

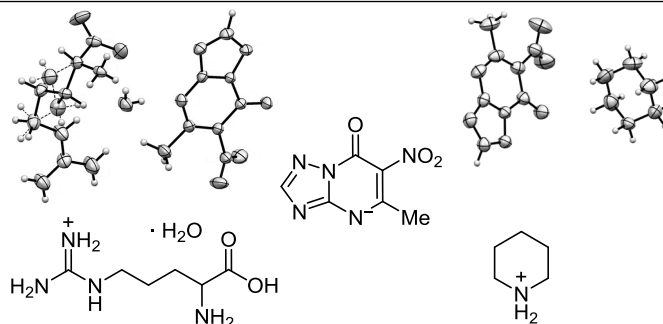
Синтез и рентгеноструктурные исследования L-аргининовой и пиперидиновой солей 5-метил-6-нитро-7-оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло- [1,5-*a*]пиримидина

Павел А. Слепухин^{1,2}, Егор К. Воинков¹, Евгений Н. Уломский^{1,2}, Константин В. Саватеев^{1,2},
Дмитрий С. Копчук^{1,2}, Григорий В. Зырянов^{1,2*}, Виктор В. Федотов¹,
Валерий Н. Чарушин^{1,2}, Олег Н. Чупахин^{1,2}, Владимир Л. Русинов^{1,2}

¹ Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина,
ул. Мира, 19, Екатеринбург 620002, Россия; e-mail: gvzyryanov@gmail.com

² Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН,
ул. С. Ковалевской, 22 / Академическая, 20, Екатеринбург 620990, Россия
e-mail: chupakhin@ios.uran.ru

Поступило 15.04.2019
Принято после доработки 18.07.2019



Синтезированы ранее описанный моногидрат 5-метил-6-нитро-7-оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинид L-аргининия, а также неописанный ранее 5-метил-6-нитро-7-оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинид пиперидиния в качестве перспективных противовирусных препаратов. Выполнено детальное сравнение кристаллических структур этих двух соединений. Показано, что замещение L-аргининиевого катиона на пиперидиниевый приводит к серьезной перестройке системы межмолекулярных водородных связей в кристалле, что, по нашему мнению, может оказать значительное влияние на взаимодействие нового препарата с биологическими мишенями. Таким образом, сравнением данных РСА продемонстрирована вероятность влияния природы противоиона на биологическое действие препарата.

Ключевые слова: L-аргининиевая соль, пиперидиниевая соль, 1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидины, противовирусное действие, сравнение структур методом РСА.

Создание новых противовирусных препаратов является важнейшей задачей современной медицинской химии. Особое значение отводится разработке подходов к синтезу соединений, активных в отношении цитомегаловирусов, вируса СПИДа, гепатита и др. Азолозины как изостеры пуриновых оснований¹ составляют большую группу противовирусных препаратов широкого спектра действия, среди которых наиболее известными является ацикловир,² эффективный против вируса герпеса, а также тенофовир,³ действенный в отношении вируса гепатита В и ВИЧ. Другую группу азолозинов представляют средства, направленные на

борьбу с сезонными инфекциями, например вирусом гриппа,^{4,5} заболеваемость которыми с каждым годом растет, причем, согласно данным Всемирной организации здравоохранения, повышается летальность, вызванная как самим гриппом, так и его осложнениями.^{6,7} Соответственно, растет и потребность в разработке эффективных противовирусных препаратов для борьбы с распространением сезонных заболеваний. В этом плане широкую известность получил этиотропный противовирусный препарат Триазавирин (7-метилсульфанил-3-нитро-4-оксо-1,4-дигидро[1,2,4]-триазоло[5,1-*c*] [1,2,4]триазин-1-ид натрия),⁸ разрабо-

таный в результате совместных усилий сотрудников Института органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН, Уральского федерального университета им. первого Президента России Б. Н. Ельцина, Института гриппа Министерства здравоохранения РФ и ОАО "Завод Медсинтез" при поддержке Министерства образования и науки РФ. В продолжение исследований в данной области этими же коллективами в тесном сотрудничестве с ПАО "Отисифарм" был разработан новый противовирусный препарат-кандидат на основе моногидрата 5-метил-6-нитро-7-оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидинидина L-аргининия (**1**)⁹ с многообещающими перспективами применения, что подтверждено недавно полученными результатами первой стадии его клинических испытаний.¹⁰

Для выяснения механизма действия того или иного противовирусного препарата, в частности достоверного прогнозирования его взаимодействия с биологическими мишенями путем использования методов моделирования *in silico* (молекулярного докинга), критическим является получение точных геометрических параметров и параметров кристаллической структуры исследуемого препарата. Для этого эффективно применяется метод рентгеноструктурного анализа. В рамках данной статьи с целью оценки влияния природы противоиона (катиона) NH-кислоты, 5-метил-6-нитро-7-оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидина, на параметры кристаллической решетки нами выполнено детальное сравнение кристаллических структур описанной ранее⁹ аргининовой соли **1** и новой пиперидиниевой соли **2**.

Синтез L-аргининиевой соли **1** (рис. 1) был выполнен согласно методике, описанной ранее в патенте.⁹

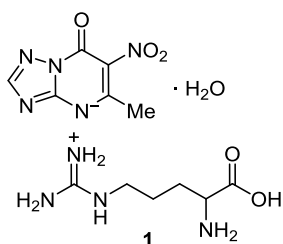
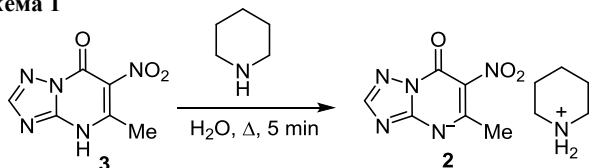


Рисунок 1. Структура соединения **1**.

Пиперидиниевая соль **2** была получена по литературному методу¹¹ путем взаимодействия NH-кислоты **3** с пиперидином (схема 1).

Схема 1



По данным РСА, соединение **1** является солью, кристаллизующейся в хиральной пространственной группе симметрии в виде моногидрата. Ввиду малости

эффекта аномального рассеяния, определение абсолютной конфигурации проведено с привлечением данных об абсолютной конфигурации исходной аминокислоты. Гетероциклическая часть азолазинидного аниона плоская в пределах 0.03 Å. Длины связей демонстрируют сильное сопряжение π -системы, при этом карбонильная группа вовлечена в сопряжение относительно слабо. Так, длина связи C(9)–C(8) при группе C=O составляет 1.431 Å, а длина связи C(9)–N(1) 1.400 Å, что типично для одинарных связей при атоме C(sp^2), а не для связей в ароматических системах. Нитрогруппа развёрнута под углом 40° к плоскости гетероцикла, и ее конформация закреплена мостиковой водородной связью с участием аминогруппы аргинина.

Катион аминокислоты находится в цвиттер-ионной форме, аминогруппа и гуанидиновый фрагмент протонированы. Длины связей C–N плоского гуанидинового фрагмента выравнены и лежат в пределах 1.30–1.33 Å. Группы CH₂ конформационно подвижной углеродной цепи аминокислоты разупорядочены по двум позициям с коэффициентами заселенности 0.9/0.1 (рис. 2, геометрия минорного компонента разупорядочения показана штриховой линией).

Структура характеризуется очень развитой системой межмолекулярных водородных связей (ММВС) (табл. 1). Вследствие трудности локализации позиций протонов большинство атомов водорода добавлены в рассчитанные положения с фиксированными длинами связей и зависимыми тепловыми параметрами. Сложность локализации, вероятно, связана не только с качеством кристалла и экспериментальными погрешностями, но и с существующим в кристалле обменом протонами между полярными группами. Это может приводить к делокализации положений протонов. Использование модели "наездник" приводит к возникновению ряда экстремально коротких внутримолекулярных протон-протонных взаимодействий, в частности между протонами метиленовой группы атома C(2) минорного компонента и протоном группы N(9) гуанидинового фрагмента катиона. Очевидно, с учетом возможной прототропии эти взаимодействия могут оказаться ложными и отражают ограниченность (в целом

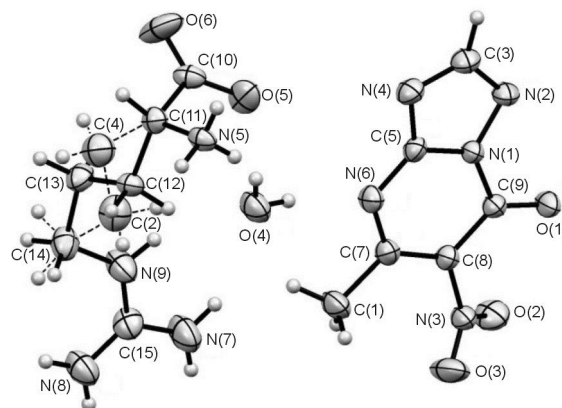


Рисунок 2. Молекулярная структура соединения **1** в представлении атомов эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью

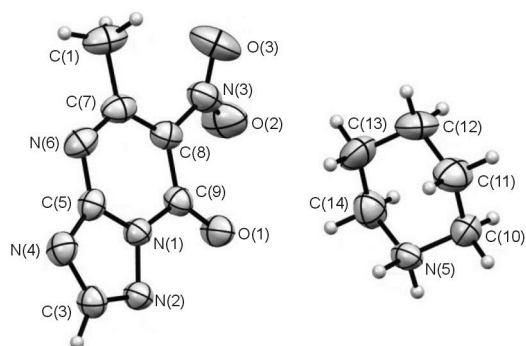
Таблица 1. Водородные связи в кристалле соединения **1** с параметрами $H \cdots A < r(A) + 2.000 \text{ \AA}$ и $\langle DHA \rangle > 110^\circ$

| D–H | $d(D-H), d(H \cdots A), \langle DHA \rangle, d(D \cdots A),$ \AA | \AA | град. | \AA | A |
|------------|--|--------------|--------|--------------|------------------------------|
| N(9)–H(9) | 0.860 | 2.179 | 158.89 | 2.997 | O(4) |
| O(4)–H(4C) | 0.850 | 2.122 | 167.41 | 2.958 | O(5) |
| O(4)–H(4D) | 0.850 | 2.051 | 171.90 | 2.895 | N(6) $[x + 1, y, z]$ |
| N(7)–H(7A) | 0.860 | 1.908 | 164.18 | 2.745 | O(6) $[-x, y - 1/2, -z - 1]$ |
| N(7)–H(7B) | 0.860 | 2.353 | 148.53 | 3.119 | O(4) |
| N(8)–H(8A) | 0.860 | 2.556 | 136.17 | 3.232 | O(6) $[-x, y - 1/2, -z - 1]$ |
| N(8)–H(8A) | 0.860 | 2.602 | 110.71 | 3.015 | O(1) $[x - 1, y, z - 1]$ |
| N(8)–H(8B) | 0.860 | 2.207 | 162.80 | 3.039 | N(2) $[x - 1, y, z - 1]$ |
| N(5)–H(5A) | 0.819 | 2.123 | 146.19 | 2.841 | O(1) $[-x, y + 1/2, -z]$ |
| N(5)–H(5A) | 0.819 | 2.353 | 129.85 | 2.946 | O(2) $[-x, y + 1/2, -z]$ |
| N(5)–H(5B) | 0.873 | 1.891 | 175.06 | 2.761 | O(5) $[x - 1, y, z]$ |
| N(5)–H(5C) | 0.819 | 2.195 | 169.24 | 3.004 | N(4) |

правильной) используемой структурной модели. Можно сделать вывод об исключительной важности молекулы кристаллизационной воды для оптимизации геометрии межмолекулярного взаимодействия между ионами солевой структуры.

Соединение **2** является солью, две кристаллографически независимые структурные единицы которой кристаллизуются в centrosymmetric пространственной группе симметрии. Анионы имеют близкую конфигурацию (рис. 3). Гетероциклическая часть азолоазинидного аниона плоская в пределах 0.02 \AA . Длины связей и валентные углы находятся в хорошем соответствии с данными, полученными для структуры **1**, в частности расхождение в длинах соответствующих связей не превышает 0.01 \AA . Нитрогруппа развернута под углами 30° и 35° к плоскости гетероцикла аниона, наблюдаемые различия легко объяснимы эффектами кристаллической упаковки, в частности вовлечением нитрогруппы соединения **1** в систему ММВС. Отметим, что такая конфигурация приводит к возникновению тесного внутримолекулярного контакта между атомами кислорода карбонильной и нитрогрупп. Катионы пиперидиния находятся в конформации "кресло" и не демонстрируют какой-либо разупорядоченности.

Структура **2** также характеризуется развитой системой межмолекулярных водородных связей (табл. 2), несколько менее развитых, чем в соединении **1**. В частности, нитрогруппа в образовании системы ММВС в соединении **2** практически не вовлечена, в то время как в соединении **1** активно в них участвует. Между катионами и анионами наблюдаются водородные связи двух типов. Первый тип – линейные водородные связи $N(5)H \cdots N(4)$ между катионом и атомом азота азольного фрагмента аниона. Второй тип – вилочковая водородная связь между катионом и анионом, в которой участвует атом кислорода карбонильной группы и атом азота азольной части. В результате формируются ионные волнистые ленты, ориентированные вдоль оси $0c$. Взаимодействие между лентами – преимущественно

**Рисунок 3.** Молекулярная структура соединения **2** в представлении атомов эллипсоидами тепловых колебаний с 50% вероятностью. Показана одна кристаллографически независимая катион-анионная пара.**Таблица 2.** Водородные связи в кристалле соединения **2** с параметрами $H \cdots A < r(A) + 2.000 \text{ \AA}$ и $\langle DHA \rangle > 110^\circ$

| D–H | $d(D-H), d(H \cdots A), \langle DHA \rangle, d(D \cdots A),$ \AA | \AA | град. | \AA | A |
|--------------|--|--------------|--------|--------------|--------------------------|
| N(5)–H(5A) | 0.94(2) | 2.07(2) | 141(2) | 2.856(3) | O(1) $[-x, -y, -z + 1]$ |
| N(5)–H(5A) | 0.94(2) | 2.32(2) | 141(2) | 3.098(3) | N(2) $[-x, -y, -z + 1]$ |
| N(5)–H(5B) | 0.99(2) | 1.85(2) | 170(2) | 2.835(3) | N(4A) |
| N(5)A–H(5AB) | 0.87(2) | 2.16(2) | 143(2) | 2.908(3) | O(1)A $[-x, -y, -z + 2]$ |
| N(5)A–H(5AB) | 0.87(2) | 2.34(2) | 141(2) | 3.065(3) | N(2)A $[-x, -y, -z + 2]$ |
| N(5)A–H(5AA) | 0.90(2) | 1.98(2) | 161(2) | 0.850(3) | N(4) |

неспецифическое вандерваальсовое, при этом можно отметить наличие π – π -взаимодействий между анионами с межатомным расстоянием $C \cdots C$ 3.33 – 3.32 \AA (на 0.06 – 0.07 \AA меньше суммы радиусов Ван-дер-Ваальса).

Таким образом, нами проанализированы результаты РСА двух солей на основе 5-метил-6-нитро-7-оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидина (L-аргининиевой и пиперидиниевой). При этом найдено, что замена аргининиевого катиона на пиперидиниевый приводит к серьезной перестройке системы межмолекулярных водородных связей в кристалле, а именно в данной структуре такие связи менее развиты, что, по нашему мнению, может отразиться на механизме действия нового препарата. Таким образом, полученные экспериментальные данные РСА в дальнейшем могут быть использованы для моделирования взаимодействия препарата с биологическими мишенями, установления механизма действия, а также изучения влияния противоиона на биологическую активность.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР 1H и ^{13}C записаны на спектрометре Bruker Avance II (400 и 100 МГц соответственно) в $DMCO-d_6$, внутренний стандарт TMS. Элементный анализ выполнен на приборе PerkinElmer 2400 CHN. Контроль за ходом реакций и чистотой полученных соединений осуществлен методом ТСХ на пластинах Sigma Aldrich 91835.

Моногидрат 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидина L-аргининия (**1**)⁹ получают по литературной методике.

Синтез 5-метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]-пиримидинида пиперидиния (2).¹¹ К горячей суспензии 0.01 моль (1.95 г) 5-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7(4*H*)-она в 5.5 мл H₂O добавляют 0.01 моль (0.98 мл) пиперидина. Реакционную смесь кипятят в течение 5 мин, охлаждают до комнатной температуры, выпавший осадок отфильтровывают. Осадок перекристаллизовывают из EtOH или H₂O. Выход 1.96 г (70%), желтые кристаллы, т. пл. 192–195 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 1.49–1.58 (2H, м, CH₂ пиперидин); 1.59–1.69 (4H, м, CH₂ пиперидин); 2.44 (3H, с, CH₃); 3.01–3.09 (4H, м, CH₂ пиперидин); 8.09 (1H, с, Н-2). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д. (*J*, Гц): 22.1; 22.7; 23.9; 44.3; 126.4; 152.0; 153.9; 156.5; 158.6. Найдено, %: С 46.86; Н 6.00; N 30.27. C₁₁H₁₆N₆O₃. Вычислено, %: С 47.14; Н 5.75; N 29.98.

Рентгеноструктурный анализ монокристаллов соединений 1, 2 (кристалл соли **1** выращен из водного раствора в атмосфере *i*-PrOH, соли **2** – упариванием водного раствора при комнатной температуре) проведен на автоматическом дифрактометре Xcalibur 3 по стандартной процедуре (MoK α -излучение, графитовый монохроматор, ω -сканирование с шагом 1° при 295(2) К). Введена эмпирическая поправка на поглощение. Расшифровка и уточнение структур проведено с использованием программного пакета Olex2,¹² структуры расшифрованы по программе Superflip¹³ (соединение **1**, методом скачущих зарядов) и ShelXS¹⁴ (соединение **2**, прямым методом) и уточнены по программе ShelXL¹⁴ полноматричным МНК по F^2 . Положения неводородных атомов уточнены в анизотропном приближении, положения атомов водорода групп NH и OH уточнены независимо, протоны групп CH включены в уточнение по модели "наездник" в изотропном приближении. Основные кристаллографические параметры и результаты уточнения структуры соединения **1** (C₁₂H₂₁N₉O₆, *M* 387.38): система моноклинная, пространственная группа *P*2₁; *a* 5.3831(4), *b* 18.4228(11), *c* 8.7708(7) Å; β 96.447(7)°; *V* 864.32(10) Å³; *Z* 2; μ (MoK α) 0.121 мм⁻¹. Всего собрано 4428 отражений, из них 3046 независимых (R_{int} 0.0252). Окончательные параметры сходимости wR_2 0.1323 (все отражения), R_1 0.0500 ($I > 2\sigma(I)$). Основные кристаллографические параметры и результаты уточнения структуры соединения **2** (C₁₁H₁₆N₆O₃, *M* 280.30): система триклинная, пространственная группа *P*1; *a* 9.0670(4), *b* 12.3598(7), *c* 13.2585(9) Å; α 107.251(6), β 90.631(5), γ 105.390(5)°; *V* 1361.61(14) Å³; *Z* 4; μ (MoK α) 0.103 мм⁻¹. Всего собрано 12860 отражений, из них 7416 независимых (R_{int} 0.0157). Окончательные параметры сходимости wR_2 0.1804 (все отражения), R_1 0.0512 ($I > 2\sigma(I)$). Результаты рентгеноструктурных исследований соединений **1, 2** депонированы в Кембриджском банке структурных данных (депоненты CCDC 1921319 и CCDC 1921320 соответственно).

Файл сопроводительной информации, содержащий подробные кристаллографические параметры соединений **1, 2**, доступен на сайте журнала <http://hgs.osi.lv>.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (грант 4.6351.2017/8.9).

Список литературы

- De Clercq, E.; Field, H. J. *Br. J. Pharmacol.* **2006**, *147*, 1.
- Kresge, N.; Simoni, R. D.; Hill, R. L. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, e11.
- Ustianowski, A.; Arends, J. E. *Infect. Dis. Ther.* **2015**, *4*, 145.
- Киселев, О. И. *Химиопрепараты и химиотерапия гриппа*; Ростов: Санкт-Петербург, 2011.
- Деева, Э. Г. *Групп. На пороге пандемии*; ГЭОТАР-Медиа: Москва, 2008.
- Iuliano, D.; Roguski, K. M.; Chang, H. H.; Muscatello, D. J.; Palekar, R.; Tempia, S.; Cohen, C.; Gran, J. M.; Schanzer, D.; Cowling, B. J.; Wu, P.; Kyncl, J.; Ang, L. W.; Park, M.; Redlberger-Fritz, M.; Yu, H.; Espanhain, L.; Krishnan, A.; Emukule, G.; van Asten, L.; Pereira de Silva, S.; Aungkulanon, S.; Buchholz, U.; Widdowson, M.-A.; Breese, J. S. *Lancet* **2017**, *391*, 1285.
- Rath, B.; Penttinen, P. *Incidence, Severity and Impact of Influenza: a joint meeting organised by the ISIRV Epidemiology Group and ECDC, Stockholm, 2019*; *Euro Surveill.* **2019**, *24*(23), 1900348.
- Артемьев, Г. А.; Бондарев, В. П.; Борисевич, С. В.; Васин, А. В.; Воинков, Е. К.; Главатских, С. А.; Деева, Э. Г.; Егоров, В. В.; Забелина, О. Н.; Загородникова, К. А.; Иванова, А. В.; Иванцова, М. Н.; Киселев, О. И.; Кожихова, К. В.; Козицина, А. Н.; Коновалова, Н. И.; Копчук, Д. С.; Котовская, С. К.; Логинова, С. Я.; Максимов, В. А.; Малахова, Н. А.; Матерн, А. И.; Медведева, Н. Р.; Мельникова, Т. И.; Миргородская, О. А.; Миронов, М. А.; Некрасов, П. А.; Русинов, В. Л.; Сапожникова, И. М.; Сараева, С. Ю.; Свалова, Т. С.; Слепухин, П. А.; Сорокин, П. В.; Токарева, М. И.; Тумашов, А. А.; Уломский, Е. Н.; Цмокалюк, А. Н.; Чарушин, В. Н.; Чупахин, О. Н.; Шаджская, А. А.; Шарков, Г. В.; Шаблакова, А. С.; Петров, А. Ю. *Триазавирин – противовирусный препарат нового поколения*; Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского: Екатеринбург, 2016.
- Чупахин, О. Н.; Чарушин, В. Н.; Русинов, В. Л.; Уломский, Е. Н.; Котовская, С. К.; Киселев, О. И.; Деева, Э. Г.; Саватеев, К. В.; Борисов, С. С. RU Patent 20130116765.
- Деева, Э. Г.; Шевчик, Ю. И.; Шалджан, А. А.; Загородникова, К. А.; Тумашов, А. А.; Баклыков, А. В.; Котовская, С. К.; Чупахин, О. Н.; Чарушин, В. Н.; Русинов, В. Л.; Копчук, Д. С. *Разработка и регистрация лекарственных средств* **2018**, *3*, 172.
- Savateev, K. V.; Ulomsky, E. N.; Fedotov, V. V.; Rusinov, V. L.; Sivak, K. V.; Lyubishin, M. M.; Kuzmich, N. N.; Aleksandrov, A. G. *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2017**, *43*, 421. [*Биоорган. химия* **2017**, *43*, 402.]
- Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. A. K.; Puschmann, H. *J. Appl. Crystallogr.* **2009**, *42*, 339.
- Palatinus, L.; Chapuis, G. *J. Appl. Crystallogr.* **2007**, *40*, 786.
- Sheldrick, G. M. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.* **2008**, *A64*, 112.