Дополнительные материалы к статье

**ЦИКЛООКТАТЕТРАЕН КАК ФОТОСТАБИЛИЗАТОР ФЛУОРОГЕНА БЕЛКА FAST**

**© 2022 г. А. И. Соколов\*, \*\*, А. А. Горшкова\*, Н. С. Балеева\*, \*\*, #, М. С. Баранов\*, \*\***

\**ФГБУН “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и*

*Ю.А. Овчинникова” РАН,*

*Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

*\*\*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова,*

*Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1*

**(Z)-Этил 2-(4-(4-Гидрокси-2-метоксибензилиден)-2-метил-5-оксо-4,5-дигидро-1*Н*-**

**имидазол-1-ил)ацетат (I).** Соединение получали по описанной ранее методике [1]. 1H-ЯМР (700 МГц, DMSO-*d6*): 10.27 (уш. с., 1H), 8.65 (д, *J*2 8.8, 1H), 7.29 (с, 1H), 6.49 (дд, *J*2 8.6, 2.1,

1H), 6.46 (д, *J*2 2.1, 1H), 4.47 (с, 2H), 4.17 (кв, *J*2 7.2, 2H), 3.83 (с, 3H), 2.27 (с, 3H), 1.22 (т, *J*2

7.2, 3H).

**Этил 2-((*Z*)-4-(4-гидрокси-2-метоксибензилиден)-5-оксо-2-((*E*)-2-(пиридин-4-ил) винил)-4,5-дигидро-1*H*-имидазол-1-ил)ацетат (II).** Соединение (**I**) (4.55 г, 14.3 ммоль) растворяли в пиридине (90 мл) и добавляли к раствору 4-пиридинкарбоксиальдегид (6.73 мл,

71.5 ммоль) и пиперидин (50 мкл). Полученную смесь перемешивали при 105°C в течение 48 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и упаривали досуха. Полученный осадок очищали с помощью флеш-хроматографии (элюент хлороформ/этанол

100 : 3). Продукт дополнительно очищали с помощью перекристаллизации из горячего этилацетата. Темно-красный осадок (3.7 г, 59%); т. пл. 128–130°C. 1H-ЯМР (700 МГц,

DMSO-*d6*): 10.43 (уш. с., 1H), 8.86 (д, *J*2 8.7, 1H), 8.65 (д, *J*2 6.0, 2H), 7.92 (д, *J*2 15.8, 1H), 7.77

(д, *J*2 6.1, 2H), 7.47 (д, *J*2 15.7, 1H), 7.44 (с, 1H), 6.58 (дд, *J*2 8.7, 2.3, 1H), 6.49 (д, *J*2 2.3, 1H),

4.72 (с, 2H), 4.16 (кв, *J*2 7.1, 2H), 3.86 (с, 3H), 1.21 (т, *J*2 7.0, 3H).13С-ЯМР (176 МГц, DMSO-

*d6*): 169.4, 168.2, 162.5, 161.1, 156.4, 150.2, 149.3, 142.2, 136.3, 135.1, 134.4, 121.9, 121.2, 118.5,

114.3, 109.0, 98.7, 61.3, 55.7, 41.2, 13.9. HRMS (ESI), *m*/*z*: найдено *М*, 408.1561; рассчитано

+

+

для C22H22N3O5 , [*M* + H]

408.1554.

**2-((*Z*)-4-(4-Гидрокси-2-метоксибензилиден)-5-оксо-2-((*E*)-2-(пиридин-4-ил)винил)-**

**4,5-дигидро-1*H*-имидазол-1-ил)уксусная кислота (в виде соли триэтиламмония) (III).**

Соединение (**II**) (2.95 г, 7 ммоль) растворяли в метаноле (30 мл) и добавляли раствор гидроксида натрия (672 мг, 16.8 ммоль) в воде (4 мл). Полученную смесь перемешивали при

1

комнатной температуре в течение 24 ч. Реакционную смесь разбавляли соляной кислотой

(2 М водный раствор) до рН 5.0 и упаривали досуха. Полученный сухой остаток растворяли в смеси хлористый метилен/изопропанол (1 : 1), содержащей 7% триэтиламина, и пропускали через силикагель. Фильтрат упаривали и промывали диэтиловым эфиром (3 × 20 мл). Темно- красный осадок (5.22 г, 84%); т. пл. 138–141°C. 1H-ЯМР (700 МГц, DMSO-*d6*): 8.84 (д, *J*2 8.7,

1H), 8.62 (д, *J*2 6.1, 2H), 7.88 (д, *J*2 15.8, 1H), 7.77 (д, *J*2 6.2, 2H), 7.44 (д, *J*2 15.8, 1H), 7.41 (с,

1H), 6.61 (дд, *J*2 8.7, 2.2, 1H), 6.53 (д, *J*2 2.3, 1H), 4.55 (с, 2H), 3.85 (с, 3H). 13С-ЯМР (176 МГц,

DMSO-*d6*): 169.8, 169.6, 162.6, 161.0, 157.0, 150.2, 149.3, 142.3, 135.9, 135.4, 134.3, 122.8,

121.9, 120.8, 118.9, 114.3, 109.1, 98.8, 55.7, 52.1. HRMS (ESI), *m*/*z*: найдено *М*, 380.1234;

+

+

рассчитано для C20H18N3O5 , [*M* + H]

380.1241.

***Трет*-бутил (2-(2-((*Z*)-4-(4-гидрокси-2-метоксибензилиден)-5-оксо-2-((*E*)-2-**

**(пиридин-4-ил)винил)-4,5-дигидро-1*H*-имидазол-1-ил)ацетамидо)этил)карбамат (IV).** Соединение (**III**) (4.83 г, 5.57 ммоль в пересчете на чистое вещество), HBTU (2.59 г, 6.83 моль), ДИПЭА (1.19 мл, 6.83 ммоль) и *N*-Boc-этилендиамин (1.07 мл, 6.6 ммоль) растворяли в ацетонитриле (70 мл) и перемешивали в инертной атмосфере в течение 12 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь упаривали, полученный остаток растворяли в смеси

хлористый метилен/этанол (10 : 1) и пропускали через слой силикагеля. Фильтрат упаривали, полученный продукт перекристаллизовывали из смеси этилацетат/гексан. Продукт дополнительно очищали с помощью флеш-хроматографии (градиент хлороформ/этанол от

100 : 2 до 100 : 5). Светло-красный порошок (585 мг, 20%); т. пл. 216–218°C с разложением.

1H-ЯМР (700 МГц, DMSO-*d6*): 10.41 (уш. с., 1H), 8.85 (д, *J*2 8.7, 2H), 8.64 (д, *J*2 6.0, 2H), 8.27

(т, *J*2 5.7, 1H), 7.88 (д, *J*2 15.8, 2H), 7.76 (д, *J*2 5.4, 2H), 7.41 (с, 1H), 7.33 (д, *J*2 15.8, 1H), 6.80 (с,

2H), 6.57 (дд, *J*2 8.7, 2.3, 1H), 6.49 (д, *J*2 2.3, 1H), 4.46 (с, 2H), 3.87 (с, 3H), 3.17–3.08 (м, 2H),

3.04–2.98 (м, 2H), 1.38 (с, 9H). 13С-ЯМР (176 МГц, DMSO-*d6*): 169.6, 166.9, 162.4, 160.9, 157.2,

155.7, 150.2, 142.3, 135.7, 135.5, 134.3, 121.8, 120.7, 119.1, 114.4, 109.0, 98.7, 77.7, 55.7, 42.1,

28.2 (отсутствие некоторых сигналов объясняется перекрытием с сигналами остаточных количеств растворителей). HRMS (ESI), *m*/*z*: найдено *М*, 522.2344; рассчитано для

+

+

C20H18N3O5 , [*M* + H]

522.2347.

***N*-(2-Аминоэтил)-2-(4-((*Z*)-4-гидрокси-2-метоксибензилиден)-5-оксо-2-((*E*)-2-**

**(пиридин-4-ил) винил)-4,5-дигидро-1*H*-имидазол-1-ил)ацетамид гидрохлорид (V).** Соединение (**IV**) (195 мг, 0.374 ммоль) суспензировали в тетрагидрофуране (15 мл), добавляли соляную кислоту (204 мкл, 1.122 ммоль, 5.5 М раствор в диоксане) и метанол (30 мкл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Затем реакционную смесь упаривали, полученный продукт очищали с помощью флеш-

хроматографии (элюент – этилацетат/изопропанол/вода, 4 : 3 : 1). Темно-красный порошок

2

(156 мг, 91%); т. пл. ~330°C. 1H-ЯМР (700 МГц, DMSO-*d6*): 8.85 (д, *J*2 8.7, 1H), 8.62 (д, *J*2 6.0,

2H), 8.58 (т, *J*2 5.7, 1H), 7.88 (д, *J*2 15.8, 1H), 7.83 (д, *J*2 6.1, 2H), 7.49 (д, *J*2 15.8, 1H), 7.40 (с,

1H), 6.59 (дд, *J*2 8.7, 2.3, 1H), 6.50 (д, *J*2 2.3, 1H), 4.60 (с, 2H), 3.86 (с, 3H), 3.36–3.33 (м, 2H),

2.87 (т, *J*2 6.2, 2H). 13С-ЯМР (176 МГц, DMSO-*d6*): 169.6, 167.5, 162.6, 160.9, 157.4, 150.2,

142.4, 135.7, 135.5, 134.3, 122.1, 120.6, 119.4, 114.3, 109.1, 98.8, 55.7, 42.2, 38.4, 36.6. HRMS

(ESI), *m*/*z*: найдено *М*, 422.1829; рассчитано для C22H24N5O4 , [*M* + H]

+

+

422.1823.

**1,3,5,7-Циклооктатетраен-1-карбоновая кислота (VI).** 1-Бром-1,3,5,7-

циклооктатетраен (соединение синтезировали по описанной ранее методике [2]) (1.28 г, 7 ммоль) растворяли в 15 мл безводного тетрагидрофурана в инертной атмосфере и охлаждали до –80°C. К раствору прикапывали *н*-бутиллитий (3.1 мл, 2.5 M раствор в гексане, 7.75 ммоль), перемешивали полученную смесь при –80°C в течение 1 ч. Затем газообразный CO2 барботировали через реакционную смесь в течение 30 мин, полученную смесь нагревали до комнатной температуры в течение 30 мин. Реакционную смесь разбавляли диэтиловым эфиром (100 мл), полученный раствор промывали соляной кислотой (100 мл, 0.2 M водный раствор). Водную фазу экстрагировали диэтиловым эфиром (50 мл). Объединенные эфирные вытяжки высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью флеш-хроматографии (градиент – от этилацетат/гексан

1 : 4 до этилацетат). Желтый порошок (324 мг, 31%). 1H-ЯМР (700 МГц, CDCl3): 10.64 (уш. с., 1H), 7.15 (уш. с., 1H), 6.12–5.84 (м, 5H), 5.83–5.77 (м, 1H) [3].

**1,3,5,7-Циклооктатетраен-1-карбоксиальдегид (VII).** 1-Бром-1,3,5,7- циклооктатетраен (соединение синтезировали по описанной ранее методике [2]) (1.11 г, 6.06 ммоль) растворяли в 15 мл безводного тетрагидрофурана в инертной атмосфере и охлаждали до –80°C. К раствору прикапывали *н*-бутиллитий (2.9 мл, 2.5 M раствор в гексане, 7.25 ммоль), полученную смесь перемешивали при –80°C в течение 1 ч. Затем к раствору прикапывали *N*,*N*-диметилформамид (0.94 мл, 12.12 ммоль), полученную смесь перемешивали при –80°C в течение 30 мин и нагревали до комнатной температуры в течение

30 мин. Полученную реакционную смесь разбавляли диэтиловым эфиром (100 мл) и промывали соляной кислотой (100 мл, 1 М водный раствор). Водную фазу экстрагировали диэтиловым эфиром (50 мл). Объединенные эфирные вытяжки промывали насыщенным раствором хлорида натрия, высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью флеш-хроматографии (градиент – от гексан до гексан/хлороформ 3 : 1). Желтоватое масло (520 мг, 65%). 1H-ЯМР (700 МГц, CDCl3): 9.47 (с, 1H), 6.75 (уш. с., 1H), 6.19–5.80 (м, 5H), 5.80–5.71 (м, 1H) [4].

**1,3,5,7-Циклооктатетраен-1-илметанол (VIII).** Соединение (**VII**) (1.23 г, 9.28 ммоль)

и натрий боргидрид (176 мг, 4.64 ммоль) растворяли в смеси тетрагидрофурана (23 мл) и

3

воды (0.9 мл) в инертной атмосфере. Полученную реакционную смесь перемешивали в

течение 4 ч при комнатной температуре. Затем смесь разбавляли диэтиловым эфиром (50 мл) и промывали соляной кислотой (100 мл, 1 М водный раствор). Органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью флеш-хроматографии (градиент –гексан/этилацетат от

1 : 0 до 4 : 1). Желтоватое масло (1.07 г, 86%). 1H-ЯМР (700 МГц, CDCl3): 5.96–5.89 (м, 1H),

5.87–5.75 (м, 6H), 4.04 (д, *J*2 2.8, 2H), 1.42 (уш. с., 1H) [3].

**2-((1*E*,3*Z*,5*Z*,7*Z*)-Циклоокта-1,3,5,7-тетраен-1-илметокси)уксусная кислота (IX).** Соединение (**VIII**) (1.07 г, 8 ммоль) растворяли в диметилформамиде (30 мл) в инертной атмосфере и охлаждали до –10°C. Затем к реакционной смеси добавляли гидрид натрия (640 мг, 60% в минеральном масле, 16 ммоль) и перемешивали в течение 10 мин. Далее к реакционной смеси добавляли этилбромацетат (1.77 мл, 16 ммоль), полученную смесь

перемешивали при –10°C в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли диэтиловым эфиром (50 мл), промывали соляной кислотой (2 × 50 мл, 1 М водный раствор) и насыщенным раствором хлорида натрия (3 × 50 мл). Органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный остаток растворяли в метаноле (20 мл) и добавляли раствор гидроксида натрия (1.17 мг, 29.2 ммоль) в воде (0.5 мл). Полученную смесь перемешивали 3 ч при комнатной температуре. Затем реакционную смесь разбавляли соляной кислотой (100 мл, 1 М водный кислотой) и интенсивно перемешивали. Полученный раствор экстрагировали этилацетатом (70 мл). Водный слой экстрагировали хлористым метиленом (50 мл). Объединенные органические вытяжки высушивали над безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученный продукт дополнительно очищали с помощью флеш-хроматографии (градиент – от этилацетат/гексан 5 : 95 до этилацетат). Желтоватое масло (828 мг, 59%). 1H-ЯМР (700 МГц, CDCl3): 5.96–5.89 (м, 1H), 5.87–5.74 (м, 6H), 4.15 (с,

2H), 4.06 (с, 2H). 13С-ЯМР (176 МГц, CDCl3): 175.5, 139.1, 133.3, 132.4, 132.3, 131.8, 131.6,

+

131.3, 131.1, 74.6, 65.8. HRMS (ESI), *m*/*z*: найдено *М*, 191.0714; рассчитано для C11H11O3 , [*M*

+ H]+ 191.0714.

**(1*E*,3*Z*,5*Z*,7*Z*)-*N*-(2-(2-((*Z*)-4-(4-Гидрокси-2-метоксибензилиден)-5-оксо-2-((*E*)-2-**

**(пиридин-4-ил)винил)-4,5-дигидро-1*H*-имидазол-1-ил)ацетамидо)этил)циклоокта-**

**1,3,5,7-тетраен карбоксоамид (X).** Темно-красный порошок (51 мг, 31%); т. пл. 214–216°C.

1H-ЯМР (700 МГц, DMSO-*d6*): 10.38 (с, 1H), 8.85 (д, *J*2 8.7 Гц, 1H), 8.64 (д, *J*2 5.1 Гц, 2H), 8.31 (с, 1H), 7.88 (д, *J*2 15.8 Гц, 1H), 7.76 (д, *J*2 5.9 Гц, 2H), 7.66 (с, 1H), 7.40 (с, 1H), 7.35 (д, *J*2 15.8

Гц, 1H), 6.60 (уш. с., 1H), 6.57 (дд, *J*2 8.7, 2.3 Гц, 1H), 6.48 (д, *J*2 2.3 Гц, 1H), 5.97 (уш. с., 1H),

5.90–5.82 (м, 4H), 5.80–5.76 (м, 1H), 4.46 (с, 2H), 3.86 (с, 3H), 3.18 (уш. с., 4H). 13С-ЯМР (176

МГц, DMSO-*d6*): 169.6, 167.1, 165.4, 162.2, 160.9, 157.2, 150.2, 142.3, 137.3, 135.7, 135.5,

4

134.3, 131.9, 121.8, 120.6, 119.0, 114.4, 108.9, 98.7, 55.6, 42.2, 38.9, 38.4. HRMS (ESI), *m*/*z*:

найдено *М*, 552.2243; рассчитано для C31H30N5O5+, [*M* + H]+ 552.2241.

**2-((1*E*,3*Z*,5*Z*,7*Z*)-Циклоокта-1,3,5,7-тетраен-1-илметокси)-*N*-(2-(2-((*Z*)-4-(4- гидрокси-2-метоксибензилиден)-5-оксо-2-((*E*)-2-(пиридин-4-ил)винил)-4,5-дигидро-1*H*- имидазол-1-ил)ацетамидо)этил)ацетамид (XI).** Темно-красный порошок (122 мг, 68%);

т. пл. ~250°C с разложением. 1H-ЯМР (700 МГц, DMSO-*d6*): 10.38 (с, 1H), 8.85 (д, *J*2 8.7 Гц,

1H), 8.63 (д, *J*2 6.1 Гц, 2H), 8.30 (т, *J*2 5.7 Гц, 1H), 7.87 (д, *J*2 15.8 Гц, 1H), 7.78–7.73 (м, 3H),

7.40 (с, 1H), 7.34 (д, *J*2 15.8 Гц, 1H), 6.56 (дд, *J*2 8.7, 2.2 Гц, 1H), 6.48 (д, *J*2 2.3 Гц, 1H), 5.76 (уш. с., 7H), 4.45 (с, 2H), 3.88 (с, 2H), 3.86 (с, 3H), 3.82 (с, 2H) (отсутствие некоторых характеристических сигналов объясняется перекрытием с сигналами остаточных количеств растворителей). 13С-ЯМР (176 МГц, DMSO-*d6*): 169.6, 167.1, 165.4, 162.2, 160.9, 157.2, 150.2,

142.3, 137.3, 135.7, 135.5, 134.3, 131.9, 121.8, 120.6, 119.0, 114.4, 108.9, 98.7, 55.6, 42.2, 38.9,

38.4. HRMS (ESI), *m*/*z*: найдено *М*, 596.2488; рассчитано для C33H34N5O6+, [*M* + H]+ 596.6635.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Zaitseva E.R., Smirnov A.Yu., Myasnyanko I.N., Sokolov A.I., Baranov M.S.* // Chem. Heterocycl. Compd. 2020. V. 56. P. 116–119. https://doi.org/10.1007/s10593-020-02634-3

2. *Gasteiger J., Gream G.E., Huisgen R., Konz W.E., Schnegg U.* // Chem. Ber. 1971. V. 104. P. 2412–2419. https://doi.org/10.1002/cber.19711040809

3. *Houston S.D., Xing H., Bernhardt P.V., Vanden Berg T.J., Tsanaktsidis J., Savage G.P., Williams C.M.* // Chem. Eur. J. 2019. V. 25. P. 2735–2739. https://doi.org/10.1002/chem.201805124

4. *Sanders D.C., Marczak A., Melendez J.L., Shechter H*. // J. Org. Chem. 1987. V. 52. P.

5622–5624. https://doi.org/10.1021/jo00234a022

5