

СИНТЕЗ И АНТИХОЛИЭСТЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ 2,5-ДИЗАМЕЩЕННЫХ ИМИДАЗОЛ-4-ОНОВ – ПРОИЗВОДНЫХ ХРОМОФОРА ЗЕЛЕННОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА

© 2022 г. В. О. Топузьян^a, А. А. Оганесян^a, А. Т. Макичян^{a, b, *}, Л. С. Унанян^b

^a Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА, Армения, 0014 Ереван, просп. Азатутян, 26

^b ГОУ ВПО Российско-Армянский университет, Армения, 0051 Ереван, ул. Овсена Эмина, 123
*e-mail: ani.makichyan@rau.am

Поступила в редакцию 15.11.2021 г.
После доработки 12.12.2021 г.
Принята к публикации 16.12.2021 г.

Взаимодействием 2-фенил-4-(4-бензоилоксиарилиден)-5(4*H*)-оксазолонов с 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазаном в зависимости от условий реакции были синтезированы первичные амиды *N*,*O*-дibenzoил- α,β -дегидротирозинов (этилацетат, 25°C) и 2-фенил-5-(гидроксibenзилиден)-4-имидазолон (ДМФА, 140°C). Исследованы антирадикальные и антихолинэстеразные свойства синтезированных соединений. Соединения с бензоильной *O*-защитной группой по антирадикальным свойствам уступают производным, содержащим α,β -дегидротирозиновый остаток. Первичные амиды *N*-benzoил- α,β -дегидротирозинов по антихолинэстеразным свойствам, в основном, уступают соответствующим 4-имидазолонам.

Ключевые слова: α,β -дегидроаминокислота, имидазол-4-он, антирадикальная активность, антихолинэстеразная активность

DOI: 10.31857/S0514749222070035, **EDN:** CZBKQI

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что 4-имидазолон проявляют различные биологические свойства [1–6]. Настоящая работа посвящена синтезу и изучению антирадикальных и антихолинэстеразных свойств некоторых производных хромофора зеленого флуоресцентного белка – 2,5-дизамещенных 4-имидазолонов.

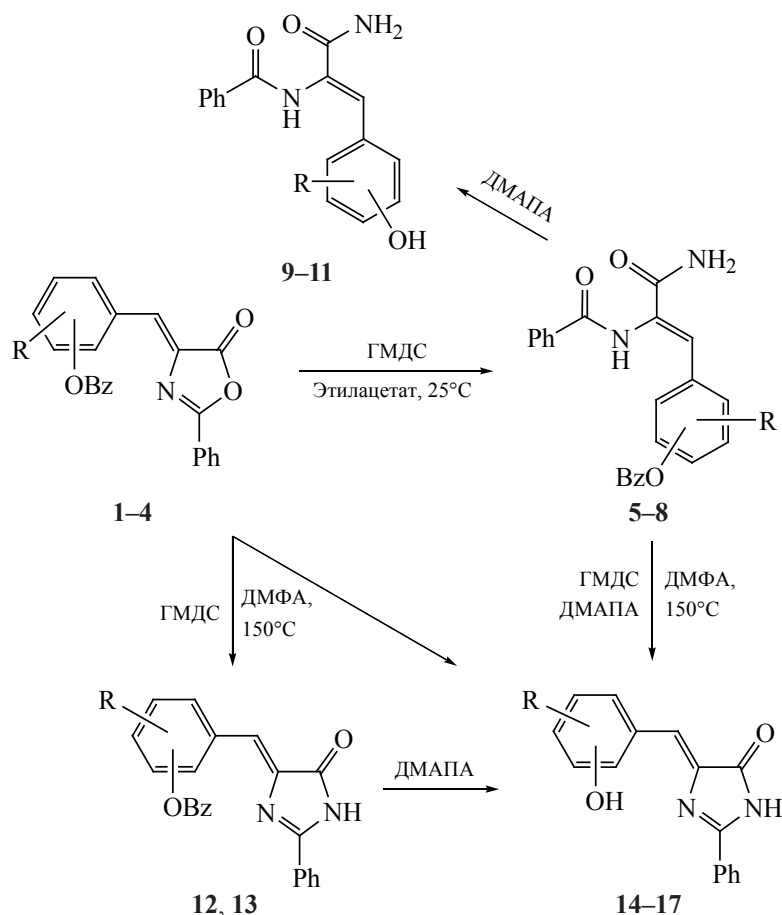
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез целевых соединений осуществлен взаимодействием ненасыщенных 5(4*H*)-оксазолонов 1–4 с 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазаном (ГМДС) при различных условиях. В случае проведения реакции в этилацетате при комнатной температуре получены первичные амиды *N*,*O*-дibenzoил- α,β -дегидротирозинов 5–8, выход которых колеблет-

ся в пределах 52–89%. В случае же применения в качестве растворителя ДМФА и кипячения реакционной смеси (0.5 ч) образуются 2,4-дизамещенные 5-имидазолон 12, 13 с выходами 75.9 и 61% соответственно. Увеличение продолжительности времени нагревания реакционной смеси до 1.5 ч, наряду с дегидратацией, приводит к удалению бензоильной *O*-защитной группы с образованием производных 5-гидроксиарилиден-4-имидазолонов 14–17 (схема 1).

Такой же результат получен при реакции оксазолона 1 и ГМДС в присутствии 3-диметиламино-1-пропиламина (ДМАПА). В последнем случае 4-имидазолон 14 получен с выходом 84% при кипячении реакционной смеси в течение 1 ч. Из производных α,β -дегидротирозинов 5–8 и 4-имидазолонов 12 и 13 *O*-benzoильную группу удаляли

Схема 1



1, 5, 12, R = H, OBz-4; 2, 6, 13, R = 3-OMe, OBz-4; 3, 7, R = 3-OEt, OBz-4; 4, 8, R = 5-Br, OBz-2;
9, 14, R = H, OH-4; 10, 15, R = 3-OMe, OH-4; 11, 16, R = 3-OEt, OH-4; 17, R = 5-Br, OH-2.

реакцией с ДМАПА в среде ацетонитрила. При этом с хорошими выходами получены амиды **9–13** и 4-имидазолы **14** и **15**.

В спектрах ЯМР синглетный сигнал $\text{CH}=\text{C}$ винильного протона соединений **5–11** наблюдается при 7.20–7.25 м.д., а **12–17** – при 6.88–7.11 м.д., что свидетельствует о *Z*-конфигурации этих веществ.

С применением стабильного радикала – 2,2'-дифенил-1-пикрилгидраза (ДФПГ•) – исследованы антирадикальные свойства соединений **5–17** (табл. 1). Согласно полученным данным по ингибированию ДФПГ• производные α,β -дегидротирозина **9–11** и 5-гидроксibenзилиден-4-имидазолон **14–17** превосходят их *O*-бензоильные аналоги (**5–8** и **12, 13**). Из данных табл. 1 видно, что в ряду соединений **5–17** высокой антирадикальной активностью (99%) обладает амид *N*-бензоил- α,β -дегидро-3-метокситирозина (**10**).

Исследованы также антихолинэстеразные свойства синтезированных соединений **5–17** в отношении как ацетилхолинэстеразы (АХЭ), так и бутирилхолинэстеразы (БуХЭ). Согласно данным, приведенным в табл. 1, все исследованные соединения обладают антихолинэстеразной активностью. В случае АХЭ она колеблется в пределах 28–94%, а БуХЭ – 11–96%.

При этом по ингибирующим свойствам из амидов α,β -дегидроаминокислот **5–11** сравнительно высокую антихолинэстеразную активность проявляет амид *N*-бензоил- α,β -дегидро-3-метокси-*O*-бензоилтирозин (**6**, АХЭ – 75%; БуХЭ – 81%), тогда как из соответствующих 4-имидазолонов **12–17** сравнительно высокую антихолинэстеразную активность проявляет 2-фенил-5-(4-гидроксibenзилиден)-4-имидазолон (**14**, АХЭ – 90%; БуХЭ – 100%). Из данных табл. 1 видно, что при переходе

Таблица 1. Антирадикальная и антихолинэстеразная активность соединений **5–17**

Соединение	Ингибирование, %		
	ДФПГ [•]	АХЭ	БуХЭ
5	7	67.2	46
6	7.5	75.2	81
7	9.7	28	74.4
8	31.9	51.35	87.5
9	67.1	31.9	67.1
10	99.1	44.8	33.3
11	79.8	69.6	52.4
12	23.5	94.8	96
13	35.8	48.4	11.3
14^a	78.5	90	100
15	77.7	91.4	94.8
16	72.2	79.6	69.4
17	55.2	88.2	71.2

^a При уменьшении концентрации соединения **14** в 2 раза антихолинэстеразная активность составляет: АХЭ – 21.6%, БуХЭ – 59.2%

от амидов α,β -дегидроаминокислот **5–11** к 4-имидазолонам **12–17** антихолинэстеразная активность в отношении обоих ферментов возрастает.

С использованием платформы SwissAdme [7] были рассчитаны фармакокинетические характеристики соединений **5–17** (табл. 1S, дополнительные материалы). Полученные результаты свидетельствуют о том, что показатель всасываемости через желудочно-кишечный тракт на основе метода оценки проницаемости Эгана [8] имеет высокое значение для всех исследуемых соединений.

Переход через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) имеет иную картину: соединения **5–11** показали отрицательный результат прохождения через ГЭБ.

Важной характеристикой является соответствие критерию «правила пяти» Липинского [9], все исследуемые соединения соответствуют данному критерию. Было рассчитано также значение биодоступности, которое составило 0.55 по шкале Abbot (ABS) [10].

С точки зрения оценки свойств «соединения-лидера» соединения **5–8** и **12, 13** не соответствуют

данному критерию. Был рассчитан также коэффициент синтетической доступности. Также произведен прогноз возможной токсичности соединений **5–17**, рассмотрены мутагенность, канцерогенность и раздражающее действие на кожу и глаза [11].

Оценка мутагенности соединения **8** привела к положительному результату, а прогноз канцерогенности у всех соединений оказался отрицательным. Раздражающее действие на кожу и глаза у всех исследуемых соединений отсутствует.

По результатам молекулярного докинга было выявлено, что все соединения **5–17** взаимодействуют с активным центром как АХЭ, так и БуХЭ. Были получены пространственно-энергетические характеристики взаимодействия для всех комплексов (табл. 2). Необходимо отметить, что соединение **7** проявляет к БуХЭ специфичность с константой связывания 6×10^7 моль⁻¹, а соединение **8** имеет высокие показатели взаимодействия для 2 белков-мишеней. С точки зрения конформационного анализа все соединения взаимодействуют с аминокислотными остатками, формирующими участки активных центров АХЭ (рис. 1) и БуХЭ (рис. 2).

Таблица 2. Рассчитанные значения биофизических параметров комплексообразования соединений **5–17** с АХЭ и БуХЭ

Соединение	АХЭ		БуХЭ	
	энергия связывания (ΔG , ккал/моль)	константа связывания (K_s , моль ⁻¹)	энергия связывания (ΔG , ккал/моль)	константа связывания (K_s , моль ⁻¹)
5	-9.18±0.46	4.9×10 ⁶	-10.28±0.40	3×10 ⁷
6	-8.99±0.48	4×10 ⁶	-10.22±0.38	3×10 ⁷
7	-8.93±0.50	3×10 ⁶	-10.68±0.42	6×10 ⁷
8	-9.67±0.47	1×10 ⁷	-9.97±0.44	1.8×10 ⁷
9	-8.7±0.49	2×10 ⁶	-8.86±0.45	3×10 ⁶
10	-8.58±0.44	2×10 ⁶	-8.78±0.47	3×10 ⁶
11	-9.13±0.47	5×10 ⁶	-9.2±0.50	5×10 ⁶
12	-9.9±0.40	1.6×10 ⁶	-9.5±0.48	9×10 ⁶
13	-9.05±0.46	3.9×10 ⁶	-10±0.50	1.9×10 ⁷
14	-8.86±0.48	2×10 ⁶	-8.96±0.44	3×10 ⁶
15	-8.67±0.49	2×10 ⁶	-9.19±0.46	5×10 ⁶
16	-8.55±0.50	1.6×10 ⁶	-8.89±0.48	3×10 ⁶
17	-8.6±0.49	1.8×10 ⁶	-8.9±0.50	3×10 ⁶

При этом в основном преобладает гидрофобный тип взаимодействия с аминокислотными остатками, формирующими активный центр белка-мишени. Определены также водородные связи (длина связей не превышает 3.0–3.5 Å). Так, у ацетилхолинэстеразы (АХЭ) (табл. 2S, дополнительные материалы) практически все соединения взаимодействуют с TYR337 водородными связями. Основная часть исследуемых соединений взаимодействуют также с TRP86, TRP286, TYR124 и TYR341. Для О-бензоильных производных как α,β -дегидротирозина **5–8**, так и 4-имидазолон **12**, **13** общим также является связывание с аминокислотными остатками ASP74 и THR83.

Полученные результаты для бутилхолинэстеразы (табл. 3S, дополнительные материалы) свидетельствуют о том, что все синтезированные соединения **5–17** связываются с TRP82 и TYR332. Кроме этого, для О-бензоильных аналогов α,β -дегидротирозина **5–8** общим для связывания являются аминокислотные остатки активного центра БуХЭ – GLY116, GLY117 и PHE329, тогда как

О-бензоил-4-имидазолины **12** и **13** связываются с ALA328, ASP70 и HIS438.

Таким образом, осуществлен синтез первичных амидов N-бензоил- α,β -дегидротирозина и их 4-имидазолонов – 2,5-дизамещенных аналогов зеленого флуоресцентного белка, которые проявляют антирадикальные и антихолинэстеразные свойства.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Температуру плавления измеряли на приборе Voetus (Германия). ИК спектры сняты в вазелиновом масле на спектрометре Specord M-80. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C растворов соединений в ДМСО-*d*₆ сняты на спектрометре Mercury-300 (300 МГц). Элементный анализ выполнен на анализаторе EuroEA3000 CHNS-O. Чистоту полученных соединений определяли методом ТСХ (на пластинках AlugramXtraSILG/UV) в системе растворителей C₆H₆–MeOH–CH₃COOH, 5:2:1, проявление – УФ лучи.

Ненасыщенные 5(4H)-оксазолы 1–4 синтезированы аналогично методу [12].

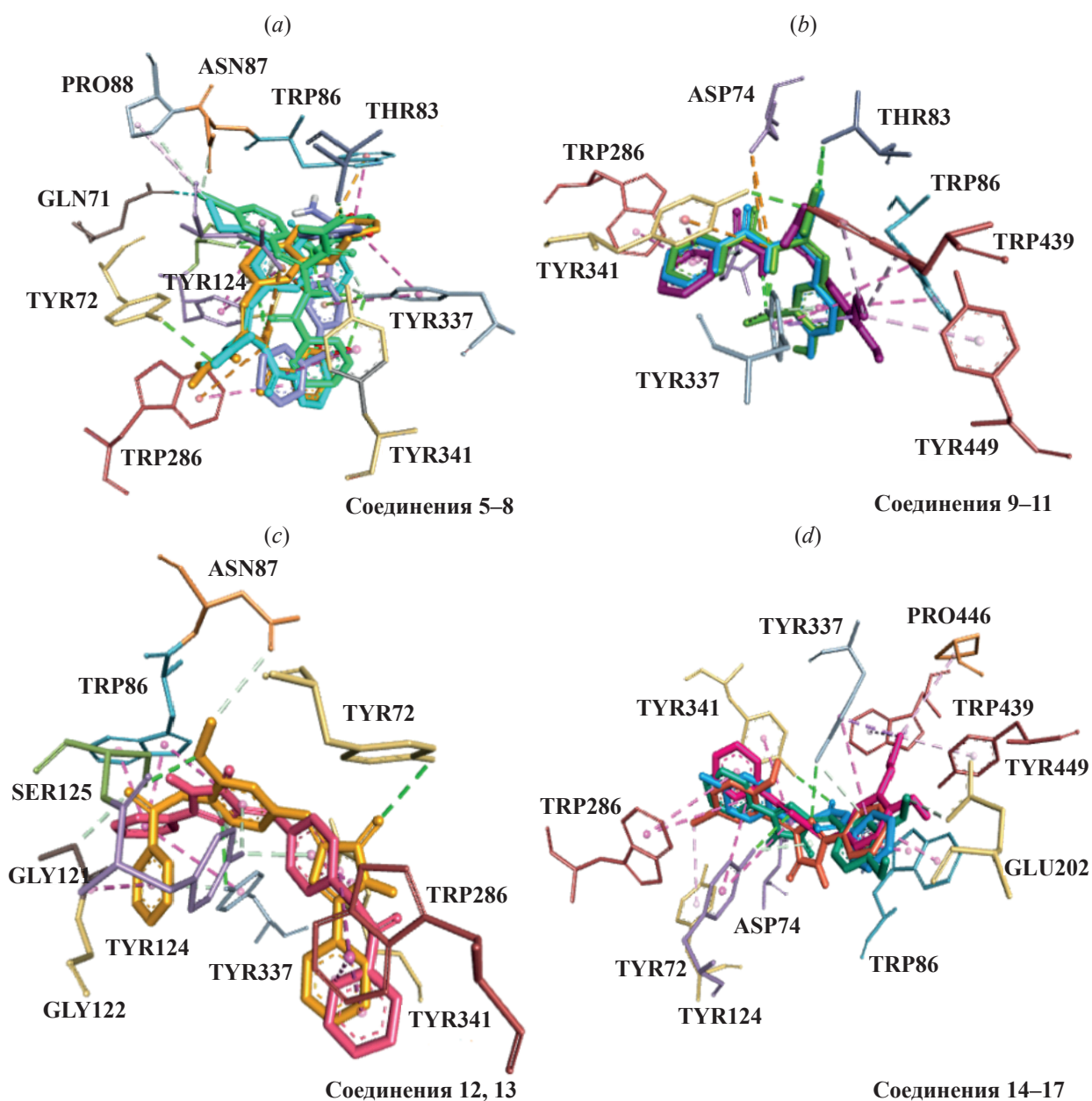


Рис. 1. Пространственное суперпозиционирование исследуемых лигандов в активном центре АХЭ: соединения 5–8 (а); соединения 9–11 (b); соединения 12, 13 (c); соединения 14–17 (d)

(Z)-4-{{5-Оксо-2-фенилоксазол-4(5H)-илиден}метил}фенилбензоат (1). Выход 9.4 г (72.8%), т.пл. 193–195°C (203–205°C [12]). R_f 0.87. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1742 (СО-эфирн.), 1799 (СО-цикл.). $\text{C}_{23}\text{H}_{15}\text{NO}_4$.

(Z)-2-Метокси-4-{{5-оксо-2-фенилоксазол-4(5H)-илиден}метил}фенилбензоат (2). Выход 3.45 г (61.6%), т.пл. 182–184°C, R_f 0.85. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1737 (СО-эфирн.), 1796 (СО-цикл.). Спектр

ЯМР ^1H , δ , м.д.: 3.95 с (3H, CH_3O), 7.22–7.27 м (1H, C_6H_3), 7.33 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.50–7.72 м (6H, C_6H_3 , C_6H_5), 7.82–7.88 м (1H, C_6H_3), 8.12–8.22 м (5H, C_6H_5). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 55.3, 115.5, 122.7, 125.0, 125.3, 127.6, 128.1, 128.5, 128.6, 129.6, 130.3, 131.9, 132.3, 132.9, 133.0, 141.7, 150.8, 162.8, 162.9, 165.9. Найдено, %: С 71.85; Н 5.05; N 6.53. $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$. Вычислено, %: С 72.35; Н 4.55; N 7.03.

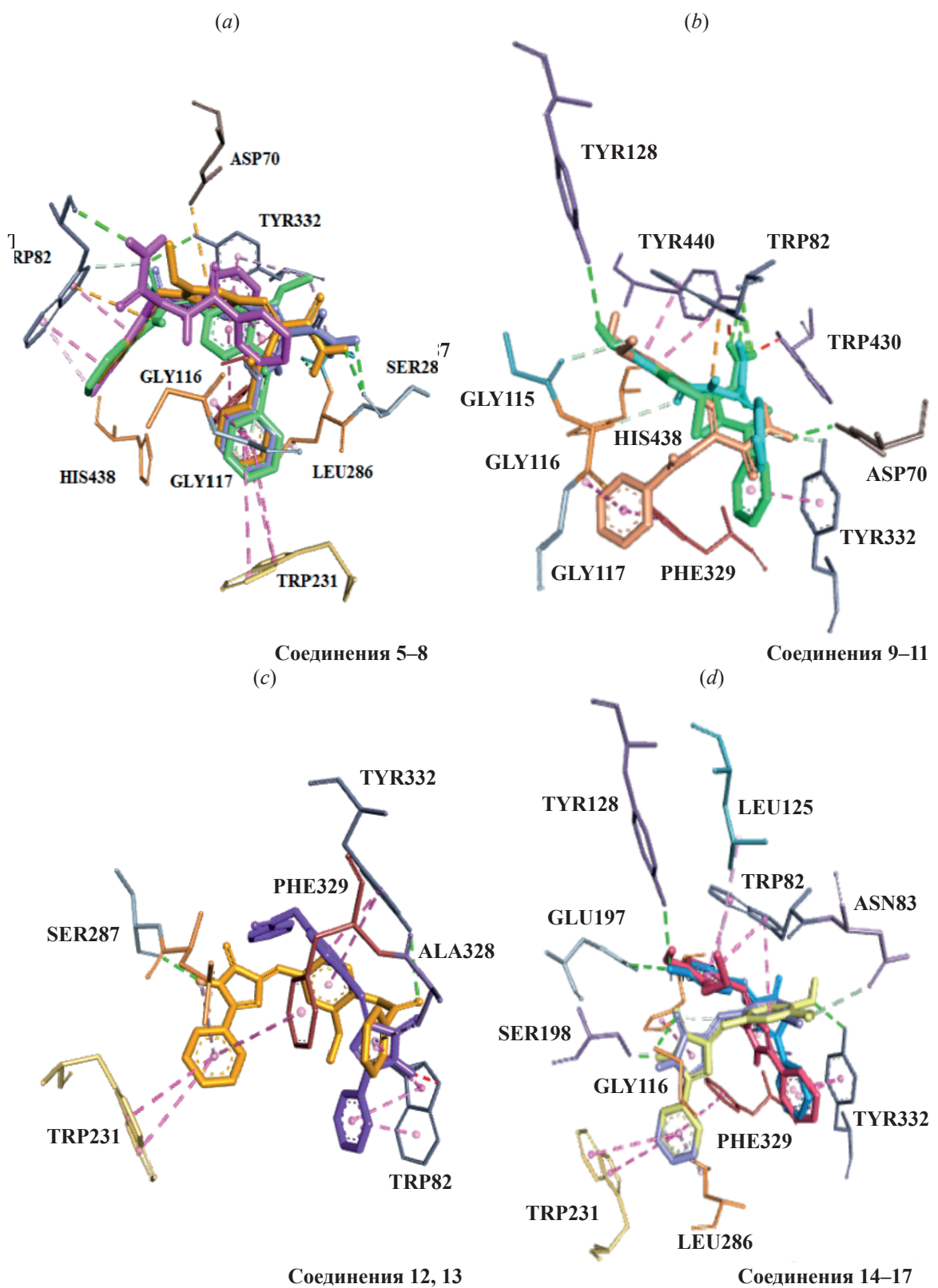


Рис. 2. Пространственное суперпозиционирование исследуемых лигандов в активном центре БуХЭ: соединения 5–8 (a); соединения 9–11 (b); соединения 12, 13 (c); соединения 14–17 (d)

(Z)-2-Этокси-4-{[5-оксо-2-фенилоксазол-4(5H)-илиден]метил}фенилбензоат (3). Выход 3.4 г (58.6%), т.пл. 177–178°C, R_f 0.81. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1736 (СО-эфирн.), 1791 (СО-цикл.). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.39 т (3H, CH_3 , J 6.9 Гц), 4.21 к (2H, CH_2 , J 6.9 Гц), 7.22–7.27 м (1H_{аром}), 7.31 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.51–7.70 м (6H_{аром}), 7.81–7.87 м (1H_{аром}), 8.11–8.20 м (5H_{аром}). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.2, 63.7, 116.5, 122.7, 125.0, 125.2, 127.6, 128.0, 128.5, 128.7, 129.5, 130.4, 131.8, 132.3, 132.8, 132.9, 142.1, 150.1, 162.7, 162.9, 165.9. Найдено, %: С 72.63; Н 5.03; N 3.79. $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{NO}_5$. Вычислено, %: С 72.63; Н 4.63; N 3.39.

(Z)-4-Бром-2-{[5-оксо-2-фенилоксазол-4(5H)-илиден]метил}фенилбензоат (4). Выход 5.73 г (63.6%), т.пл. 192–194°C, R_f 0.84. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1744 (СО-эфирн.), 1799 (СО-цикл.). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 7.19 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.26–7.36 м (1H, C_6H_3), 7.54–7.77 м (7H, C_6H_5), 8.09–8.26 м (4H, C_6H_3 , C_6H_4), 9.02–9.10 м (1H, C_6H_3). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 118.6, 120.3, 124.5, 124.6, 127.7, 127.9, 128.0, 128.4, 128.6, 129.6, 133.4, 133.7, 133.9, 134.2, 134.7, 148.9, 163.3, 164.3, 165.2. Найдено, %: С 61.13; Н 3.65; Br 17.32; N 3.62. $\text{C}_{23}\text{H}_{14}\text{BrNO}_4$. Вычислено, %: С 61.63; Н 3.15; Br 17.82; N 3.12.

Амиды N,O-дibenzoил- α,β -дегидротирозина 5–8. К раствору 0.003 моль соответствующего ненасыщенного оксазолонна **1–4** в 35 мл этилацетата добавляли 1.89 мл (1.45 г, 0.009 моль) ГМДС и смесь перемешивали 24 ч при комнатной температуре. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали водой и сушили на воздухе. Перекристаллизацию проводили из смеси гексан-этилацетат, 1:1.

(Z)-4-(3-Амино-2-бензамидо-3-оксопроп-1-ен-1-ил)фенилбензоат (5). Выход 1.04 г (89.4%), т.пл. 180–184°C. R_f 0.72. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1647 (СО-амидн.), 1734 (СО-эфирн.), 3277 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 6.97 уш.с (1H, NH_2), 7.14–7.20 м (2H, C_6H_4), 7.25 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.32 уш.с (1H, NH), 7.41–7.56 м (5H, C_6H_5), 7.60–7.69 м (3H, C_6H_5), 7.98–8.06 м (2H, C_6H_5), 8.09–8.15 м (2H, C_6H_4). Найдено, %: С 71.99; Н 4.20; N 7.75. $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$. Вычислено, %: С 71.49; Н 4.70; N 7.25.

(Z)-4-(3-Амино-2-бензамидо-3-оксопроп-1-ен-1-ил)-2-метоксифенилбензоат (6). Выход

0.534 г (42.7%), т.пл. 190–192°C, R_f 0.9. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1650 (СО-амидн.), 1742 (СО-эфирн.), 3335 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 3.59 с (3H, OCH_3), 7.00 уш.с (1H, NH), 7.04–7.19 м (2H, C_6H_3), 7.28–7.68 м (9H, C_6H_3 , C_6H_5 , NH), 8.00–8.17 м (4H, C_6H_5), 9.81 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 54.9, 112.8, 122.2, 127.6, 127.7, 128.0, 128.5, 128.7, 129.6, 129.9, 130.9, 132.9, 133.0, 133.5, 139.3, 150.4, 163.2, 165.4, 166.5. Найдено, %: С 69.72; Н 5.34; N 6.23. $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$. Вычислено, %: С 69.22; Н 4.84; N 6.73.

(Z)-4-(3-Амино-2-бензамидо-3-оксопроп-1-ен-1-ил)-2-этоксифенилбензоат (7). Выход 0.722 г (56%), т.пл. 202–205°C, R_f 0.71. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1688 (СО-амидн.), 1738 (СО-эфирн.), 3276 (NH), 3475 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.10 т (3H, CH_3 , J 7.1 Гц), 3.79 к (2H, CH_2 , J 6.9 Гц), 6.98 уш.с (1H, NH_2), 6.99 уш.с (1H, NH), 7.09 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.11–7.17 м (1H, C_6H_3), 7.40–7.68 м (9H, C_6H_3 , C_6H_5 , NH_2), 7.98–8.16 м (4H, C_6H_3 , C_6H_5), 9.81 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.0, 63.3, 113.7, 122.1, 122.3, 127.5, 127.7, 128.0, 128.5, 128.8, 129.4, 129.7, 130.8, 132.9, 133.5, 139.7, 149.6, 163.2, 165.4, 166.5. Найдено, %: С 69.26; Н 5.65; N 6.01. $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$. Вычислено, %: С 69.76; Н 5.15; N 6.51.

(Z)-2-(3-Амино-2-бензамидо-3-оксопроп-1-ен-1-ил)-4-бромфенилбензоат (8). Выход 0.740 г (52.8%), т.пл. 196–200°C, R_f 0.71. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1639 (СО-амидн.), 1738 (СО-эфирн.), 3233 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 7.01 уш.с (1H, NH_2), 7.14–7.19 м (1H, C_6H_3), 7.20 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.42 уш.с (1H, NH_2), 7.42–7.64 м (5H, C_6H_5), 7.65–7.75 м (1H, C_6H_3), 7.84–7.89 м (1H, C_6H_3), 7.91–8.00 м (3H, C_6H_5), 8.14–8.25 м (2H, C_6H_5), 9.71 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 119.6, 124.1, 127.5, 127.6, 128.3, 128.4, 129.6, 129.7, 130.8, 131.1, 131.6, 132.7, 133.4, 133.6, 147.5, 163.4, 165.4, 165.8, **177.9**. Найдено, %: С 59.87; Н 3.18; Br 17.67; N 5.52. $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{O}_4$. Вычислено, %: С 59.37; Н 3.68; Br 17.17; N 6.02.

Амиды N-бензоил- α,β -дегидротирозина 9–11. К раствору 0.002 моль соответствующего фенилбензоата **5–7** в 40 мл ацетонитрилла добавляли 0.5 мл (0.41 г, 0.004 моль) 3-(диметиламино)-1-пропиламина и кипятили с обратным холодильником 3 ч. После охлаждения к реакционной смеси

добавляли 100 мл слабокислого водного раствора соляной кислоты ($\text{pH} \approx 4.0$). Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали водой до нейтрального значения pH и сушили на воздухе.

(Z)-N-[3-Амино-1-(4-гидроксифенил)-3-оксопроп-1-ен-2-ил]бензамид (9). Выход 0.425 г (74.5%), т.пл. 242–245°C, R_f 0.23. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1643 (СО-амидн.), 3300 (NH), 3423 (OH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 6.66–6.74 м (2H, C_6H_4), 6.83 уш.с (1H, NH), 7.11 уш.с (1H, NH), 7.20 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.33–7.57 м (5H, C_6H_5), 7.97–8.08 м (2H, C_6H_4), 9.40 с (1H, NH), 9.57 с (OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 115.1, 124.8, 126.4, 127.6, 127.7, 129.9, 130.7, 130.8, 133.7, 157.9, 165.2, 167.0. Найдено, %: C 68.58; H 5.50; N 9.42. $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$. Вычислено, %: C 68.08; H 5.00; N 9.92.

(Z)-N-[3-Амино-1-(4-гидрокси-3-метокси-фенил)-3-оксопроп-1-ен-2-ил]бензамид (10). Выход 0.511 г (82.4%), т.пл. 210–213°C, R_f 0.43. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1672 (СО-амидн.), 3350 (NH), 3450 (OH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 3.53 с (3H, CH_3O), 6.69–6.76 м (1H, C_6H_3), 6.84 уш.с (1H, NH), 7.14 уш.с (1H, NH), 6.92–6.99 м (1H, C_6H_3), 7.17–7.21 м (1H, C_6H_3), 7.24 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.40–7.60 м (3H, C_6H_5), 8.02–8.12 м (2H, C_6H_5), 8.86 с (1H, NH), 9.61 с (1H, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 54.7, 112.4, 114.9, 123.8, 125.2, 126.4, 127.6, 127.7, 130.4, 130.8, 133.6, 146.9, 147.5, 165.2, 166.9. Найдено, %: C 65.88; H 5.68; N 8.47. $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$. Вычислено, %: C 65.38; H 5.16; N 8.97.

(Z)-N-[3-Амино-1-(3-этокси-4-гидрокси-фенил)-3-оксопроп-1-ен-2-ил]бензамид (11). Выход 0.554 г (85.2%), т.пл. 225–226°C, R_f 0.84. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1672 (СО-амидн.), 3351 (NH), 3454 (OH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.19 т (3H, CH_3 , J 7.0 Гц), 3.73 к (2H, OCH_2 , J 6.9 Гц), 6.69–6.75 м (1H, C_6H_3), 6.82 уш.с (1H, NH_2), 6.90–6.97 м (1H, C_6H_3), 7.11 уш.с (1H, NH_2), 7.14–7.19 м (1H, C_6H_3), 7.23 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.40–7.56 м (3H, C_6H_5), 8.03–8.11 м (2H, C_6H_5), 8.71 с (1H, OH), 9.61 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.3, 63.2, 113.5, 114.9, 123.9, 125.1, 126.3, 127.5, 127.7, 130.4, 130.7, 133.6, 146.0, 147.7, 165.1, 166.8. Найдено, %: C 65.75; H 6.06; N 8.08. $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$. Вычислено, %: C 66.25; H 5.56; N 8.58.

2-Фенил-4-(бензоилоксибензилиден)-5-имидазолы 12, 13. К раствору 0.002 моль нена-

сыщенного оксазолонa **1, 2** в 10 мл ДМФА добавляли 0.84 мл (0.65 г, 0.004 моль) ГМДС и кипятили с обратным холодильником 30 мин. После охлаждения к реакционной смеси добавляли 100 мл слабокислого водного раствора соляной кислоты ($\text{pH} \approx 4.0$), образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали водой до нейтрального значения pH и сушили на воздухе.

(Z)-4-[(5-Оксо-2-фенил-1,5-дигидро-4H-имидазол-4-илиден)метил]фенилбензоат (12). Выход 0.562 г (75.9%), т.пл. 224–227°C, R_f 0.84. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1710 (СО-цикл.), 1732 (СО-эфирн.), 3156 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 6.98 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.25–7.33 м (2H, C_6H_4), 7.46–7.60 м (5H, C_6H_5), 7.63–7.71 м (1H, C_6H_5), 8.13–8.23 м (4H, C_6H_5), 8.33–8.39 м (2H, C_6H_5), 11.95 с (1H, NH). Найдено, %: C 75.49; H 4.88; N 7.20. $\text{C}_{23}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$. Вычислено, %: C 74.99; H 4.38; N 7.60.

(Z)-2-Метокси-4-[(5-оксо-2-фенил-1,5-дигидро-4H-имидазол-4-илиден)метил]фенилбензоат (13). Выход 0.488 г (61%), т.пл. 238–240°C, R_f 0.84. ИК спектр, ν , см^{-1} : 1702 (СО-цикл.), 1739 (СО-эфирн.), 3156 (NH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 3.95 с (3H, CH_3O), 6.98 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.14–7.21 м (1H_{аром}), 7.46–7.58 м (5H_{аром}), 7.62–7.78 м (2H_{аром}), 8.11–8.21 м (4H_{аром}), 8.33–8.37 м (1H_{аром}), 11.96 с (1H, NH). Найдено, %: C 71.85; H 5.05; N 6.53. $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4$. Вычислено, %: C 72.35; H 4.55; N 7.03.

(Z)-5-(4-Гидроксибензилиден)-2-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (14). а. К раствору 0.74 г (0.002 моль) имидазолонa **12** в 50 мл ацетонитрила добавляли 0.44 мл (0.35 г, 0.004 моль) 2-(диметиламино)-1-этиламина и кипятили с обратным холодильником 3 ч. После охлаждения к реакционной смеси добавляли 100 мл слабокислого водного раствора соляной кислоты ($\text{pH} \approx 4.0$). Образовавшийся осадок **14** отфильтровывали и сушили на воздухе. Выход **14** составляет 0.432 г (81.5%).

Методом а также синтезировано соединение **15**.

б. К суспензии 1.0 г (0.002 моль) фенилбензоата **5** в 10 мл ДМФА добавляли 1.32 мл (1.02 г, 0.006 моль) ГДМС, 0.53 мл (0.3 г, 0.004 моль) 3-(диметиламино)-1-пропиламина и кипятили с обратным холодильником 1 ч. К реакционной сме-

си добавляли 70 мл слабокислого водного раствора соляной кислоты ($\text{pH} \approx 4.0$), образовавшийся осадок **14** отфильтровывали, промывали водой до нейтрального значения pH и сушили на воздухе. Выход 0.448 г (84.6%).

с. К раствору 0.74 г (0.002 моль) оксазолон **1** в 10 мл ДМФА добавляли 1.25 мл (0.97 г, 0.006 моль) ГДМС и кипятили с обратным холодильником 1.5 ч. После охлаждения к реакционной смеси добавляли 100 мл слабокислого водного раствора соляной кислоты ($\text{pH} \approx 4.0$). Образовавшийся осадок **14** отфильтровывали и сушили на воздухе. Выход 0.52 г (97.9%).

Методом с синтезированы также соединения **16**, **17**.

Т.пл. 296–299°C, R_f 0.71. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1698 (СО-цикл.), 3335 (NH), 3509 (OH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 6.79–6.86 м (2H, C_6H_4), 6.88 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.41–7.54 м (3H, C_6H_5), 8.05–8.21 м (4H, C_6H_4 , C_6H_5), 9.71 с (1H, NH), 11.74 с (1H, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 115.5, 125.5, 125.9, 126.9, 128.1, 128.5, 130.9, 133.9, 137.8, 158.2, 159.5, 171.8. Найдено, %: С 73.22; Н 5.08; N 10.10. $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С 72.72; Н 4.58; N 10.60.

(Z)-5-(4-Гидрокси-3-метоксибензилиден)-2-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (15). Выход 0.540 г (90.9%), т.пл. 221–224°C, R_f 0.78. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1702 (СО-цикл.), 3372 (NH), 3523 (OH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 3.95 с (3H, CH_3O), 6.79–6.85 м (1H, C_6H_3), 6.88 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.43–7.55 м (4H, C_6H_3 , C_6H_5), 8.10–8.18 м (3H, C_6H_3 , C_6H_5), 9.00 уш.с (1H, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 44.9, 55.1, 114.9, 115.2, 125.9, 126.0, 126.8, 127.0, 128.1, 128.4, 130.9, 137.8, 147.3, 149.2, 158.2, 171.6. Найдено, %: С 69.88; Н 5.29; N 9.02. $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$. Вычислено, %: С 69.38; Н 4.79; N 9.52.

(Z)-5-(3-Этокси-4-гидроксибензилиден)-2-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (16). Выход 0.479 г (77.2%), т.пл. 261–264°C, R_f 0.86. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1705 (СО-цикл.), 3369 (NH), 3520 (OH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.50 т (3H, CH_3 , J 7.7 Гц), 4.19 к (2H, CH_2 , J 7.0 Гц), 6.80–6.85 м (1H_{аром}), 6.87 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.45–7.56 м (4H_{аром}), 8.09–8.16 м (3H_{аром}), 9.08 с (1H, OH), 11.74 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.6, 14.6, 63.6, 115.2, 116.3, 126.0, 126.2, 126.8, 126.9, 128.1, 128.5,

130.9, 137.9, 146.4, 149.4, 158.2, 171.7. Найдено, %: С 69.62; Н 4.73; N 8.59. $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$. Вычислено, %: С 70.12; Н 5.23; N 9.09.

(Z)-5-(5-Бром-2-гидроксибензилиден)-2-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (17). Выход 0.473 г (68.54%), т.пл. 311–314°C, R_f 0.8. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1708 (СО-цикл.), 3350 (NH), 3398 (OH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 6.78–6.83 м (1H_{аром}), 7.11 с (1H, $\text{CH}=\text{C}$), 7.26–7.34 м (1H_{аром}), 7.49–7.63 м (3H_{аром}), 8.03–8.14 м (3H_{аром}), 12.26 с (1H, OH), 12.69 с (1H, NH). Найдено, %: С 56.50; Н 3.73; Br 22.78; N 7.66. $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С 56.00; Н 3.23; Br 23.28; N 8.16.

Антирадикальные свойства синтезированных соединений **5–17** определяли спектрофотометрически по методу [13].

Антихолинэстеразные свойства определяли с использованием метода [14]. В исследованиях применяли эритроцитарную АХЭ и плазменную БуХЭ человека. Измерения проводили в термостабируемой ячейке спектрофотометра «SpecordUV-Vis» при 412 нм. В опытах реакционная среда в 2.5 мл конечного объема содержала реагенты в следующих концентрациях: дистиллированная вода – 1.25 мл; 0.1М фосфатный буфер – 1 мл (pH 7.6±0.1); 0.005М раствор 5,5'-дителиобис-2-нитробензойной кислоты (ДТНБ) – 0.02 мл; 0.005М водный раствор ацетилтиохолина (АТХ) – 0.005 мл; водный раствор соответствующего фермента – 0.02 мл и 0.01М диметилсульфоксидного раствора исследуемого вещества – 0.02 мл. Для контрольных опытов раствор, содержащий фермент и ДТНБ, инкубировали 10 мин при 25°C, измеряли поглощение, после чего добавляли АТХ и повторно измеряли поглощение раствора после инкубирования в течение 20 мин при 25°C. Тестовые опыты проводили аналогично, изначально в присутствии исследуемого соединения.

Трехмерные молекулярные модели синтезированных соединений были построены с помощью программы ChemOffice версии 13.0 [15]. Минимизацию и стабилизацию полученных 3D структур проводили с использованием силовых полей MM2 [16]. Молекулярные модели исследуемых соединений были сохранены в формате *.PDB и *.SMILES. Молекулярные модели АХЭ и БуХЭ были взяты из базы данных RCSB [17].

Докинг-анализ проводили с использованием программных пакетов AutoDockVina и AutoDockTools [18], использовали методику «слепой способ». Статистическую достоверность результатов докинга обеспечивали 5-кратной повторяемостью 20 начальных конформаций для каждого соединения с объемом пространственного поиска, не превышающего 27000 \AA^3 . Значение континуума исчислений равно 500.

Конформационный анализ осуществляли с использованием программы Discovery Studio Visualizer v19.1.0.18287 [19]. Определение физико-химических и фармакокинетических параметров для исследуемых соединений проводили с использованием онлайн платформы SwissADME [20].

Компьютерный анализ токсичности исследуемых соединений проводили с использованием программного пакета PeoTOX и TOXtree [21, 11]. Процесс прогнозирования осуществляли с использованием базы данных RTECS [22].

Статистический анализ результатов исследования проводили на основе комплексного применения стандартных статистических методов, включающих вычисления стандартных отклонений, средних значений, стандартных средних ошибок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Реакцией ненасыщенных 5-(4H)-оксазолонов с 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазаном в зависимости от условий синтезированы первичные амиды N-замещенных α,β -дегидротирозина и соответствующих им 4-имидазолонов – 2,5-дизамещенных аналогов хромофора зеленого флуоресцентного белка. Полученные соединения проявляют антихолинэстеразные и антирадикальные свойства.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Топузян Виген Оникович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1721-1993>

Оганесян Армен Арамович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0879-6800>

Макичян Ани Тиграновна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0615-2542>

Унаниян Лерник Сурикович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6913-017>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Дополнительные материалы доступны на <https://www.elibrary.ru>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Meurer L.C., Finke P.E., Owens K.A., Tsou N.N., Ball R.G., Mills S.G., MacCoss M., Sadowski S., Cascieri M.A., Tsao K.L., Chicchi G.G., Egger L.A., Luell S., Metzger J.M., MacIntyre D.E., Rupiak N.M.J., Williams A.R., Hargreaves R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 4497–4503. doi 10.1016/j.bmcl.2006.06.035
2. Burgey C.S., Stump C.A., Nguyen D.N., Deng J.Z., Quigley A.G., Norton B.R., Bell I.M., Mosser S.D., Salvatore C.A., Rutledge R.Z., Kane S.A., Koblan K.S., Vacca J.P., Graham S.L., Williams T.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5052–5056. doi 10.1016/j.bmcl.2006.07.044
3. Carling R.W., Moore K.W., Moyes C.R., Jones E.A., Bonner K., Emms F., Marwood R., Patel S., Fletcher A.E., Beer M., Sohal B., Pike A., Leeson P.D. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2706–2715. doi 10.1021/jm991029k
4. Reitz D.B., Garland D.J., Norton M.B., Collins J.T., Reinhard E.J., Manning R.E., Olins G.M., Chen S.T., Palomo M.A., McMahon E.G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, *3*, 1055–1060. doi 10.1016/S0960-894X(00)80286-3
5. Naylor E.M., Parmee E.R., Colandrea V.J., Perkins L., Brockunier L., Candelore M.R., Cascieri M.A., Colwell L.F., Deng L., Feeney W.P., Forrest M.J., Hom G.J., MacIntyre D.E., Starader C.D., Tota L., Wang P.R., Wyvratt M.J., Fisher M.H., Weber A.E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 755–758. doi 10.1016/s0960-894x(99)00072-4
6. Andre's J.I., Alonso J.M., Diaz A., Fernandez J., Iturrino L., Martinez P., Matesanz E., Freyne E.J., Derosse F., Boeckx G., Petit D., Diels G., Megens A., Somers M., Wauwe J.V., Stoppie P., Cools M., Clerck F.D., Peeters D., Chaffoy D.D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 653–658. doi 10.1016/s0960-894x(01)00817-4
7. Daina A., Michielin O., Zoete V. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, article number 42717. doi 10.1038/srep42717

8. Egan W.J., Merz K.M., Baldwin J.J. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 21, 3867–3877. doi 10.1021/jm000292e
9. Lipinski C. *Drug Discov. Today Technol.* **2004**, *1*, 337–341. doi 10.1016/j.ddtec.2004.11.007
10. Martin Y.C. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3164–3170. doi 10.1021/jm0492002
11. Patlewicz G., Jeliaskova N., Safford R.J., Worth A.P., Aleksiev B. *SAR QSAR Environ Res.* **2008**, *19*, 495–524. doi 10.1080/10629360802083871
12. Abdel-Galil E., Moawad E.B., El-Mekabaty A., Said G.E. *J. Heterocycl. Chem.* **2018**, *55*, 1092–1100. doi 10.1002/jhet.3139
13. Bondet V., Brand-Williams W., Berset C., *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* **1997**, *30*, 609–615. doi 10.1006/fstl.1997.0240
14. Ellman G., Courtney K., Andres V.Jr, Feather-Stone R. *Biochem. Pharm.* **1961**, *7*, 88–95. doi 10.1016/0006-2952(61)90145-9
15. Narayanaswamy V.K., Rissdörfer M., Odhav B. *Int. J. Theor. Appl. Sci.* **2013**, *5*, 43–49. ISSN No. 2249-3247
16. Evans M.J., Moore J.S. *J. Chem. Ed.* **2011**, *88*, 764–768. doi 10.1021/ed100517g
17. Goodsell D.S., Zardecki Ch., Costanzo L.D., Duarte J.M., Hudson B.P., Persikova I., Segura J., Shao Ch., Voigt M., Westbrook J.D., Young J.Y., Burley S.K. *Protein Sci.* **2020**, *29*, 52–65. doi 10.1002/pro.3730
18. Trott O., Olson A.J. *J. Computat. Chem.* **2010**, *31*, 455–461. doi 10.1002/jcc.21334
19. Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio. San Diego: Dassault Systèmes, **2017**.
20. Daina A., Michielin O., Zoete V. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, article no. 42717. doi 10.1038/srep42717
21. <https://www.cdc.gov/niosh/rtecs/default.html>
22. Bajda M., Więckowska A., Hebda M., Guzior N., Sotriffer C.A., Malawska B. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 5608–5632. doi 10.3390/ijms14035608

Synthesis and Anticholinesterase Activity of Certain 2,5-Disubstituted Imidazol-4-ones of Green Fluorescent Protein Chromophore Derivatives

V. O. Topuzyan^a, A. A. Hovhannisyan^a, A. T. Makichyan^{a, b, *}, and L. S. Hunanyan^b

^a Scientific Technological Center of Organic and Pharmaceutical Chemistry of NAS RA,
prosp. Azatutian, 26, Yerevan, 0014 Armenia

^b Russian-Armenian University, ul. Hovsep Emina, 123, Yerevan, 0051 Armenia

*e-mail: ani.makichyan@rau.am

Received November 15, 2021; revised December 12, 2021; accepted December 16, 2021

By the reaction of 2-phenyl-4-(4benzoyloxyarylidene)-5(4*H*)oxazolones with 1,1,1,3,3,3-hexamethyl-diisilazane, depending on the reaction conditions, primary amides of *N,O*-dibenzoyl- α,β -dehydrotyrosines were synthesized (ethyl acetate, 25°C) and 2-phenyl-5-(hydroxybenzylidene)-4-imidazolones (DMF, 140°C). The antiradical and anticholinesterase properties of the synthesized compounds were studied. Compounds with a benzoyl *O*-protective group are inferior in antiradical properties to derivatives containing an α,β -dehydrotyrosine residue. Primary amides of *N*-benzoyl- α,β -dehydrotyrosines in terms of anticholinesterase properties are generally inferior to the corresponding 4-imidazolones.

Keywords: α,β -dehydroamino acid, imidazol-4-one, antiradical activity, anticholinesterase activity