

## Нуклеофильное замещение нитрогруппы в нитротриазолотриазинах как модель потенциального взаимодействия с цистеинсодержащими белками

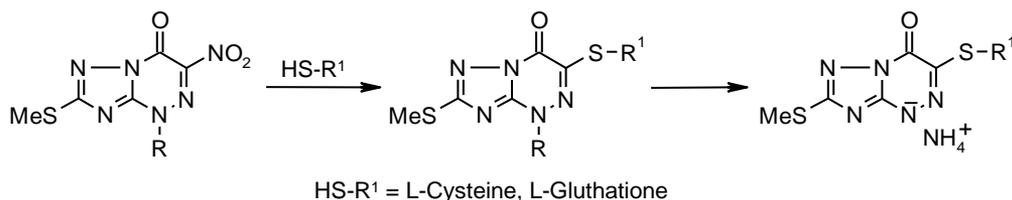
Владимир Л. Русинов<sup>1,2</sup>, Ирина М. Сапожникова<sup>1\*</sup>, Евгений Н. Уломский<sup>1</sup>,  
Наталья Р. Медведева<sup>1</sup>, Владимир В. Егоров<sup>3</sup>, Олег И. Киселев<sup>3</sup>,  
Элла Г. Деева<sup>3</sup>, Андрей В. Васин<sup>3</sup>, Олег Н. Чупахин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Уральский федеральный университет  
им. первого Президента России Б. Н. Ельцина,  
ул. Мира, 19, Екатеринбург 620002, Россия; e-mail: i.m.sapozhnikova@urfu.ru

<sup>2</sup> Институт органического синтеза УрО РАН,  
ул. С. Ковалевской, 22 / Академическая, 20, Екатеринбург 620990, Россия;  
e-mail: chupakhin@ios.uran.ru

<sup>3</sup> НИИ гриппа Минздрава РФ,  
ул. Профессора Попова, 15/17, Санкт-Петербург 197376, Россия;  
e-mail: office@influenza.spb.ru

Поступило 24.01.2015  
Принято 11.02.2015



В качестве реакций, имитирующих возможные метаболические превращения противовирусного препарата Триазавирин® и его производных, изучено нуклеофильное замещение нитрогруппы в ряду [1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинонов под действием цистеина и глутатиона как модели взаимодействия с тиольными фрагментами вирусных белков.

**Ключевые слова:** азоло[5,1-с]триазины, глутатион, нитросоединения, Триазавирин, цистеин, метаболические превращения, нуклеофильное замещение.

В настоящее время в терапии гриппа все шире используются этиотропные препараты, действующие на разных стадиях вирусной репликации. К основным классам таких препаратов относятся блокаторы ионного канала М2 (ремантадин и амантадин) и ингибиторы нейраминидазы (осельтамивир и занамивир).<sup>1,2</sup> Однако вследствие мутаций появляются вирусы, выработавшие устойчивость к уже известным препаратам.<sup>2</sup> Появление особо патогенных штаммов и высокая распространенность вируса гриппа, а также изменчивость вирусного генома определяют актуальность разработки новых эффективных средств профилактики и лечения гриппа. Совместными исследованиями Уральского федерального университета, Института органического синтеза Уральского отделения РАН, ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, а также Уральского центра биотехнологий и завода "Медсинтез" создан новый противовирусный препарат Триазавирин® (1) (натриевая соль 2-метилсульфанил-

6-нитро[1,2,4]-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-7(4H)-она, дигидрат, рис. 1)<sup>3</sup>. Препарат, относящийся к новому классу нуклеозидных противовирусных этиотропных средств – азоло-азинов, прошел полный цикл клинических испытаний при лечении гриппозной инфекции в 2011–2014 гг.<sup>4–9</sup>

Триазавирин и его производные являются нитросоединениями ряда [1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов. Они продемонстрировали высокую эффективность в опытах *in vivo* и, что примечательно, заметно меньшую

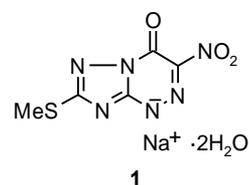
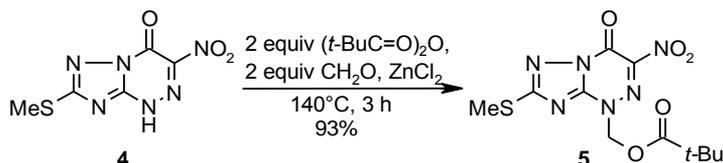


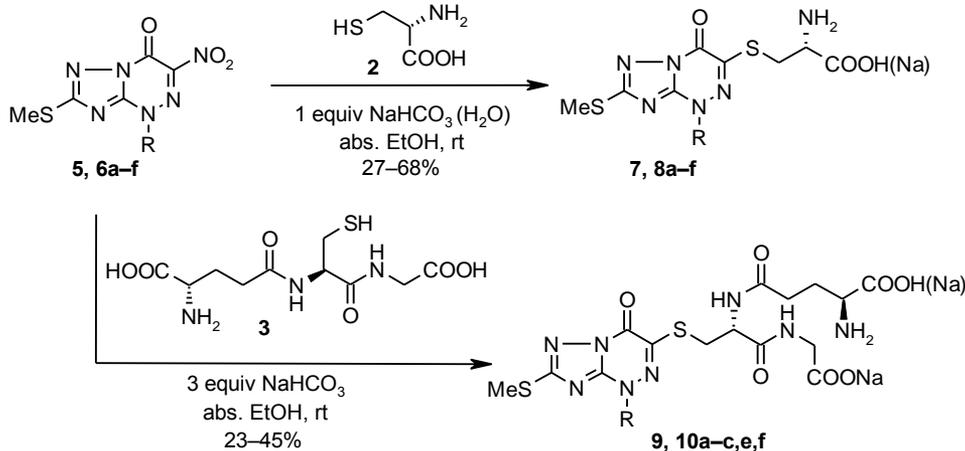
Рисунок 1. Структура Триазавирина (1).



## Схема 1



## Схема 2

5, 7, 9 R = CH<sub>2</sub>O(CO)t-Bu6, 8, 10 a R = Me, b R = Et, c R = Bn, d R = t-Bu, e R = (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>OAc, f R = CH<sub>2</sub>O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OAc

форму NH-кислоты **4**, которую затем сплавливали с пивалевым ангидридом, параформом и хлористым цинком при 140 °C (схема 1).

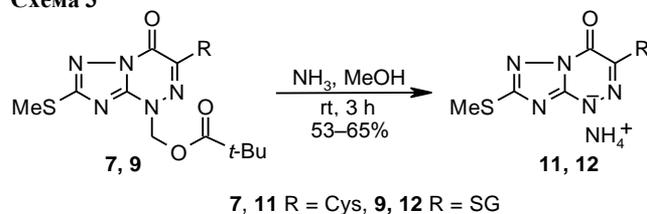
При взаимодействии соединений **5** и **6a–f** с цистеином **2** при комнатной температуре в абсолютном этаноле как в присутствии гидрокарбоната натрия (1 экв.), так и в его отсутствие происходит замещение нитрогруппы с образованием 3-(2-амино-2-карбоксиэтилсульфанил)-7-метилсульфанил[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1*H*)-онов **7** и **8a–f** соответственно (схема 2, табл. 1). При этом были получены продукты, содержащие цистеиновый фрагмент в кислотной форме либо в виде натриевых солей.

В спектрах ЯМР <sup>1</sup>H полученных соединений **7** и **8a–f** присутствует синглет метилсульфанильной группы, сигналы протонов алкильных и цистеинового фрагментов. Наблюдается расщепление сигналов протонов группы SCH<sub>2</sub>, проявляющихся в виде однопротонных дублетов дублетов (δ 3.88–3.98 м. д., *J* = 14.7–15.0, *J* = 4.0–4.2 Гц и δ 4.13–4.18 м. д., *J* = 8.0–9.4, *J* = 4.0–4.2 Гц) (табл. 2).

Также легко происходит замещение нитрогруппы и при взаимодействии соединений **5** и **6a–f** с более приближенным к цистеинсодержащим белкам трипептидом глутатионом **3**. В результате образуются 3-(глутатион-*S*-ил)-7-метилсульфанил[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1*H*)-оны **9** и **10a–c,e,f** (схема 2, табл. 1, рис. 3). Не удалось получить продукт замещения нитрогруппы на глутатион **10d**, что связано, вероятно, с пространственными затруднениями вследствие большого размера *трет*-бутильного фрагмента. Так как в реакциях использовались оптически чистые L-цистеин и L-глутатион, то продукты замещения также оптически активны. Измеренные удельные оптические вращения приведены в экспериментальной части (табл. 1).

Пивалоилоксиметильная группа широко используется в качестве защитной, удаляемой в основных условиях.<sup>16,17</sup> В результате удаления пивалоилоксиметильной группы в соединениях **7** и **9** были получены незамещенные по положению 4 триазолотриазинового цикла цистеин- и глутатионпроизводные **11**, **12** (схема 3, табл. 1). Структуры полученных соединений подтверждены спектроскопией ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C (табл. 2).

## Схема 3



7, 11 R = Cys, 9, 12 R = SG

1-(2-Гидроксиэтилоксиметил)-3-(глутатион-*S*-ил)-7-метилсульфанил[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1*H*)-он **13**, подобно противовирусному препарату Ацикловиру, содержит остаток, имитирующий фуранозильный фрагмент. 2-Гидроксиэтилоксиметильное производное **13** получено в результате гидролиза ацетоксиэтилоксиметильной группы при обработке соединения **10f** 1 н. раствором соляной кислоты (схема 4).

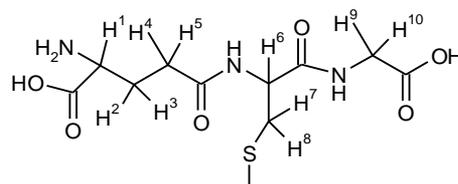
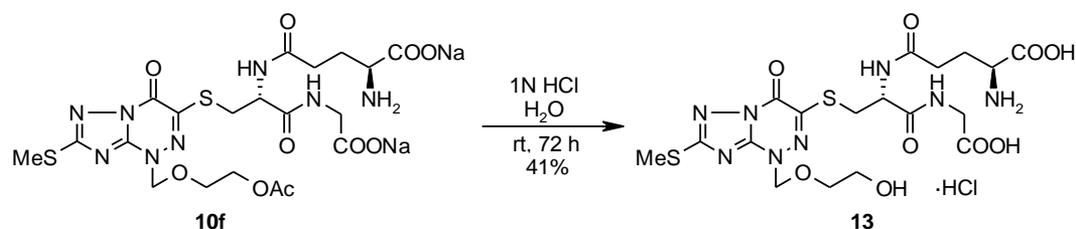


Рисунок 3. Нумерация атомов водорода в глутатионовом фрагменте.

Схема 4



Таким образом, проведенные модельные реакции производных Триазавирин с биогенными *S*-нуклеофилами свидетельствуют о вероятности протекания метаболических процессов, связанных с замещением нитрогруппы и образованием ковалентных связей цистеинсодержащими фрагментами гемагглютинаина. Биологическое действие новых соединений будет рассмотрено в отдельном сообщении.

#### Экспериментальная часть

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  записаны на приборе Bruker DRX-400 (400 и 100 МГц соответственно), химические сдвиги приведены в  $\delta$ -шкале относительно внутреннего стандарта ТМС (для спектров ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ ). Элементные анализы проведены на анализаторе Perkin Elmer 2400-II CHNS/O. Температуры плавления полученных

соединений определены на приборе Boetius. Контроль за ходом реакций и чистотой полученных соединений осуществлен с помощью ТСХ на пластинках Sorbfil (фирма ЗАО Сорбполимер) в системах этилацетат и бутанол – уксусная кислота – вода, 4:1:1. Для колоночной хроматографии использован силикагель (Alfa Aesar). Углы вращения определены на спектрофотополяриметре Perkin Elmer 343 Plus.

Триазавирин (1) и 1-алкил-7-метилсульфанил-3-нитро-[1,2,4]триазоло-[5,1-*c*][1,2,4]триазин-4(1*H*)-оны **6a–f** получены по описанным ранее методикам.<sup>3,11, 14, 15</sup> Для моделирования взаимодействия Триазавирин с гемагглютинином использованы структуры белков из базы данных PDB 3LZG(H1) и структура Триазавирин, оптимизированная в программе HyperChem 8.0. Из координатных файлов были удалены гетероатомы и

Таблица 1. Физико-химические характеристики соединений 7–13

Соединение	Брутто-формула	Найдено, % Вычислено, %			Т. пл., °С	Выход, %	[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> (Концентрация (моль/мл), растворитель)
		C	H	N			
7	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> N <sub>6</sub> NaO <sub>5</sub> S <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	36.53	4.51	18.48	162–164	35	–20.40 (1.75, 10% TFA)
		36.84	4.64	18.41			
8a	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> N <sub>6</sub> NaO <sub>3</sub> S <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	30.58	3.99	23.75	184–186	62	–5.86 (2.18, 50% TFA)
		30.33	3.68	23.58			
8b	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	34.17	4.57	23.84	209–211	68	–6.28 (2.17, 50% TFA)
		34.47	4.63	24.12			
8c	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	43.62	4.30	20.25	153–155	56	–12.21 (1.33, 50% TFA)
		43.89	4.42	20.47			
8d	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> N <sub>6</sub> NaO <sub>3</sub> S <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	36.34	4.82	21.14	167–169	27	–20.40 (1.93, 10% TFA)
		36.17	4.81	21.09			
8e	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> N <sub>6</sub> NaO <sub>5</sub> S <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	37.17	4.89	18.72	175–177	46	–13.70 (2.07, 50% TFA)
		36.84	4.64	18.41			
8f	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> N <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	35.22	4.70	19.05	158–160	51	–4.48 (1.34, H <sub>2</sub> O)
		35.77	4.62	19.25			
9	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> N <sub>8</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>9</sub> S <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	36.28	5.07	15.74	223–225	38	–28.80 (1.00, H <sub>2</sub> O)
		36.00	4.89	15.99			
10a	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> N <sub>8</sub> NaO <sub>7</sub> S <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	33.29	4.80	19.12	241–243	34	–35.65 (2.09, H <sub>2</sub> O)
		33.22	4.70	19.37			
10b	C <sub>17</sub> H <sub>23</sub> N <sub>8</sub> NaO <sub>7</sub> S <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	34.41	4.87	18.63	209–211	35	–25.66 (2.29, H <sub>2</sub> O)
		34.46	4.93	18.91			
10c	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>8</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	39.24	4.71	16.41	230–232	23	–43.82 (2.00, H <sub>2</sub> O)
		39.05	4.47	16.56			
10e	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> N <sub>8</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>9</sub> S <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	36.21	4.73	15.73	171–173	42	–27.81 (2.48, H <sub>2</sub> O)
		36.00	4.89	15.99			
10f	C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> N <sub>8</sub> NaO <sub>10</sub> S <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	35.47	4.91	16.63	233–235	45	–27.21 (1.09, 10% TFA)
		35.29	4.89	16.46			
11	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> N <sub>7</sub> NaO <sub>3</sub> S <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	26.76	4.28	27.01	189–191	53	–50.80 (1.93, H <sub>2</sub> O)
		26.74	3.93	27.28			
12	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> N <sub>9</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>7</sub> S <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	29.99	4.48	20.68	255–157	65	–1.71 (2.00, H <sub>2</sub> O)
		29.85	4.51	20.89			
13	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> N <sub>8</sub> O <sub>9</sub> S <sub>2</sub> ·HCl·2H <sub>2</sub> O	33.89	4.84	17.91	227–229	41	–
		34.04	4.92	17.64			

Таблица 2. Спектральные характеристики соединений 7–13

Соединение	Спектр ЯМР $^1\text{H}$ , $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц)*	Спектр ЯМР $^{13}\text{C}$ , $\delta$ , м. д.**
7	1.18 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ); 2.67 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.55 (1H, д. д., $J = 15.0, J = 8.1$ , CH); 3.90 (1H, д. д., $J = 15.0, J = 4.2$ ) и 4.21 (1H, д. д., $J = 8.1, J = 4.2$ , $\text{SCH}_2$ ); 6.28 (2H, с, $\text{CH}_2$ )	13.2; 25.9; 29.4; 38.6; 51.7; 74.7; 143.2; 146.6; 151.2; 168.9; 169.3; 179.0
8a	2.68 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.57 (1H, д. д., $J = 15.0, J = 8.0$ , CH); 3.88 (1H, д. д., $J = 15.0, J = 4.2$ ) и 4.18 (1H, д. д., $J = 8.0, J = 4.2$ , $\text{SCH}_2$ ); 4.07 (3H, с, $\text{CH}_3$ )	13.2; 29.3; 41.5; 51.5; 141.3; 146.9; 151.4; 168.7; 169.7
8b	1.48 (3H, т., $J = 7.1$ , $\text{CH}_3$ ); 2.68 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.53 (1H, д. д., $J = 15.0, J = 8.4$ , $\text{SCH}_2$ ) и 3.93 (1H, д. д., $J = 15.0, J = 4.1$ ); 4.17 (1H, д. д., $J = 8.4, J = 4.1$ , CH); 4.45 (2H, к., $J = 7.1$ , $\text{CH}_2$ )	12.2; 13.2; 29.3; 50.3; 51.6; 141.3; 147.2; 151.1; 168.6; 169.6
8c	2.64 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.23 (1H, д. д., $J = 14.3, J = 8.7$ , CH); 3.52 (1H, д. д., $J = 8.7, J = 3.3$ ) и 3.75 (1H, д. д., $J = 14.3, J = 3.3$ , $\text{SCH}_2$ ); 5.48 (2H, с, $\text{CH}_2$ ); 7.27–7.39 (3H, м, H Ph); 7.52 (2H, д., $J = 6.7$ , H Ph)	13.8; 29.5; 52.3; 56.0; 128.1; 128.2; 128.5; 129.0; 136.8; 149.2; 152.5; 165.1; 168.4
8d	1.77 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ); 2.70 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.47 (1H, д. д., $J = 14.7, J = 9.4$ , CH); 3.98 (1H, д. д., $J = 14.7, J = 4.0$ ) и 4.13 (1H, д. д., $J = 9.4, J = 4.0$ , $\text{SCH}_2$ )	12.9; 26.6; 28.8; 51.1; 68.6; 137.8; 146.9; 150.3; 167.9; 169.2
8e	1.75 (2H, м, $\text{CH}_2$ ); 2.04 (2H, м, $\text{CH}_2$ ); 2.08 (3H, с, $\text{COCH}_3$ ); 2.66 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.52 (1H, д. д., $J = 8.8, J = 15.0$ , CH); 3.93 (1H, д. д., $J = 4.2, J = 15.0$ , $\text{SCH}_2$ ); 4.10–4.19 (3H, м, $\text{OCH}_2$ , $\text{SCH}_2$ ); 4.45 (2H, т., $J = 6.5$ , $\text{NCH}_2$ )	13.3; 13.4; 20.7; 24.3; 24.8; 25.1; 51.7; 63.3; 124.2; 148.8; 151.7; 162.9; 164.5; 170.3
8f	2.00 (3H, с, $\text{CH}_3$ ); 2.63 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.54 (1H, уш. с, CH); 3.83–4.05 (3H, м, $\text{CH}_2$ , $\text{SCH}_2$ ); 4.09–4.29 (3H, м, $\text{CH}_2$ , $\text{SCH}_2$ ); 5.77 (2H, с, $\text{NCH}_2$ )	13.7; 20.5; 30.7; 53.7; 63.9; 68.6; 83.4; 143.6; 147.6; 152.1; 169.1; 171.9; 174.3
9	1.17 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ); 2.09–2.18 (2H, м, $\text{H}^{2,3}$ ); 2.52 (2H, д. д., $J = 15.4, J = 7.1$ , $\text{H}^{4,5}$ ); 2.68 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.27 (1H, д. д., $J = 14.4, J = 9.9$ , $\text{H}^1$ ); 3.72–3.92 (4H, м, $\text{H}^{7,8,9,10}$ ); 4.95 (1H, д. д., $J = 10.0, J = 4.5$ , $\text{H}^6$ ); 6.30 (2H, д. д., $J = 11.0, J = 1.0$ , $\text{CH}_2$ )	13.5; 26.2; 26.4; 31.7; 31.7; 38.8; 43.5; 51.0; 54.5; 74.6; 144.6; 147.4; 151.6; 168.7; 171.4; 173.9; 175.0; 176.0; 179.7
10a	2.10–2.21 (2H, м, $\text{H}^{2,3}$ ); 2.48–2.61 (2H, м, $\text{H}^{4,5}$ ); 2.67 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.36–3.43 (1H, м, $\text{H}^1$ ); 3.68–3.84 (4H, м, $\text{H}^{7,8,9,10}$ ); 4.06 (3H, с, $\text{CH}_3$ ); 4.88 (1H, д. д., $J = 8.8, J = 4.9$ , $\text{H}^6$ )	13.4; 26.3; 31.3; 31.5; 41.6; 43.5; 51.8; 54.2; 142.5; 147.4; 151.6; 168.6; 171.3; 174.0; 175.0; 176.1
10b	1.50 (3H, т., $J = 7.2$ , $\text{CH}_3$ ); 2.09–2.14 (2H, м, $\text{H}^{2,3}$ ); 2.50–2.55 (2H, м, $\text{H}^{4,5}$ ); 2.67 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.39 (1H, д. д., $J = 14.3, J = 9.0$ , $\text{H}^1$ ); 3.63–3.89 (4H, м, $\text{H}^{7,8,9,10}$ ); 4.43 (2H, к., $J = 7.2$ , $\text{CH}_2$ ); 4.90 (1H, д. д., $J = 8.9, J = 5.1$ , $\text{H}^6$ )	12.4; 13.2; 26.4; 31.1; 31.4; 43.3; 50.2; 51.5; 54.1; 142.5; 147.4; 151.1; 168.2; 171.3; 174.4; 175.1; 176.1
10c	1.98–2.19 (2H, м, $\text{H}^{2,3}$ ); 2.41–2.51 (2H, м, $\text{H}^{4,5}$ ); 2.69 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.19 (1H, д. д., $J = 14.4, J = 9.8$ , $\text{H}^6$ ); 3.58–3.87 (4H, м, $\text{H}^{7,8,9,10}$ ); 4.62 (1H, д. д., $J = 9.7, J = 4.6$ , $\text{H}^1$ ); 5.45 (1H, д., $J = 14.6$ ) и 5.64 (1H, д., $J = 14.6$ , $\text{CH}_2$ ); 7.32–7.48 (5H, м, H Ph)	13.7; 26.7; 31.5; 31.8; 43.6; 51.3; 54.4; 57.8; 128.8; 128.9; 129.1; 133.9; 143.1; 147.0; 151.4; 168.5; 171.2; 174.4; 175.0; 176.1
10e	1.68–1.81 (2H, м, $\text{CH}_2$ ); 1.97–2.15 (7H, м, $\text{COCH}_3$ , $\text{CH}_2$ , $\text{H}^{2,3}$ ); 2.41–2.58 (2H, м, $\text{H}^{4,5}$ ); 2.68 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.29–3.39 (1H, м, $\text{H}^1$ ); 3.51–3.92 (4H, м, $\text{H}^{7,8,9,10}$ ); 4.07–4.16 (2H, м, $\text{CH}_2$ ); 4.40–4.50 (2H, м, $\text{CH}_2$ ); 4.92 (1H, д. д., $J = 9.4, J = 4.9$ , $\text{H}^6$ )	13.3; 20.4; 23.9; 24.7; 27.3; 31.3; 31.6; 43.4; 51.4; 54.2; 54.4; 64.6; 142.7; 147.3; 151.4; 166.2; 168.5; 171.3; 174.5; 175.3; 176.0
10f	1.94 (3H, с, $\text{COCH}_3$ ); 2.09–2.20 (2H, д. д., $J = 14.2, J = 7.7$ , $\text{H}^{2,3}$ ); 2.47–2.60 (2H, м, $\text{H}^{4,5}$ ); 2.60 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.28 (1H, д. д., $J = 14.3, J = 9.4$ , $\text{H}^1$ ); 3.72–3.82 (4H, м, $\text{H}^{7,8,9,10}$ ); 3.92 (2H, д. д., $J = 5.3, J = 3.7$ ) и 4.16 (2H, д. д., $J = 5.3, J = 3.7$ , $\text{CH}_2$ ); 4.80 (1H, д. д., $J = 10.0, J = 5.0$ , $\text{H}^6$ ); 5.72 (2H, с, $\text{NCH}_2$ )	13.7; 20.5; 26.6; 31.7; 31.9; 43.5; 52.0; 54.6; 64.0; 68.6; 83.4; 144.2; 147.7; 152.1; 169.0; 171.5; 174.0; 174.2; 175.3; 175.7
11	2.66 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.50 (1H, д. д., $J = 15.1, J = 7.8$ , CH); 3.73 (1H, д. д., $J = 15.1, J = 3.7$ ) и 4.09 (1H, д. д., $J = 7.8, J = 3.7$ , $\text{SCH}_2$ )	13.9; 29.4; 51.3; 141.6; 147.5; 152.6; 166.9; 169.6
12	2.06–2.21 (2H, м, $\text{H}^{2,3}$ ); 2.44–2.61 (2H, м, $\text{H}^{4,5}$ ); 2.67 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.39 (1H, д. д., $J = 14.4, J = 8.6$ , $\text{H}^1$ ); 3.58–3.82 (4H, м, $\text{H}^{7,8,9,10}$ ); 4.67 (1H, д. д., $J = 8.6, J = 4.5$ , $\text{H}^6$ )	13.1; 26.1; 31.3; 33.0; 43.3; 53.3; 54.1; 138.3; 149.4; 158.6; 167.7; 171.6; 174.1; 174.8; 176.2
13	2.10–2.18 (2H, м, $\text{H}^{2,3}$ ); 2.46–2.60 (2H, м, $\text{H}^{4,5}$ ); 2.68 (3H, с, $\text{SCH}_3$ ); 3.36 (1H, д. д., $J = 14.4, J = 9.4$ , $\text{H}^1$ ); 3.67–3.92 (8H, м, $\text{H}^{7,8,9,10}$ , $2\text{CH}_2$ ); 4.89 (1H, д. д., $J = 9.2, J = 4.7$ , $\text{H}^6$ ); 5.79 (2H, с, $\text{NCH}_2$ )	13.3; 26.2; 31.2; 31.4; 43.1; 51.6; 54.1; 60.2; 71.4; 83.1; 143.8; 147.5; 151.8; 168.6; 171.5; 173.9; 175.0; 175.6

\* Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  соединений 7, 8a,b,d-f, 9, 10a-c,e,f, 11–13 зарегистрированы в растворе  $\text{D}_2\text{O}$ , соединение 8c – в растворе  $\text{DMCO-}d_6$ .\*\* Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  соединений 7, 8a,b,d записаны в растворе  $\text{D}_2\text{O}$  с  $\text{CF}_3\text{COOD}$ , соединений 8f, 9, 10a-c,e,f, 12, 13 – в растворе  $\text{D}_2\text{O}$ , соединений 8c,e, 11 – в растворе  $\text{DMCO-}d_6$ .

молекулы воды. В качестве исходных данных для моделирования использованы координаты атомов мономера белка. Для проведения докинга использована серверная версия программы Hex (<http://hexserver.loria.fr/>) со стандартными параметрами. Моделирование проведено с учетом электростатических взаимодействий, рассмотрено 500 наилучших положений лиганда. В соответствии с методом, используемым в программе Hex, начальные взаимные положения лиганда относительно рецептора выбраны на сетке, наложенной на рецептор. Размер ячеек сетки соответствует рекомендациям авторов программы для докинга малых молекул.

Для сравнения энергий взаимодействия лиганда в различных положениях использована функция программы Hex для вычисления значений энергии в силовом поле *orls*. Значение оценочной функции связывания энергии взаимодействия всех описанных взаимных положений рецептора и лиганда – около  $-300$  –  $-350$  единиц, используемых в программе Hex.

Для анализа контактов белков с молекулами лиганда использована программа RasMol. В качестве критерия для отбора аминокислотных фрагментов, находящихся в контакте с лигандом, использовано расстояние от молекулы лиганда до аминокислотных фрагментов

рецептора. Если расстояние от атомов аминокислотного фрагмента до атомов лиганда составляет менее 5 Å, считали, что данный аминокислотный фрагмент находится в контакте с лигандом. Значение 5 Å было выбрано опытным путем, исходя из предыдущих экспериментов по моделированию взаимодействия фермент–ингибитор.

**7-Метилсульфанил-1-пивалоилоксиметил-3-нитро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1H)-он (5).** Смесь 1.13 г (5 ммоль) 7-метилсульфанил-3-нитро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1H)-она (4), 2 мл (10 ммоль) ангидрида пиваловой кислоты, 0.30 г (10 ммоль) параформа и каталитические количества (0.07 г, 0.5 ммоль) ZnCl<sub>2</sub> выдерживают в течение 3 ч при температуре 140 °С. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры. Продукт экстрагируют 20 мл CHCl<sub>3</sub>, экстракт промывают 2 × 10 мл воды, сушат над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривают растворитель, к остатку добавляют 30 мл гексана и оставляют на ночь. Осадок отфильтровывают. Выход 1.40 г (82%), желтый порошок, т. пл. 79–81 °С. Найдено, %: С 38.69; Н 3.99; N 24.42. C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 38.59; Н 4.12; N 24.55.

**Нуклеофильное замещение в 1-алкил-7-метилсульфанил-3-нитро[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4-онах: синтез соединений 7, 8a–f, 9, 10a–c,e,f** (общая методика). К свежеприготовленному раствору 1 ммоль цистеина (2) или глутатиона (3) в 1 экв. (для цистеина) или 3 экв. (для глутатиона) 1 М NaHCO<sub>3</sub> при перемешивании при комнатной температуре добавляют раствор 1 ммоль исходного триазолотриазина 5 или 6 в 40 мл абсолютного EtOH. Продукт отфильтровывают и перекристаллизовывают из 50% EtOH (для соединений 7, 8a–f) или 65% EtOH (для соединений 10a–c,e,f). 3-(Глутатион-S-ил)-7-метилсульфанил-1-пивалоилоксиметил[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1H)-он (9) выделяют при помощи колоночной хроматографии, элюент BuOH–AcOH–H<sub>2</sub>O, 4:1:1.

**Снятие пивалоилоксиметильной защиты (соединения 11, 12)** (общая методика). Раствор 0.4 ммоль исходного соединения 7 или 9 в 5 мл смеси NH<sub>3</sub> и MeOH, 1:3, перемешивают при комнатной температуре на 3 ч. Реакционную смесь упаривают, продукт перекристаллизовывают из 65% EtOH.

**1-(2-Гидроксиэтилоксиметил)-3-(глутатион-S-ил)-7-метилсульфанил[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1H)-он (13).** Раствор 0.3 г (0.4 ммоль) 1-(2-ацетоксиэтилоксиметил)-3-(глутатион-S-ил)-7-метилсульфанил[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1H)-она (10f) в 10 мл 1 н. HCl перемешивают при комнатной температуре в течение 72 ч. Реакционную смесь упаривают, продукт выделяют при помощи колоночной хроматографии, элюент BuOH–AcOH–H<sub>2</sub>O, 4:1:1.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-13-01301).

### Список литературы

1. Киселев, О. И.; Ершов, Ф. И.; Быков, А. Т.; Покровский, В. И. *Пандемия гриппа 2009/2010: противовирусная терапия и тактика лечения*; НИИ гриппа СЗО РАМН: Санкт-Петербург, 2010.
2. De Clercq, E. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2006**, *5*, 1015.
3. Чупахин, О. Н.; Русинов, В. Л.; Уломский, Е. Н.; Чарушин, В. Н.; Петров, А. Ю.; Киселев, О. И. Патент RU 2294936; *Chem. Abstrs* **2007**, *146*, 316946.
4. Rusinov, V. L.; Ulomskii, E. N.; Chupakhin, O. N.; Charushin, V. N. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **2008**, *57*, 985. [*Изв. АН, Сер. хим.* **2008**, *57*, 967.]
5. Karpenko, I.; Deev, S.; Kiselev, O.; Charushin, V.; Rusinov, V.; Ulomsky, E.; Deeva, E.; Yanvarev, D.; Ivanov, A.; Smirnova, O.; Kochetkov, S.; Chupakhin, O.; Kukhanova, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 2017.
6. Loginova, S. Ya.; Borisevich, S. V.; Maksimov, V. A.; Bondarev, V. P.; Kotovskaya, S. K.; Rusinov, V. L.; Charushin, V. N.; Chupakhin, O. N. *Antibiot. Khimioterap.* **2010**, *55*, 25.
7. Loginova, S. Ya.; Borisevich, S. V.; Maksimov, V. A.; Bondarev, V. P.; Kotovskaya, S. K.; Rusinov, V. L.; Charushin, V. N.; Chupakhin, O. N. *Antibiot. Khimioterap.* **2011**, *56*, 10.
8. Kiselev, O. I.; Deyeva, E. G.; Melnicova, T. I.; Kozeletskaya, K. N.; Kiselev, A. S.; Rusinov, V. L.; Charushin, V. N.; Chupakhin, O. N. *Vopr. Virusolog.* **2010**, *57*, 9.
9. Loginova, S. Ya.; Borisevich, S. V.; Rusinov, V. L.; Ulomskii, E. N.; Charushin, V. N.; Chupakhin, O. N. *Antibiot. Khimioterap.* **2012**, *57*, 8.
10. Rusinov, V. L.; Ulomskii, E. N.; Chupakhin, O. N.; Petrov, A. Yu.; Sharonov, E. A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1989**, *25*, 209. [*Химия гетероцикл. соединений* **1989**, 253.]
11. Чупахин, О. Н.; Русинов, В. Л.; Уломский, Е. Н.; Медведева, Н. Р.; Сапожникова, И. М. *Бутлеровские сообщения* **2012**, *31(9)*, 43.
12. Филиппович, Ю. Б. *Основы биохимии*; Агар: Москва, 1999.
13. *The Practice of Medicinal Chemistry, 3d ed.*; Wermuth, C. G., Ed.; Elsevier, 2008, p. 655.
14. Rusinov, V. L.; Chupakhin, O. N.; Deev, S. L.; Shestakova, T. S.; Ulomskii, E. N.; Rusinova, L. I.; Kiselev, O. I.; Deeva, E. G. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* **2010**, *59*, 136. [*Изв. АН, Сер. хим.* **2010**, 135.]
15. Ulomskii, E. N.; Rusinov, V. L.; Chupakhin, O. N.; Rusinov, G. L.; Chernyshev, A. I.; Aleksandrov, G. G. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1987**, *23*, 1236. [*Химия гетероцикл. соединений* **1987**, 1543.]
16. Green, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*; Wiley-Interscience: New York, 1999.
17. Rasmussen, M.; Leonard, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5439.