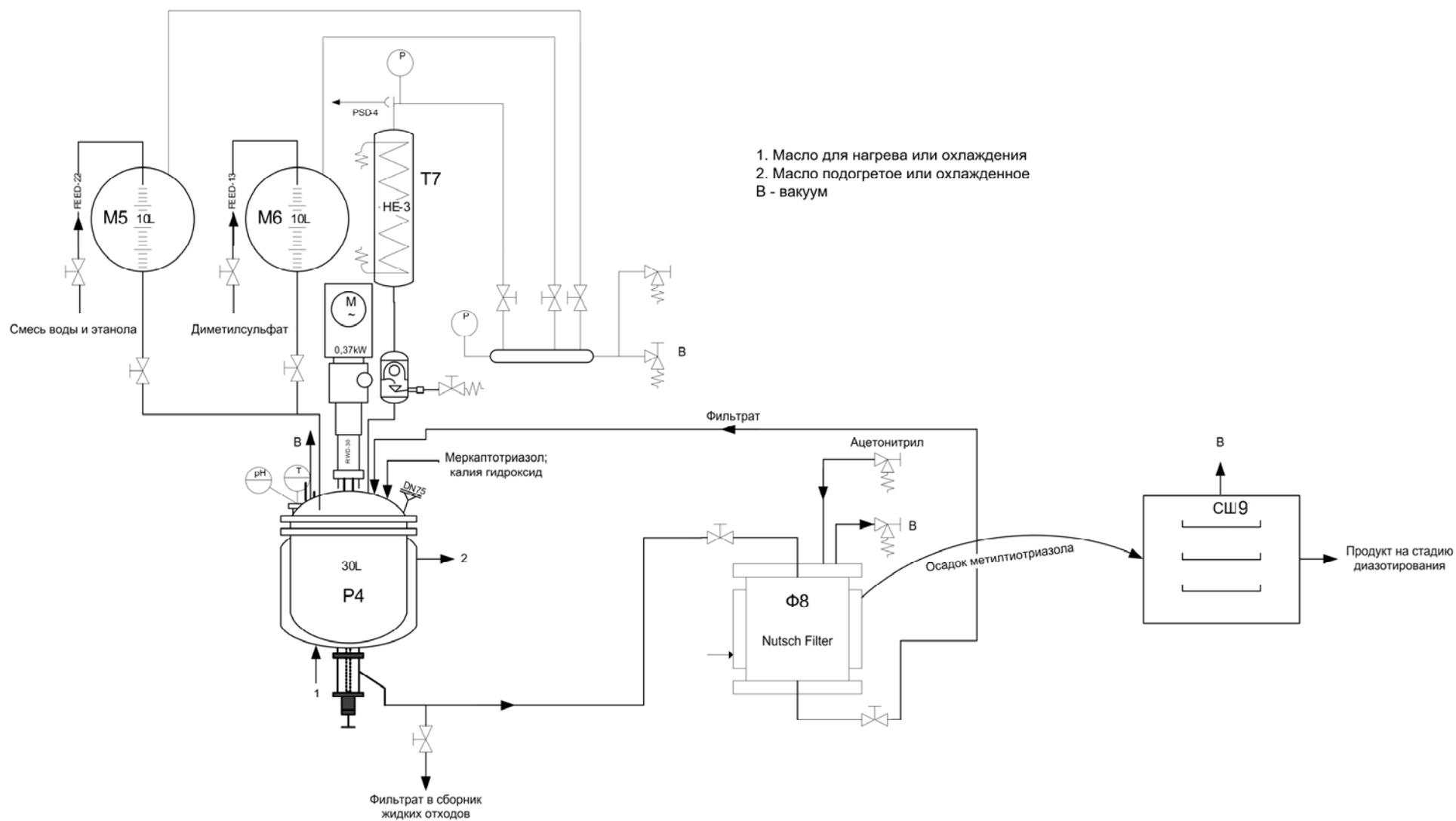


Рис. 19. Аппаратурная схема получения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола

3.2.4 Контроль качества полученного 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола.

Подлинность и чистота полученного на данном этапе полупродукта была доказана на основании данных элементного анализа (результаты анализа продукта некоторых опытов приведены в табл. 26), ЯМР ^1H спектроскопии [61] (рис. 20), ИК-спектроскопии [106] (рис. 21).

Табл. 26

Номер опыта	Найдено, %		
	С	Н	N
№ 1	27,60	4,68	42,85
№ 2	27,55	4,56	42,89
№ 3	27,57	4,49	42,95
№ 4	27,58	4,50	43,00
№ 5	27,61	4,67	42,79
Вычисленные значения	27,68	4,65	43,04

Дальнейшие опыты также не показали существенных отклонений данных элементного анализа от рассчитанных значений.

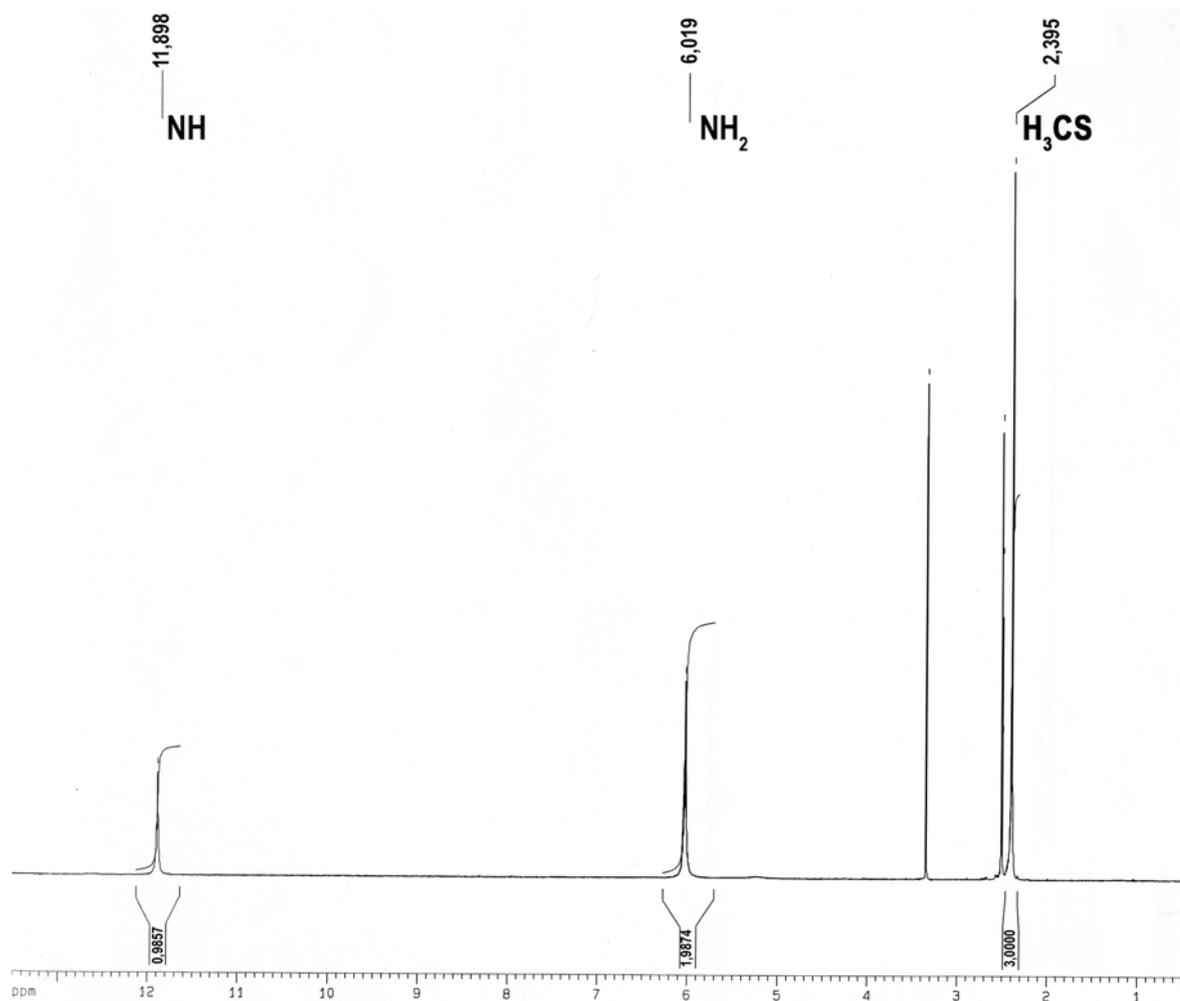


Рис. 20. ЯМР ¹Н спектр 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола в ДМСО-*d*₆

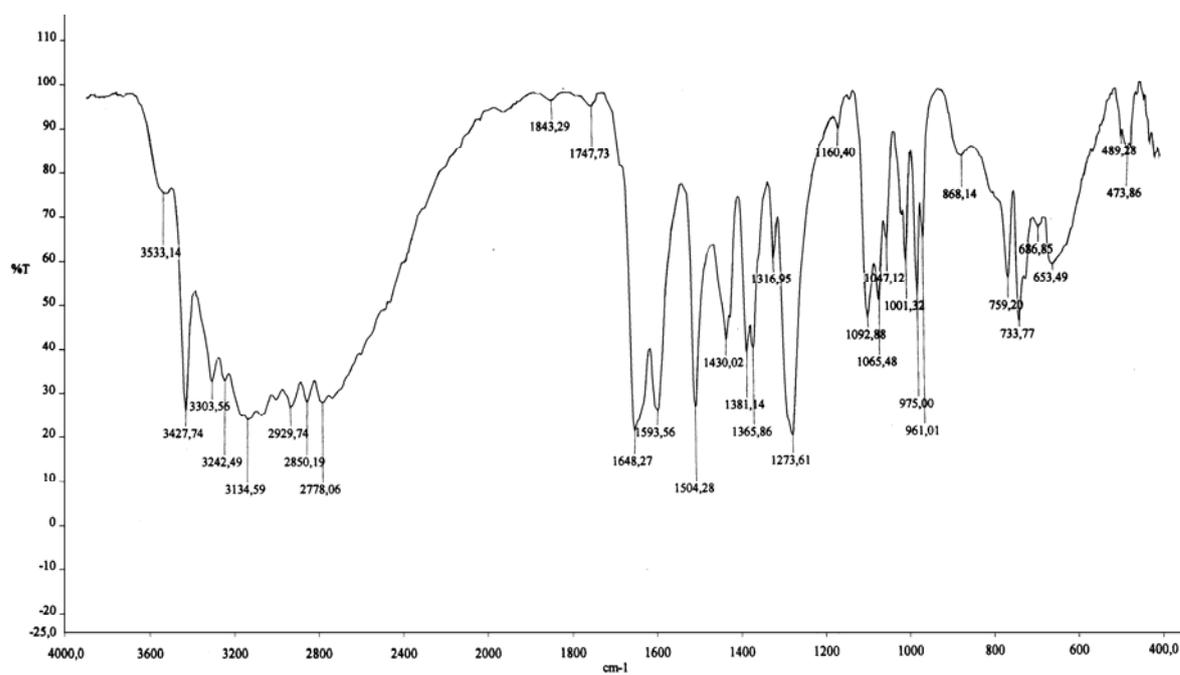


Рис. 21. ИК-спектр 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола

Температура плавления полученного полупродукта показала совпадение с описанным ранее значением [107] (130-132 °С). Кроме этого, было проведен анализ качества по ряду других параметров: полупродукт представляет собой кристаллический бесцветный порошок, растворимый в воде, этаноле, изопропанол, диметилсульфоксиде, диметилформамиде, нерастворимый в хлороформе. Табл. 27 содержит данные по изучению растворимости.

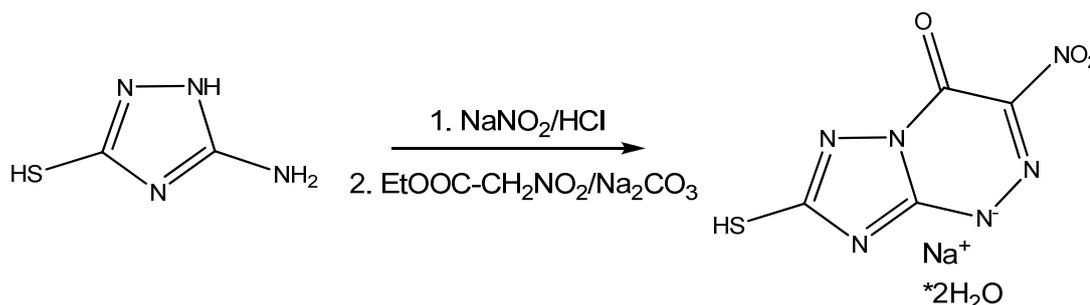
Табл. 27

Растворитель	Количество препарата в г на 1 мл растворителя	
	Стандарт	Полученный образец
Диметилсульфоксид	0,0500±0,0002	0,0500±0,0002
Диметилформамид	0,0500±0,0004	0,0500±0,0004
Вода	0,0600±0,0004	0,0600±0,0004
Этанол	0,0500±0,0005	0,0500±0,0005
Изо-пропанол	0,0400±0,0006	0,0400±0,0006
Хлороформ	0,00001±0,000001	0,00001±0,000001

3.2.4.1 Разработка ВЭЖХ метода определения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола и примесей

Контроль содержания основного вещества и посторонних примесей в данном полупродукте был осуществлен с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Из примесей органического характера, встречающихся в составе 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола, затруднять синтез «Триазавирина» может только 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазол, который может аналогично вступать в реакцию получения соли диазония и далее при азосочетании и дальнейшей циклизации образовывать 7-меркапто-3-нитро-4-оксо-1,4-дигидро-1,2,4-триазоло[5,1-с] 1,2,4-триазин-1-ил дигидрат (схема 38).

Схема 38



Испытания по определению 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола были проведены при применении кислой и щелочной сред. В качестве элюента в случае кислой среды была использована смесь ацетонитрила и водного раствора трифторуксусной кислоты в различных соотношениях, в случае щелочной среды – смесь водного раствора ацетата натрия с органическими растворителями, такими как метанол и ацетонитрил. Первичные результаты показали преимущественное применение щелочной среды для цели определения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола ввиду лучшего качества получаемых хроматограмм, коэффициента асимметрии пика и т.д.

Разработанная методика также позволила осуществить детекцию 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола в составе полупродукта как основной вероятной примеси. Опыты показали, что 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазол в аналогичных условиях хроматографирования имеет отличное от 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола время удерживания (около 2.74 мин и около 4.2 мин соответственно). На рис. 22а показана полученная хроматограмма смеси 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола и 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола в соотношении 3:1, а на рис. 22б – хроматограмма 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола с примесью 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола в количестве 1% (масс.).

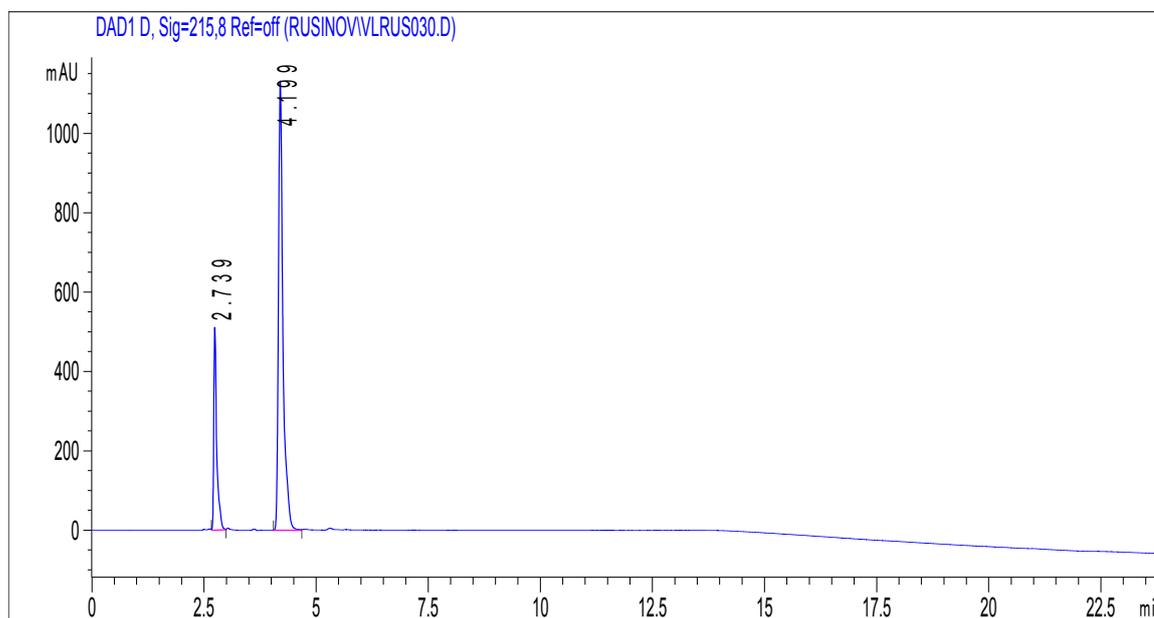


Рис. 22а. Хроматограмма смеси 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола и 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола (3:1).

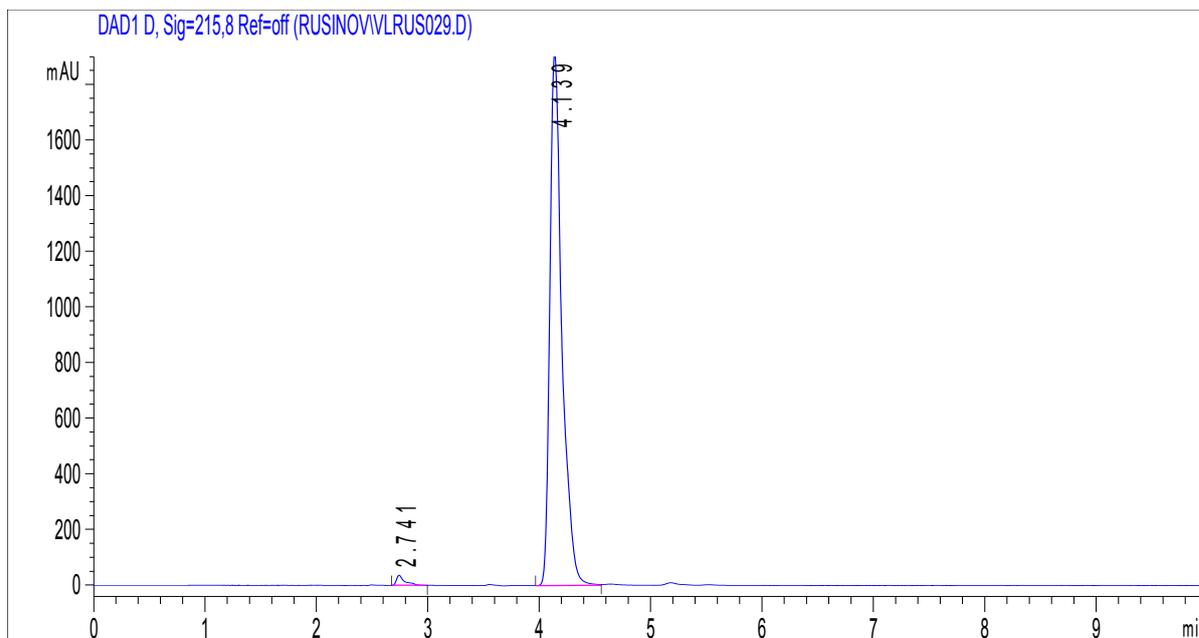


Рис. 22б. Хроматограмма смеси 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола и 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола (99:1).

Далее представлена разработанная методика:

В качестве подвижной фазы была использована следующая смесь: 18% смеси ацетонитрил - метанол в соотношении 1:1 по объёму – 82 % 0,03 М водного раствора ацетата натрия. Применялась следующая колонка: «Kromasil 100-5 С 18», 250x4,6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм, объём вводимой пробы 10 мкл; детектор: диодная матрица; длина волны 215 нм, щель 8 нм.

Приготовление подвижной фазы: на аналитических весах ВЛР-20 или аналогичных взвешивают 2,46 г ацетата натрия безводного, помещают в мерную колбу объёмом 1000 мл, растворяют в воде для ВЭЖХ, перемешивают, объём доводят до метки. В мерную колбу на 200 мл помещают 100 мл ацетонитрила и 100 мл метанола, тщательно перемешивают, смесь уравнивают до достижения комнатной температуры. В другую мерную колбу объёмом 1000 мл помещают 820 мл свежеприготовленного водного 0,03 М раствора ацетата натрия и 180 мл ацетонитрила, тщательно перемешивают, фильтруют и дегазируют на установке для фильтрации и дегазации растворителей.

Испытуемый раствор. Около 0,025 г (точная навеска) 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл подвижной фазы, доводят объём раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор. Около 0,025 г (точная навеска) стандартного образца 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола, высушенного до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл подвижной фазы, доводят объём раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

Процедура анализа:

Схема элюирования: для определения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола используется изократический режим элюирования.

Скорость потока: 0,9 мл/мин

Температура колонки: $25 \pm 0,1^{\circ} \text{C}$

Время удерживания 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола – около 4,2 мин

Количественное определение:

В хроматограф вводят испытуемый раствор и стандартный раствор.

Содержание 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола в испытуемом образце в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \times a_0 \times P \times 100}{S_0 \times a_1 \times 100}, \text{ где:}$$

S_1 - среднее значение площади пика 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола в испытуемом растворе, полученное из трех определений;

S_0 - среднее значение площади пика 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола в стандартном растворе 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола, полученное из трех определений;

a_1 – навеска 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола, г;

a_0 - навеска стандартного образца 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола, г;

P - содержание активного компонента в стандартном образце 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола, %,

100 - пересчет в проценты.

Примечание: калибровочная кривая формируется по 5 точкам (концентрации 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 мг/мл). В ходе анализа наблюдалась линейная зависимость площади пика от концентрации полупродукта.

3.2.4.2 Спектрофотометрический анализ

В ходе исследований был разработан метод контроля количественного содержания 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола спектрофотометрическим методом, полупродукт анализируется в виде комплекса с Cu^{2+} . Данный метод, в отличие от ВЭЖХ, не требует применения специального оборудования. Далее описаны операции, необходимые для проведения данного анализа.

Приготовление раствора хлорида меди(II) с концентрацией 0,5 г/мл: 50 г хлорида меди взвешивают на весах, с точностью до 0,01 г, навеску помещают в мерную колбу на

100 мл. Добавляют 70 мл дистиллированной воды и перемешивают до полного растворения, доводят водой до метки.

Приготовление РСО 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола: 2 г (точная навеска) 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола (РСО) взвешивают на весах, с точностью до 0,0001 г. Помещают в мерную колбу на 100 мл, добавляют 70 мл стандартного ацетатного буферного раствора и перемешивают до полного растворения. Затем доводят объем водой до метки.

Построение градуировочного графика: в колбы объемом 25 мл вносят по 2, 5, 8 мл раствора РСО соответственно. Добавляют по 10 мл воды дистиллированной и 0.25 мл раствора хлорида меди, перемешивают. Затем доводят объем раствора до метки. Поглощение полученных растворов измеряют на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda-25 (может быть использован другой прибор с аналогичными или лучшими характеристиками). Используя полученные значения, строят градуировочный график.

Условия хранения реактивов и растворов: растворы и реактивы хранятся в условиях, исключающих попадание влаги и микропримесей из воздуха.

Выполнение измерений: 2 г (точная навеска) 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола (испытуемый образец) взвешивают на весах, с точностью до 0.0001 г. Помещают в мерную колбу на 100 мл, добавляют 70 мл стандартного ацетатного буферного раствора и перемешивают до полного растворения. Затем доводят объем водой до метки. Получают раствор № 1. Одновременно с приготовлением проб для построения градуировочного графика в колбу объемом 25 мл вносят по 5 мл раствора № 1. Добавляют по 10 мл воды дистиллированной и 0,25 мл раствора хлорида меди, перемешивают. Затем доводят объем раствора до метки ацетатным буферным раствором. Оптическую плотность полученного раствора на максимуме поглощения измеряют на спектрофотометре.

Вычисление результатов измерений: при создании метода в программном обеспечении прибора вводят данные по разбавлениям и навескам, получая градуировочный график в следующем виде: концентрация в мг/л по оси абсцисс; оптическая плотность (А) по оси ординат (пример градуировочного графика представлен на рис. 23). Результат измерений записывают после усреднения результатов 3-х последовательных измерений.

Вычисляют содержание относительно стандарта по формуле:

$$X=X_i/X_0*100\%$$

где: X_0 - содержание 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола в стандартном растворе, г/л;
 X_1 - содержание 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола в анализируемом растворе, г/л.

Форма представления результатов измерений: результат измерения в документах, предусматривающих его использование, представляют в следующем виде:

$$X_{cp} \pm 1.2 \text{ при } P = 0.95,$$

где X_{cp} - среднее арифметическое трех параллельных определений.

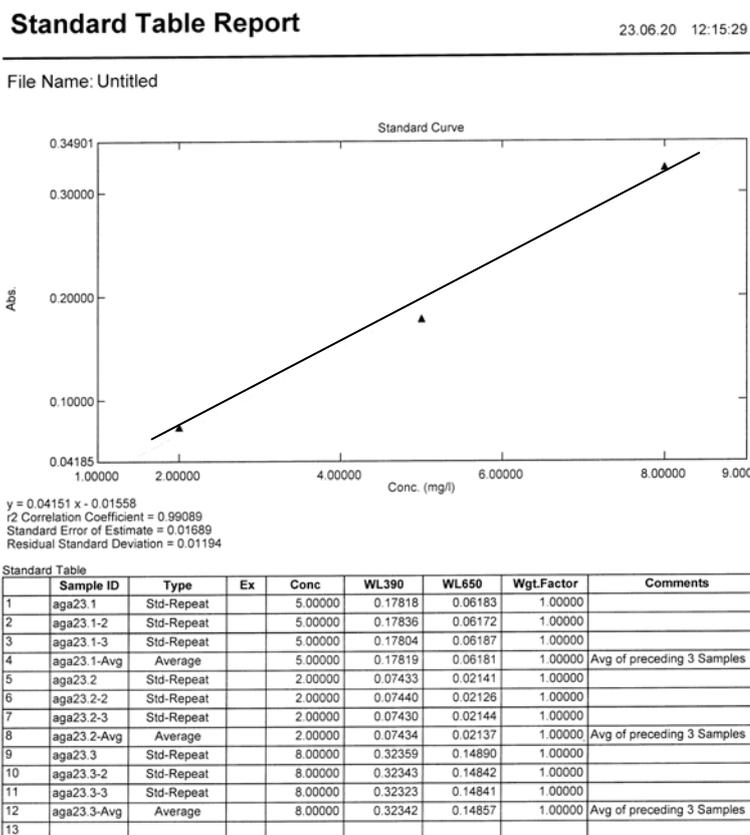


Рис. 23. Градуировочный график при определении
5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола спектрофотометрическим методом

Проверка данной методики с использованием стандартных образцов показала, что отклонение составляет не более 1%.

3.2.5 Процедура получения препарата «Триазавирин»

3.2.5.1 Диазотирование

5-Амино-3-метилтио-1,2,4-триазол (1 кг, 7.68 моль) суспендируют в смеси воды (700 мл) и этилового спирта (700 мл). Полученную суспензию через люк загружают в реактор Р1. В мерник М2 с помощью вакуума загружают концентрированную кислоту соляную (1.4 л) и добавляют ее в реактор Р2, включают перемешивание. Полученную смесь в реакторе Р2 охлаждают до $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ путем подачи хладагента в рубашку аппарата. Отдельно готовят раствор натрия нитрита (0.54 кг) в воде (0.96 л), с помощью вакуума загружают его в мерник М3. Данный раствор прибавляют к охлажденной реакционной массе в

реакторе Р2 с такой скоростью, чтобы ее температура не поднималась выше $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$. После добавления всего раствора натрия нитрита реакционную массу перемешивают при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин и передают полученный раствор на стадию азосочетания. Аппаратурная схема процесса представлена на рис. 24.

3.2.5.2 Процедура получения препарата «Триазавирин» технического качества.

В реактор Р4 через люк загружают воду (7.4 л), натрия карбонат (1.86 кг, 17.52 моль), включают перемешивание и ожидают получения истинного раствора. Затем через люк загружают этилнитроацетат (1.023 кг, 7.69 моль). Смесь, не останавливая перемешивания, охлаждают до $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ путем подачи хладагента в рубашку аппарата. После установления температуры в диапазоне $0-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ к полученной смеси при эффективном перемешивании добавляют из реактора Р1 реакционную массу, полученную на стадии диазотирования таким образом, чтобы температура смеси находилась в диапазоне $0-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, а рН не был ниже 10. В реактор Р1 через люк добавляют 0.5 л воды и направляют ее в реактор Р4 для промывки линии подачи реакционной массы со стадии диазотирования. Для поддержания рН в нужных пределах к реакционной смеси в реакторе Р4 при необходимости прибавляют раствор карбоната натрия (20 % (масс.), ориентировочно 1.5 л), заранее загруженный с помощью вакуума в мерник М5 в количестве 2.5 л. Образовавшуюся в реакторе Р4 суспензию оранжевого цвета перемешивают 30 мин при том же тепловом режиме и затем 2 ч без охлаждения, контролируя рН реакционной массы. Суспензию с помощью вакуума направляют в верхнюю емкость нутч-фильтра Ф8, осадок отфильтровывают с помощью полотна «Бельтинг». Фильтрат направляют в реактор Р4, а затем в сборник жидких отходов. Полученный осадок технического Триазавирин содержит достаточно большую долю примесей, поэтому оценка выхода продукта на данном этапе затруднительна. Окончательный выход Триазавирин определяется после проведения стадии очистки.

Аппаратурная схема процесса представлена на рис. 24.

3.2.5.3 Процедура очистки сырого Триазавирин

Данная операция производится для осадков, полученных в результате проведения двух операций диазотирования и азосочетания. В мерник М5 загружают с помощью вакуума смесь ледяной уксусной кислоты (1.4 л) и воды (10 л), которую направляют в реактор Р4. Через люк в аппарат загружают осадок, полученный в результате проведения двух операций азосочетания и циклизации, включают перемешивание. В теплообменник Т7 подают холодную воду для конденсации паров, полученную смесь нагревают до температуры кипения (около $100\text{ }^{\circ}\text{C}$) путем подачи теплоносителя в рубашку аппарата при перемешивании. Смесь кипятят в течение 5 мин, затем охлаждают до $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ путем подачи хладагента в рубашку аппарата. Итоговую суспензию с помощью вакуума направляют в

верхнюю емкость нутч-фильтра Ф8, осадок отфильтровывают с помощью полотна «Бельтинг», промывают водой (1 л). Фильтрат направляют в реактор Р4, а затем в сборник жидких отходов. Полученный осадок без сушки направляется на стадию перекристаллизации. Выход продукта на данном этапе также оценен быть не может вследствие некоторого присутствия примесей в осадке, он будет определен после окончательной очистки препарата. Аппаратурная схема процесса представлена на рис. 25.

3.2.5.4 Перекристаллизация Триазавирина переосажденного

Субстанцию Триазавирина, полученную в результате переосаждения, загружают в реактор Р4 через люк. В мерник М5 с помощью вакуума загружают этанол (5.25 л), который направляют в реактор Р4. В мерник М6 с помощью вакуума загружают очищенную воду (7.5 л), которую направляют в реактор Р4. В теплообменник Т7 подают холодную воду для конденсации паров, смесь в реакторе Р4 нагревают до кипения путем подачи теплоносителя в рубашку аппарата при перемешивании. Полученную смесь с помощью вакуума передают в верхнюю емкость нутч-фильтра Ф8 и профильтровывают с помощью полотна «Бельтинг» при подогреве путем подачи горячей воды в рубашку фильтра. Фильтрат направляют в реактор Р4. Профильтрованную смесь охлаждают до комнатной температуры при перемешивании путем подачи теплоносителя в рубашку аппарата. Итоговую суспензию с помощью вакуума передают в верхнюю емкость нутч-фильтра Ф8, осадок отфильтровывают с помощью полотна «Бельтинг». Осадок промывают этиловым спиртом в количестве 1.75 л. Фильтрат передают в реактор Р4, а затем направляют в сборник жидких отходов на регенерацию этилового спирта.

Полученный осадок сушат в вакуум-сушильном шкафу при температуре 80 °С без прямого воздействия солнечных лучей во избежание изменения окраски субстанции Триазавирина. Средний выход продукта 2.23 кг (7.8 моль, 50% в расчете на 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазол). Аппаратурная схема процесса представлена на рис. 26.

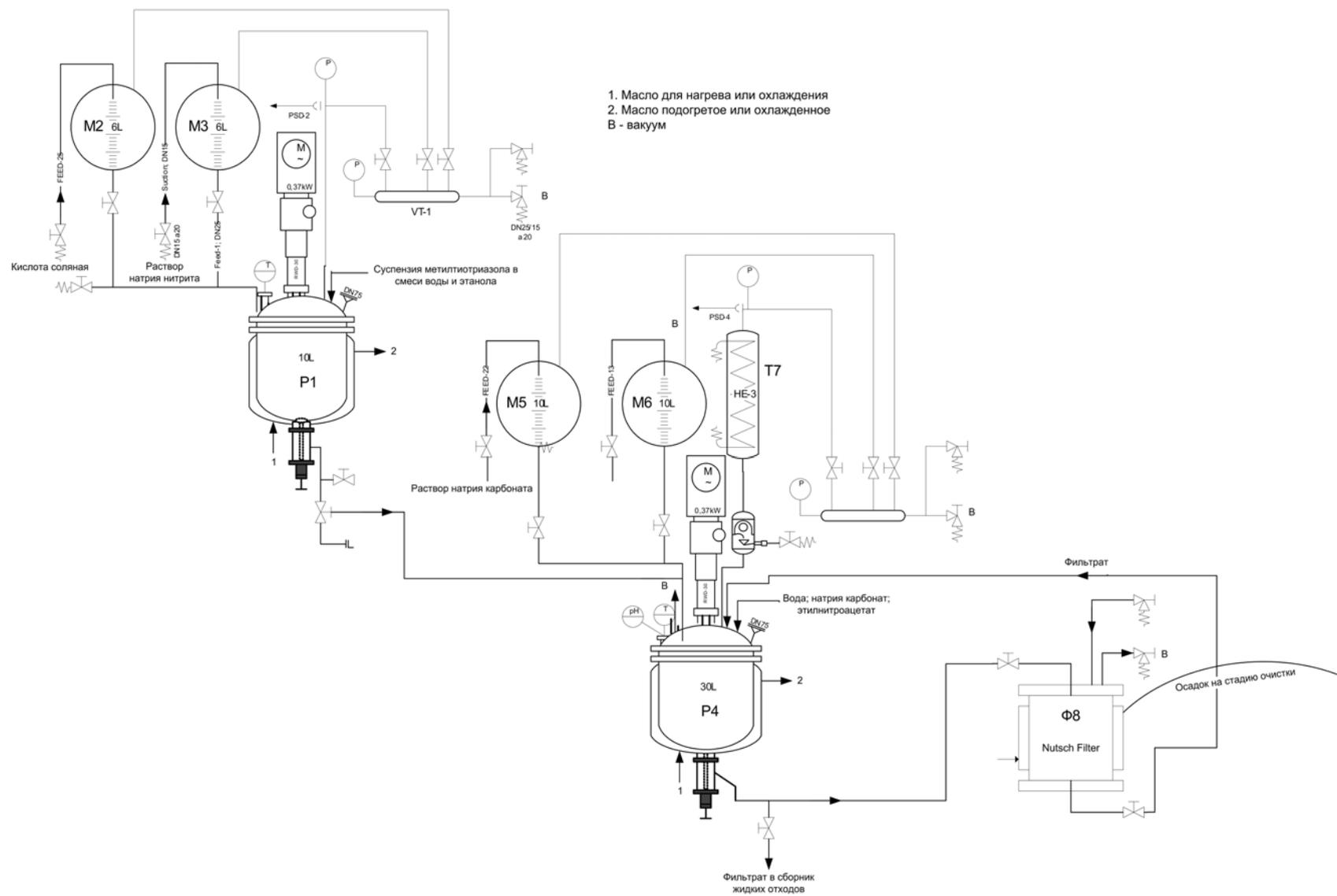


Рис. 24. Аппаратурная схема получения Триазавирин технического

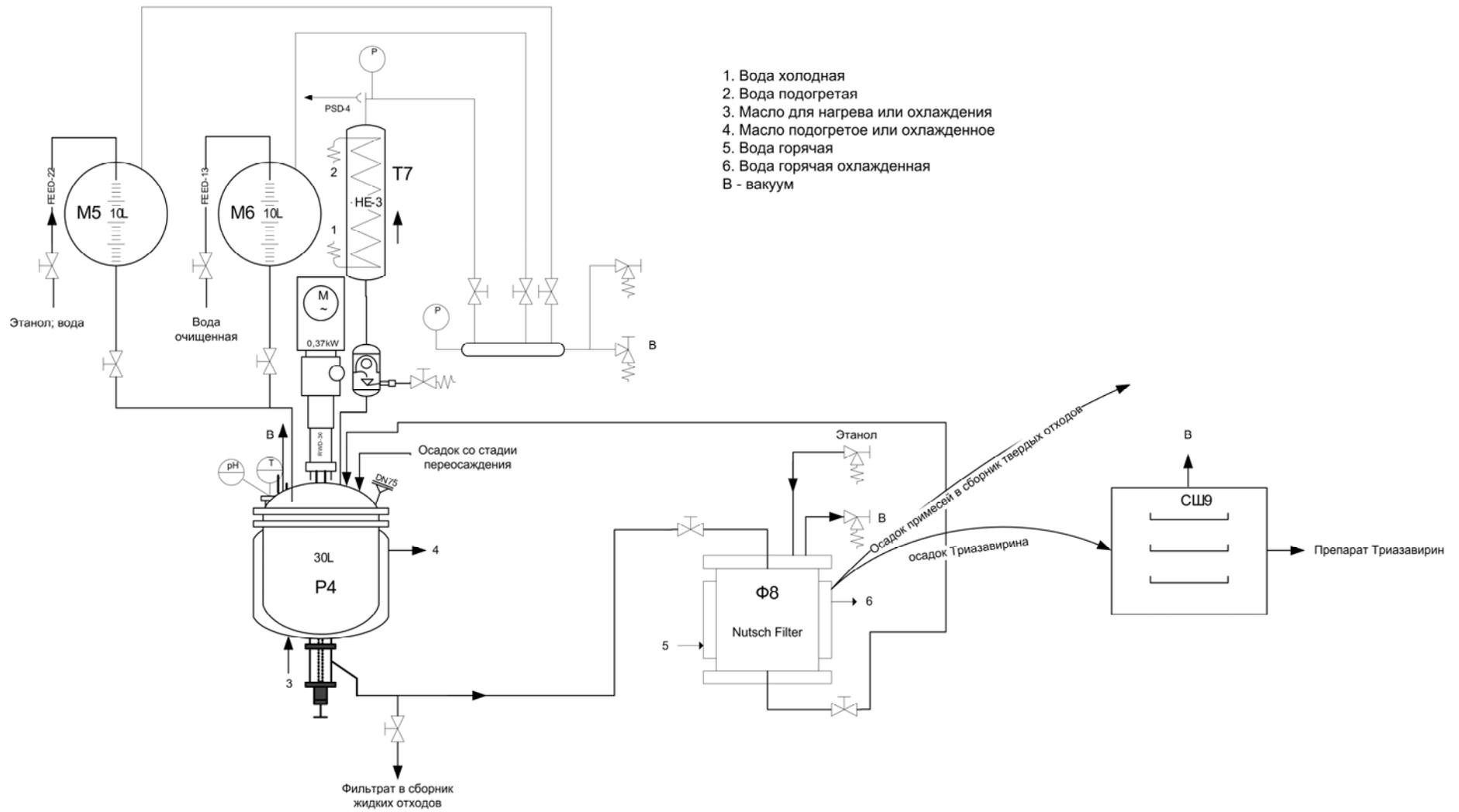


Рис. 26. Аппаратурная схема перекристаллизации субстанции препарата Триазавирин

3.2.5.5 Лабораторная методика получения Триазавирина с применением диэтилнитромалоната в качестве нитросинтона

Соль 5-диазо-3-метилтио-1,2,4-триазола, полученную из 13 г (0.1 моль) 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола действием 6.9 г (0.1 моль) нитрита натрия в присутствии 0.25 экв. соляной кислоты, прибавляют к охлажденной до 0 ± 5 °С смеси, полученной прибавлением спиртового раствора 17.5 мл (20.5 г, 0.1 моль) диэтилнитромалоната к раствору карбоната натрия или гидроксида натрия (конкретные растворители указаны в табл. 28). После выдержки реакционной массы (время выдержки приведено в табл. 28) и при комнатной температуре выпавший осадок отфильтровывают, последовательно кристаллизуют из 20%-й уксусной кислоты, воды и сушат на воздухе. Выход: 47-86% (табл. 28).

Выход натриевой соли

2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она дигидрата

Табл. 28

Растворитель на стадии конденсации	Время выдержки, ч	Выход на основании результатов серии 5 экспериментов
Этанол – 2М Na ₂ CO ₃ (1:3)	1	68
Этанол – 2М Na ₂ CO ₃ (1:3)	2	70
Этанол – 2М Na ₂ CO ₃ (1:1)	1	74
Пропанол-2 – 2М Na ₂ CO ₃ (1:2)	1	76
Пропанол-2 – 2М Na ₂ CO ₃ (1:1)	1	86
Этанол – 2М NaOH (1:1)	1	47
Пропанол-2 – 2М NaOH (1:1)	1	52

3.2.6 Определение показателей качества субстанции препарата Триазавирин

Практически во всех случаях при работе с биологически активными веществами анализ качества субстанции играет огромную роль. Идентификация такого вещества должна быть по возможности не только достаточной, но и избыточной, что исходит из важнейшего принципа врачебной деятельности «Не навреди». В фармакопейную статью [108] на субстанцию «Триазавирин» были включены следующие методы контроля:

- ИК спектроскопия;
- Растворимость в различных растворителях;
- ВЭЖХ в сравнении со стандартом;
- Температура плавления.

3.2.6.1 ИК спектроскопия

Исследование инфракрасных спектров субстанции «Триазавирин» проводилось по двум направлениям: выделение характеристических полос с целью идентификации молекулярной структуры, а также выбор и отработка аналитических приемов для получения идентичных в параллелях спектров.

Исследование ИК спектров поглощения проводили по следующей методике:

Растирают навеску субстанции «Триазавирин» массой около 10 мг с сухим мелкоизмельченным бромидом калия массой около 3 г. Берут навеску около 500 мг смеси и помещают в матрицу и в условиях вакуума прессуют. Неудовлетворительные диски отбраковывают (с видимой невооруженным взглядом неоднородностью). Укрепляют полученный диск в подходящем держателе, устанавливают в держатель прибора и снимают спектр пропускания в диапазоне $4000\text{—}250\text{ см}^{-1}$. Полученный спектр сравнивают со спектром ГСО «Триазавирин» (рис. 27), совпадение спектров является доказательством подлинности субстанции.

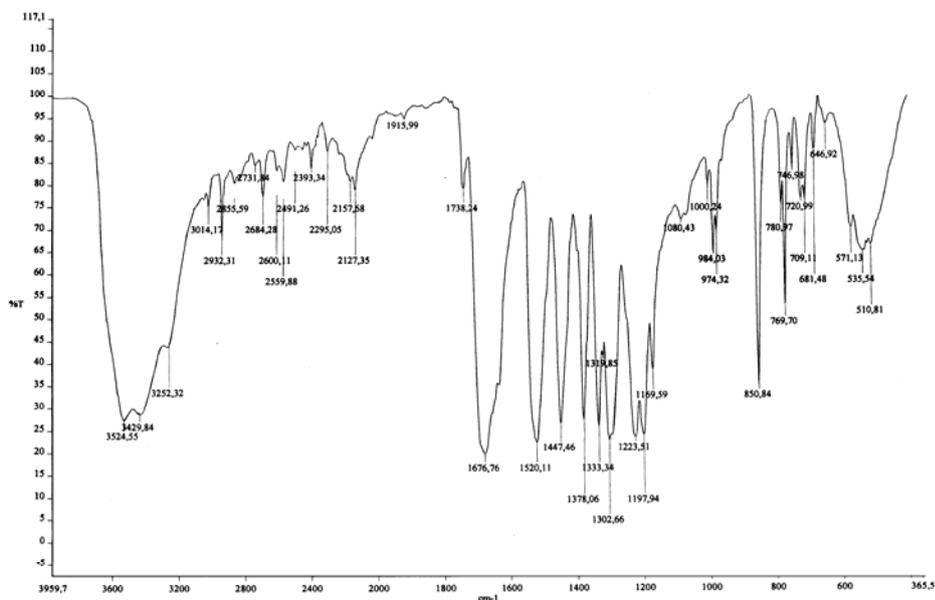


Рис. 27. ИК спектр субстанции «Триазавирин»

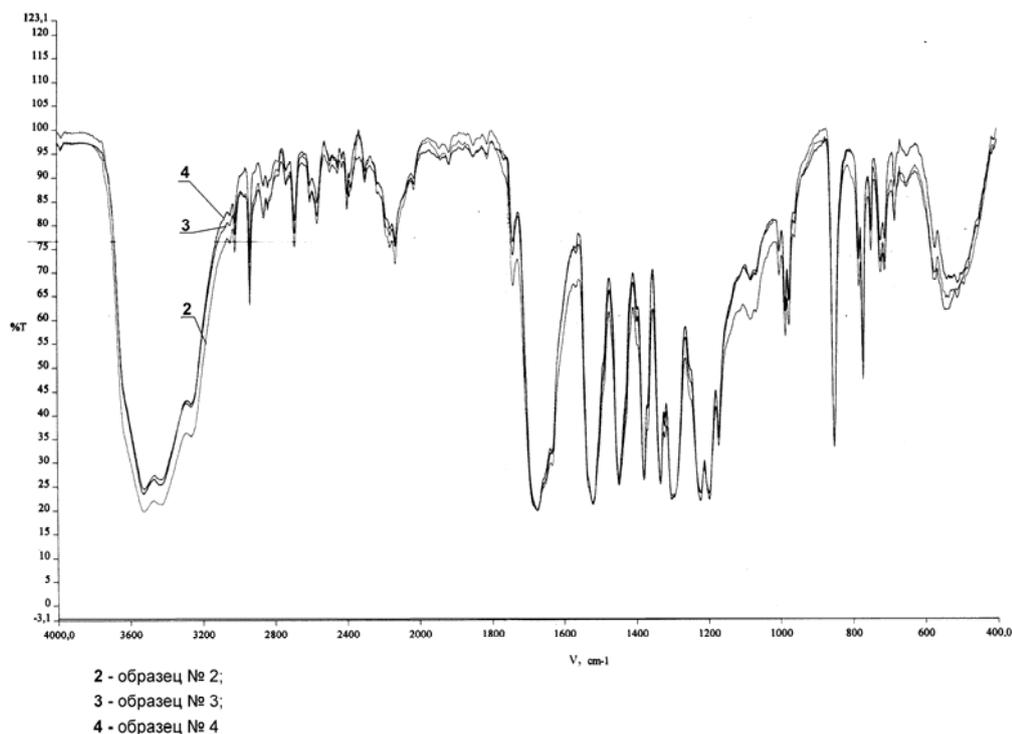


Рис. 28. Наложение ИК спектров трех образцов от различных серий субстанции «Триазавирин»

При изучении характеристических полос были выявлены следующие длины волн: 1674 см^{-1} (полоса поглощения карбонильной группы), а также 1518 и 1301 см^{-1} (полосы противоколебаний нитрогруппы). Данные полосы в достаточной мере отвечают представлениям о структуре субстанции «Триазавирин», представляющей собой натриевую соль 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она. Интенсивность этих полос соответствует предполагаемой.

При проверке наложения спектров (рис. 28) образец №2 – серия № 011005; образец №3 – серия № 021005; образец №4 – серия № 031005 выяснено, что все серии обладают практически идентичными спектрами, что подтверждает возможность использования метода сравнения ИК спектров в качестве доказательства подлинности субстанции.

3.2.6.2 Растворимость

В соответствии с требованиями ГФ XI определена растворимость Триазавирина. Данные приведены в табл. 29. Установлено, что препарат растворим в диметилсульфоксиде, диметилформамиде, воде, ацетоне и нерастворим в хлороформе. (ГФ XI, вып. 1, с. 175).

Растворимость препарата в различных растворителях

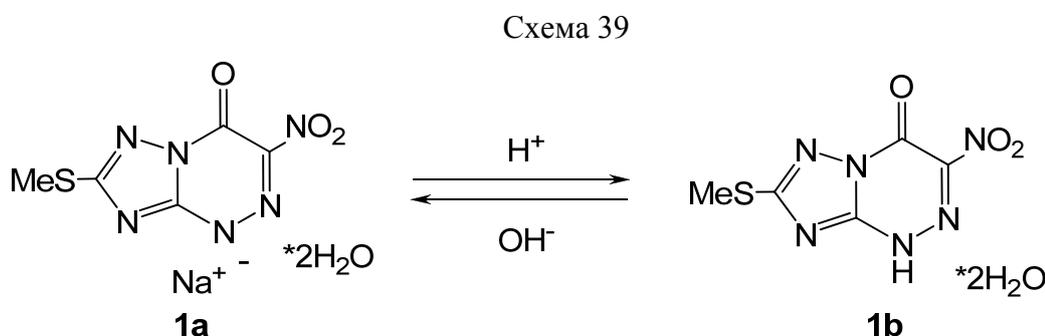
Растворитель	Количество препарата в г на 1 мл растворителя
Диметилсульфоксид	0,0500±0,0002
Диметилформамид	0,0500±0,0004
Вода	0,0600±0,0004
Ацетон	0,0400±0,0006
Хлороформ	0,00001±0,000001

Наблюдается стабильность результатов при проведении испытаний растворимости.

3.2.6.3 Высокоэффективная жидкостная хроматография

Метод ВЭЖХ в ходе работы был выбран качестве одного из методов определения подлинности субстанции «Триазавирин» в сравнении со стандартным образцом. Была разработана методика определения основного вещества и примесей.

Триазавирин является ионогенным соединением (pK_a его ближайших аналогов находится в диапазоне 1.1-1.32 [103]), следовательно, в зависимости от pH среды он может находиться либо в ионизированной форме **1a**, либо в форме *NH*-кислоты **1b** (схема 39).



Для поиска оптимальных хроматографических условий необходимым является подавление ионообменных взаимодействий с поверхностью неподвижной фазы, т.е. анализ препарата необходимо выполнять в сильнокислой и в щелочной средах. Было установлено, что в кислом элюенте приемлемую величину уширения и искажения формы пика удаётся достичь лишь при использовании 0,1% трифторуксусной кислоты на нижней границе диапазона pH для материала сорбента. Лучшие результаты были получены с применением основных буферных растворов. Для смещения равновесия в сторону формы **1a** оказалось достаточно 0,025 М водного раствора ацетата натрия, имеющего pH = 7,34, при этом фактор асимметрии хроматографического пика более низкий, чем в кислой среде.

В ходе работы были протестированы в одинаковых условиях две хроматографические колонки, изготовленные разными производителями: “Lichrosorb RP-18”, 250×4,6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм, LKB (Швеция) и “Phenomenex” Synergi max-RP C 12”, 250×4,6 мм, размер частиц 4 мкм Phenomenex (США). В качестве кислого элюента использовали смесь 10% ацетонитрила и 90% 0,1% трифторуксусной кислоты, скорость потока 0,75 мл/мин. В качестве основного элюента – смесь 10% ацетонитрила и 90% 0,025 М раствор ацетата натрия при той же скорости потока элюента. В обоих случаях лучшие характеристики показала колонка фирмы “Phenomenex”, коэффициенты асимметрии пиков для которой составили 0,53 и 0,68 соответственно, против 0,37 и 0,49 для колонки “Lichrosorb”.

Было установлено, что для детектирования «Триазавирина» в субстанции или лекарственной форме наиболее подходит длина волны 215 нм, являющаяся максимумом поглощения как самого препарата, так и вероятных примесей – 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола и этилнитроацетата – исходных веществ для его синтеза.

Анализы были выполнены с использованием хроматографа жидкостного аналитического «Agilent-1100/1200» с автосамплером. Далее приведены разработанные методики определения Триазавирина в сильноокислых и сильнощелочных условиях.

3.2.6.3.1 Методика анализа Триазавирина в основных (щелочных) условиях

В качестве подвижной фазы была использована следующая смесь: 10% ацетонитрила – 90% 0,025 М водного раствора ацетата натрия. Применялась следующая колонка: «Phenomenex Synergi max-RP C 12», 250x4,6 мм, размер частиц сорбента 4 мкм, объём вводимой пробы 10 мкл; детектор: диодная матрица; длина волны 215 нм, щель 8 нм.

Приготовление подвижной фазы: на аналитических весах ВЛР-20 или аналогичных взвешивают 2,05 г ацетата натрия безводного, помещают в мерную колбу объёмом 1000 мл, растворяют в воде для ВЭЖХ, перемешивают, объём доводят до метки. В другую мерную колбу объёмом 1000 мл помещают 900 мл свежеприготовленного водного 0,025 М раствора ацетата натрия и 100 мл ацетонитрила, тщательно перемешивают, фильтруют и дегазируют на установке для фильтрации и дегазации растворителей.

Испытуемый раствор. Около 0,025 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл подвижной фазы, доводят объём раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор. Около 0,025 г (точная навеска) стандартного образца состава субстанции «Триазавирин», высушенного до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл подвижной фазы, доводят объём раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

Процедура анализа:

Схема элюирования: для определения Триазавирина используется изократический режим элюирования.

Скорость потока: 0,75 мл/мин

Температура колонки: 25±0,1 °С

Время удерживания Триазавирина – около 11,5 мин

Количественное определение:

В хроматограф вводят испытуемый раствор и стандартный раствор.

Содержание Триазавирина в субстанции в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \times a_0 \times P \times 100}{S_0 \times a_1 \times 100}, \text{ где:}$$

S_1 - среднее значение площади пика Триазавирина в испытуемом растворе, полученное из трех определений;

S_0 - среднее значение площади пика Триазавирина в растворе СО состава субстанции «Триазавирин», полученное из трех определений;

a_1 - навеска субстанции «Триазавирин», г;

a_0 - навеска стандартного образца состава субстанции «Триазавирин», г;

P - содержание активного компонента в стандартном образце состава субстанции «Триазавирин», %,

100 - пересчет в проценты.

Разработанная методика также позволила осуществить детекцию наиболее вероятных примесей Триазавирина. А именно, опыты показали, что 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазол и этилнитроацетат в аналогичных условиях хроматографирования имеют отличное от Триазавирина время удерживания.

Пример полученной хроматограммы представлен на рис. 29.

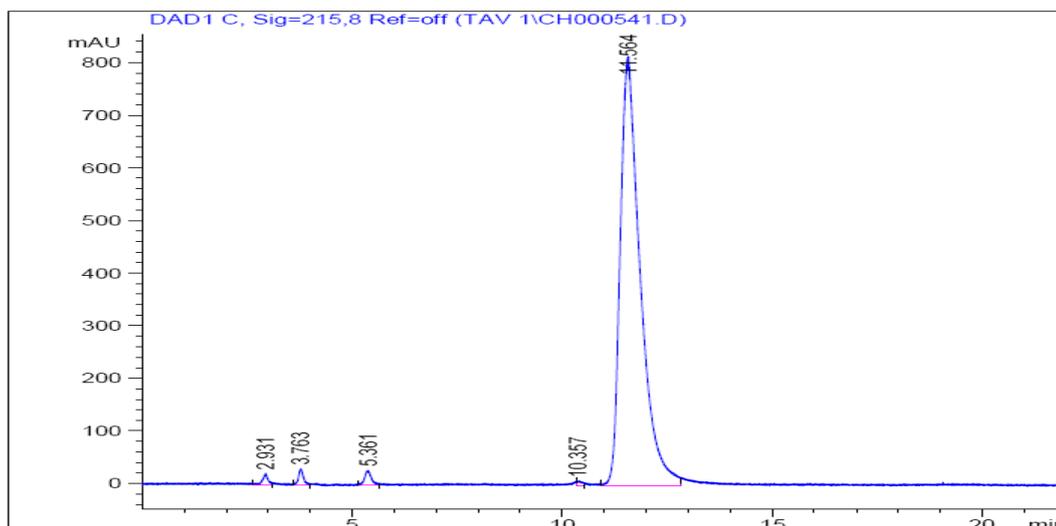


Рис. 29. Хроматограмма образца субстанции Триазавирин в условиях основной подвижной фазы

3.2.6.3.2 Методика анализа Триазавирин в сильноокислых условиях

В качестве подвижной фазы была использована следующая смесь: 10 % ацетонитрила – 90 % 0,1 % водного раствора трифторуксусной кислоты. Применялась следующая колонка: «Phenomenex Synergi max-RP C 12», 250x4,6 мм, размер частиц сорбента 4 мкм, объём вводимой пробы 10 мкл; детектор: диодная матрица; длина волны 215 нм, щель 8 нм.

Приготовление подвижной фазы: В мерную колбу объёмом 1000 мл добавляют около 500 мл воды для ВЭЖХ, с помощью мерной пипетки вносят 1 мл трифторуксусной кислоты, перемешивают, объём доводят до метки. В другую мерную колбу объёмом 1000 мл помещают 900 мл свежеприготовленного водного 0,1 % раствора трифторуксусной кислоты и 100 мл ацетонитрила, тщательно перемешивают, фильтруют и дегазируют на установке для фильтрации и дегазации растворителей.

Испытуемый раствор: На аналитических весах типа ВЛР-20 или аналогичных взвешивают навеску около 0,025 г (точная навеска) субстанции «Триазавирин», помещают в мерную колбу на 25 мл, добавляют 20 мл подвижной фазы, растворяют при перемешивании, доводят объём подвижной фазой до метки.

Стандартный раствор. Около 0,025 г (точная навеска) стандартного образца субстанции «Триазавирин», высушенного до постоянной массы, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл подвижной фазы, доводят объём раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

Процедура анализа

Схема элюирования: Для определения Триазавирина используется изократический режим элюирования.

Температура колонки: $25 \pm 0,1$ °C

Скорость потока элюента: 0,75 мл/мин

Время удерживания Т пика Триазавирина ~ 16,5 мин

Содержание Триазавирина в препарате в процентах (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_1 \times a_0 \times P \times 100}{S_0 \times a_1 \times 100}, \text{ где:}$$

S_1 - среднее значение площади пика Триазавирина в испытуемом растворе, полученное из трех определений;

S_0 - среднее значение площади пика Триазавирина в растворе СО состава субстанции «Триазавирин», полученное из трех определений;

a_1 - навеска субстанции «Триазавирин», г;

a_0 - навеска стандартного образца состава субстанции «Триазавирин», г;

P - содержание активного компонента в стандартном образце состава субстанции «Триазавирин», %,

100 - пересчет в проценты.

Примечание: калибровочная кривая формируется по 5 точкам (концентрации 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 мг/мл), в ходе анализа и для щелочной, и для кислой сред наблюдалась линейная зависимость площади пика от концентрации Триазавирина.

Пример полученной хроматограммы представлен на рис. 30.

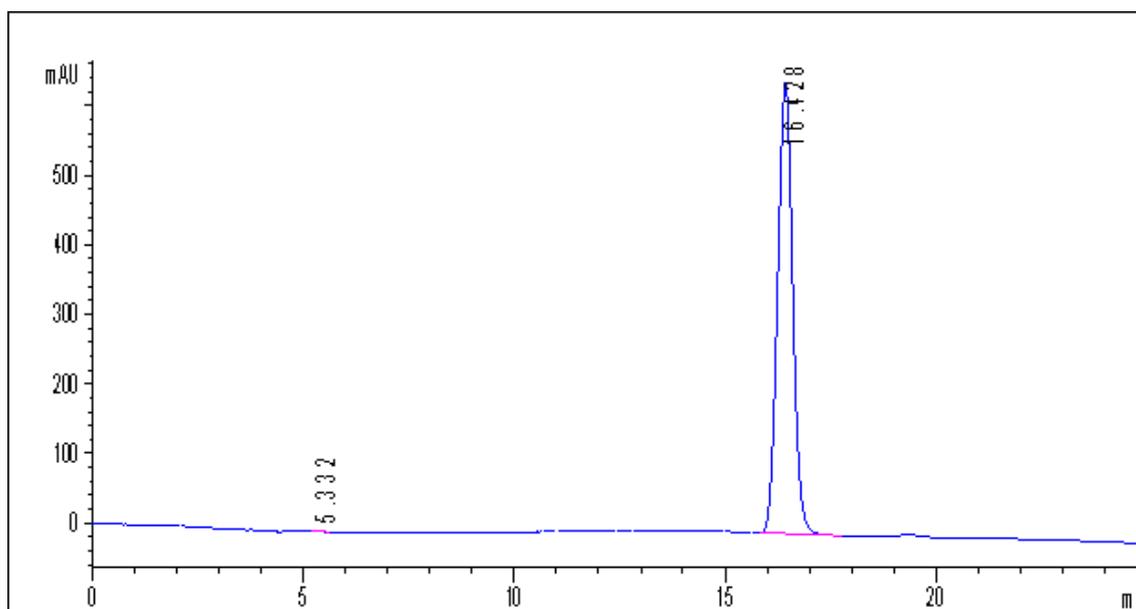


Рис. 30. Хроматограмма образца субстанции Триазавирина в сильнокислых условиях

3.2.6.4 Температура плавления

Согласно ФСП на субстанцию «Триазавирин» температура плавления составляет от 301 до 303 °С. Метод анализа – согласно ГФ Х1, вып. 1, с. 16. Наблюдается стабильность результатов проведения испытания. Для производственного контроля и аналитического контроля готового продукта допускается применять приборы для определения температуры плавления с точностью определения показателя не хуже описанной в источнике методики.

3.2.6.5 Определение рН

После калибровки прибора электроды и стакан тщательно промывают. Наполняют стакан частью испытуемого раствора и получают предварительное значение рН. Как правило, эта величина будет смещаться, и ее следует рассматривать как приблизительную. Последующие показания, полученные с остальными порциями того же раствора, будут давать более постоянные значения рН. Если растворы хорошо забуферены, трех порций может быть достаточно для получения значения рН, воспроизводимого с точностью до $\pm 0,04$ единицы и смещающегося менее чем на $\pm 0,04$ единицы за 1-2 мин. Если растворы сильно разведены или обладают слабыми буферными свойствами, может понадобиться до 6 порций испытуемого раствора, а значение рН будет продолжать смещаться и будет воспроизводимо с точностью только до $\pm 0,05$ единицы.

3.2.6.6 Потеря в массе при высушивании

Испытания проводили по ГФХ стр. 760. Полученные показатели стабильны для данной субстанции.

3.2.6.7 Спектроскопия ЯМР ^1H

Показателем подлинности Триазавирина является совпадение спектра ЯМР ^1H образца со спектром стандарта (рис. 31). В ходе испытаний наблюдалась сходимость результатов.

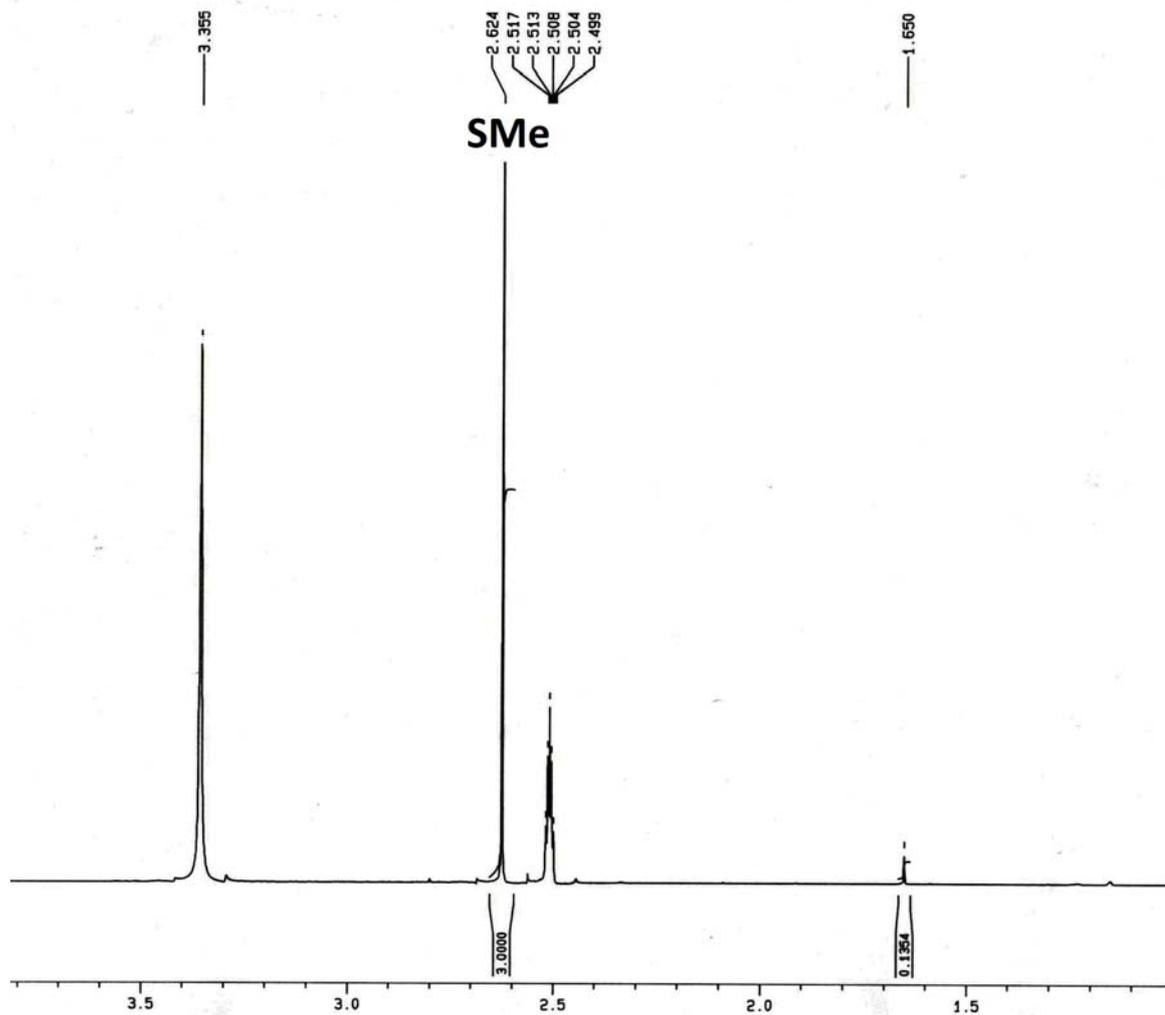


Рис. 31. Спектр ЯМР ^1H Триазавирина в $\text{DMSO-}d_6$

3.3 Технологическая схема производства препарата Триазавирин

Технологическая схема разработанного производства представлена на рис. 32-36.

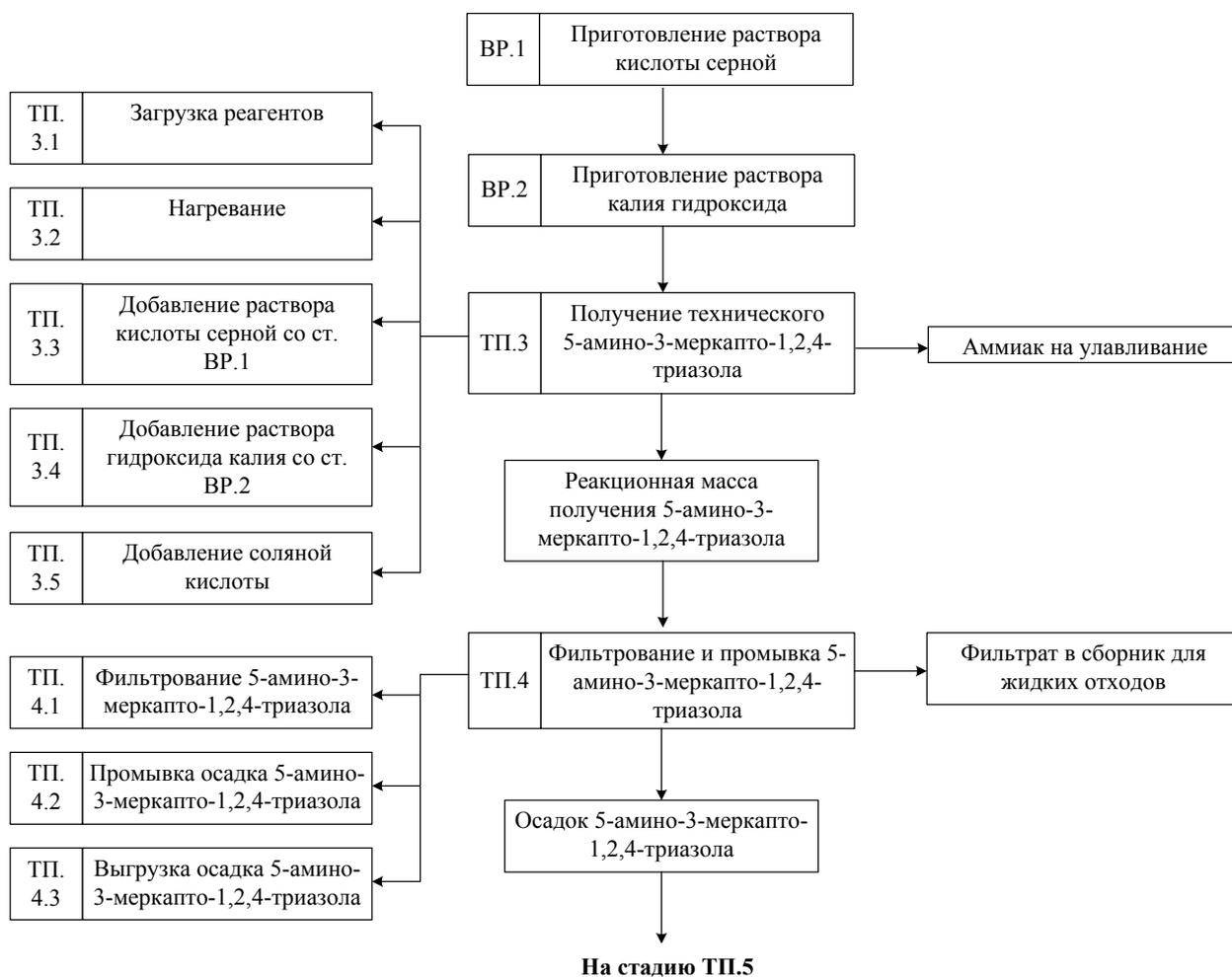


Рис. 32. Технологическая схема стадий ВР.1 – ТП.4

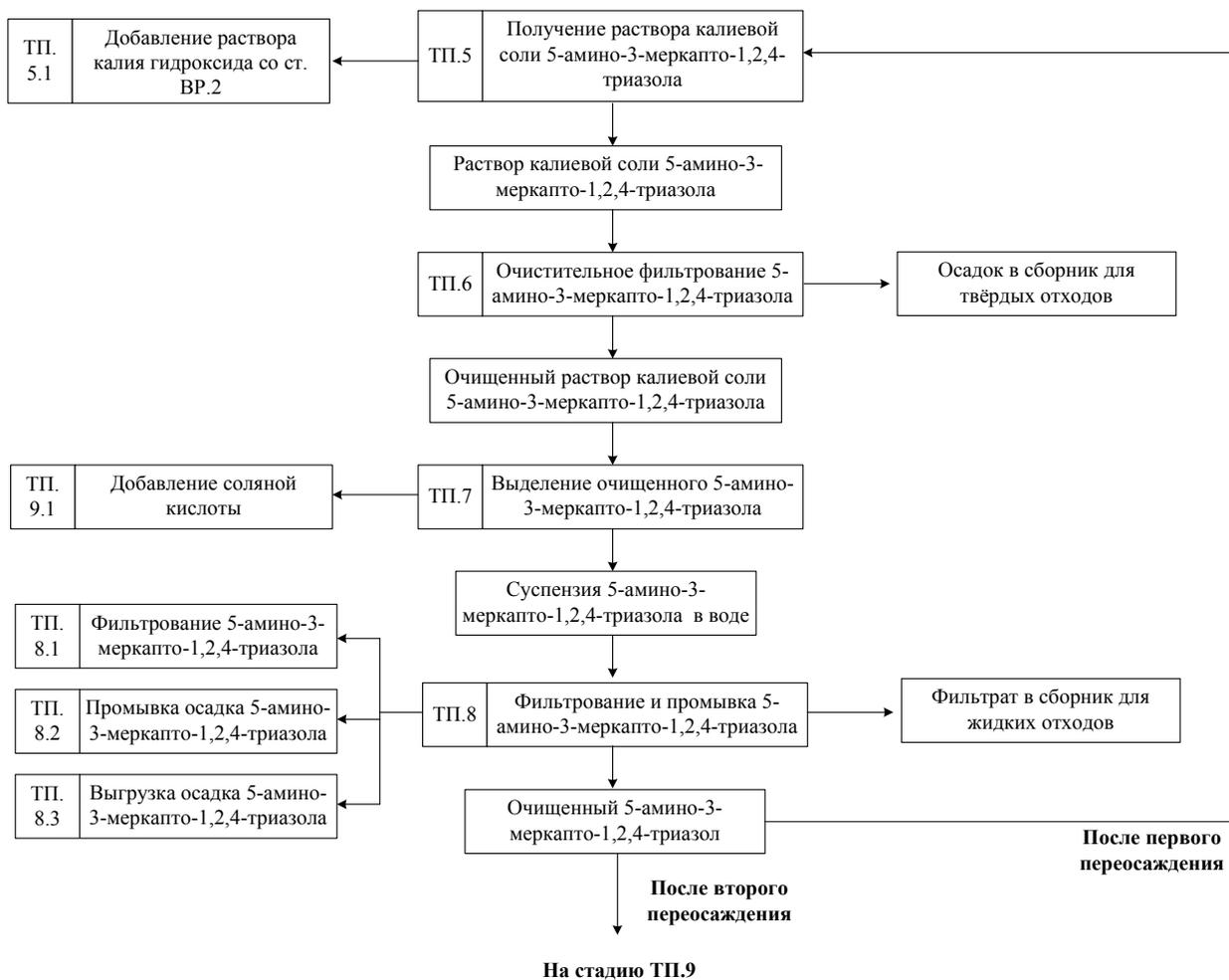


Рис. 33. Технологическая схема стадий ТП.5 – ТП.8

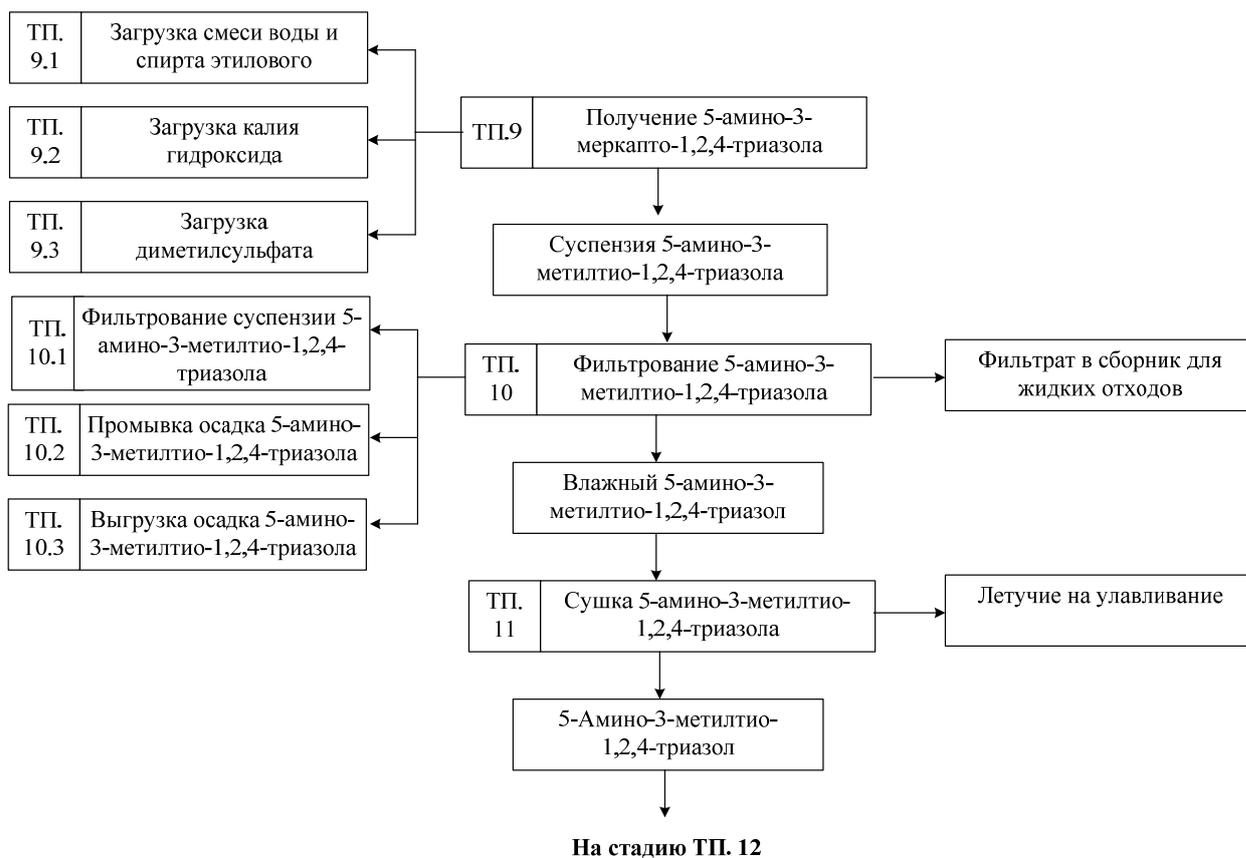


Рис. 34. Технологическая схема стадий ТП.9 – ТП.11

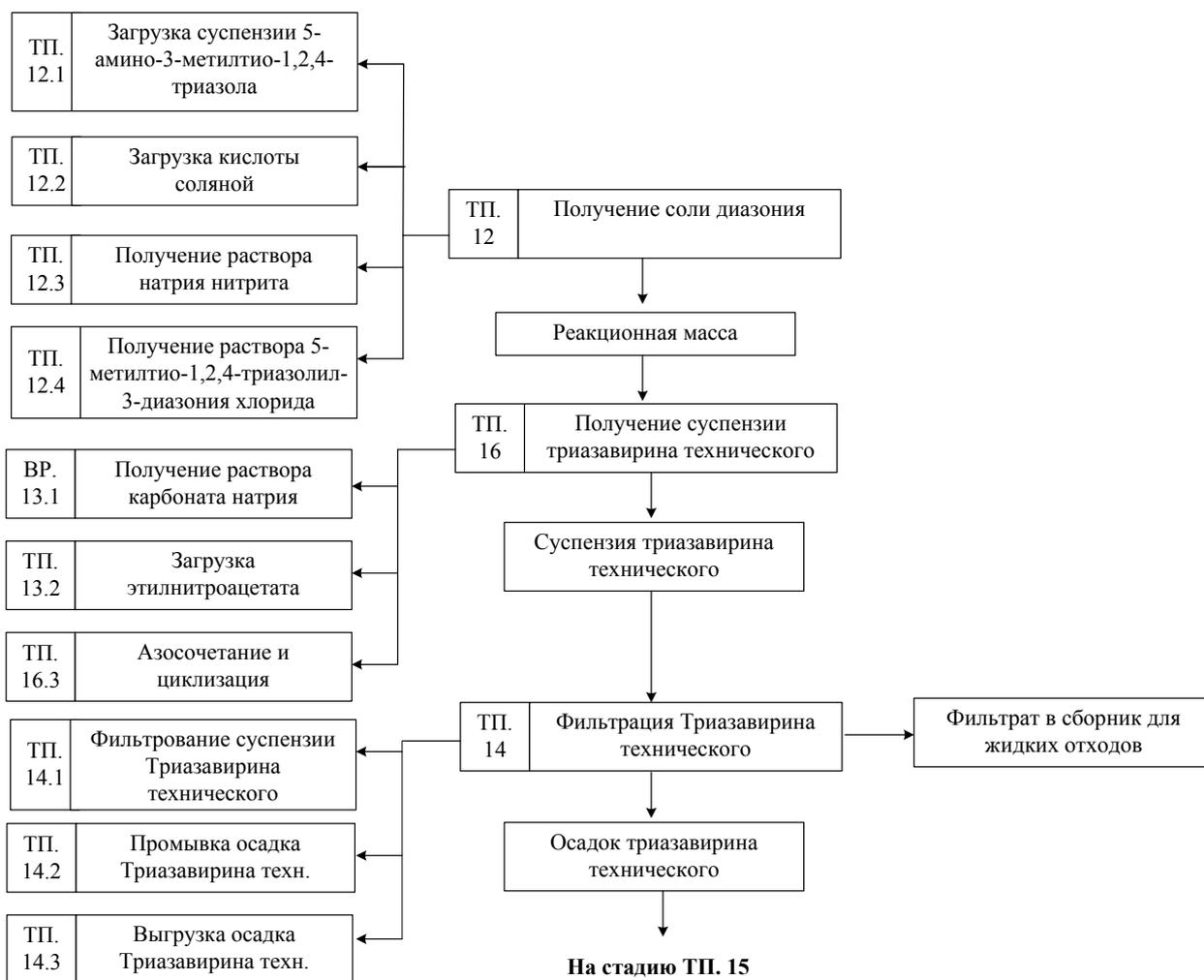


Рис. 35. Технологическая схема стадий TP.12 – TP.14

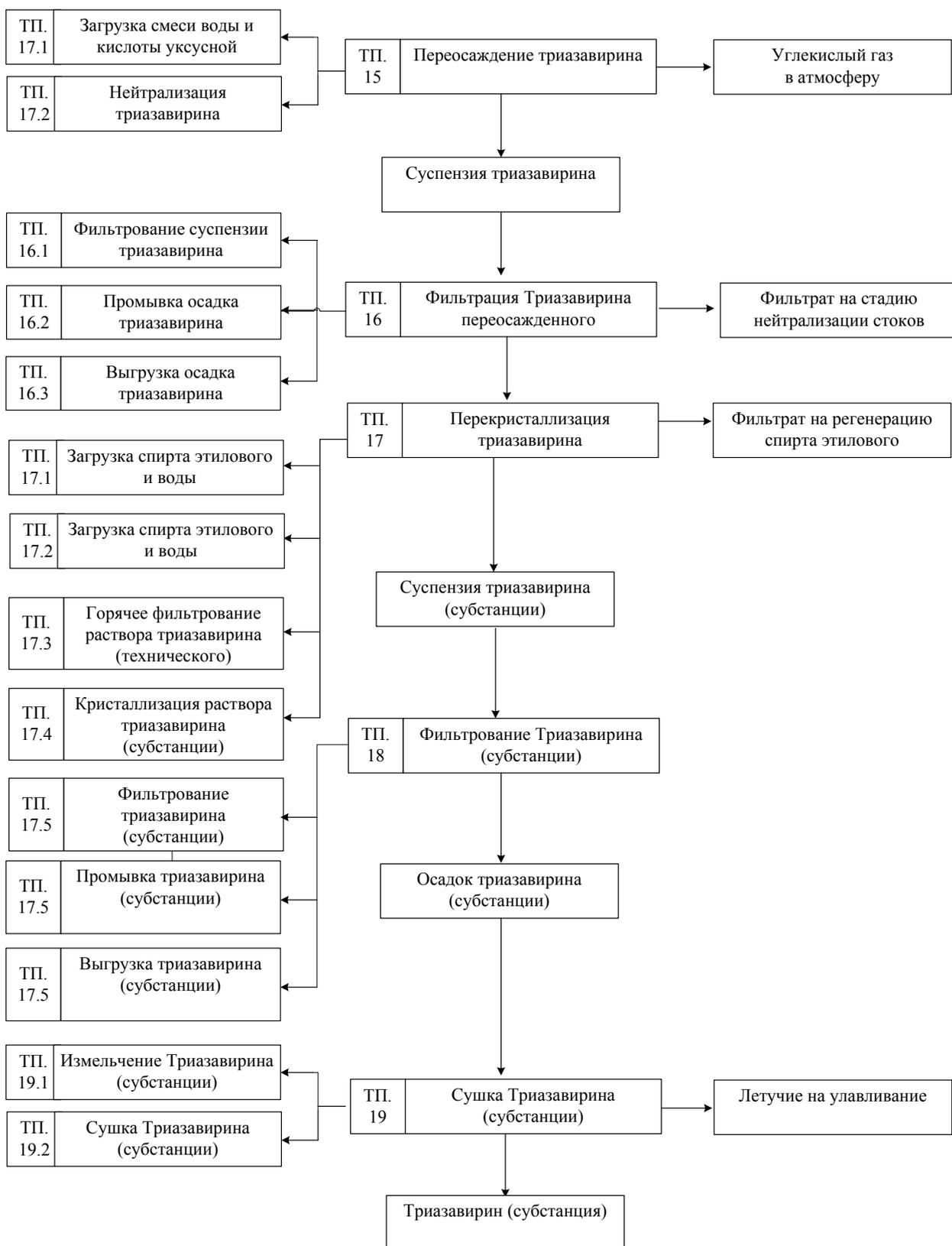


Рис. 36. Технологическая схема стадий ТП.15 – ТП.19

4 Безопасность производства

Химическое производство практически всегда отличается наличием ряда факторов опасности для персонала и окружающей среды. Это обусловлено применением химических реагентов и растворителей, обладающих различными свойствами, повышенных температур, промышленного электрооборудования и т.д. Таким образом, анализ факторов опасности при разработке нового химического производства в обязательном порядке должен быть выполнен.

4.1 Анализ исходного сырья с точки зрения безопасности производства

В ходе стадий производства субстанции препарата «Триазавирин» в основном применяются водные растворы реагентов или смеси со спиртом этиловым или кислотой уксусной. Высокотоксичные и высокопожароопасные растворители при этом хотя и применяются, но в меньшей степени по сравнению со многими другими производствами, что выгодно отличает разработанную в рамках данной работы технологию получения препарата «Триазавирин» от многих других. Табл. 30 содержит данные по применяемому в производстве сырью [109].

Табл. 30

Компонент сырья	ПДК в воздухе рабочей зоны, мг/м ³	Класс опасности
Аминогуанидина карбонат	0,1	3
Аммония роданид	5	3
Кислота серная	1	2
Калия гидроксид	0,5	2
Кислота соляная	5	2
Диметилсульфат	0,1	1
Ацетонитрил	10	3
Спирт этиловый	1000	4
Натрия нитрит	0,1	1
Этилнитроацетат	5	3
Натрия карбонат	2	3
Кислота уксусная	5	3

Таким образом, в разработанной технологии применяются лишь два соединения с первым классом опасности (нитрит натрия и диметилсульфат). Замена их на более безопасные аналоги возможной в данной производстве не представляется. Так, диметилсульфат является наиболее приемлемым метилирующим агентом при синтезе 5-

амино-3-метилтио-1,2,4-триазола, что было показано в разделе 2.1.3. Единственной реальной альтернативой диметилсульфата является использование йодистого метила. Однако, следует отметить, что йодистый метил также относится к 1-му классу опасности, его ПДК составляет 0,01 мг/м³ [110], т.е. данная замена не приводит к какому-либо снижению опасности стадии, а, наоборот, повышает опасность ее проведения.

При использовании **диметилсульфата** необходимо применение определенных мер безопасности, поскольку пары диметилсульфата раздражают слизистые дыхательных путей и глаз [111]. Он также оказывает общее токсическое действие на центральную нервную систему, может вызвать поражения печени. Для защиты от действия данного соединения рекомендуется использование фильтрующих противогазов. При работе рекомендуется применять резиновые перчатки, спецодежду и обувь, герметичные очки. Должна быть обеспечена полная герметизация аппаратуры для устранения выделения паров или аэрозоля диметилсульфата, обеспечена местная вентиляция.

Нитрит натрия является основным реагентом при проведении реакции диазотирования, его замена в рамках данного производства также выглядит маловероятной. Данный реактив вызывает расширение сосудов, а также образование в крови метгемоглобина. Защита от действия натрия нитрита подразумевает защиту кожи рук, замену прямого контакта с твердым нитритом натрия или его растворами.

Таким образом, при соблюдении необходимых мер безопасности применение соединений 1-го класса опасности может происходить без последствий для персонала.

Остальные соединения, применяемые в производстве «Триазавирина» также могут оказывать негативное воздействие на персонал и окружающую среду. Далее будут рассмотрены возможные последствия.

Аминогуанидина карбонат. Его действие может приводить к снижению содержания гемоглобина, лимфоцитов, угнетению функции щитовидной железы. Также могут иметь место расстройство кровообращения, зернистая и жировая дистрофия в паренхиматозных органах, очаговая межочечная пневмония, деструктивные изменения в щитовидной железе.

Роданид аммония. Вызывает расстройство восприятия, галлюцинации, тошноту, рвоту.

Серная кислота. Могут быть поражения кожи, слизистых оболочек, дыхательных путей. При вдыхании паров происходят затруднение дыхания, кашель.

Соляная кислота. Имеется разъедающее действие на кожу и слизистые оболочки, токсичность. Соляная кислота вызывает ожоги кожи и слизистых оболочек, серьезность которых определяется концентрацией раствора; это может привести к образованию язв с последующими коллоидными и обезображивающими рубцами. Попадание соляной кислоты в глаза может привести к ухудшению зрения или слепоте. После ожогов лица остаются большие уродливые шрамы. От частого контакта с водными растворами соляной кислоты может развиваться дерматит. Пары соляной кислоты раздражают дыхательные

пути, вызывают ларингиты, отек голосовых связок, бронхиты, отек легких и смерть. Часто встречаются болезни пищеварительного тракта, в частности молекулярный некроз зубов, когда они теряют блеск, желтеют, становятся мягкими, а затем ломаются.

Калия гидроксид. Действует на ткани прижигающим образом, растворяя белки с образованием щелочных альбуминов. Крайне опасно попадание в глаза, при этом поражается не только роговица, но и более глубокие части глаза. Исходом может быть слепота.

Ацетонитрил. Картина острого отравления: вначале головная боль, апатия, тошнота, головокружение, бледность, падение температуры и кровяного давления, судороги, потеря сознания. Бледность, падение давления, озноб, потеря сознания — опасные симптомы. После выздоровления в течение некоторого времени (до 3 недель) — депрессия, головная боль, сердцебиение, особая слабость мышц верхних конечностей, повышенный диурез, белок в моче, повышенное содержание цианидов в крови и роданидов в моче.

Спирт этиловый. Наркотик, вызывающий сначала возбуждение, а затем паралич центральной нервной системы. При длительном воздействии больших доз может вызвать тяжелые органические заболевания нервной системы, печени, сердечно-сосудистой системы, пищеварительного тракта и т. д.

Натрия карбонат: Возможны кожные эрозии, язвы, экземы, а также искривления, перфорация и прочие дефекты носовой перегородки. При длительном воздействии наблюдалось обострение хронических ринитов, фарингитов, конъюнктивитов и заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Кислота уксусная: Пары уксусной кислоты раздражают слизистые оболочки верхних дыхательных путей. Действие уксусной кислоты на биологические ткани зависит от степени её разбавления водой. Опасными считаются растворы, в которых концентрация кислоты превышает 30%. Концентрированная уксусная кислота способна вызывать химические ожоги, инициирующие развитие коагуляционных некрозов прилегающих тканей различной протяженности и глубины. Токсикологические свойства уксусной кислоты не зависят от способа, которым она была получена. Смертельная доза составляет около 20 мл. Последствиями приёма концентрированной уксусной кислоты являются тяжёлый ожог слизистой оболочки полости рта, глотки, пищевода и желудка; последствия всасывания уксусной эссенции — ацидоз, гемолиз, гемоглобинурия, нарушение свёртываемости крови, сопровождающееся тяжёлыми желудочно-кишечными кровотечениями. Характерно значительное сгущение крови из-за потери плазмы через обожжённую слизистую оболочку, что может вызвать шок. К опасным осложнениям отравления уксусной эссенцией относятся острая почечная недостаточность и токсическая дистрофия печени.

В ходе работы были также проведены исследования по изучению воздействия препарата «Триазавирин». Минимальная суточная терапевтическая доза препарата

составляет 0.5 г; высшая суточная доза – 1.0 г. В результате анализа материалов токсикологических исследований установлено, что по параметрам острой токсичности Триазавирин относится к 4 классу токсичности и опасности. Триазавирин не оказывает раздражающего действия на кожу и слизистые. Расчетная величина ориентировочного безопасного уровня воздействия Триазавирина для воздуха рабочей зоны ОБУВ_{р.з.} – 1.35 мг/м³, аэрозоль. По величине гигиенического регламента Триазавирин можно отнести к 3 классу опасности.

Таким образом, персонал, занятый при производстве субстанции препарата «Триазавирин», в обязательном порядке должен быть подготовлен к работе с различными химическими веществами, не иметь медицинских противопоказаний ввиду наличия серьезных возможных последствий действия применяемых веществ. Необходимо отметить, что при соблюдении необходимых правил данное производство может рассматриваться как безопасное.

4.2 Анализ отходов производства с точки зрения безопасности

В ходе производства субстанции Триазавирин происходит образование ряда отходов, требующих переработки. В табл. 31 приведены основные образующиеся отходы.

Табл. 31

Стадия производства	Отход	Основные компоненты	Возможные способы утилизации
1	2	3	4
Получение 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола	Аммиак (газ)	Аммиак	Улавливание
	Фильтрат, полученный в ходе гетероциклизации	Вода, хлороводород, калия сульфат, калия хлорид	Нейтрализация, утилизация в стоки хозяйственно-бытового назначения
	Осадок при переосаждении	-	Захоронение
	Фильтраты, полученный в ходе очистки	Вода, хлороводород, калия хлорид	Нейтрализация, утилизация в стоки хозяйственно-бытового назначения
Получение 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола	Фильтрат при алкилировании	Вода, этанол, ацетонитрил, органические примеси	Утилизация по договору

Продолжение табл. 31

1	2	3	4
Получение технического препарата «Триазавирин»	Отходящие газы при диазотировании	Окиси азота	Улавливание
	Фильтрат при выделении технического «Триазавирин»	Вода, этанол, натрия карбонат, натрия гидрокарбонат, натрия хлорид, органические примеси	Утилизация в стоки хозяйственно-бытового назначения (см. ниже)
Нейтрализация «Триазавирин»	Отходящие газы при взаимодействии с кислотой уксусной	Углекислый газ	Очистка не требуется, сброс в атмосферу
	Фильтрат при нейтрализации «Триазавирин»	Вода, этанол, «Триазавирин», натрия ацетат, кислота уксусная, натрия хлорид	Утилизация в стоки хозяйственно-бытового назначения (см. ниже)
Перекристаллизация «Триазавирин»	Фильтрат при перекристаллизации «Триазавирин»	Вода, этанол, натрия ацетат, «Триазавирин»	Утилизация в стоки хозяйственно-бытового назначения (см. ниже)
Сушка «Триазавирин»	Летучие при сушке	Пары этанола и воды, унос «Триазавирин»	Улавливание твердых частиц, пары сбрасываются в атмосферу, их очистка не требуется

Следует отметить, что отходы производства в основном представляют собой водные или водно-этанольные растворы, токсичных органических растворителей в утилизируемых фильтрах практически не встречается, что свидетельствует о достаточно высокой экологичности разработанной технологии.

Для жидких отходов, образующихся в ходе получения Триазавирин (синтез и очистка) в ходе работы был проведен расчет класса опасности согласно приведенным в литературе методам [109, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120]. Исходные данные для расчета приведены в табл. 32.

Состав	Концентрация, %
Кислота уксусная	0,23
Триазавирин	4,59
Спирт этиловый	4,67
Натрия хлорид	4,91
Натрия ацетат	10,35
Вода (приказ №511)	75,25

1. Показатель информационного обеспечения

Кислота уксусная: $M_i=12/12=1,0$

Ацетат натрия: $M_i=6/12=0,5$

Натрия хлорид: $M_i=7/12=0,58333333$

Этиловый спирт: $M_i=9/12=0,75$

Триазавирин: $M_i=3/12=0,25$ Вода (приказ №511): $M_i=6/12=0,5$

2. Относительный параметр опасности компонента отхода для ОПС

Кислота уксусная: $X_i=3,1429$

Ацетат натрия: $X_i=3,5$

Натрия хлорид: $X_i=3,7143$

Этиловый спирт: $X_i=3,1818$

Триазавирин: $X_i=3,0$ Вода (приказ №511): $X_i=4$ (по приказу №511 МПР РФ)

3. Относительный показатель оценки экологической безопасности компонента отхода

Кислота уксусная: $Z_i=3,8572$

Ацетат натрия: $Z_i=4,3333$

Натрия хлорид: $Z_i=4,6191$

Этиловый спирт: $Z_i=3,9091$

Триазавирин: $Z_i=3,6667$ Вода (приказ №511): $Z_i=5,0$

4. Коэффициент степени опасности компонента отхода для ОПС

Кислота уксусная: $w_i=10^{Z_i}=10^{3,8572}=7197,801$

Ацетат натрия: $w_i=10^{((2+4)/(6-Z_i))}=25113,081$

Натрия хлорид: $w_i=10^{((2+4)/(6-Z_i))}=78824,568$

Этиловый спирт: $w_i=10^{Z_i}=10^{3,9091}=8111,478$

Триазавирин: $w_i=10^{Z_i}=10^{3,6667}=4641,945$ Вода (приказ №511): $w_i=10^{((2+4)/(6-Z_i))}=1000000$

5. Показатель степени опасности компонента отхода

Кислота уксусная: $k_i=2300/7197,801=0,3195$

Ацетат натрия: $k_i=103500/25113,081=4,1212$

Натрия хлорид: $k_i=49100/78824,568=0,6229$

Этиловый спирт: $k_i=46700/8111,478=5,7572$

Триазавирин: $k_i=45900/4641,945=9,8881$

Вода (приказ №511): $k_i=752500/1000000=0,7525$

6. Расчет показателя степени опасности отхода (K) и отнесение к классу опасности для окружающей природной среды

$$K_{отх} = 21,4614$$

Таким образом, данные отходы относятся к IV классу опасности (малоопасные).

Вывод: отходы химического синтеза субстанции «Триазавирин» относятся к IV классу (малоопасные) и могут быть утилизированы в стоки хозяйственно-бытового назначения.

4.3 Пожаровзрывоопасные свойства сырья, полупродуктов и основного продукта

В ходе работы были проанализированы пожаровзрывоопасные свойства сырья, применяемых растворителей, полупродуктов производства и основного продукта. Данные по пожароопасным растворителям и сырью собраны в табл. 33 [102, 121, 122].

Табл. 33

№ п/п	Наименование вещества	Плотность, кг/м ³	Раствори- мость в воде, % масс.	Возможно ли		Удельная		Температура, °С			
				воспламенение или взрыв вещества при воздействии на него	Воды	Кислорода воздуха	Жид- кой фазы	Паро- газовой фазы	теплота сгорания, кДж/кг	кипения	Самовоспла- менения
1	Спирт этиловый	2043	Неограни- ченно	Нет	Нет	29752	-	78	400	18	13 (з.т.) 16 (о.т.)
2	Кислота уксусная	1049	Неограни- ченно	Нет	Нет	14590		118	454	68	38
3	Этилнитроацетат	1199	Смешив- ается	Нет	Нет	2070	-	106 (25 мм. рт. ст.)	312	114	113 (о.т.)
4	Ацетонитрил	783	Смешив- ается	Нет	Нет	30860	-	82	525	21	6 °С (о.т.) 2 °С (з.т.)
5	Диметилсульфат	1332	2,7% (16 °С)	Нет	Нет		-	188			83

Табл. 34 содержит данные по пожаровзрывоопасным свойствам полупродуктов и основного продукта производства [123].

Табл. 34

№ п/п	Наименование вещества (материала), содержание основного вещества, % масс.	Раствори- мость в воде, % масс.	Возможно ли воспламенение или взрыв вещества при воздействии на		Удельная теплота сгорания, кДж/кг	Температура, °С		
			воды (да, нет)	кислорода воздуха (да, нет)		Плавления	Самовоспламе- нения	Воспламе- нения
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	5-Амино-3-меркапто- 1,2,4-триазол	Растворя- ется	Нет	Нет	13603,4	138-139	431	
2	5-Амино-3-метилтио- 1,2,4-триазол	Растворя- ется	Нет	Нет	16867,6	130-132	333	
3	Субстанция препарата «Триазавирин»	Растворя- ется	Нет	Нет	7288,7	301-303	429	261

Продолжение табл. 34

№ п/п	Наименование вещества (материала), содержание основного вещества, % масс.	Нижний концентрационный предел распространения пламени по аэрозвеси, г/м ³	Минимальная энергия зажигания, мДж	Максимальное давление взрыва, кПа	Средняя скорость нарастания давления при взрыве, МПа/с	Минимальное взрывоопасное содержание кислорода, % об.
		дисперсность, мкм				
1.	5-Амино-3-меркапто- 1,2,4-триазол	121 г/м ³ для частиц с размером ≤10 мкм; 48-59 г/м ³ для частиц с размером 40-50 мкм	13,2	560	42	6
2.	5-Амино-3-метилтио- 1,2,4-триазол	101 г/м ³ для частиц с размером ≤10 мкм; 41 г/м ³ для частиц с размером 40-50 мкм	13,2	554	41,6	6
3.	Субстанция «Триазавирин»	224 г/м ³ для частиц с размером ≤10 мкм; 90-110 г/м ³ для частиц с размером 40-50 мкм	13,2	528	39,6	6

Таким образом, в ходе производства не используются химические соединения с особо опасными пожаровзрывобезопасными характеристиками, в частности, способные к воспламенению и взрыву при контакте с водой или кислородом воздуха. Следовательно, можно рассматривать данную технологию как достаточно безопасную с точки зрения пожаро- и взрывобезопасности.

4.4 Категорирование помещений по классам пожаровзрывоопасности

Поскольку производство препарата «Триазавирин» предполагает применение ряда ЛВЖ, то при проектировании необходимо провести распределение помещений, в рамках которых будет осуществляться данная технология, по классам пожаровзрывобезопасности в соответствии с [124].

По взрывопожарной и пожарной опасности помещения подразделяются на категории А, Б, В1 - В4, Г и Д, а здания - на категории А, Б, В, Г и Д.

По пожарной опасности наружные установки подразделяются на категории А_н, Б_н, В_н, Г_н и Д_н.

Категории взрывопожарной и пожарной опасности помещений и зданий определяются для наиболее неблагоприятного в отношении пожара или взрыва периода, исходя из вида находящихся в аппаратах и помещениях горючих веществ и материалов, их количества и пожароопасных свойств, особенностей технологических процессов. Категории помещений по взрывопожарной и пожарной опасности принимаются в соответствии с табл. 35.

Табл. 35

Категория помещения	Характеристика веществ и материалов, находящихся (обращающихся) в помещении
1	2
А взрывопожароопасная	Горючие газы, легковоспламеняющиеся жидкости с температурой вспышки не более 28 °С в таком количестве, что могут образовывать взрывоопасные парогазовоздушные смеси, при воспламенении которых развивается расчетное избыточное давление взрыва в помещении, превышающее 5 кПа. Вещества и материалы, способные взрываться и гореть при взаимодействии с водой, кислородом воздуха или друг с другом в таком количестве, что расчетное избыточное давление взрыва в помещении превышает 5 кПа.

1	2
Б взрывопожароопасная	Горючие пыли или волокна, легковоспламеняющиеся жидкости с температурой вспышки более 28 °С, горючие жидкости в таком количестве, что могут образовывать взрывоопасные пылевоздушные или паровоздушные смеси, при воспламенении которых развивается расчетное избыточное давление в помещении, превышающее 5 кПа.
В1-В4 пожароопасные	Горючие и трудногорючие жидкости, твердые горючие и трудногорючие вещества и материалы (в том числе пыли и волокна), вещества и материалы, способные при взаимодействии с водой, кислородом воздуха или друг с другом только гореть при условии, что помещения, в которых они имеются в наличии или обращаются, не относятся к категориям А или Б.
Г	Негорючие вещества и материалы в горячем, раскаленном или расплавленном состоянии, процесс обработки которых сопровождается выделением лучистого тепла, искр и пламени, горючие газы, жидкости и твердые вещества, которые сжигаются или утилизируются в качестве топлива.
Д	Негорючие вещества и материалы в холодном состоянии

Определение категорий помещений следует осуществлять путем последовательной проверки принадлежности помещения к категориям, приведенным в табл. 35, от высшей (А) к низшей (Д).

4.4.1 Выбор и обоснование расчетного варианта

При расчете значений критериев взрывопожарной опасности в качестве расчетного следует выбирать наиболее неблагоприятный вариант аварии или период нормальной работы аппаратов, при котором во взрыве участвует наибольшее количество веществ или материалов, наиболее опасных в отношении последствий взрыва.

В случае, если использование расчетных методов не представляется возможным, допускается определение значений критериев взрывопожарной опасности на основании результатов соответствующих научно-исследовательских работ, согласованных и утвержденных в установленном порядке.

Количество поступивших в помещение веществ, которые могут образовать взрывоопасные газовоздушные или паровоздушные смеси, определяется исходя из следующих предпосылок:

- а) происходит расчетная авария одного из аппаратов;

- б) все содержимое аппарата поступает в помещение;
- в) происходит одновременно утечка веществ из трубопроводов, питающих аппарат, по прямому и обратному потокам в течение времени, необходимого для отключения трубопроводов.

Расчетное время отключения трубопроводов определяется в каждом конкретном случае, исходя из реальной обстановки и должно быть минимальным с учетом паспортных данных на запорные устройства, характер технологического процесса и вида расчетной аварии.

Расчетное время отключения трубопроводов следует принимать равным:

времени срабатывания системы автоматики отключения трубопроводов согласно паспортным данным установки, если вероятность отказа системы автоматики не превышает 0,000001 в год или обеспечено резервирование ее элементов;

120 с, если вероятность отказа системы автоматики превышает 0,000001 в год и не обеспечено резервирование ее элементов;

300 с при ручном отключении.

Не допускается использование технических средств для отключения трубопроводов, для которых время отключения превышает приведенные выше значения.

Под "временем срабатывания" и "временем отключения" следует понимать промежуток времени от начала возможного поступления горючего вещества из трубопровода (перфорация, разрыв, изменение номинального давления и т.п.) до полного прекращения поступления газа или жидкости в помещение. Быстродействующие клапаны-отсекатели должны автоматически перекрывать подачу газа или жидкости при нарушении электроснабжения.

В исключительных случаях в установленном порядке допускается превышение приведенных выше значений времени отключения трубопроводов специальным решением соответствующих федеральных министерств и других федеральных органов исполнительной власти по согласованию с Госгортехнадзором России на подконтрольных ему производствах и предприятиях и МЧС России;

г) происходит испарение с поверхности разлившейся жидкости; площадь испарения при разливе на пол определяется (при отсутствии справочных данных) исходя из расчета, что 1 л смесей и растворов, содержащих 70% и менее (по массе) растворителей, разливается на площади 0,5 м², а остальных жидкостей - на 1 м² пола помещения;

д) происходит также испарение жидкости из емкостей, эксплуатируемых с открытым зеркалом жидкости, и со свежеекрашенных поверхностей;

е) длительность испарения жидкости принимается равной времени ее полного испарения, но не более 3600 с.

8. Количество пыли, которое может образовать взрывоопасную смесь, определяется из следующих предпосылок:

а) расчетной аварии предшествовало пыленакопление в производственном помещении, происходящее в условиях нормального режима работы (например, вследствие пылевыделения из негерметичного производственного оборудования);

б) в момент расчетной аварии произошла плановая (ремонтные работы) или внезапная разгерметизация одного из технологических аппаратов, за которой последовал аварийный выброс в помещение всей находившейся в аппарате пыли.

9. Свободный объем помещения определяется как разность между объемом помещения и объемом, занимаемым технологическим оборудованием. Если свободный объем помещения определить невозможно, то его допускается принимать условно равным 80% геометрического объема помещения.

Исходные данные для проектных расчетов:

Производительность цеха по производству «Триазавирин субстанции» - 6000 кг/год.

Расположение цеха – здание в один этаж, приспособленное для обустройства химико-фармацевтического производства, с возможной высотой потолков не менее 8,5 м.

Оборудование в соответствии с ЛИОС.351640.005 РР.

Расчеты категоричности и показателей пожарной нагрузки производились в программе «Расчет категорий помещений по НПБ 105-03»; версия 1 (автор Алюков С.А.). Результаты представлены в табл. 36.

Табл. 36

Параметр	Площадь участка, м ²	Высота потолков, м	Объем помещений, м ³	Спирт этиловый	Спирт изопропиловый	Этилнитроацетат	Натрия карбонат	5-Амино-3-метилтио 1,2,4- триазол	Соляная кислота	Нитрит натрия	Кислота уксусная	Триаавирин	Удельная пожарная нагрузка	Пожарная нагрузка	Прочерочная пожарная нагрузка	Категория помещения по НПБ 105-03
Помещение	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Спиртосклад (хранение ЛВЖ)	90	3,5	315,0	600	100	600					800		540,00	540,00	22400,00	А
Склад кислот	на улице								1000							Д-н
Участок водоподготовки	65	3,5	227,5										-	-	-	Д
Весовая	45	3,5	157,5					25					340,00	340,00	10976,00	В3
Склад сухих веществ	65	3,5	227,5				1600	500		300			1700,00	6800,00	17248,00	В2

Продолжение табл. 36

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Участок синтеза технического Триазавирина	90	8,5	765,0	15	5	26	72	25	42	14			144,04	864,22	22400,00	B3
Участок получения сырого Триазавирина	60	6,5	390,0								38		138,60	554,42	17248,00	B4
Участок выделения фармакопейного Триазавирина	50	6,5	325,0	390												A
Участок сушки Триазавирина субстанции	45	6,5	292,5									25	105,38	421,50	120,08	B4
Участок фасовки Триазавирина субстанции	25	2,8	70,0									25	42,15	421,50	120,08	B-4

Продолжение табл. 36

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Участок рекуперации спирта и выделения технического Триазавирин	50	6,5	325,0	350												A

Таким образом, в ходе организации производства препарата «Триазавирин» необходимо оборудовать ряд помещений с классом опасности А ввиду применения ряда ЛВЖ (спирт этиловый, ацетонитрил), большая же часть помещений соответствует классам опасности В-Д, что свидетельствует о невысокой пожарноопасности разрабатываемого производства.

5 Экономический анализ разработанной технологии

В ходе работы был проведен анализ себестоимости сырья для получения препарата «Триазавирин», производимого по разработанной технологии. Поскольку данное производство является новым, не имеющим аналогов, то сравнение затрат осуществляется с литературными методиками, использованными в качестве основы. Табл. 37 содержит затраты на химические реактивы при производстве 1 кг «Триазавирин» согласно разработанной нами технологии, а табл. 38 – согласно исходным лабораторным методикам.

Затраты на покупку реагентов для получения
1 кг Триазавирин по разработанному методу

Табл. 37

Компонент сырья	Масса, кг	Объем, л	Цена за ед.	Сумма
Аминогуанидина карбонат	2.7	-	600 руб./кг	1620
Аммония роданид	1.51	-	79 руб./кг	119.29
Вода	34.54	34.54	0.1 руб./л	3.454
Калия гидроксид	3.49	-	65 руб./кг	226.85
Кислота соляная (36%)	5.83	4.945	15 руб./кг	87.45
Кислота серная (конц.)	1.305	0.709	40 руб./кг	52.2
Спирт этиловый	3.784	4.796	80 руб./л	383.68
Диметилсульфат	0.725	0.545	110 руб./кг	79.75
Ацетонитрил	0.525	0.668	184.6 руб./кг	96.915
Натрия нитрит	0.484	-	35 руб./кг	16.94
Этилнитроацетат	0.917	0.765	10000 руб./кг	9170
Натрия карбонат	1.935	-	15 руб./кг	29.025
Кислота уксусная	0.663	0.63	90 руб./кг	59.67
ИТОГО				11945.22

Затраты на покупку реагентов для получения
1 кг Триазавирина по исходным лабораторным методикам

Табл. 38

Компонент сырья	Масса, кг	Объем, л	Цена за ед.	Сумма
Аминогуанидина карбонат	2.34	-	600 руб/кг	1404
Аммония роданид	1.31	-	79 руб/кг	103.49
Вода	34.5	34.5	0.1 руб/л	3.45
Кислота соляная (36%)	6.38	5.41	15 руб/кг	95.7
Калия гидроксид	1.86	-	65 руб/кг	120.9
Натрия гидроксид	0.479		25 руб/кг	11.975
Спирт этиловый	8.12	10.29	80 руб/л	823.2
Йодистый метил	1.82	0.798	10000 руб/кг	18200
Натрия нитрит	0.388	-	35 руб/кг	13.58
Этилнитроацетат	0.73	0.610	10000 руб/кг	7300
Натрия карбонат	1.56	-	20 руб/кг	31.2
Кислота уксусная	1.26	1.2	90 руб/кг	113.4
ИТОГО				28220.9

Цена на химические реактивы и растворители были приняты согласно производимым закупкам у поставщиков в ходе наработок опытных партий и соответствуют 2013 г.

Заключение

1. Впервые разработан применимый для промышленного использования способ синтеза субстанции нового оригинального противовирусного препарата «Триазавирин»:

– Выбран и усовершенствован метод получения 5-амино-3-меркапто-1,2,4-триазола в результате конденсации бикарбоната аминогуанидина и роданида аммония с последующей гетероциклизацией;

– Предложен и опробован новый экономичный способ получения 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола с использованием диметилсульфата;

– Разработан применимый в промышленном масштабе метод получения соли диазония 5-амино-3-метилтио-1,2,4-триазола с последующим проведением стадий азосочетания и гетероциклизации без ее выделения в свободном виде; осуществлен выбор наиболее подходящего нитросинтона (этилнитроацетат) для проведения стадий азосочетания и гетероциклизации, оптимизированы условия проведения этих стадий; проведены первичные испытания по использованию физических методов контроля (бесконтактная кондуктометрия, дистанционные микрооптические измерения, импульсное тепловое зондирование) для мониторинга протекания реакции диазотирования; изучены тепловые эффекты стадий диазотирования, а также азосочетания и циклизации;

– Разработан применимый в промышленности эффективный метод очистки субстанции «Триазавирин» до фармакопейной чистоты в результате переосаждения и последующей перекристаллизации, проанализирован гранулометрический состав осадка препарата, получаемого при различных режимах охлаждения на стадии перекристаллизации;

– Созданы новые методы анализа и модифицированы существующие методики для аналитического контроля производства субстанции. Выявлены и реализованы контрольные точки производства полупродуктов и субстанции. Созданы проекты ФСП и ТУ для использования в промышленном производстве.

2. Предложен новый метод получения «Триазавирин» с использованием в качестве нитросинтона нитромалонового эфира.

3. Разработана обоснованная технологическая схема производства субстанции «Триазавирин», создан комплект технологической документации, применимый в промышленном производстве.

4. Создана аппаратная схема производства и спецификация необходимого оборудования, на базе которой проведено проектирование опытно-промышленной

установки и построен участок синтеза субстанции «Триазавирин» мощностью 300 кг/год. Разработанная технология внедрена на ООО «МБИ-Синтез» (г. Волжский).

5. Проведен анализ разработанной технологии с точки зрения безопасности для персонала и окружающей среды, который показал высокую степень ее безопасности и экологичности. Выполнено категорирование помещений производства по классам пожаровзрывоопасности.

6. Внесенные в технологию изменения по сравнению с описанными ранее в литературе методиками позволили значительно (в 2.36 раза) снизить себестоимость сырья, необходимого для получения субстанции «Триазавирин».

Перспективы дальнейшей разработки темы. Результаты работы являются основой для организации промышленного производства субстанции препарата «Триазавирин» на базе ООО «МБИ-Синтез» (г. Волжский), к настоящему времени препарат поступил в розничную продажу.

Список основных сокращений

^1H ЯМР	ядерный магнитный резонанс на ядрах ^1H
ИК	инфракрасный
ДМСО- d_6	гексадейтерированный диметилсульфоксид
ТП	технологический процесс
ВР	вспомогательные работы
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ОБУВ	ориентировочный безопасный уровень воздействия
ПДК	предельно допустимая концентрация
АЦП	аналого-цифровой преобразователь
МПК	максимально переносимая концентрация
СПЖ	средняя продолжительность жизни
ТЦД ₅₀	50% тканевая цитопатическая доза
НПР	неблагоприятная побочная реакция
в/ж	введение в желудок

Список литературы

1. Пат. 2294936 РФ МПК⁷ C07D 487/04, A61 31/53. Натриевая соль 2-метилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7(4Н)-она, дигидрат, обладающий противовирусной активностью / Чупахин О.Н., Русинов В.Л., Уломский Е.Н., Чарушин В.Н., Петров А.Ю., Киселев О.И.; ГОУ ВПО УГТУ-УПИ, ООО НТП "Лиганд" - № 2005120250/04; заявл. **29.06.2005**; опубл. **10.03.2007**. Бюл. № 7. 9 с.
2. Киселев О.И. Химиопрепараты и химиотерапия гриппа. СПб: *Росток*, **2012**. 272 с.
3. Научно-технический отчет. 5 этап (заключительный) по Договору от 14 мая 2007 г. № ЖС-02-2.2/2-07 «Разработка технологии получения и выпуск опытных партий противовирусного лекарственного средства Триазавирин». СПб: *ГУ НИИ гриппа*, **2008**. 34 с.
4. Логинова С.Я., Борисевич С.В., Максимов В.А., Бондарев В.П., Котовская С.К., Русинов В.Л., Чарушин В.Н. Изучение противовирусной активности Триазавирин в отношении возбудителей гриппа А (H5N1) в культуре клеток. *Антибиотики и химиотерапия*, **2007**, *52(11-12)*, 18-20.
5. Логинова С.Я., Борисевич С.В., Максимов В.А., Бондарев В.П., Котовская С.К., Русинов В.Л., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н. Изучение профилактической эффективности Триазавирин в отношении возбудителя гриппа А (H5N1). *Антибиотики и химиотерапия*, **2010**, *55(9-10)*, 25-28.
6. Логинова С.Я., Борисевич С.В., Максимов В.А., Бондарев В.П., Котовская С.К., Русинов В.Л., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н. Лечебная эффективность нового отечественного препарата Триазавирин в отношении возбудителя гриппа А (H5N1) *Антибиотики и химиотерапия*, **2011**, *56(1-2)*, 10-13.
7. Киселев О.И., Деева Э.Г., Мельникова Т.И., Козелецкая К.Н., Киселев К.Н., Русинов В.Л., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н. Новый противовирусный препарат Триазавирин. Результаты II фазы клинического исследования. *Вопросы вирусологии*, **2012**, *57(6)*, 9-12.
8. Деева Э.Г., Коновалова Н.И., Киселев О.И. Результаты III фазы клинического исследования препарата Триазавирин (научно-исследовательский институт гриппа Министерства здравоохранения Российской Федерации).
9. Русинов В.Л., Уломский Е.Н., Чупахин О.Н., Чарушин В.Н. Азоло[5,1-с]-1,2,4-триазины – новый класс противовирусных соединений. *Известия АН, Серия химическая*, **2008**, № 5, 967-995.
10. Lempert K., Zauer K. 1,2,4-triazines and condensed derivatives. *Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae*, **1972**, *71*, 371-379.

11. Gray E.J., Stevens H.N.E., Stevens M.F.G. Triazines and Related Products. Part 21. Cyclisation of 3-Amino-5-hydrazinopyrazole and 3-Amino-5-hydrazino-1,2,4-triazole to Azolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1978**, 885-888.
12. Reimlinger H., Lingier W.R.F., Vanderwalle J.J.M. Synthesen mit 3-Brom- und 3-Hydrazino-*s*-triazolo[3.4-*a*]isochinolin. *Chem. Ber.*, **1971**, *104*, 3940-3946.
13. Ibrahim M.A., Abdel-Rahman R.M., Abdel-Halim A.M., Ibrahim S.S., Allimony H.A. Synthesis and antifungal activity of novel polyheterocyclic compounds containing fused 1,2,4-triazine moiety. *Arkivoc*, **2008**, *XVI*, 202-215.
14. Kadry A.M., Abdel Aal E.H., Abdel-Fattah H.A., Al-Mahmoudy A.M. Synthesis and antimicrobial activity of new triazolopyrimidinecarbonitrile derivatives. *Arkivoc*, **2008**, *X*, 127-134.
15. Tennant G., Vevers R.J.S. The Chemistry of Polyazaheterocyclic Compounds. Part VIII. Coupling Reactions of 1,2,4-Triazole-5-diazonium Nitrate with Active Methylene Compounds. A New General Route to [1,2,4]Triazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazine Derivatives. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1976**, 421-428.
16. Русинов В.Л. Автореф. дис. ... докт. хим. наук. М., **1991**.
17. Уломский Е.Н. Азаиндолизины. Синтез, химические свойства, биологическая активность. Дис. ... докт. хим. наук. Екатеринбург: УГТУ-УПИ, **2003**. 339 с.
18. Abdelhamid A.O., Zohdi, H.F., Ziada, M.M. A facile synthesis of [1,2,4]triazino[4,5-*a*]benzimidazoles, pyrazolo[5,1-*c*]triazines, triazolo[5,1-*c*]triazines and pyrido[1,2-*a*]benzimidazoles. *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, **2000**, *39(3)*, 202-209.
19. Мокрушин В.С., Садчикова Е.В. Химия гетероциклических diaзосоединений. СПб: Проспект науки, **2013**. 223 с.
20. Уломский Е.Н., Деев С.Л., Русинов В.Л., Чупахин О.Н. Синтез бензимидазолилазола[5,1-*c*][1,2,4]триазинов. *Журнал органической химии*, **1999**, *35(9)*, 1384-1391.
21. Gray E.J., Stevens M.F.G., Tennant G., Vevers R.J.S. Cyclizations Reactions of Azolyldiazones Derived from Ethyl Cyanoacetate and Malononitrile. Formation of Azolo[5,1-*c*][1,2,4]triazine. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1976**, 1496-1504.
22. Farras J., Fos E., Ramos R., Vilarrasa J. Characterization of New Mesomeric Betaines Arising from Methylation of Imidazo[2,1-*c*][1,2,4]triazin-4(1H)-one, Pyrazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazin-4(1H)-one, and 1,2,4-Triazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazin-4(1H)-one. *J. Org. Chem.*, **1988**, *53(4)*, 887-893.

23. Ankenbrand T., Neidlein R. Syntheses of Phosphonato-Substituted Azolo[1,2,4]Triazines with Potential Biomedical Applications. *Heterocycles*, **1999**, *51(3)*, 513-546.
24. Уломский Е.Н., Медведева Н.Р., Щепочкин А.В., Ельцов О.С., Русинов В.Л., Чупахин О.Н., Деева Э.Г., Киселев О.И. Фторсодержащие [1,2,4]триазоло[1,5-*a*]пиримидины и [1,2,4]триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазины. *Химия гетероциклических соединений*, **2011**, *47(9)*, 1411-1417.
25. Molina P., Alajarin M., Saez J.R. A Facile Iminophosphorane-Mediated Synthesis of 1,2,4-Triazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazine Derivatives. *Synthesis*, **1984**, 983-986.
26. Molina P., Alajarin M., Ferao A.. Heterocyclization Reactions with Carbodimides: Synthesis of Fused 1,2,4-Triazoles. *Heterocycles*, **1986**, *24(12)*, 3363-3368.
27. Molina P., Alajarin M., Jesús Pérez de Vega M., López A.. Preparation of [1,2,4]Triazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazine Derivatives from 3,4-Diamino[1,2,4]triazine. *Heterocycles*, **1989**, *29(8)*, 1607-1613.
28. Molina P., Alajarin M., Vidal A. Iminophosphorane-mediated Synthesis of Fused [1,2,4]Triazines: Preparation of [1,2,4]Triazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazine and [1,2,4]triazino[4,3-*b*][1,2,4,5]tetrazine Derivatives. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1989**, 247-250.
29. Daunis J., Follet M. Etude en serie as-triazine. XVII. Etude de la tautomerie de triazolo-triazinones. *Bull. Soc. Chim. France*, **1976**, № 7-8, 1178-1182.
30. Daunis J., Follet M. Etude en serie as-triazine. XVII. Synthese et etude des triazolyl-6 as-triazines. *Bull. Soc. Chim. France*, **1975**, № 3-4, 864-870.
31. Dornow A., Menzel H., Marx P. Synthesen stickstoffhaltiger Heterocyclen, XXVII. Über 1,2,4-Triazine, I Darstellung einiger neuer *s*-Triazolo[3.2-*c*]-*as*-triazine. *Chem. Ber.*, **1964**, *98*, 2173-2178.
32. Dornow A., Pietsch H. Reactionen von 4-Amino-3-methylmercapro-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-triazinen. *Chem. Ber.*, **1967**, *100*, 2585-2592.
33. Daunis J., Follet M. Etude en serie as-triazine. XVI. Effet du substituant situe en position 6 des hydrazino-3 hydroxy-5 triazines sur l'orientation de la cyclisation en *s*-triazolo *as*-triazine. *Bull. Soc. Chim. France*, **1975**, № 3-4, p. 857-863.
34. Molina P., Alajarin M., Saez J.R., Foces-Foces M.C., Cano F.H., Claramunt R.M., Elguero J. Iminophosphorane-mediated Synthesis of [1,2,4]Triazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines. The Unexpected Formation of *Z,Z*-1,3-Diazetidino-2,4-di-imines. X-Ray Molecular Structure of 7-(*p*-Cloroanilino)-8-(*p*-chlorophenyl)-3-methyl[1,2,4]triazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazin-4(8H)-one and of 1,3-Bis-(*p*-chlorophenyl)-2,4-bis-(6-methyl-3-methylthio-5-oxo-4,5-dihydro-1,2,4-triazin-4-ylimino)-1,3-diazetidino. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1986**, 2037-2050.

35. Васькевич Р.И., Савицкий П.В., Русанов Э.Б., Станинец В.И. Региоселективность циклизации 1-(6-метил-5-оксо-2,5-дигидро-1,2,4-триазин-3-ил)-4-арилтиосемикарбазидов под действием метилиодида и дициклогексилкарбодиимида. *Журнал органической химии*, **2010**, 46(11), 1675-1679.
36. Molina P., Tarraga A., Lorenzo Pena M. Nitrogen-Bridgehead Heterocycles from 2-Etoxy carbonyl-4,6-diphenylpyrylium Cation. *Synthesis*, **1984**, № 8, 697-700.
37. El-Gendy Z., Morsy J.M., Allimony H.A., Abdel-Monem W.R., Abdel-Rahman R.M. Synthesis of heterobicyclic nitrogen systems bearing a 1,2,4-triazine moiety as anticancer drugs: part IV. *Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements*, **2003**, 178(9), 2055-2072.
38. Уломский Е.Н., Деев С.Л., Шестакова Т.С., Русинов В.Л., Чупахин О.Н. Синтез и гидроксидезаминирование в ряду 6-арил- и 6-бензоимидазолил-7-аминоазоло[5,1-с]-1,2,4-триазинов. *Изв. АН, сер. хим.*, **2002**, № 9, 1594-1600.
39. Утепова И.А., Шестакова Т.С., Деев С.Л., Уломский Е.Н., Русинов В.Л., Чупахин О.Н. Синтез арилсодержащих триазоло[1,5-а]пиримидин-7-онов и триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов. *Вестник УГТУ-УПИ, сер. хим.*, **2003**, № 3(23), 69-72.
40. Русинов В.Л., Уломский Е.Н., Чупахин О.Н., Зубаиров М.М., Капустин А.Б., Митин Н.И., Жиравецкий М.И., Виноградов И.А. Синтез и противовирусная активность 6-нитро-7-оксо-4,7-дигидроазоло [5,1-с]-[1,2,4]-триазинов. *Хим.-фарм. журн.*, **1990**, № 9, 41-44.
41. Русинов В.Л., Петров А.Ю., Постовский И.Я. Синтез нитропроизводных азоло[5,1-с][1,2,4]триазина. *Химия гетероциклических соединений*, **1980**, № 9, 1283-1298.
42. Шестакова Т.С., Халымбаджа И.А., Деев С.Л., Ельцов О.С., Русинов В.Л., Чупахин О.Н., Шенкарев З.О., Арсеньев А.С. Синтез противовирусного препарата «Триазавирин», меченного изотопами ^2H и ^{15}N . *Изв. АН, сер. хим.*, **2011**, 714-717.
43. Chupakhin O.N., Ulomsky E.N., Deev S.L., Rusinov V.L. The synthesis of ^{15}N labeled 6-nitro-1,2,4-triazolo[5,1-с][1,2,4]triazin-7-one. *Synthetic Communications*, **2001**, 31(15), 2351-2356.
44. Чупахин О.Н., Уломский Е.Н., Деев С.Л., Воронин В.В., Кодесс М.И., Русинов В.Л. Синтез изотопомеченных триазоло[1,5-а]пиримидинов и триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов. *Достижения в органическом синтезе, сб. статей*. Екатеринбург: УрО РАН, **2003**, 227-233.
45. Лабораторный регламент на производство Триазавирина субстанции ЛР 04739512-01-2006. Екатеринбург: ИОС УрО РАН, **2006**. 78 с.

-
46. Русинов В.Л., Пиличева Т.Л., Чупахин О.Н., Ключев Н.А., Аллаhverдиева Д.Т. Нитроазины. 5. Использование реакции Яппа-Клингемана для синтеза нитротриазинов. *Химия гетероциклических соединений*, **1986**, № 5, 662-665.
47. Мясников А.В., Русинов В.Л., Пиличева Т.Л., Чупахин О.Н., Киприанова Е.А., Гарагуля А.Д. Противомикробная активность нитропроизводных азоло[1,5-*a*]пиримидина и азоло [5,1-*c*]-[1,2,4]триазина. *Химико-фармацевтический журнал*, **1990**, 24(1), 39-41.
48. Русинов В.Л., Петров А.Ю., Чупахин О.Н., Ключев Н.А., Александров Г.Г.. Нитроазины. 3. Нитроацетонитрил в синтезе нитроазинов. *Химия гетероциклических соединений*, **1985**, № 5, 682-688.
49. Русинов В.Л., Петров А.Ю., Александров Г.Г., Чупахин О.Н. Нитроазины. 24. Устойчивые анионные σ -аддукты конденсированных нитротриазинов. *Химия гетероциклических соединений*, **1994**, № 1, 52-57.
50. Dermaj A., Hajjaji N., Joiret S., Rahmouni K., Srhiri A., Takenouti H., Viver, V. Electrochemical and spectroscopic evidences of corrosion inhibition of bronze by a triazole derivative. *Electrochimica Acta*, **2007**, 52, 4654-4662.
51. Li W., He Q., Peo C., Hou B. Experimental and theoretical investigation of the adsorption behaviour of new triazole derivatives as inhibitors for mild steel corrosion in acid media. *Electrochimica Acta*, **2007**, 52, 6386-6394.
52. Zheludkevich M.L., Yasakau K.A., Poznyak S.K., Ferreira M.G.S. Triazole and thiazole derivatives as corrosion inhibitors for AA2024 aluminium alloy. *Corrosion Science*, **2005**, 47, 3368-3383.
53. Cao K., Yang X. Fungicides of 1,2,4-triazole compounds. *Speciality Petrochemicals*, **2007**, 24(6), 82-86.
54. Liu K., Shi W., Cheng P. The coordination chemistry of Zn(II), Cd(II) and Hg(II) complexes with 1,2,4-triazole derivatives. *Dalton Transaction*, **2011**, 40(34), 8475-8490.
55. Roubeau O., Natividad E., Agricole B., Ravaine S. Formation, Structure, and Morphology of Triazole-Based Langmuir-Blodgett Films. *Langmuir*, **2007**, 23(6), 3110-3117.
56. Mickevičius V., Intaite V., Voskiene A., Kantminiene K., Stasevych M., Komarovska-Porokhnyavets O., Novikov V. Synthesis and biological activity of mono- and disubstituted 1,2,4-triazole derivatives. *Heterocycles*, **2010**, 81(3), 649-658.
57. Maddila S., Jonnalagadda S.B. New class of triazole derivatives and their antimicrobial activity. *Letters in Drug Design and Discovery*, **2012**, 9(7), 687-693.

58. Baldwin J., Claremon D.A., Tice C., Cacatian S., Dillard L.W., Ishchenko A.V., Yuan J., Xu Z., Mcgeehan G., Simpson R.D., Singh S.B., Zhao W., Flaherty P.T. Aspartic protease inhibitors. *Patent WO2007/070201 A1*.
59. Thomae D., Perspicace E., Hesse S., Kirsch G., Seck P. Synthesis of substituted [1,3]thiazolo[4,5-*b*]pyridines and [1,3]thiazolo[4,5-*d*][1,2,3]triazines. *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 9309-9314.
60. Heitke B.T., McCarty C.G. Syntheses of C-amino- and C-azido-1,2,4-triazoles. *J. Org. Chem.*, **1974**, *39*, 1522-1526.
61. Dolzhenko A.V., Dolzhenko A.V., Chui, W.-K. Synthesis of 5,7-diamino[1,2,4]triazolo[1,2-*a*]triazines via annulation of 1,3,5-triazine ring onto 3(5)-amino-1,2,4-triazoles. *Heterocycles*, **2007**, *71*(2), 429-436.
62. Arndt F., Milde E. Ringechliiaee an Bohwefelhaltigen Dicarbonhydrasiden. I: Dithio-mazol und Iminothiourazol. *Chem. Ber.*, **1921**, *54*, 2089-2110.
63. Швинк Н.А., Исмагилова Н.М. Способ получения 3-амино-5-метилмеркапто-1,2,4-триазола. Описание изобретения к авт. свид. № 1002291, заявл. **30.06.1981** г., опубл. **07.03.1983** г., Бюл. № 9.
64. Kurzer F., Secker J.L. Addition-cyclisations of ethoxycarbonyl isothiocyanate with hydrazine derivatives as a source of thiadiazoles and triazoles. *J. Heterocyclic Chem.*, **1989**, *26*, 355-360.
65. Chen W., Xiang F., Fu J., Zeng Q.F., Zhu H.L. Synthesis and Antifungal Evaluation of 1,2,4-Triazolo[1,5- α]pyrimidine Bearing 1,2,4-Triazole Heterocycle Derivatives. *Asian journal of Chemistry*, **2011**, *23*, 602-608.
66. Marble L.K., Puckett W.E., Russel Summers W. Reaction of metallo *S*-alkyl *N*-cyanodithioiminocarbonates and alkyl *N*-cyanocarbamates with hydrazine. A novel preparation of 5-amino-3-mercapto-1,2,4-triazole. *J. Heterocyclic Chem.*, **1998**, *35*, 827-833.
67. Földényi R. New Pyrimidine Derivatives of Cyanimidodithiocarbonates. *Monatshefte für Chemie*, **1996**, *127*, 725-731.
68. Патент PCT Int. Appl., 9426724, 24 Nov **1994**.
69. Clarkson R., Landquist J.K. 2-Alkoxy-5-amino- and -5-arenesulphonamido-1,3,4-thiadiazoles and related compounds. *J. Chem. Soc.*, **1967**, 2700-2704.
70. *Shanxi Daxue Xuebao, Ziran Kexueban*, **2004**, *27*(4), 372-376.
71. Merrifield L.G., Iungius N.J., Ilford E. Verfahren zur Herstellung eines 3-Amino-5-mercapto-1,2,4-triazols. *Patent DE1960981 A1*.
72. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Sectio AA: Chemia*. **1982**, *35*, 49-62.

-
73. Tolstikov V.V., Brykov A.S., Pevzner M.S., Tselinskii I.V., Astrat'ev A.A. Synthesis of Nitrogen-containing Heterocycles under Conditions of Microwave Heating. *Russian Journal of Applied Chemistry*, **1998**, *71*, 177-179.
74. Патент Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 06041096, 15 Feb **1994**, Heisei.
75. Патент Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 08165273, 25 Jun **1996**, Heisei.
76. Godfrey L.E.A., Kurzer F. Heterocyclic compounds from urea derivatives. Part I. A new synthesis of 3-amino-5-mercapto(and -hydroxy)-1,2,4-triazoles. *J. Chem. Soc.*, **1960**, 3437-3444.
77. Патент Jpn. Kokai Tokkyo Koho 05247004, 24 Sep **1993**, Heisei.
78. Патент Jpn Kokai Tokkyo Koho 06025192, 01 Feb. **1994**, Heisei
79. Гетероциклические соединения. Под ред. Р. Эльдерфильда, Т. 7., пер. с англ. под ред. В.Г. Яшунского. М.: *Мир*, **1965**. 499 с.
80. Свойства органических соединений. Справочник. Под ред. А.А. Потехина. Л.: *Химия*, **1984**. 520 с.
81. Мокрушин В.С., Вавилов Г.А. Основы химии и технологии биоорганических и синтетических лекарственных веществ. Екатеринбург: *УГТУ-УПИ*, **2004**. 482 с.
82. Чекалин М.А., Пасет Б.В., Иоффе Б.А. Технология органических красителей и промежуточных продуктов. Л.: *Химия*, **1980**. 472 с.
83. Плановский А.Н., Гуревич Д.А. Аппаратура промышленности органических полупродуктов и красителей. М.: *Госхимиздат*, **1961**. 504 с.
84. Лебедев Н.Н. Химия и технология основного органического и нефтехимического синтеза. М.: *Химия*. **1988**. 592 с.
85. Батунер Л.М. Процессы и аппараты органического синтеза и биохимической технологии (методы расчета). Л.: *Химия*, **1966**. 520 с.
86. Бодров В.И., Дворецкий С.И., Дмитриев В.М., Кормильцин Г.С., Колупаев В.И. Аппарат для непрерывного diazотирования аминов. Описание изобретения к авт. свид. СССР № SU 1586771 A1. Заявлено **23.05.1988**, опубликовано **23.08.1990**, Бюл. № 31.
87. Zollinger H. Diazo Chemistry I. Aromatic and Heteroaromatic Compounds. *Weinheim*, **1994**. 453 p.
88. Система SYSTAG. Инструкция по эксплуатации.
89. Крылович В.И. Ультразвуковые частотно-фазовые методы исследования и неразрушающего контроля. Минск: *Наука и техника*, **1985**. 178 с.
90. Skripov P.V., Smotriskiy A.A., Starostin A.A., Shishkin A.V. A Method of Controlled Pulse Heating: Applications. *J. Eng. Thermophys.*, **2007**, *16(3)*, 155-163.

-
91. Шангин В.В., Волосников Д.В., Сафонов В.Н., Старостин А.А., Скрипов П.В. Устройство импульсного теплового контроля опасных примесей в критических точках маслосистем. *Приборы*, **2012**, № 5, 6-11.
92. Rutin S.B., Skripov P.V. Apparatus for Studying Heat Transfer in Nanofluids under High-Power Heating. *J. Eng. Thermophys.*, **2012**, 21(2), 144-153.
93. Assael M.J., Antoniadis K.D., Wakeham W.A. Historical Evolution of the Transient Hot-Wire Technique. *Int. J. Thermophys.*, **2010**, 31, 1051-1072.
94. Skripov P.V., Skripov A.P. The Phenomenon of Superheat of Liquids: in Memory of Vladimir P. Skripov. *Int. J. Thermophys.*, **2010**, 31, 816-831.
95. Оконишников Г.Б., Новиков Н.В., Пшеничников В.А. Расслаивающиеся жидкости в процессах с импульсным тепловыделением. В кн.: *Тепловые процессы и метастабильные состояния*. Свердловск: УрО АН СССР, **1990**, 42-47.
96. Скрипов П.В., Пучинский С.Э., Смотрицкий А.А., Шишкин А.В., Игнатенко Н.К., Ишметова Р.И. Импульсное тепловое исследование систем, претерпевающих химическое превращение под действием давления и температуры. В кн.: *Региональный конкурс РФФИ «Урал»*. Свердловская область. Екатеринбург: УрО РАН, **2007**, 118-120.
97. Авдеев М.В., Баграташвили В.Н., Коновалов А.Н., Попов В.К., Цыпина С.И., Соколова М.В., Ке Дж., Полиакофф М., Ву В.З., Ванг Б., Хан Б.Х. Двухканальная оптоволоконная рефлектометрия сверхкритических сред. *Сверхкритические Флюиды: Теория и Практика*, **2007**, 2(1), 28-39.
98. Gurashkin A.L., Starostin A.A. Ermakov G.V., Skripov P.V. High speed optical investigations of a character of boiling-up onset. *J. Chem. Phys.*, **2012**, 136, 021102.
99. Шауб Ю.Б. Кондуктометрия. Владивосток: *Дальнаука*, **1996**. 488 с.
100. Kislyi V.P., Laikhter A.L., Ugrak B.I., Semenov V.V. Synthesis of α -functional nitro compounds by the nitration of activated carbonyl compounds in a two-phase system. *Russian Chemical Bulletin*, **1994**, 43, 70-74.
101. Emmons W.D., Freeman J.P. Alkaline Nitration. I. The Nitration of Amines with Cyanohydrin Nitrates. *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 4387-4390.
102. Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник. Л.: *Химия*. **1978**. 392 с.
103. Егорова Л.Г., Петров А.Ю., Русинов В.Л. NH-Кислотность 7-оксо-4,7-дигидропиразоло- и 1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов. *Химия гетероциклических соединений*, **1984**, № 5, 697-699.
104. Новый справочник химика и технолога. Процессы и аппараты химических технологий. Ч. 2. СПб.: АНО НПО «Профессионал», **2006**. 916 с.

-
105. Gabryszewski M., Wieczorek B. Thermal and structural properties of the Hg(III) complexes with some amino and mercapto derivatives of 1,2,4-triazole. *Polish Journal of Chemistry*, **2006**, *80*, 709-717.
106. Reiter J., Somorai T., Jerkovich Gy., Dvortsak P. On Triazoles. I. The Reaction of *N*-Cyanocarbonimidodithioic Acid Diesters With Hydrazines. *J. Heterocyclic Chem.*, **1982**, *19*, 1157-1164.
107. Gabryszewski M., Wieczorek B. Synthesis and properties of the Co(II), Ni(II), Zn(II) and Cd(II) complexes with 3-amino-1,2,4-triazole, 4-amino-1,2,4-triazole, 3,5-diamino-1,2,4-triazole and 3-amino-5-methylthio-1,2,4-triazole. *Polish Journal of Chemistry*, **1999**, *73(12)*, 2061-2066.
108. Проект фармакопейной статьи на Триазавирин субстанцию.
109. Гигиенические нормативы ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».
110. Рыжкова И.В. Гигиено-токсикологическая характеристика йодистого метила с целью установления предельно допустимых концентраций в воздухе рабочей зоны и в атмосферном воздухе населенных мест. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, **1995**.
111. Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей. В 3-х т. Л.: *Химия*, **1976**. 592 с. (Т. 1), 624 с. (Т. 2), 608 с. (Т. 3).
112. Приказ МПР РФ от 15.06.2001 № 511 «Об утверждении критериев отнесения опасных отходов к классу опасности для окружающей природной среды».
113. Методическое пособие по применению «Критериев отнесения опасных отходов к классам опасности для окружающей природной среды» для видов отходов, включенных в федеральный классификационный каталог отходов». М., **2003**.
114. ГН 2.2.5.687-98 «Ориентировочно безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны» (494 наименования веществ), М.: *ГСЭН России*, **1998**. 46 с.
115. ГН 2.1.6.695-98 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест» (589 наименований). М.: *ГСЭН России*, **1998**. 69 с.
116. ГН 2.1.6.696-98 «Ориентировочно безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест» (1495 наименования веществ). М.: *ГСЭН России*, **1998**. 132 с.

-
117. ГН 2.1.5.689-98 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования» (1343 наименований). М.: *Минздрав РФ*, **1998**. 126 с.
118. ГН 2.1.5.690-98 «Ориентировочно допустимые уровни (ОДУ) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования» (402 наименования). М.: *Минздрав России*, **1998**. 45 с.
119. Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение» (1204 величин ПДК и 2 ОБУВ). М.: *изд. ВНИРО*, **1999**. 304 с.
120. Перечень предельно допустимых концентраций (ПДК) и ориентировочно допустимых количеств (ОДК) химических веществ в почве», рег № 6229-91. М.: *Минздрав СССР*, **1991**.
121. Пожаровзрывоопасность веществ и материалов и средства их тушения. Справочник. Кн. 1, 2 / Баранов А.Н., Корольченко А.Я., Кравчук Г.Н. и др. М.: *Химия*, **1990**. 312 с.
122. Каталог химических реактивов фирмы Aldrich.
123. Отчет о НИР № 02/11/07, ГОУ Уральский институт ГПС МЧС России ГУ СЭУ ФПС «Испытательная пожарная лаборатория» по Пермскому краю (Министерство РФ по делам ГО, ЧС и ликвидации последствий стихийных бедствий).
124. Нормы пожарной безопасности НПБ 105-03 "Определение категорий помещений, зданий и наружных установок по взрывопожарной и пожарной опасности".