

**ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

**CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF MEDICINAL COMPOUNDS
AND BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES**

ISSN 2410-6593 (Print), ISSN 2686-7575 (Online)

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-4-311-322>



УДК 547.792.6

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

Синтез 5-оксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов

Л.Е. Гребенкина, А.Н. Прутков, А.В. Матвеев, М.В. Чудинов

МИРЭА – Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова), Москва, 119571 Россия

✉ Автор для переписки, e-mail: LEGrebenkina@mail.ru

Аннотация

Цели. Ключевая стадия синтеза аналогов природных нуклеозидов – образование гликозидной связи между углеводным фрагментом и гетероциклическим основанием. Методы гликозилирования различаются по регио- и стереоселективности. Ферментативная реакция, катализируемая генно-инженерными нуклеозидфосфорилазами – перспективный метод высокоспецифичного синтеза новых фармакологически активных соединений. Данное исследование посвящено синтезу библиотеки аналогов гетероциклических оснований нуклеозидов – 5-оксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов для изучения субстратной специфичности генно-инженерных нуклеозидфосфорилаз.

Методы. Для параллельного синтеза новых 5-аллокси/арилоксиметил 1,2,4-триазол-3-карбоксамидов применен метод циклизации ациламидразонов, получаемых из единого синтетического предшественника – β -N-третбутилоксикарбонил-оксаламидразона. Для выделения и очистки синтезированных соединений использована колоночная хроматография на силикагеле. Структура полученных в работе соединений подтверждена комплексом методов физико-химического анализа: спектроскопией ядерного магнитного резонанса и хромато-масс-спектрометрией.

Результаты. Получены 5-аллокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамиды для изучения субстратной специфичности генно-инженерных нуклеозидфосфорилаз.

По результатам предварительной оценки показана возможность получения из них новых аналогов нуклеозидов химико-ферментативным методом.

Выводы. Для серии новых 5-алкокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов изучены физико-химические характеристики, а также их способность выступать в роли субстратов реакции трансгликозилирования, катализируемой нуклеозидфосфорилазами.

Ключевые слова: аналоги нуклеозидов, 5-оксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамиды, параллельный синтез, нуклеозидфосфорилазы, субстратная специфичность.

Для цитирования: Гребенкина Л.Е., Прутков А.Н., Матвеев А.В., Чудинов М.В. Синтез 5-оксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов. Тонкие химические технологии. 2022;17(4):311–322 <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-4-311-322>

RESEARCH ARTICLE

Synthesis of 5-oxymethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamides

**Lyubov E. Grebenkina[✉], Alexander N. Prutkov, Andrey V. Matveev,
Mikhail V. Chudinov**

MIREA – Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies),
Moscow, 119571 Russia

[✉]Corresponding author, e-mail: LEGrebenkina@mail.ru

Abstract

Objectives. A key step in the synthesis of natural nucleoside analogs is the formation of a glycosidic bond between the carbohydrate fragment and the heterocyclic base. Glycosylation methods differ in terms of regio- and stereoselectivity. A promising method for the highly specific synthesis of new pharmacologically active compounds involves an enzymatic reaction catalyzed by genetically engineered nucleoside phosphorylases. This study is devoted to the synthesis of a library of analogs of nucleoside heterocyclic bases—5-oxymethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamides—in order to investigate the substrate specificity of genetically engineered nucleoside phosphorylases.

Methods. A method of cyclization of acylamidrazones obtained from the single synthetic precursor β -N-tert-butyloxycarbonyl-oxalamidrazone was used to parallel-synthesize new 5-alkoxy/aryloxymethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamides. Silica gel column chromatography was used to isolate and purify the synthesized compounds. A complex of physicochemical analysis methods (nuclear magnetic resonance spectroscopy, chromatography, and mass spectrometry) confirmed the structure of the compounds obtained in the work.

Results. 5-alkoxy/aryloxymethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamides were obtained to study the substrate specificity of genetically engineered nucleoside phosphorylases. The possibility of obtaining new nucleoside analogs by the chemico-enzymatic method was demonstrated on the basis of preliminary assessment results.

Conclusions. The physicochemical characteristics of a series of novel 5-alkoxy/aryloxymethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamides were studied along with their potential to act as substrates for the transglycosylation reaction catalyzed by nucleoside phosphorylases.

Keywords: nucleoside analogs, 5-oximethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamides, parallel synthesis, nucleoside phosphorylase, substrate specificity

For citation: Grebenkina L.E., Prutkov A.N., Matveev A.V., Chudinov M.V. Synthesis of 5-oxymethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamides. *Tonk. Khim. Tekhnol.* = *Fine Chem. Technol.* 2022;17(4):311–322 (Russ., Eng.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-4-311-322>

ВВЕДЕНИЕ

На изучении биологических свойств аналогов природных нуклеозидов сфокусирована работа многих исследовательских групп в области медицинской химии, молекулярной биологии и биотехнологии [1–4]. В основном эти соединения применяются как противовирусные [5–10], противоопухолевые препараты [2, 11–13] и антибиотики [3, 14–15]. В дизайне биологически активных нуклеозидных препаратов нашли свое применение различные подходы и их комбинации, включающие модификацию как углеводного фрагмента молекулы, так и агликона [2, 16–19]. При этом большинство аналогов нуклеозидов, проявляющих биологическую активность, сохраняют β -N-гликозидную связь природных нуклеозидов.

К настоящему времени потребность в препаратах на основе модифицированных аналогов нуклеозидов удовлетворяется в основном за счет эффективных протоколов химического синтеза. Однако нельзя не признать перспективность другого подхода к реализации ключевой стадии получения нуклеозидов – созданию β -N-гликозидной связи – химико-ферментативного способа гликозилирования гетероциклических оснований при помощи рекомбинантных ферментов [20]. Разнообразие аналогов нуклеозидов, получаемых с помощью классического химического синтеза, ограничено главным образом стерео- и региоселективностью стратегий гликозилирования, а также устойчивостью промежуточных продуктов в ходе химических превращений. Химико-ферментативный метод напротив, строго стерео- и региоспецичен, но разнообразие целевых соединений, получаемых по этому пути, ограничивается субстратной специфичностью применяемого фермента.

Генно-инженерные бактериальные нуклеозидфосфорилазы (НФ) группы пентозилтрансфераз

(КФ 2.4.2) часто применяются для химико-ферментативного получения аналогов нуклеозидов [21–23]. Эти ферменты катализируют несколько реакций: синтез нуклеотидов и их фосфоролиз, а также перенос углеводного фрагмента нуклеозидов на гетероциклические основания (реакция трансгликозилирования). Они обладают довольно низкой субстратной специфичностью, что дает возможность применять их в синтезе ряда лекарственных препаратов [24–28]. Низкая избирательность бактериальных нуклеозидфосфорилаз позволяет использовать химико-ферментативное трансгликозилирование в качестве удобного инструмента получения новых аналогов нуклеозидов с модифицированными гетероциклическими основаниями и разными углеводными фрагментами [28–31]. Для исследования потенциала нуклеозидфосфорилаз, как исследовательского и технологического инструмента, важной задачей является синтез гетероциклических оснований нуклеозидных аналогов – потенциальных субстратов этих ферментов. В частности, для биотехнологического получения аналогов противовирусного препарата рибавирина (1β -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамида, виразола) такими субстратами могут быть производные 1,2,4-триазол-3-карбоксамида. В настоящем исследовании нами был разработан синтетический подход и получена серия 5-алкокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов, субстратов для химико-ферментативного синтеза новых аналогов рибавирина.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изостерный пуриновым основаниям 1,2,4-триазол-3-карбоксамид является превосходным субстратом генно-инженерных пуриннуклеозидфосфорилаз (ПНФ) и уридинфосфорилаз (УрФ),

однако введение заместителей в 5 положение 1,2,4-триазольного кольца значительно влияет на способность таких производных вступать в реакцию ферментативного трансгликозилирования. Исследования субстратных свойств, синтезированных в нашей лаборатории гетероциклических оснований, проводимые в Лаборатории биотехнологии Института биоорганической химии Российской академии наук, первоначально привели нас к убеждению, что стерические затруднения в активном центре НФ ограничивают субстратные свойства с увеличением размера заместителя. Субстратами НФ не являются 1,2,4-триазол-3-карбоксамиды, содержащие в положении 5 галоген, нитрогруппу, гидроксил или простые алкильные заместители [32]. Единственным исключением был 5-метил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид. Однако результаты, полученные в последнее время, опровергли эту точку зрения. Некоторые из синтезированных нами соединений, содержащих оксиметильный фрагмент в 5 положении 1,2,4-триазольного кольца, неожиданно вступали в ферментативную реакцию трансгликозилирования. Чтобы установить пределы субстратной специфичности НФ в отношении гомологов 5-оксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамида, нами была синтезирована библиотека производных 1,2,4-триазол-3-карбоксамида **6a-i** с увеличивающимися по длине углеродного остова аллоксиметильными заместителями, вплоть до *n*-децилоксиметильного, а также объемными 5-изопропокси-, 5-фенокси- и 5-бензилоксиметильным заместителями.

Основные способы синтеза производных 1,2,4-триазол-3-карбоновых кислот базируются на циклизации амидразонов [17–20]. Для получения гомологичной библиотеки производных 5-замещенного 1,2,4-триазол-3-карбоксамида мы рассматривали два разработанных ранее метода (схема 1). Первый [33] дает возможность

параллельного синтеза ряда соединений из единого предшественника β -*N*-Вос-оксаламидразона (**a**), (где Вос – *tert*-бутилоксикарбонильная защитная группа), но имеет недостаток – относительно низкие выходы целевых соединений. Второй [34] позволяет получать 5-замещенные 1,2,4-триазол-3-карбоновые кислоты с высокими выходами, но требует получения индивидуальных синтетических предшественников для каждого целевого соединения, что увеличивает время проведения эксперимента [35]. В итоге, для решения задачи комбинаторного синтеза, нами был выбран именно параллельный способ получения производных 1,2,4-триазол-3-карбоновых кислот **c** (метод I на схеме 1).

Единый синтетический предшественник β -*N*-Вос-оксаламидразон (**3**) был получен взаимодействием этилового эфира тиооксамовой кислоты (**2**) с Вос-гидразином (**1**) (схема 2).

Этиловые эфиры 5-аллокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновых кислот **5a-h** получали ацилированием амидразона **3** хлорангидридами оксикусусных кислот **4a-h** с последующей циклизацией в пиридине при температуре кипения 115 °C. Далее эфиры **5a-h** превращали в соответствующие амиды **6a-h** обработкой водно-метанольным раствором аммиака (схема 3).

Соединение **6j** получали согласно вышеописанной методике, однако выделить этиловый эфир 5-ацетоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты **5i** после циклизации оказалось затруднительно, так как лабильная ацетильная группа частично гидролизовалась в ходе обработки реакционной смеси. Была выделена смесь этиловых эфиров 5-ацетоксиметил- **5i** и 5-гидроксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты **5j**. Этую смесь обрабатывали раствором аммиака, в результате чего происходило полное удаление ацетильной группы с получением амида **6j** (схема 4).

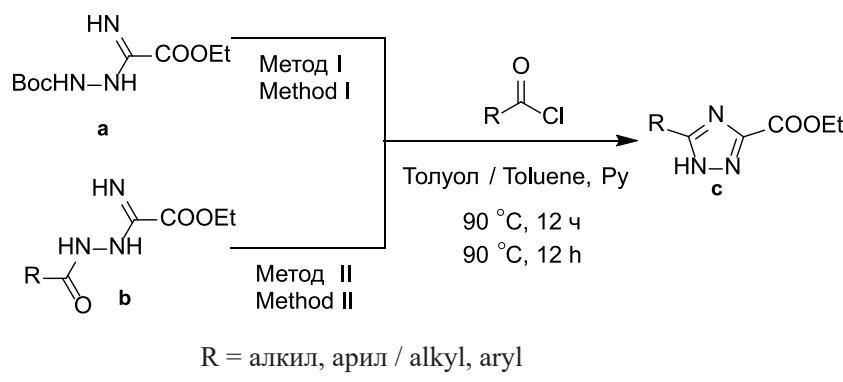


Схема 1. Основные методы синтеза производных 5-замещенного 1,2,4-триазол-3-карбоксамида (Вос – *tert*-бутилоксикарбонил; Et – этил; Py – пиридин).

Scheme 1. 5-Substituted 1,2,4-triazole-3-carboxamide derivatives main synthesis methods (Boc is *tert*-butyloxycarbonyl; Et is ethyl; Py is pyridine).

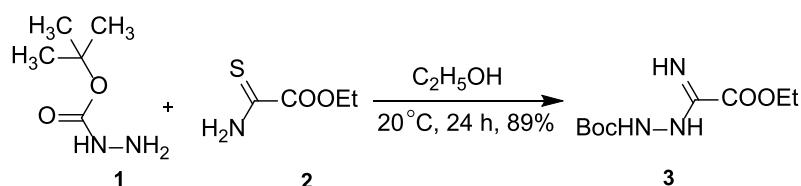


Схема 2. Синтез этил β -N-Вос-оксаламидразона (Вос – *tert*-бутилоксикарбонил; Et – этил).
Scheme 2. Synthesis of ethyl β -N-Boc-oxalamidrazone (Boc is *tert*-butyloxycarbonyl; Et is ethyl).

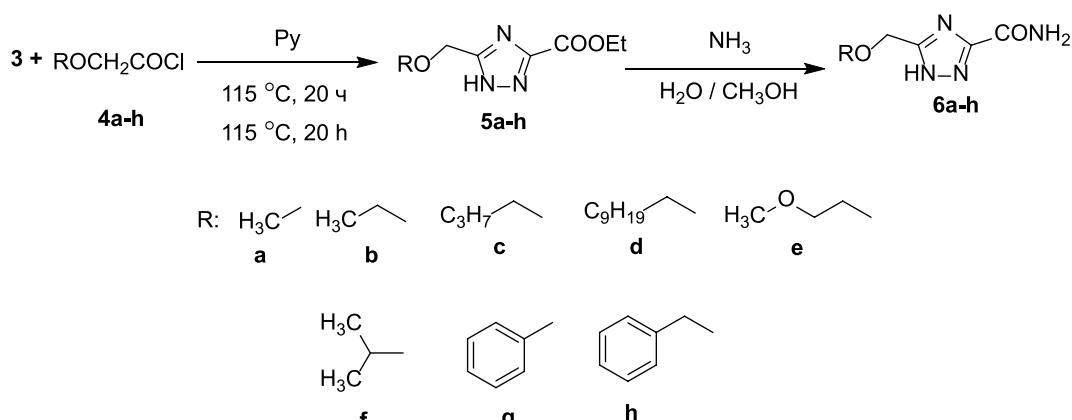


Схема 3. Синтез 5-алкокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов **6a-h** (Et – этил; Py – пиридин).
Scheme 3. Synthesis of 5-alkoxy/aryloxymethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamides **6a-h** (Et is ethyl; Py is pyridine).

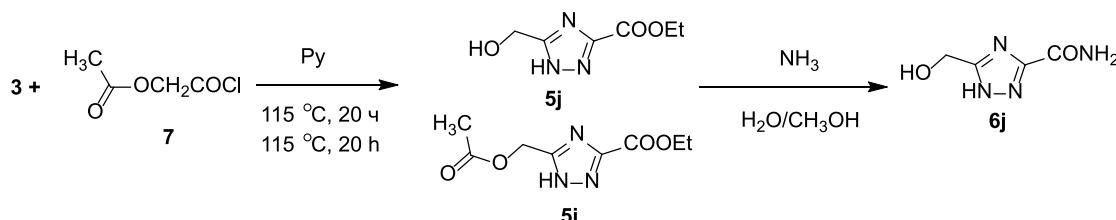


Схема 4. Синтез 5-гидроксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамида **6j** (Et – этил; Py – пиридин).
Scheme 4. Synthesis of 5-hydroxymethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide **6j** (Et is ethyl; Py is pyridine).

Структура и чистота всех конечных и промежуточных соединений доказана методами ^1H и ^{13}C ЯМР спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором, выходы приведены в табл. 1

Предварительное исследование субстратной специфичности НФ по отношению к синтезированным амидам **6a-h**, **6j** проводили в лаборатории биотехнологии Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) ранее описанным способом [32], первичные результаты приведены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что химико-ферментативный способ может быть применен для получения дезоксирибозидов практически из всего ряда синтезированных соединений **6a-h**, **6j** (схема 3 и 4). Напротив, получение рибозидов 5-оксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов этим методом, по-видимому, невозможно.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растворители, использованные в работе, были очищены стандартными методами, абсолютирование проводили обычным образом [32]. Протекание реакций контролировали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах ПТСХ-АФ-А-УФ (алюминиевая основа, фракционированный силикагель с размером частиц 5–17 мкм, с толщиной слоя сорбента 90–120 мкм, люминофор 254 нм) (*Sorbfil*, Россия). Визуализацию веществ проводили в УФ-свете при 254 нм, а также применяли фосфорномolibденовую кислоту, нингидрин, йод. Для колоночной хроматографии использовали силикагель *Kieselgel 60 Å* (0.040–0.063 мм) (*Merck*, Германия).

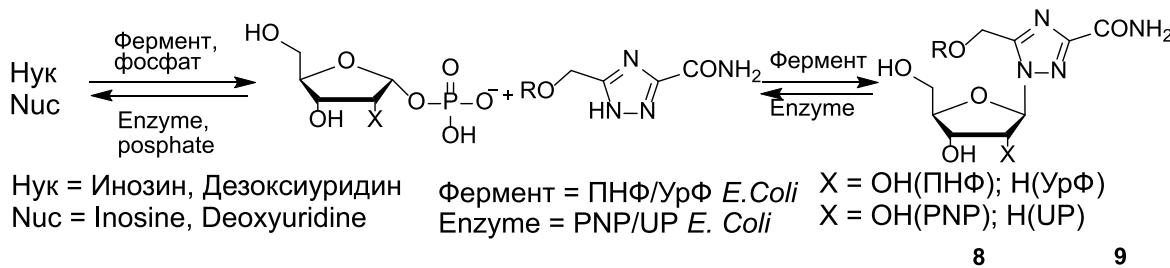
^1H и ^{13}C ЯМР спектры были зарегистрированы на приборе DPX-300 (*Bruker*, Германия) с резонансной частотой для протонов $^1\text{H} = 300$ МГц,

Синтез 5-оксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов

Таблица 1. Выходы синтезированных соединений
Table 1. Yields of synthesized compounds

Соединение / Compound	5a	5b	5c	5d	5e	5f	5g	5h	5i+5j
Выход / Yield, %	57	22	45	36	31	14	63	59	—
Соединение / Compound	6a	6b	6c	6d	6e	6f	6g	6h	6j
Выход / Yield, %	64	84	21	50	60	33	89	77	79

Таблица 2. Специфичность НФ по отношению к 5-аллокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидам **6a-h, 6j**
Table 2. Specificity of uridine phosphorylase towards 5-alkoxy/aryloxymethyl-1,2,4-triazole-3-carboxamides **6a-h, 6j**



№	R	ΠΗΦ / PNP	ΥρΦ / UP
6a	Me	—	+
6b	<i>n</i> -Pr	—	+
6c	<i>n</i> -Bu	—	+
6d	<i>n</i> -C ₁₀ H ₂₁	—	—
6e	—CH ₂ CH ₂ OMe	—	+
6f	<i>i</i> -Pr	—	+
6g	Ph	—	—
6h	Bn	—	+
6j	H	+	+

Примечание: «-» – продукты ферментативной реакции **8** и **9** не обнаружены в реакционной массе методом ВЭЖХ-МС; «+» – продукты ферментативной реакции **8** и **9** обнаружены в реакционной массе методом ВЭЖХ-МС; ПНФ – пуриннуклеозидфосфорилаза; УрФ – уридинфосфорилаза; Me – метил; *n*-Pr – *n*-пропил; *n*-Bu – *n*-бутил; *i*-Pr – изопропил; Ph – фенил; Bn – бензил; H – водород; Nuc – инозин, дезоксиуридин; *E. Coli* – *Escherichia coli*.

Note: Minus sign indicates, that products of the enzymatic reaction **8** and **9** were not detected in the reaction mass by the HPLC-MS method. Plus sign indicates, that the products of the enzymatic reaction **8** and **9** were found in the reaction mass by the HPLC-MS method. PNP is purine nucleoside phosphorylase; UP is uridine phosphorylase; Me is methyl; *n*-Pr is *n*-propyl; *n*-Bu is *n*-butyl; *i*-Pr is isopropyl; Ph is phenyl; Bn is benzyl; H is hydrogen; Nuc is inosine, deoxyuridine; *E. coli* is *Escherichia coli*.

^{13}C = 75 МГц. Обозначения в ^1H ЯМР-спектрах: с – синглет, д – дублет, дд – дублет дублетов, т – триплет, кв – квартет, м – мультиплет, уш. – уширенный. Хромато-масс-спектрометрические

исследования выполнены на приборе LCMS-2020 (*Shimadzu*, Япония) на колонке Luna C18 (*Phenomenex*, США) в градиентном режиме с ионизацией электрораспылением (150 × 4.6 мм,

размер частиц 3 мкм, размер пор 100 Å. Подвижные фазы: А — 0.1%-ный раствор муравьиной кислоты в воде, В — ацетонитрил. Градиент: до 0.5 мин — 5% В, с 0.5 до 10.5 мин — от 5 до 100% В, с 10.5 до 12 мин — 100% В, с 12 до 14 мин — с 100% до 5% В. Объем вводимой пробы 2–10 мкл. Масс-спектры регистрировали в режиме положительных ионов (диапазон от 160 до 2000 Да). Параметры источника ионизации: температура нагревателя 40 °С, температура капилляра 25 °С, поток газа-осушителя 15 л/мин, газа-распылителя 1.5 л/мин, напряжение ионизации 4.5 кВ.

Этил- β -N-Вос-оксаламидразон (3)

Смесь 18.23 г (137 ммоль) этилового эфира тиооксамовой кислоты **2** и 18.10 г (137 ммоль) Вос-гидразина **1** растворяли в 80 мл этилового спирта. Реакционную смесь перемешивали в течение 24 ч. Образующийся осадок отфильтровывали, промывали 10 мл этилового спирта и сушили на воздухе. Выход продукта: 28.25 г (89%), $T_{\text{пл.}} = 178\text{--}180$ °С.

^1H ЯМР-спектр ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 1.23 (3H, т, $J = 7.14$ Гц, CH_2CH_3); 1.43 (9H, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 4.19 (2H, кв, $J = 7.14$ Гц, CH_2CH_3); 6.21 (2H, с, NHNH); 9.22 (1H, с, NH). ^{13}C ЯМР-спектр ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 13.90; 28.01; 61.31; 79.12; 136.70; 152.51; 162.09. Для $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_4$ m/z [M+H]⁺ вычислено: 232.13; найдено: 232.12.

Общая методика синтеза этиловых эфиров 5-аллокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновых кислот 5a-j

К суспензии 1 экв. этил- β -N-Вос-оксаламидразона **3** в абсолютном пиридине при охлаждении до 0 °С прибавляли по каплям 2.15 экв. хлорангидрида карбоновой кислоты. Реакционную массу нагревали до температуры кипения и перемешивали в течение 20 ч. После окончания реакции (контроль за реакцией осуществляли методом ТСХ, система хлороформ-метанол 5%), удаляли растворитель на вакуумном роторном испарителе. К остатку добавляли 1 М водный раствор HCl и экстрагировали этилацетатом равными порциями 3 раза. Органические фазы объединяли и сушили Na_2SO_4 , растворитель удаляли на вакуумном роторном испарителе. Продукт выделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, элюент хлороформ-метанол (с градиентом метанола от 0 до 7 %).

Этиловый эфир 5-(метоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5a)

1.00 г (4.32 ммоль) этил- β -N-Вос-оксаламидразона **3**, 10 мл абсолютного пиридина, 0.85 мл (9.31 ммоль) хлорангидрида метоксикусной кислоты. $R_f = 0.58$. Выход продукта: 0.46 г (57%).

^1H ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 1.40 (3H, т, $J = 7.14$ Гц, CH_2CH_3); 3.47 (3H, с, CH_3OCH_2); 4.46 (2H, кв, $J = 7.14$ Гц, CH_2CH_3); 4.72 (2H, с, CH_3OCH_2). ^{13}C ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 13.91; 58.86; 61.96; 65.69; 153.24; 156.19; 159.52. Для $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$ m/z [M+H]⁺ вычислено: 186.19; найдено: 186.17.

Этиловый эфир 5-(этоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5b)

1.00 г (4.3 ммоль) этил- β -N-Вос-оксаламидразона **3**, 10 мл абсолютного пиридина, 1.11 г (9.3 ммоль) хлорангидрида этоксикусной кислоты. $R_f = 0.55$. Выход продукта: 0.19 г (22%).

^1H ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 1.16 (3H, т, $J = 7.00$ Гц, $\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.35 (3H, т, $J = 7.14$ Гц, $\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 3.59 (2H, кв, $J = 7.01$ Гц, $\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 4.42 (2H, кв, $J = 7.14$ Гц, $\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 4.73 (2H, с, $\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$). ^{13}C ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.09; 14.84; 62.08; 64.13; 67.08; 153.92; 156.57; 159.65. Для $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_3$ m/z [M+H]⁺ вычислено: 200.22; найдено: 200.20.

Этиловый эфир 5-(n-бутоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5c)

1.16 г (5 ммоль) этил- β -N-Вос-оксаламидразона **3**, 10 мл абсолютного пиридина, 1.61 г (13 ммоль) хлорангидрида n-бутоксикусной кислоты. $R_f = 0.45$. Выход продукта: 0.51 г (45%).

^1H ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.90 (3H, т, $J = 7.32$ Гц, $\text{O}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$); 1.30–1.43 (2H, м, $\text{O}(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.41 (3H, т, $J = 7.14$ Гц $\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.54–1.64 (2H, м, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 3.58 (2H, т, $J = 6.63$ Гц, $\text{O}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$); 4.46 (2H, кв, $J = 7.14$ Гц, $\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 4.73 (2H, с, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OCH}_2$). ^{13}C ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 13.80; 14.20; 19.11; 29.66; 31.44; 62.13; 64.71; 71.74; 154.10; 156.77; 159.60. Для $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ m/z [M+H]⁺ вычислено: 228.27; найдено: 228.26.

Этиловый эфир 5-(n-децилоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5d)

0.40 г (1.7 ммоль) этил- β -N-Вос-оксаламидразона **3**, 10 мл абсолютного пиридина, 0.84 г (3.6 ммоль) хлорангидрида децилоксикусной кислоты. $R_f = 0.62$. Выход продукта: 0.19 г (36%).

¹H ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 0.83–0.87 (3H, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1.23 (14H, с, $\text{OCH}_2\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$); 1.40 (3H, т, $J = 7.14$ Гц, $\text{COOCH}_2-\text{CH}_3$); 1.54–1.63 (2H, м, $\text{OCH}_2-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$); 3.56 (2H, т, $J = 6.72$ Гц, $\text{O}-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$); 4.46 (2H, кв, $J = 7.14$ Гц, $\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 4.73 (2H, с, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{OCH}_2-$). ¹³C ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 29.27; 29.37; 29.40; 29.52; 29.51; 14.08; 14.18; 22.63; 25.91; 31.84; 62.14; 64.62; 65.33; 67.78; 72.05; 126.98; 127.65; 128.53; 153.96; 156.71; 159.58. Для $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3$ m/z [M+H]⁺ вычислено: 312.43; найдено: 312.41.

Этиловый эфир 5-[1-(2-метокси)этоксиметил]-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5e)

1.00 г (4.3 ммоль) этил- β -N-Вос-оксаламидразона 3, 10 мл абсолютного пиридина, 1.40 г (9.3 ммоль) хлорангидрида 1-(2-метокси)этоксикусной кислоты. $R_f = 0.47$. Выход продукта: 0.30 г (31%).

¹H ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 1.39 (3H, т, $J = 7.11$ Гц, $\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 3.45 (3H, с, $\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_3$); 3.60–3.63 (2H, м, $\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 3.76–3.79 (2H, м, $\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$); 4.45 (2H, кв, $J = 7.14$ Гц, $\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 4.82 (2H, с, $-\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$). ¹³C ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.19; 59.01; 61.91; 65.42; 70.74; 71.82; 154.86; 156.51; 159.83. Для $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_4$ m/z [M+H]⁺ вычислено: 230.24; найдено: 230.22.

Этиловый эфир 5-(изопропилоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5f)

6.74 г (27 ммоль) этил- β -N-Вос-оксаламидразона 3, 15 мл абсолютного пиридина, 7.74 г (57 ммоль) хлорангидрида изопропилоксикусной кислоты. $R_f = 0.45$. Выход продукта: 0.78 г (14%).

¹H ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 1.22 (6H, д, $J = 6.17$ Гц ($\text{CH}_3)_2\text{CHO}-$); 1.42 (3H, т, $J = 7.14$ Гц, $\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 3.73–3.81 (1H, м, $(\text{CH}_3)_2-\text{CH}_2\text{OCH}_2$); 4.47 (2H, кв, $J = 7.12$ Гц, $\text{COO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$); 4.74 (2H, с, $(\text{CH}_3)_2\text{CHO}-\text{CH}_2$). ¹³C ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.19; 21.84; 62.09; 62.23; 73.03; 154.26; 156.95; 159.69. Для $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3$ m/z [M+H]⁺ вычислено: 214.24; найдено: 214.21.

Этиловый эфир 5-(феноксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5g)

1.19 г (5.15 ммоль) этил- β -N-Вос-оксаламидразона 3, 10 мл абсолютного пиридина, 1.88 г (11.02 ммоль) хлорангидрида феноксикусной кислоты. $R_f = 0.46$. Выход продукта: 0.80 г (63%).

¹H ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 1.34 (3H, т, $J = 7.14$ Гц, CH_3Et); 4.38 (2H, кв, $J = 7.14$ Гц, CH_2Et); 5.29 (2H, с, 5- CH_2); 6.88 (2H, д, $J = 8.19$ Гц, 2- CH

и 6- CH Ph); 6.97 (1H, т, $J = 7.39$ Гц, 4- CH Ph); 7.25 (2H, т, $J = 7.98$ Гц, 3- CH и 5- CHPh). ¹³C ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.03; 61.98; 62.31; 114.46; 121.90; 129.62; 153.42; 155.78; 157.41; 159.47. Для $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3$ m/z [M+H]⁺ вычислено: 248.26; найдено: 248.24.

Этиловый эфир 5-[(бензилокси)метил]-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5h)

16.00 г (69 ммоль) этил- β -N-Вос-оксаламидразона 3, 30 мл абсолютного пиридина, 23.50 мл (149 ммоль) хлорангидрида бензилоксикусной кислоты. $R_f = 0.63$. Выход продукта: 10.71 г (59%).

¹H ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 1.40 (3H, т, $J = 7.14$ Гц, CH_3Et); 4.45 (2H, кв, $J = 7.1$ Гц, CH_2Et); 4.61 (2H, с, 5- CH_2); 4.77 (2H, с, CH_2Bn); 7.28–7.36 (5H, м, CHBn). ¹³C ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 14.15; 62.13; 62.35; 72.35; 128.00; 128.25; 128.56; 136.57; 153.79; 156.45; 159.54. Для $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_3$ m/z [M+H]⁺ вычислено: 262.29; найдено: 262.27.

Этиловый эфир 5-(ацетоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5i) и этиловый эфир 5-(гидроксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (5j)

1.00 г (4.32 ммоль) этил- β -N-Вос-оксаламидразона 3, 10 мл абсолютного пиридина, 1.00 мл (9.29 ммоль) хлорангидрида ацетоксикусной кислоты. $R_f = 0.65$ (основной продукт); $R_f = 0.55$ (побочный продукт). Было выделено 0.52 г смеси эфиров 5-ацетоксиметил- (основной продукт) и 5-гидроксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (побочный продукт), которую использовали на следующей стадии без дополнительного разделения.

¹H ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 1.37 (3H, т, $J = 7.13$ Гц, CH_3Et , примесь); 1.38 (3H, т, $J = 7.13$ Гц, CH_3Et , основной продукт); 2.09 (3H, с, CH_3 , ацетильной группы, основной продукт); 4.44 (2H, кв, $J = 7.16$ Гц, CH_2Et , основной продукт); 4.45 (2H, кв, $J = 7.16$ Гц, CH_2Et , примесь); 4.65 (2H, с, 5- CH_2 , примесь); 5.32 (2H, с, 5- CH_2 , основной продукт).

¹³C ЯМР-спектр (CDCl_3), δ , м.д.: 13.98 (CH_3Et , примесь); 14.03 (CH_3Et , основной продукт); 20.48 (CH_3 ацетильной группы, основной продукт); 57.54 (5- CH_2 , основной продукт); 60.54 (5- CH_2 , примесь); 62.41 (CH_2Et , основной продукт); 62.70 (CH_2Et , примесь); 151.61 (C^3 , примесь); 152.36 (C^3 , основной продукт); 155.44 (C^5 , примесь); 155.44 (C^5 , основной продукт); 158.16 (3- COO , примесь); 158.94 (3- COO , основной продукт); 170.88 (COO ацетильной группы, основной продукт).

Общая методика получения амидов 5-алкокси-/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновых кислот 6a-h, 6j

Этиловый эфир 5-оксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты **5a-i** растворяли в 1.50 мл 10 М метанольного раствора аммиака. Нагревали до температуры кипения в колбе с обратным холодильником, каждые 12 ч добавляли 0.50 мл 14 М водного раствора аммиака. По окончании реакции (полная конверсия эфира, контроль методом ТСХ, элюент 5% метанола в хлороформе) растворитель удаляли на вакуумном роторном испарителе. Продукт суспендировали в безводном ацетоне, отфильтровывали и сушили в экскаторе при пониженном давлении над NaOH в течение 12 ч.

Амид 5-(метоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (6a)

0.52 г (2.81 ммоль) этилового эфира 5-(метоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, время прохождения реакции 72 ч. Выход продукта: 280 мг (64%).

¹H ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 3.30 (3H, с, CH₃MeO); 4.49 (2H, с, 5-CH₂); 7.71 и 8.01 (2H, 2c, NH₂). ¹³C ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 57.96; 65.82; 153.38; 157.41; 159.60. Для C₅H₉N₄O₂ m/z [M+H]⁺ вычислено: 157.15; найдено: 157.13.

Амид 5-этоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (6b)

70 мг (3.5 ммоль) этилового эфира 5-(этоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, время прохождения реакции 48 ч. Выход продукта: 50 мг (84%). T_{пл.} = 161–163 °C.

¹H ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 1.12 (3H, т, J = 6.98 Гц, –CH₂CH₃); 3.51 (2H, кв, J = 6.98 Гц, CH₂CH₃); 4.5 (2H, с, –O–CH₂); 7.69 и 7.99 (2H, 2c, CONH₂). ¹³C ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 14.94; 63.89; 65.52; 153.40; 157.58; 159.61. Для C₆H₁₁N₄O₂ m/z [M+H]⁺ вычислено: 171.18; найдено: 171.15.

Амид 5-(бутоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (6c)

215 мг (0.8 ммоль) этилового эфира 5-(бутоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, время прохождения реакции 48 ч. Выход продукта: 40 мг (21%). T_{пл.} = 125 °C (частично), 135–136 °C (полностью).

¹H ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 0.84 (3H, т, J = 6.47 Гц, CH₂–CH₃); 1.25–1.50 (4H, м, CH₂–CH₂CH₂CH₃); 3.44 (2H, т, J = 5.99 Гц, –CH₂O); 4.34 и 4.5 (2H, с, OCH₂–); 7.68 и 7.99 (2H, 2c, CONH₂). ¹³C ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 13.74; 18.74; 31.10; 31.25; 64.08; 65.30; 69.25; 69.81; 153.40; 155.12; 157.54; 159.62; 160.04. Для C₈H₁₅N₄O₂ m/z [M+H]⁺ вычислено: 199.23; найдено: 199.20.

Амид 5-(децилоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (6d)

110 мг (0.4 ммоль) этилового эфира 5-(децилоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, время прохождения реакции 48 ч. Выход продукта: 50 мг (50%). T_{пл.} = 140 °C (частично), 153–155 °C (полностью).

¹H ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 0.84 (3H, т, J = 6.24 Гц, (CH₂)₉–CH₃); 1.22 (14H, с, CH₂–(CH₂)₇CH₃); 1.49 (2H, м, –CH₂CH₂O); 3.43 (2H, т, J = 6.52 Гц, –CH₂O); 4.49 (2H, с, O–CH₂); 7.69 и 7.99 (2H, 2c, CONH₂). ¹³C ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 13.97; 22.11; 25.55; 28.71; 28.84; 29.02; 31.30; 64.10; 70.13; 153.32; 157.61; 159.57. Для C₁₄H₂₇N₄O₂ m/z [M+H]⁺ вычислено: 283.39; найдено: 283.37.

Амид 5-(1-(2-метокси)этоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (6e)

250 мг (0.8 ммоль) этилового эфира 5-(1-(2-метокси)этоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, время прохождения реакции 48 ч. Выход продукта: 150 мг (60%). T_{пл.} = 109–112 °C.

¹H ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 3.22 (3H, с, O–CH₃); 3.43–3.46 (2H, м, O–CH₂CH₂); 3.57–3.60 (2H, м, OCH₂–CH₂); 4.54 (2H, с, OCH₂–); 7.70 и 8.01 (2H, 2c, CONH₂). ¹³C ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 58.07; 64.38; 69.35; 71.09; 153.25; 157.55; 159.53. Для C₇H₁₃N₄O₃ m/z [M+H]⁺ вычислено: 201.20; найдено: 201.17.

Амид 5-изопропилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (6f)

310 мг (1.5 ммоль) этилового эфира 5-(изопропилоксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, время прохождения реакции 48 ч. Выход продукта: 90 мг (33%). T_{пл.} = 160–161 °C, T_{возр.} = 144 °C.

¹H ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 1.11 (6H, д, J = 6.08 Гц, (CH₃)₂–CH₂); 3.63–3.73 (1H, м, (CH₃)₂–CH₂–O); 4.50 (2H, с, –O–CH₂); 7.66 и 7.96 (2H, с, CONH₂). ¹³C ЯМР-спектр (ДМСО-d₆), δ, м.д.: 21.85; 61.52; 70.96; 153.50; 157.80; 159.67. Для C₇H₁₃N₄O₂ m/z [M+H]⁺ вычислено: 185.20; найдено: 185.19.

Амид 5-(феноксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (6g)

400 мг (1.62 ммоль) этилового эфира 5-(феноксиметил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, время прохождения реакции 96 ч. Выход продукта: 310 мг (89%).

¹H ЯМР-спектр (ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 5.16 (2H, с, 5-CH₂); 6.96 (1H, т, *J* = 7.30 Гц, 4CH, Ph); 7.04 (2H, д, *J* = 8.00 Гц, 2CH и 6CH, Ph); 7.30 (2H, т, *J* = 7.91 Гц, 3CH и 5CH, Ph); 7.79 и 8.10 (2H, 2c, NH₂). ¹³C ЯМР-спектр (ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 62.17; 114.68; 121.16; 129.57; 152.69; 157.34; 157.89; 159.08. Для C₁₀H₁₁N₄O₂ *m/z* [M+H]⁺ вычислено: 219.22; найдено: 219.20.

Амид 5-[(бензилокси)метил]-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (6h)

350 мг (2.45 ммоль) этилового эфира 5-[(бензилокси)метил]-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, время прохождения реакции 72 ч. Выход продукта: 240 мг (77%).

¹H ЯМР-спектр (ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 4.57 (2H, с, 5-CH₂); 4.60 (2H, с, CH₂Bn); 7.28–7.37 (5H, м, CHBn); 7.72 и 8.02 (2H, 2c, NH₂). ¹³C ЯМР-спектр (ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 63.68; 71.75; 127.63; 127.77; 128.28; 137.74; 153.21; 157.50; 159.48. Для C₁₁H₁₃N₄O₂ *m/z* [M+H]⁺ вычислено: 233.25; найдено: 233.22.

Амид 5-гидроксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (6j)

0.52 г (2.44 ммоль) смеси этиловых эфиров 5-ацетоксиметил- и 5-гидроксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, время прохождения реакции 72 ч. Выход продукта: 270 мг (77%).

¹H ЯМР-спектр (ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 4.55 (2H, с, 5-CH₂); 7.49 и 7.76 (2H, 2c, NH₂). ¹³C ЯМР-спектр (ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 55.98; 154.83; 159.70; 160.69. Для C₄H₇N₄O₂ *m/z* [M+H]⁺ вычислено: 143.12; найдено: 143.09.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применением метода параллельного синтеза к решению задачи получения 5-замещенных 1,2,4-триазол-3-карбоксамидов удалось расширить их синтетически доступный ряд. В ходе исследования получена серия новых 5-аллокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов и изучены их физико-химические характеристики. Кроме того, показана способность этих соединений быть субстратами реакции трансгликозилирования, катализируемой генно-инженерными нуклеозидфосфорилазами, что дает возможность синтеза новых потенциально

фармакологически активных аналогов дезоксинуклеозидов химико-ферментативным способом. Для синтеза рибонуклеозидов методами химического гликозилирования могут быть применены также полученные в ходе данной работы эфиры 5-аллокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновых кислот. В результате проведенного исследования в синтетическую практику введен метод получения 5-аллокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоксамидов – гетероциклических оснований аналогов нуклеозидов и эфиров 5-аллокси/арилоксиметил-1,2,4-триазол-3-карбоновых кислот – удобных предшественников химического рибозилирования. Таким образом создана необходимая синтетическая база для изучения аналогов рибавирина с 5-аллокси/арилоксиметильными заместителями.

Благодарности

Выражаем благодарность И.Д. Константиновой, О.С. Смирновой, И.В. Фатееву и другим сотрудникам лаборатории биотехнологии ИБХ РАН за проведение первичных испытаний субстратных свойств НФ по отношению к синтезированным соединениям. ЯМР-спектры зарегистрированы при использовании оборудования Центра коллективного пользования РТУ МИРЭА (соглашение № 075-15-2021-689 от 01.09.2021, уникальный идентификационный номер 2296.61321X0010).

Acknowledgments

We are grateful to I.D. Konstantinova, O.S. Smirnova, I.V. Fateev, and other employees of the Laboratory of Biotechnology of the IBCh RAS for conducting primary tests of the NP substrate properties in relation to synthesized compounds. NMR spectra were registered using the equipment of the RTU MIREA Collective Use Center (Agreement No. 075-15-2021-689 dated 01.09.2021, unique identification number 2296.61321X0010).

Вклад авторов

Л.Е. Гребенкина – проведение экспериментальных исследований;

А.Н. Прутков – проведение экспериментальных исследований;

А.В. Матвеев – создание концепции исследования, обработка экспериментальных данных, корректировка проведения экспериментальных исследований;

М.В. Чудинов – создание концепции исследования.

Authors' contributions

L.E. Grebenkina – conducting experiments;

A.N. Prutkov – conducting experiments;

A.V. Matveev – creating a research concept, processing experimental data, adjustment of experimental studies;

M.V. Chudinov – creating a research concept.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Jordheim L.P., Durantel D., Zoulim F., Dumontet C. Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2013;12(6):447–464. <https://doi.org/10.1038/nrd4010>
2. Shelton J., Lu X., Hollenbaugh J.A., Cho J.H., Amblard F., Schinazi R.F. Metabolism, Biochemical Actions, and Chemical Synthesis of Anticancer Nucleosides, Nucleotides, and Base Analogs. *Chem. Rev.* 2016;116(23):14379–14455. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00209>
3. Thomson J.M., Lamont I.L. Nucleoside analogues as antibacterial agents. *Front. Microbiol.* 2019;10:952. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00952>
4. Geraghty R.J., Aliota M.T., Bonnac L.F. Broad-spectrum antiviral strategies and nucleoside analogues. *Viruses.* 2021;13(4):667. <https://doi.org/10.3390/v13040667>
5. De Clercq E., Li G. Approved antiviral drugs over the past 50 years. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016;29(3):695–747. <https://doi.org/10.1128/CMR.00102-15>
6. De Clercq E. New Nucleoside Analogues for the Treatment of Hemorrhagic Fever Virus Infections. *Chem. Asian J.* 2019;14(22):3962–3968. <https://doi.org/10.1002/asia.201900841>
7. Касьяненко К.В., Львов Н.И., Мальцев О.В., Жданов К.В. Нуклеозидные аналоги в терапии гриппа: история и опыт. *Журнал инфектологии.* 2019;11(3):20–26. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-3-20-26>
- [Kasianenko K.V., Lvov N.I., Maltsev O.V., Zhdanov K.V. Nucleoside analogues for the treatment of influenza: History and experience. *Journal Infektology.* 2019;11(3):20–26 (in Russ.). [https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-3-20-26\]](https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-3-20-26)
8. Pruijssers A.J., Denison M.R. Nucleoside analogues for the treatment of coronavirus infections. *Curr. Opin. Virol.* 2019;35:57–62. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2019.04.002>
9. Borbone N., Piccialli G., Roviello G.N., Oliviero G. Nucleoside analogs and nucleoside precursors as drugs in the fight against SARS-CoV-2 and other coronaviruses. *Molecules.* 2021;26(4):986. <https://doi.org/10.3390/molecules26040986>
10. Yoshida Y., Honma M., Kimura Y., Abe H. Structure, Synthesis and Inhibition Mechanism of Nucleoside Analogues as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTIs). *ChemMedChem.* 2021;16(5):743–766. <https://doi.org/10.1002/cmde.202000695>
11. Zhang Y., Liu X., Lin Y., Lian B., Lan W., Iovanna J.L., et al. Novel triazole nucleoside analogues promote anticancer activity: Via both apoptosis and autophagy. *Chem. Commun.* 2020;56(69):10014–10017. <https://doi.org/10.1039/D0CC04660D>
12. Wang D., Yu C., Xu L., Shi L., Tong G., Wu J., et al. Nucleoside Analogue-Based Supramolecular Nanodrugs Driven by Molecular Recognition for Synergistic Cancer Therapy. *J. Am. Chem. Soc.* 2018;140(28):8797–8806. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b04556>
13. Zeng X., Hernandez-Sanchez W., Xu M., Whited T.L., Baus D., Zhang J., et al. Administration of a Nucleoside Analog Promotes Cancer Cell Death in a Telomerase-Dependent Manner. *Cell Reports.* 2018;23(10):3031–3041. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.020>
14. Sun R., Wang L. Inhibition of Mycoplasma pneumoniae growth by FDA-approved anticancer and antiviral nucleoside and nucleobase analogs. *BMC Microbiol.* 2013;13:184. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-184>
15. Pastuch-Gawolek G., Gillner D., Krol E., Walczak K., Wandzik I. Selected nucleos(t)ide-based prescribed drugs and their multi-target activity. *Eur. J. Pharmacol.* 2019;865:172747. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172747>
16. Seley-Radtke K.L., Yates M.K. The evolution of nucleoside analogue antivirals: A review for chemists and non-chemists. Part 1: Early structural modifications to the nucleoside scaffold. *Antiviral Res.* 2018;154:66–86. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.04.004>
17. Yates M.K., Seley-Radtke K.L. The evolution of antiviral nucleoside analogues: A review for chemists and non-chemists. Part II: Complex modifications to the nucleoside scaffold. *Antiviral Res.* 2019;162:5–21. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.11.016>
18. Zeidler J., Baraniak D., Ostrowski T. Bioactive nucleoside analogues possessing selected five-membered azaheterocyclic bases. *Eur. J. Med. Chem.* 2015;97:409–418. <https://doi.org/10.1016/j.ejmec.2014.11.057>
19. Merino P. (Ed.). *Chemical Synthesis of Nucleoside Analogues.* NY: John Wiley & Sons, Inc.; 2013. 912 p. ISBN: 978-1-118-49808-8
20. Mikhailopulo I.A., Miroshnikov A.I. Biologically important nucleosides: modern trends in biotechnology and application. *Mendeleev Commun.* 2011;21(2):57–68. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2011.03.001>
21. Yehia H., Kamel S., Paulick K., Wagner A., Neubauer P. Substrate spectra of nucleoside phosphorylases and their potential in the production of pharmaceutically active compounds. *Curr. Pharm. Des.* 2017;23(45):6913–6935. <http://dx.doi.org/10.2174/1381612823666171024155811>
22. Kamel S., Yehia H., Neubauer P., Wagner A. Enzymatic Synthesis of Nucleoside Analogues by Nucleoside Phosphorylases. In: Lucas F.J., Rius M.-J.C. (Eds.). *Enzymatic and Chemical Synthesis of Nucleic Acid Derivatives.* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co; 2018. P. 1–28. <https://doi.org/10.1002/9783527812103.ch1>
23. Barai V.N., Zinchenko A.I., Eroshevskaya L.A., Kalinichenko E.N., Kulak T.I., Mikhailopulo I.A. A Universal Biocatalyst for the Preparation of Base- and Sugar-Modified Nucleosides via an Enzymatic Transglycosylation. *Helv. Chim. Acta.* 2002;85(7):1901–1908. [https://doi.org/10.1002/1522-2675\(200207\)85:<1901::AID-HLCA1901>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1522-2675(200207)85:<1901::AID-HLCA1901>3.0.CO;2-C)
24. Константинова И.Д., Леонтьева Н.А., Галегов Г.А., Рыжова О.И., Чувиковский Д.В., Антонов К.В., et al. Ribavirin: Biotechnological synthesis and effect on the reproduction of Vaccinia virus. *Russ. J. Biorg. Chem.* 2004;30(6):553–560. <https://doi.org/10.1023/B:RUBI.0000049772.18675.34>
25. Константинова И.Д., Есипов Р.С., Муравьева Т.И., Таран С.А., Веревкина К.Н., Гуревич А.И. и др. Способ получения 1-β-D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксиамида (рибавирина): пат. 2230118 РФ. Заявка № 2002122429/13А. заявл. 21.08.2002; опубл. 10.03.2004.
- [Konstantinova I.D., Esipov R.S., Muravieva T.I., Taran S.A., Verevkina K.N., Gurevich A.I., et al. Method for preparing 1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxyamide (ribavirin): RF Pat. 2230118. Publ. 10.03.2004 (in Russ.)]
26. Sakharov V., Baykov S., Konstantinova I., Esipov R., Dorogov M. An Efficient Chemoenzymatic Process for Preparation of Ribavirin. *International Journal of Chemical Engineering.* 2015;2015:734851. <https://doi.org/10.1155/2015/734851>
27. Rabuffetti M., Bavaro T., Semproli R., Cattaneo G., Massone M., Morelli C.F., et al. Synthesis of Ribavirin, Tecadenoson, and Cladribine by Enzymatic Transglycosylation. *Catalysts.* 2019;9(4):355. <https://doi.org/10.3390/catal9040355>
28. Fateev I.V., Antonov K.V., Konstantinova I.D., Muravyova T.I., Seela F., Esipov R.S., et al. The chemoenzymatic synthesis of clofarabine and related 2'-deoxyfluoroarabinosyl nucleosides: the electronic and stereochemical factors determining substrate recognition by *E. coli* nucleoside phosphorylases. *Beilstein J. Org. Chem.* 2014;10:1657–1669. <https://doi.org/10.3762/bjoc.10.173>

29. Zhou X., Szeker K., Jiao L.-Y., Oestreich M., Mikhailopulo I.A., Neubauer P. Synthesis of 2,6-Dihalogenated Purine Nucleosides by Thermostable Nucleoside Phosphorylases. *Adv. Synth. Catal.* 2015;357(6):1237–1244. <https://doi.org/10.1002/adsc.201400966>
30. Vichier-Guerre S., Dugue L., Bonhomme F., Pochet S. Expedient and generic synthesis of imidazole nucleosides by enzymatic transglycosylation. *Org. Biomol. Chem.* 2016;14(14):3638–3653. <https://doi.org/10.1039/C6OB00405A>
31. Hatano A., Wakana H., Terado N., Kojima A., Nishioka C., Iizuka Y., et al. Bio-catalytic synthesis of unnatural nucleosides possessing a large functional group such as a fluorescent molecule by purine nucleoside phosphorylase. *Catal. Sci. Technol.* 2019;9(18):5122–5129. <https://doi.org/10.1039/C9CY01063G>
32. Константина И.Д., Чудинов М.В., Фатеев И.В., Матвеев А.В., Журило Н.И., Швец В.И., Мирошников А.И. Нуклеозиды 1,2,4-триазола: Возможности и ограничения химико-ферментативного способа получения. *Биоорганическая химия*. 2013;39(1):61–80. <https://doi.org/10.7868/S0132342313010053>
- [Original Russian Text: Konstantinova I.D., Chudinov M.V., Fateev I.V., Matveev A.V., Zhurilo N.I., Shvets V.I., Miroshnikov A.I. Nucleosides of 1,2,4-triazole: Possibilities and limitations of the chemical-enzymatic method of preparation. *Bioorganicheskaya Khimiya*. 2013;39(1):61–80 (in Russ.). [https://doi.org/10.7868/S0132342313010053\]](https://doi.org/10.7868/S0132342313010053)
33. Матвеев А.В., Прутков А.Н., Чудинов М.В. Способ получения 5-замещённых 1,2,4-триазол-3-карбоновых кислот и их производных из универсального предшественника: пат. 2605414 РФ. Заявка № 2015148222/04; заявл. 10.11.2015; опубл. 20.12.2016. Бюл. № 35.
- [Matveev A.V., Prutkov A.N., Chudinov M.V. Method of producing 5-substituted 1,2,4-triazole-3-carboxylic acids and derivatives thereof from universal precursor: RF Pat. 2605414 Publ. 20.12.2015 (in Russ.).]
34. Chudinov M.V., Matveev A.V., Zhurilo N.I., Prutkov A.N., Shvets V.I. An Efficient Route to Ethyl 5-Alkyl-(Aryl)-1H-1,2,4-triazole-3-carboxylates. *J. Heterocycl. Chem.* 2015;52(5):1273–1277. <https://doi.org/10.1002/jhet.1934>
35. Matveev A.V., Grebenkina L.E., Prutkov A.N., Chudinov M.V. 5-Substituted 1,2,4-Triazole-3-Carboxylates and 5-Substituted Ribavirin Analogs Synthesis. *Curr. Protoc.* 2021;1(11):e281. <https://doi.org/10.1002/cpz1.281>

Об авторах:

Гребенкина Любовь Евгеньевна, ассистент кафедры биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: LEGrebenkina@mail.ru. Scopus Author ID 57189663430, SPIN-код РИНЦ 6518-1280, <https://orcid.org/0000-0002-5995-5608>

Прутков Александр Николаевич, аспирант кафедры биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: alex_prutkov@mail.ru. ResearcherID G-4025-2016, Scopus Author ID 56228508300, SPIN-код РИНЦ 2965-1335, <https://orcid.org/0000-0001-9522-7387>

Матвеев Андрей Валерьевич, к.х.н., доцент кафедры биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: 4mota@gmail.com. Scopus Author ID 7102723461, SPIN-код РИНЦ 7420-3188, <https://orcid.org/0000-0002-0830-3036>

Чудинов Михаил Васильевич, к.х.н., доцент кафедры биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: chudinov@mirea.ru. ResearcherID L-5728-2016, Scopus Author ID 6602589900, SPIN-код РИНЦ 3920-8067, <https://orcid.org/0000-0001-9735-9690>

About the authors:

Lyubov E. Grebenkina, Assistant, Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: LEGrebenkina@mail.ru. Scopus Author ID 57189663430, RSCI SPIN-code 6518-1280, <https://orcid.org/0000-0002-5995-5608>

Alexander N. Prutkov, Postgraduate Student, Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: alex_prutkov@mail.ru. ResearcherID G-4025-2016, Scopus Author ID 56228508300, RSCI SPIN-code 2965-1335, <https://orcid.org/0000-0001-9522-7387>

Andrey V. Matveev, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow 119571, Russia). E-mail: 4mota@gmail.com. Scopus Author ID 7102723461, RSCI SPIN-code 7420-3188, <https://orcid.org/0000-0002-0830-3036>

Mikhail V. Chudinov, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow 119571, Russia). E-mail: chudinov@mirea.ru. ResearcherID L-5728-2016, Scopus Author ID 6602589900, RSCI SPIN-code 3920-8067, <https://orcid.org/0000-0001-9735-9690>

*Поступила: 17.02.2022; получена после доработки: 11.03.2022; принята к опубликованию: 25.07.2022.
The article was submitted: February 17, 2022; approved after reviewing: March 11, 2022; accepted for publication: July 25, 2022.*