

# ПРИМЕНЕНИЕ БЕНЗОИЛЬНОЙ О-ЗАЩИТНОЙ ГРУППЫ ПРИ СИНТЕЗЕ $\alpha,\beta$ -ДЕГИДРОТИРОЗИНСОДЕРЖАЩИХ АМИДОВ И ИМИДАЗОЛОНОВ

© 2022 г. В. О. Топузян<sup>a</sup>, А. А. Оганнесян<sup>a</sup>, А. Т. Макичян<sup>a, b, \*</sup>,  
Л. С. Унанян<sup>b</sup>, Л. Х. Галстян<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА,  
Армения, 0014 Ереван, просп. Азатутян, 26

<sup>b</sup> ГОУ ВПО Российско-Армянский университет, Армения, 0051 Ереван, ул. Овсена Эмина, 123

<sup>c</sup> Ереванский государственный университет, Армения, 0025 Ереван, ул. Алека Манукяна, 1  
\*e-mail: ani.makichyan@rau.am

Поступила в редакцию 23.08.2021 г.

После доработки 19.11.2021 г.

Принята к публикации 22.11.2021 г.

Изучена возможность применения О-бензоильной защитной группы для синтеза как бензиламида *N*-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидротирозина, так и соответствующего 5-имидазолон. Отмечено, что реакция 4-(4-бензоилоксибензилиден)-5(4*H*)-оксазолон с бензиламином протекает с сохранением О-бензоильной защитной группы. Последняя удаляется с помощью 2-(диметиламино)-1-этиламино или 3-(диметиламино)-1-пропиламино. В случае же циклизации бензиламида *N*,*O*-добензоил- $\alpha,\beta$ -дегидротирозина в (*Z*)-3-бензил-5-(4-гидроксибензилиден)-2-фенил-3,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-он с помощью 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазана наблюдается расщепление О-бензоильной защиты. Изучены антирадикальные и антихолинэстеразные действия синтезированных соединений.

**Ключевые слова:** О-защитная группа,  $\alpha,\beta$ -дегидроаминокислота, 5(4*H*)-оксазолон, имидазол-4-он, амиды, антирадикальная активность, антихолинэстеразная активность

**DOI:** 10.31857/S0514749222020112

## ВВЕДЕНИЕ

Производные  $\alpha,\beta$ -дегидроаминокислот представляют интерес как синтетические предшественники для синтеза различных классов соединений, так и как физиологически активные соединения. В этом ряду особое место занимают производные дегидроаминокислот, содержащие остаток  $\alpha,\beta$ -дегидротирозина. Настоящая работа посвящена изысканию метода синтеза бензиламида *N*-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидротирозина и его циклического аналога – 4-[(1-бензил-5-оксо-2-фенил-1,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-илиден)метил]фенилбензоата как аналога хромофора зеленого флуоресцирующего белка (ХЗФБ). Ранее при синтезе производных ХЗФБ

в качестве О-защиты  $\alpha,\beta$ -дегидротирозинового остатка применялись ацетильная [1–3] или *трет*-бутилдиметилсилильная [1, 4–6] группы. В работах [7, 8] описаны методы удаления метильной группы из метокси производного ХЗФБ. По данным [9], где синтез производных ХЗФБ осуществлен 2+3 циклоконденсацией арилидениминов и илидов, не применялась защита фенольной гидроксильной группы.

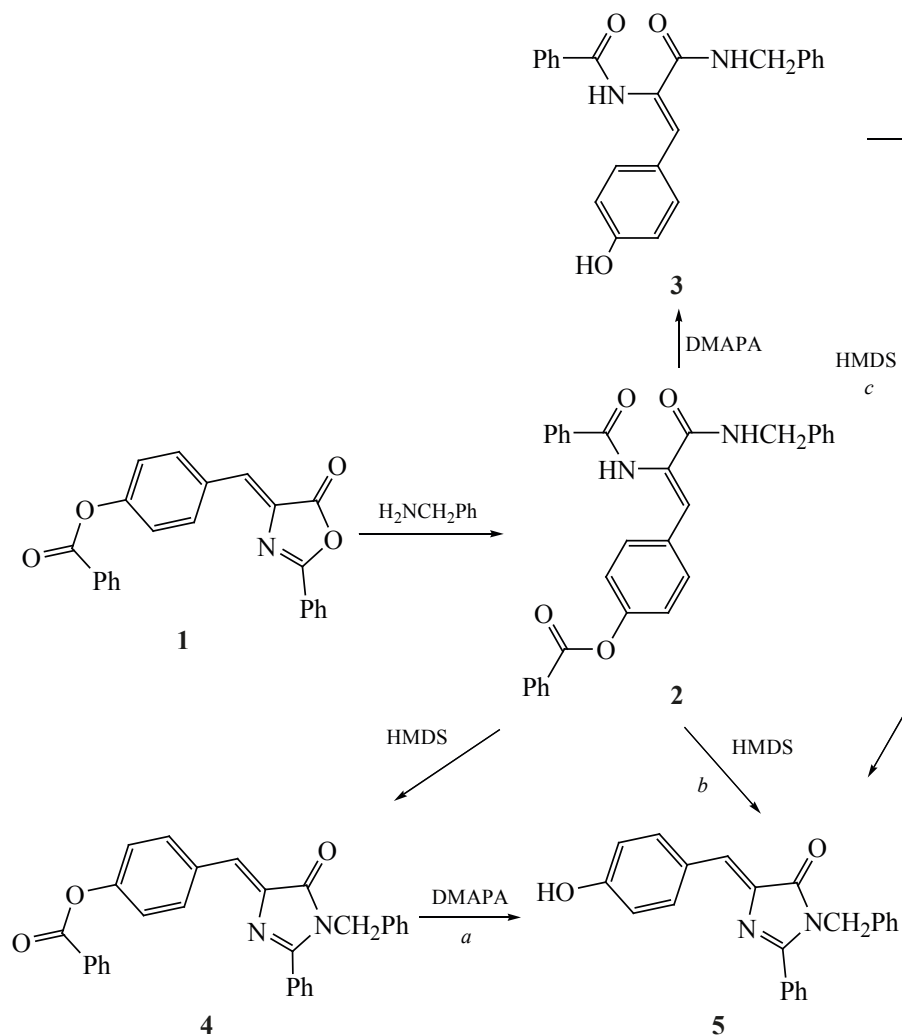
Нами изучена возможность применения О-бензоильной защитной группы для синтеза как бензиламида *N*-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидротирозина, так и соответствующего имидазол-4-она.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез бензиламида N,O-дibenzoил- $\alpha,\beta$ -дегидротирозина (**2**) осуществлен взаимодействием 4-[5-оксо-2-фенилоксазол-4(5*H*)-илиден]фенилбензоата (**1**) с бензиламином при комнатной температуре в диметилформамиде (схема 1). При этом установлено, что при соотношении оксазолонна **1** и бензиламина 1:1 в течение 24 ч выход бензиламида **2** составляет 39%, тогда как увеличение количества бензиламина до 3 эквивалентов в течение 3 ч приводит к образованию амида **2** с выходом 81%. В последнем случае увеличение реакционного времени до 24 ч приводит к 99% образованию амида **2**. В этих условиях O-бензоильная группа амида **2** сохраняется.

Удаление O-бензоильной защитной группы из бензиламида **2** осуществлен с помощью 3-(диметиламино)-1-пропиламина (ДМАПА) или 2-(диметиламино)-1-этиламина (ДМАЭА) при комнатной температуре в ацетонитриле в течение 24 ч. На примере синтеза бензиламида N-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидротирозина **3** установлено, что при применении ДМАЭА для удаления бензоильной O-защиты из амида **2** в течение 8 ч целевой продукт **3** получается с выходом 76%. Увеличение длительности времени реакции до 24 ч приводит к образованию амида **3** с выходом 94%. В случае применения ДМАПА в течение 24 ч целевой продукт **3** получается с выходом 92%. В последнем случае кипячение реакционной смеси в течение 2.5 ч выход амида  $\alpha,\beta$ -дегидротирозина составляет 78%.

Схема 1



Синтез 4-[(1-бензил-5-оксо-2-фенил-1,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-илиден)метил]фенилбензоата (**4**) осуществлен предложенным нами ранее методом – кипячением смеси амида **2** с 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазаном (ГМДС) в диметилформамиде в течение 0.5 ч [10]. При этом получена смесь имидазолонов **4** и **5**. Обработкой реакционной смеси удалось выделить имидазолон **4** с выходом 45%. Однако, в случае удлинения времени реакции до 1.5 ч процесс приводит к образованию имидазол-4-она **5** с выходом 70%. Очевидно, что при взаимодействии ГМДС и амида **3** протекают две параллельные реакции – циклизация и удаление *O*-бензоильной защитной группы (метод *b*). Синтез имидазол-4-она **5** нами был осуществлен также из соединения **4** с помощью ДМАПА с выходом 75% (метод *a*) или циклизацией бензиламида  $\alpha,\beta$ -дегидротирозина **3** с помощью ГМДС (метод *c*). В последнем случае выход целевого продукта **5** составляет 83%.

Исследованы антирадикальные и антихолинэстеразные действия соединений **2–5** (табл. 1). Исследования антирадикальных свойств проводились с помощью их реакции со свободным стабильным радикалом 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ•) в среде метанола при температуре 25°C и соотношении реагентов 1:1. Измерения проводились спектрофотометрическим методом [11]. Для количественной оценки антирадикальной активности (АРА%) использовали формулу (1):

$$\text{АРА}\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100, \quad (1)$$

где  $A_0$  – оптическая плотность раствора при отсутствии ингибитора;  $A_1$  – оптическая плотность раствора на данный момент в присутствии ингибитора.

Из синтезированных соединений **2–5** сравнительно высокую антирадикальную активность проявляет бензиламид *N*-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидротирозина (**3**). Это вещество также обладает сравнительно высоким ингибирующим свойством по отношению к ацетилхолинэстеразе (АХЭ). В случае бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) сравнительно высокую ингибирующую активность проявляет (*Z*)-4-[(1-бензил-5-оксо-2-фенил-1,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-илиден)метил]фениловый эфир бензойной кислоты (**4**).

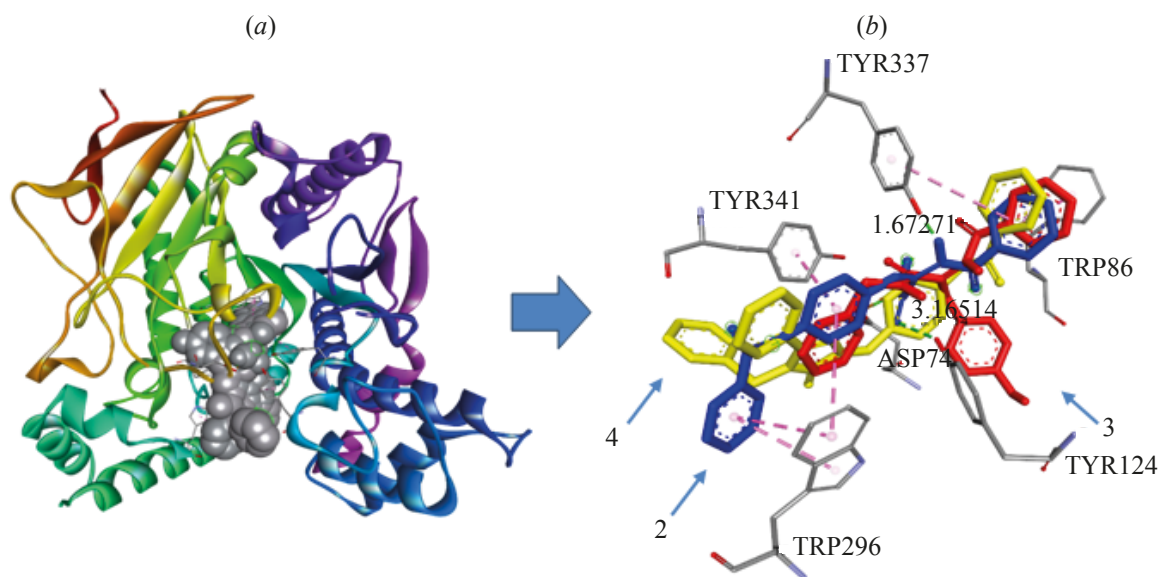
В целом, данные приведенные в табл. 1 показывают, что переход от *O*-бензоильных производных (**2** и **4**) к незащищенным аналогам **3** и **5** приводит к увеличению антирадикальной активности. Такое положение сохраняется в случае антихолинэстеразных свойств бензиламидов **2** и **3**. В случае же имидазолонов **4** и **5** при изучении антихолинэстеразной активности наблюдается обратная картина.

На основе дескрипторов, рассчитывающие значения физико-химических и фармакокинетических параметров, при помощи платформ SwissADME [12] и ADMETSar [13], были получены значения молекулярного веса, число доноров и акцепторов водородных связей (табл. 1S, дополнительные материалы). Необходимо отметить, что молекулярный вес исследуемых соединений не превышает 500 г/моль, что характерно для малых молекул. С точки зрения образования донор – акцепторных связей соединение **5**, по сравнению с остальными, не имеет атомов доноров, при этом показывая наличие трех акцепторов. Были рассчитаны значения топологической площади полярной поверхности молекулы и липофильности, что является важным при процессе предсказания биоактивности.

Рассчитанные фармакокинетические значения соединений свидетельствуют, что показатель

**Таблица 1.** Данные антирадикальных и антихолинэстеразных свойств соединений **2–5**

Соединение	Ингибирование, %		
	ДФПГ•	АХЭ	БуХЭ
<b>2</b>	43.1	63.6	28.7
<b>3</b>	85.1	76.6	40.5
<b>4</b>	6.86	43.0	54.5
<b>5</b>	16.2	37.0	16.1



**Рис. 1.** Взаимодействие соединений **2**, **3**, **4** с активным центром АХЭ: (а) место связывания исследуемых соединений; (б) суперпозиционирование пространственных положений исследуемых лигандов в активном центре мишени

всасываемости через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) на основе метода оценки проницаемости Эгана [14] имеет высокое значение для всех исследуемых соединений, что касается перехода через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), соединение **2** показывает отрицательный результат.

Необходимо отметить, что все соединения соответствуют критерию «правила пяти» Липинского [15]. Было рассчитано также значение биодоступности, которое составило 0.55 по шкале Abbot (ABS) [16]. С точки зрения оценки свойств «соединения лидера», все соединения не соответствуют данному критерию. Был рассчитан также коэффициент синтетической доступности.

Одним из важнейших критериев оценки биоактивности является определение токсичности. Нами был произведен прогноз возможной токсичности для всех четырех соединений, результаты которых приведены в табл. 2S (дополнительные материалы). По оценке мутагенности соединение **3** имеет положительный результат, а прогноз канцерогенности у всех соединений отрицателен. По оценке раздражительности на кожу и глаза у всех исследуемых соединений наблюдается отрицательный результат, при этом все они показывают умеренную гепатотоксичность.

Были рассчитаны также значения экотоксичности. Результаты свидетельствуют, что все исследу-

емые соединения имеют высокое значение коэффициента биоразложения и не являются пестицидами, хотя все они могут являться токсичными для рыб, а соединение **5** также проявляет токсичность к ракообразным.

На основе полученных нами результатов молекулярного докинга было выявлено, что кроме соединения **5** все исследуемые соединения взаимодействуют с активным центром АХЭ. Были получены пространственно-энергетические характеристики взаимодействия для всех комплексов и построены конформационные карты комплексообразования. Необходимо отметить, что пространственное расположение соединений в активном центре параллельно оси «кувшина» образующий активный центр (рис. 1). В основном, преобладает электростатический тип взаимодействия. Наблюдаются также гидрофобные взаимодействия с аминокислотными остатками формирующие активный центр белка мишени. Определены также единичные водородные связи при взаимодействии. Соединение **2** образует водородную связь с Tyr337 и Tyr124 с дистанцией 1.67 и 3.11 Å соответственно. Гидрофобный тип связывания наблюдается с Tyr341, Trp286, Trp86, которые играют важную роль в процессе катализа ацетилхолина. У соединения **3** водородная связь наблюдается с Tyr124 и Gln71 с дистанциями 1.87

и 2.31 Å соответственно. Гидрофобные взаимодействия осуществляются с вовлечением аминокислотных остатков Trp341, Trp286.

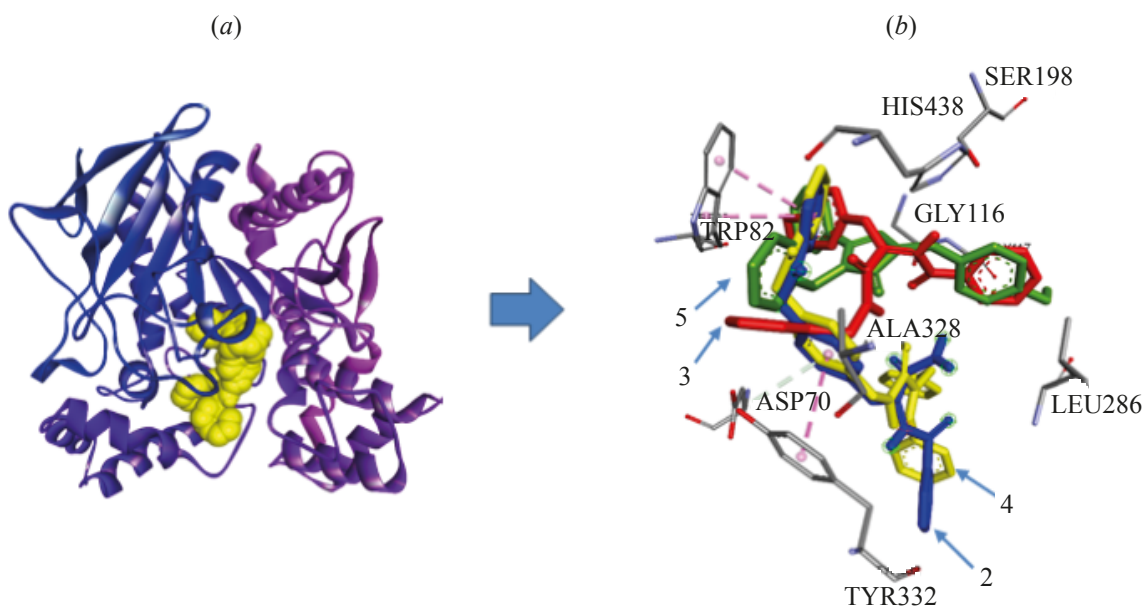
Для данного соединения взаимодействие с Trp86 происходит за счет связи  $\pi$ -акцепторного типа. Данный тип связи, в основном, эффективно осуществляется с вовлечением Trp86 в боковых цепях белка, которая может принимать одну водородную связь [17]. Водородная связь у соединения 4 образуется с Trp72 с дистанцией 2.78 Å. Leu76, Trp86, Trp286 и Val294 проявляют гидрофобный тип взаимодействия. Интересно, что соединения 2 и 4 связываются с высоко консервативным Asp74, входящий в состав активного центра АХЭ, проявляя  $\pi$ -анионный тип связи. Известно, что такой тип связи присущ ряду нейротрансмиттеров при стабилизации связывания нейромедиаторами [18].

Полученные результаты для БуХЭ свидетельствуют, что все четыре соединения 2–5 связываются с активным центром белка (рис. 2). Как в случае с АХЭ, у БуХЭ преобладают электростатические силы взаимодействия при комплексообразовании.

Известно, что активный центр БуХЭ по объёму больше по сравнению с АХЭ и составляет  $501.91 \text{ \AA}^3$ , тогда как объем активного центра АХЭ равен  $302.31 \text{ \AA}^3$  [19], что дает возможность более свободному расположению лигандов в ак-

тивном центре. Полученные нами результаты пространственного расположения исследуемых соединений в активном центре тому подтверждение. Расположение можно распределить на две группы – соединения 3 и 5 расположены перпендикулярно оси «кувшина» образующий активный центр под углом  $117^\circ$ , тогда как соединения 2 и 4 параллельны оси с наклоном в  $15^\circ$ . С одной стороны первая группа по расположению близка к периферийному сайту связывания активного центра БуХЭ, образуя аминокислотными остатками Trp332 и Asp70, которые играют ключевую роль при связывании лиганда с активным центром [20].

С другой стороны, вплотную к аминокислотным остаткам формирующим холинсвязывающий карман, в частности, консервативный Trp82 и His438, входящий в «окси анионную дыру» каталитического сайта активного центра БуХЭ. Вторая группа близка к высоко консервативным аминокислотам Gly116, Gly117, His438 входящим в «окси анионную дыру» каталитического сайта активного центра и Leu286 «ацил кармана» [21]. У соединения 2 наблюдается единичная гидрофобная связь с Trp82, в остальных случаях наблюдается электростатический тип связывания. Та же картина наблюдается у соединения 4, где кроме Trp82 гидрофобная связь образуется с Ala328.



**Рис. 2.** Взаимодействие соединений 2–5 с активным центром БуХЭ: (а) место связывания исследуемых соединений; (б) суперпозиционирование пространственных положений исследуемых лигандов в активном центре мишени

**Таблица 2.** Рассчитанные значения биофизических параметров комплексообразования исследуемых соединений с АХЭ и БуХЭ

Соединение	АХЭ		БуХЭ	
	Энергия связывания ( $\Delta G$ )	Константа связывания ( $K_c$ )	Энергия связывания ( $\Delta G$ )	Константа связывания ( $K_c$ )
<b>2</b>	-9.22±0.46	5.1×10 <sup>6</sup>	-8.94±0.44	3.0×10 <sup>6</sup>
<b>3</b>	-9.99±0.49	2.0×10 <sup>7</sup>	-9.58±0.47	1.0×10 <sup>7</sup>
<b>4</b>	-10.31±0.51	3.3×10 <sup>7</sup>	-10.17±0.50	2.6×10 <sup>7</sup>
<b>5</b>	–	–	-9.76±0.48	1.0×10 <sup>7</sup>

По сравнению с вышеперечисленными соединениям у **3** наблюдается водородная связь с дистанцией 2.86 Å между гидроксильной группы **3** и карбоксильной группой Trp82 при угле 91.7°. Гидрофобный тип связывания осуществляется с вовлечением аминокислотных остатков Gly116, Leu286, Phe329, Trp231. В остальных случаях наблюдается электростатическое взаимодействие. По сравнению с **3** у соединения **4** водородных связей не наблюдается. Взаимодействие, в основном, осуществляется за счет электростатики. У **4** взаимодействие с Trp82 происходит за счет гидрофобных сил. В табл. 3S (дополнительные материалы) приведены результаты взаимодействия исследуемых соединений с аминокислотными остатками формирующие активные центры АХЭ и БуХЭ.

На основе полученных результатов комплексообразования были рассчитаны биофизические параметры связывания, которые приведены в табл. 2.

Обобщая вышесказанное можно констатировать, что соединение **4** является лидером в исследуемой выборке по аффинности как для АХЭ так и для БуХЭ, при этом максимальное значение наблюдается для АХЭ.

Необходимо отметить, что соединение **5** проявляет к БуХЭ специфичность с константой связывания  $1.0 \times 10^7$ , а **2** имеет наименьшие показатели взаимодействия для двух белков мишеней. С точки зрения конформационного анализа все соединения взаимодействуют с аминокислотными остатками формирующие все участки активных центров АХЭ и БуХЭ.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Температуры плавления измерены на приборе Voetus (Германия). ИК спектры синтезированных

соединений сняты в вазелиновом масле на спектрометре Specord M-80. Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C растворов соединений в ДМСО-*d*<sub>6</sub> сняты на спектрометре Mercury-300 (300 МГц). Элементный анализ выполнен на анализаторе EuroEA3000 CHNS-O. Определение чистоты полученных соединений осуществлено методом ТСХ (на пластинках AlugramXtraSILG/UV) в системе растворителей C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-MeOH-CH<sub>3</sub>COOH 5:2:1, проявление – УФ лучи.

**(Z)-4-{{[5-Оксо-2-фенилоксазол-4(5H)-илиден]метил} фенилбензоат (1)}** синтезирован по методу [22].

**(Z)-4-[2-Бензамидо-3-(бензиламино)-3-оксопроп-1-ен-1-ил] фенилбензоат (2).** К суспензии 1.0 г (0.0027 моль) оксазолонна **1** в 10 мл ДМФА добавляли 0.28 мл (0.29 г, 0.0027 моль) бензиламина и перемешивали при комнатной температуре 3 ч. К реакционной смеси добавляли 70 мл слабодокислотный водный раствор соляной кислоты (рН ≈ 4), образовавшийся белый осадок отфильтровывали, промывали водой до нейтральной рН и сушили на воздухе. Перекристаллизацию проводили из 50% раствора этанола. Выход 81.6%, т.пл. 178–180°C. R<sub>f</sub> 0.70. ИК спектр, ν, см<sup>-1</sup>: 1636 (СО-амидн.), 1742 (СО-эфирн.), 3242 (NH). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д.: 4.46 д (2H, NCH<sub>2</sub>, J 6.3 Гц), 7.15–7.24 м (2H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7.21 с (1H, CH=C), 7.24–7.41 м (5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.42–7.59 м (5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.62–7.73 м (3H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 8.00–8.20 м (4H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 8.48 т (1H, NH, J 6.1 Гц), 9.85 с (1H, NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м.д.: 121.2, 125.9, 126.9, 127.6, 127.6, 127.8, 128.1, 128.8, 129.5, 130.2, 130.3, 130.8, 131.9, 133.1, 133.6, 139.4, 150.1, 163.6, 164.7, 165.5. Найдено, %: С 75.39; Н 5.21; N 6.03. С<sub>30</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Вычислено, %: С 75.62; Н 5.08; N 5.88.

При проведении реакции в течение 24 ч выход бензиламида **2** составляет 98.0%.

**(Z)-3-Бензил-5-(4-гидроксibenзилиден)-2-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (3).** К раствору 1 г (0.002 моль) бензиламида **2** в 50 мл ацетонитрила, добавляли 0.22 мл (0.18 г, 0.002 моль) 2-(диметиламино)-1-этиламина и оставляли на 24 ч при комнатной температуре. К реакционной смеси добавляли 70 мл воды и прикапывали соляной кислоты до pH 3, образовавшийся белый осадок отфильтровывали, промывали водой до нейтральной pH и сушили на воздухе. Выход 94.6%, т.пл. 110–112°C,  $R_f$  0.79.

При проведении реакции в течение 8 ч выход бензиламида **3** составляет 76.0%.

В случае проведения реакции с применением 2 эквивалентов 3-(диметиламино)-1-пропиламина в течение 24 ч при комнатной температуре выход бензиламида **3** составляет 92.4%. Проведение же реакции с применением 2 экв 3-(диметиламино)-1-пропиламина в течение 2.5 ч при кипячении реакционной смеси приводит к образованию бензиламида **3** с выходом 78.8%. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1630 (СО-амидн.), 3252 (NH), 3445 (ОН). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.д.: 4.43 д (2H,  $\text{NCH}_2$ ,  $J$  6.1 Гц), 6.66–6.76 м ( $2\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.15–7.21 м ( $1\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.22 с (1H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 7.26–7.31 м ( $2\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.32–7.35 м ( $2\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.39–7.42 м ( $2\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.43–7.55 м ( $3\text{H}_{\text{аром}}$ ), 8.02–8.11 м ( $2\text{H}_{\text{аром}}$ ), 8.27 т (1H, NH,  $J$  6.05 Гц), 9.42 с (1H, OH), 9.66 с (1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м.д.: 115.1, 124.8, 125.9, 126.7, 126.9, 127.6, 127.8, 129.8, 130.7, 130.8, 133.8, 139.6, 157.9, 165.1, 165.4. Найдено, %: C 74.68; H 4.91; N 8.02.  $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$ . Вычислено, %: C 74.18; H 5.41; N 7.52.

**(Z)-4-[(1-Бензил-5-оксо-2-фенил-1,5-дигидро-4H-имидазол-4-илиден)метил] фениловый эфир бензойной кислоты (4).** К раствору 1.0 г (0.0021 моль) бензиламида **2** в 10 мл ДМФА добавляли 1.32 мл (1.02 г, 0.0063 моль) ГМДС и кипятили 0.5 ч. К реакционной смеси добавляли 70 мл слабокислотного водного раствора соляной кислоты (pH  $\approx$  4), образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали водой до нейтральной pH и сушили на воздухе. Перекристаллизацию проводили бензолом. Выход 49.79%, т.пл. 189–190°C.  $R_f$  0.92. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1719 (СО-цикл.), 1726

(СО-эфирн.). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.д.: 4.95 с (2H,  $\text{NCH}_2$ ), 7.08–7.16 м ( $2\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.22–7.32 м ( $5\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.23 с (1H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 7.43–7.57 м ( $5\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.65–7.71 м ( $3\text{H}_{\text{аром}}$ ), 8.15–8.19 м ( $2\text{H}_{\text{аром}}$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м.д.: 121.5, 126.1, 126.5, 126.9, 128.0, 128.8, 128.9, 129.6, 130.8, 131.6, 133.1, 133.2, 136.3, 138.1, 151.7, 162.1, 163.4, 170.3. Найдено, %: C 78.09; H 5.34; N 6.61.  $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ . Вычислено, %: C 78.59; H 4.84; N 6.11.

**(Z)-3-Бензил-5-(4-гидроксibenзилиден)-2-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (5).** *a.* К суспензии 0.24 г (0.0005 моль) имидазолон **4** в 10 мл ацетонитрила добавляли 0.13 мл (0.1 г, 0.001 моль) 3-(диметиламино)-1-пропиламина и кипятили обратным холодильником в течение 3.5 ч. Затем к реакционной смеси добавляли 60 мл воды, подкисляли до pH 3, выпавший осадок отфильтровывали и сушили на воздухе. Выход 75.5%.

*b.* К раствору 0.33 г (0.00069 моль) бензиламида **2** в 10 мл ДМФА добавляли 0.43 мл (0.33 г, 0.00207 моль) ГМДС и кипятили в течение 1.5 ч. К реакционной смеси добавляли 50 мл водного раствора соляной кислоты (pH  $\approx$  4), образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали водой до нейтральной pH и сушили на воздухе. Выход 70.83%.

*c.* К раствору 0.24 г (0.00064 моль) бензиламида **3** в 10 мл ДМФА добавляли 0.4 мл (0.31 г, 0.0019 моль) ГМДС и кипятили в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли 50 мл воды, подкисляли соляной кислотой до pH  $\approx$  4, образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали водой до нейтральной pH и сушили на воздухе. Выход 83.91%, т.пл. 255–258°C.  $R_f$  0.83. ИК спектр,  $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ : 1688 (СО-цикл.); 3317 (ОН). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.д.: 4.92 с (2H,  $\text{NCH}_2$ ), 6.78–6.86 м (2H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.07–7.15 м (2H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.11 с (1H,  $\text{CH}=\text{C}$ ), 7.17–7.32 м (3H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.38–7.54 м (3H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ), 7.63–7.71 м (2H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ), 8.07–8.17 м (2H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ), 9.81 уш.с (1H, OH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м.д.: 115.5, 125.1, 126.1, 126.8, 127.9, 128.1, 128.7, 129.3, 130.3, 134.3, 135.4, 136.6, 159.7, 160.0, 170.2. Найдено, %: C 77.50; H 5.62; N 7.4.  $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ . Вычислено, %: C 77.95; H 5.12; N 7.90.

**Определение антирадикальных свойств.** Процесс взаимодействия соединений **2–5** с ДФПГ  
ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 58 № 2 2022

при 25°C исследовали спектрофотометрически на спектрофотометре «Specord UV-VIS» (Германия) по изменению оптической плотности ДФПГ во времени при 520 нм. Исходные концентрации ДФПГ• –  $0.025 \times 10^{-5}$  моль/л, соединений 2–5 –  $1.25 \times 10^{-5}$  моль/л. К 2.0 мл раствора ДФПГ• в абсолютном метаноле добавляли 0.04 мл метанольного раствора исследуемого вещества и после 40 мин измеряли оптическую плотность смеси.

#### Определение антихолинэстеразных свойств.

Антихолинэстеразные свойства синтезированных соединений определяли с применением метода, описанного в работе [23]. В исследованиях применяли эритроцитарную АХЭ и плазменную БуХЭ человека. Измерения проводились в термостатируемой ячейке спектрофотометра «Specord UV-Vis» при 412 нм. В опытах реакционная среда в 2.5 мл конечного объема содержала реагенты в следующих концентрациях: дистиллированная вода – 1.25 мл, 0.1 М фосфатный буфер – 1мл (рН  $7.6 \pm 0.1$ ), 0.005 М раствор 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойная кислота) (ДТНБ) – 0.02 мл, 0.005 М водный раствор ацетилтиохолина (АТХ) – 0.005мл, водный раствор соответствующего фермента – 0.02 мл и 0.01 М 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 20 мин при 25°C. Тестовые опыты проводили аналогично, изначально в присутствии исследуемого соединения.

**Конструирование молекулярных моделей исследуемых соединений.** Трехмерные молекулярные модели были получены с помощью программы ChemOffice версии 13.0 [24]. Минимизация и стабилизация полученных 3D структур проводили с использованием силовых полей MM2 [25]. Молекулярные модели исследуемых соединений были сохранены в формате \*.PDB и \*.SMILES. Молекулярные модели исследуемых мишеней были взяты из базы данных RCSB [26].

**Докинг анализ.** Для проведения докинг анализа использовали программные пакеты AutoDock Vina и AutoDockTools [27]. Для проведения докинг анализа использовалась методика «сле-

пой способ». Статистическая достоверность результатов докинга обеспечивалась 5-кратной повторяемостью 20- и начальных конформаций для каждого соединения с объемом пространственного поиска, не превышающей  $27000 \text{ \AA}^3$ . Значение континуума исчислений равно 500.

**Конформационный анализ** исследуемых взаимодействий осуществлялся с использованием программы Discovery Studio Visualizer v 19.1.0.18287 [28]. Определение физико-химических и фармакокинетических параметров для исследуемых соединений проводилось с использованием онлайн платформы SwissADME [12, 29].

**Компьютерный анализ токсичности** исследуемых соединений проводили с использованием программного пакета ReoTOX [30]. Процесс прогнозирования осуществляется с использованием базы данных RTECS [31], где хранятся соединения или фрагменты соединений, входящие в определенные классы веществ, проявляющие токсичность.

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

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезированы бензиламид *N*-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидротирозины и соответствующий 4-имидазолон. Показана пригодность бензоильной группы при синтезе производных  $\alpha,\beta$ -дегидротирозина. Выявлены как антихолинэстеразные, так и антирадикальные способности бензиламида *N*-бензоил- $\alpha,\beta$ -дегидротирозина и соответствующего 4-имидазолона.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

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

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

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

Унанян Лерник Сурикович, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6913-0175>



Галстян Лаура Хореновна, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0424-2579>

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Saito R., Hoshi M., Kato A., Ishikawa C., Komatsu T. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *125*, 965–974. Doi 10.1016/j.ejmech.2016.10.016
- Lee C.-Y., Chen Y.-C., Lin H.-C., Jhong Y., Chang C.-W., Tsai C.-H., Kao C.-L., Chien T.C. *Tetrahedron.* **2012**, *68*, 5898–5907. doi 10.1016/j.tet.2012.04.102
- He X., Bell A.F., Tong P. *J. Org. Lett.* **2002**, *4*, 1523–1526. doi 10.1021/o10200403
- Kojima S., Ohkawa H., Hirano T., Maki S., Niwa H., Ohashi M., Inouye S., Tsuji F.I. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5239–5242, doi 10.1016/S0040-4039(98)01031-4
- Bell A.F., He X., Wachter R.M., Tong P.J. *Biochemistry.* **2000**, *39*, 4423–4431. doi 10.1021/bi992675o
- Niwa H., Inouye S., Hirano T., Matsuno T., Kojima S., Kubota M., Ohashi M., Tsuji F. *PNAS.* **1996**, *93*, 13617–13622. doi 10.1073/pnas.93.24.13617
- Chuang W.-T., Hsieh C.-C., Lai C.-H., Lai C.-H., Shih C.-W., Chen K.-Y., Hung W.-Y., Hsu Y.-H., Chou P.-T. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 8189–8202. doi 10.1021/jo2008934
- Chen K.-Y., Cheng Y.-M., Lai C.-H., Hsu C.-C., Ho M.-L., Lee G.-H., Chou P.T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4534–4535. doi 10.1021/ja070880i
- Baldridge A., Kowalik J., Tolbert L.M. *Synthesis.* **2010**, *14*, 2424–2436. doi 10.1055/S-0029-1218796
- Топузьян В.О., Арутюнян Л.Г., Оганесян А.А. *ЖОрХ.* **2007**, *43*, 870–873. [Topuzyan V.O., Arutyunyan L.G., Oganesyanyan A.A. *Russ. J. Org. Chem.* 2007, *43*, 868–871.] doi 10.1134/S1070428007060127
- Zhu Q.Y., Hackman R.M., Ensunsa J.L. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6929–6934. doi 10.1021/jf0206163
- Daina A., Michielin O., Zoete V. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 42717. doi 10.1038/srep42717
- Cheng F., Liu C., Jiang J., Lu W., Li W., Liu G., Zhou W., Huang J., Tang Y. *Plos Comput. Biol.* **2012**. doi 10.1371/journal.pcbi.1002503
- Egan W.J., Merz K.M. Jr., Baldwin J.J. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3867–3877. doi 10.1021/jm000292e
- Lipinski C. *Drug Discov. Today: Technol.* **2004**, *1*, 337. doi 10.1016/j.ddtec.2004.11.007
- Martin Y.C. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3164–3170. doi 10.1021/jm0492002
- Steiner T., Koellner G. *J. Mol. Biol.* **2001**, *305*, 535–557. doi 10.1006/jmbi.2000.4301
- Kumpf R., Dougherty D. *Science.* **1993**, *261*, 1708–1710. doi 10.1126/science.8378771
- Dighe S.N., Deora G.S., De la Mora E., Nachon F., Chan S., Parat M.O., Ross B.P. *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 7683–7689. doi 10.1021/acs.jmedchem.6b00356
- Nachon F., Ehret-Sabatier L., Loew D., Colas C., van Dorsselaer A., Goeldner M. *Biochemistry.* **1998**, *37*, 10507–10513. doi 10.1021/bi980536l
- Masson P., Carletti E., Nachon F. *Protein Pept. Lett.* **2009**, *16*, 1215–1224. doi 10.2174/092986609789071207
- Abdel-Galil E., Moawad E.B., El-Mekabaty A., Said G.E. *J. Heterocycl. Chem.* **2018**, *55*, 1092–1100. doi 10.1002/jhet.3139
- Ellman G., Courtney K., Andres V. Jr, Featherstone R. *Biochem. Pharm.* **1961**, *7*, 88. doi 10.1016/0006-2952(61)90145-9
- Narayanaswamy V.K., Rissdörfer M., Odhav B. *Int. J. Theor. Appl. Sci.* **2013**, *5*, 43–49.
- Evans M.J., Moore J.S. *J. Chem. Educ.* **2011**, *88*, 764–768. doi 10.1021/ed100517g
- <https://www.rcsb.org/>
- Trott O., Olson A.J. *J. Comput. Chem.* **2010**, *31*, 455. doi 10.1002/jcc.21334
- BIOVIA D.S. BIOVIA Discovery Studio (2017) R2: *A Comprehensive Predictive Science Application for the Life Sciences*. San Diego. <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>
- <http://www.swissadme.ch/>
- <https://www.cdc.gov/niosh/rtecs/default.html>
- Bajda M., Więckowska A., Hebda M., Guzior N., Sotriffer C.A., Malawska B. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 5608. doi 10.3390/ijms14035608

# The Application of a Benzoyl O-Protective Group in the Synthesis of $\alpha,\beta$ -Dehydrotyrosine Containing Amides and Imidazolones

V. O. Topuzyan<sup>a</sup>, A. A. Ogannesyanyan<sup>a</sup>, A. T. Makichyan<sup>a, b, \*</sup>,  
L. S. Hunanyan<sup>b</sup>, and L. Kh. Galstyan<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Scientific Technological Center of Organic and Pharmaceutical Chemistry of NAS RA,  
prosp. Azatutian, 26, Yerevan, 0014 Armenia

<sup>b</sup> Russian-Armenian University, ul. Hovsepa Emina, 123, Yerevan, 0051 Armenia

<sup>c</sup> Yerevan State University, ul. Aleka Manukyana, 1, Yerevan, 0025 Armenia

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

Received August 23, 2021; revised November 19, 2021; accepted November 22, 2021

The possibility of using the O-benzoyl protecting group for the synthesis of both *N*-benzoyl- $\alpha,\beta$ -dehydrotyrosinebenzylamide, and the corresponding 4-imidazolone was studied. It is noted that the reaction of 4-(4-benzoyloxybenzylidene)-5(4*H*)-oxazolone with benzylamine proceeds with the retention of the O-benzoyl protecting group. The latter is removed with 2-(dimethylamino)-1-ethylamine or 3-(dimethylamino)-1-propylamine. In the case of the cyclization of benzyl amide of the *N,O*-dibenzoyl- $\alpha,\beta$ -dehydrotyrosine to (*Z*)-3-benzyl-5-(4-hydroxybenzylidene)-2-phenyl-3,5-dihydro-4*H*-imidazol-4-one with 1,1,1,3,3,3-hexamethyldisilazane, the cleavage of O-benzoyl protection. The antiradical and anticholinesterase properties of the synthesized compounds were studied.

**Keywords:** O-protective group,  $\alpha,\beta$ -dehydroamino acid, 5(4*H*)-oxazolone, imidazol-4-one, amides, antiradical activity, anticholinesterase activity