

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ՕՐԳԱՆԱԿԱՆ ԵՎ ԴԵՂԱԳՈՐԾԱԿԱՆ ՔԻՄԻԱՅԻ ԳԻՏԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱԿԱՆ
ԿԵՆՏՐՈՆ

ՂԱԶՈՑԱՆ ՎԱՐԴՈՒՂԻ ՄԱՆՎԵԼԻ

**ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ՏԵՂԱԿԱԼ ՎԱԾ ԻՄԻՂԱԶՈՒ-5-ՈՆՆԵՐԻ ՄԻՆԹԵԶՆ ՈՒ
ՀԱԿԱՌՈԼԻՆԷՍԹԵՐԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ**

Բ.00.10 – «Կենսօրգանական քիմիա» մասնագիտությամբ
քիմիական գիտությունների թեկնածուի զիտական աստիճանի
հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՍԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2019

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
НАУЧНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
ОРГАНИЧЕСКОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

КАЗОЯН ВАРДУИ МАНВЕЛОВНА

**СИНТЕЗ И АНТИХОЛИНЭСТЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ
ФУНКЦИОНАЛЬНОЗАМЕЩЕННЫХ ИМИДАЗОЛ-5-ОНОВ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук
по специальности 02.00.10 – «Биоорганическая химия»

ЕРЕВАН – 2019

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոնի գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավար՝

ՀՀ ԳԱԱ թղթ. անդամ, քիմ. գիտ. դոկտոր,
պրոֆ. Վ. Օ. Թովուրյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

քիմ. գիտ. դոկտոր Ե.Գ. Պարոնիկյան
քիմ. գիտ. թեկնածու Վ.Ս. Հովսեփյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

ԵՊՀ Ֆարմացիայի ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2019 թ. նոյեմբերի 15-ին, ժամը 15⁰⁰-ին ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոնում, 010 մասնագիտական խորհրդում (ՀՀ, 0014, ք. Երևան, Ազատության պող. 26):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ ՕԴՔ ԳՏԿ-ի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2019 թ. հոկտեմբերի 4-ին:

010 մասնագիտական խորհրդի գիտքարտուղար, ք. գ. թ.

Ա.Հ. Հասրաթյան

Тема диссертации утверждена на заседании ученого совета Научно-технологического центра органической и фармацевтической химии НАН РА.

Научный руководитель:

член-корр. НАН РА, доктор хим. наук,
проф. В.О. Топузян

Официальные оппоненты:

доктор хим. наук Е.Г. Пароникян
канд. хим. наук В.С. Овсепян

Ведущая организация:

ЕГУ Институт фармации

Защита диссертации состоится 15 ноября 2019 г. в 15⁰⁰ часов на заседании специализированного совета 010, в Научно-технологическом центре органической и фармацевтической химии НАН РА (РА, 0014, г. Ереван, пр. Азатутян 26).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НТИЦ ОФХ НАН РА.

Автореферат разослан 4 октября 2019 г.

Ученый секретарь специализированного совета 010, к. х. н.

А.Г. Асратян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Вещества, обладающие антихолинэстеразными свойствами, нашли широкое применение в здравоохранении в качестве препаратов для лечения различных заболеваний. В последние годы в различных лабораториях мира ведутся интенсивные работы по изысканию антихолинэстеразных соединений с целью создания лекарств для лечения таких старческих деменций, как болезни Альцгеймера или Паркинсона. Известно, что при болезни Альцгеймера в мозгу пациентов наблюдается повышение активности бутирилхолинэстеразы. В связи с этим сегодня возрос интерес к селективным ингибиторам этого фермента.

Анализ публикаций показывает, что в литературе отсутствуют данные по антихолинэстеразным свойствам производных имидазол-5-онов. В связи с этим задача изыскания имидазол-5-онов, обладающих антихолинэстеразными свойствами, является актуальной.

Цель работы. Разработка методов синтеза 1,2-ди- и 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов и изучение их антихолинэстеразных свойств, а также определение специфичности полученных соединений по отношению к бутирилхолинэстеразе.

Научная новизна. Установлено преимущество 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазана по отношению к другим силилирующим агентам для синтеза 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов. Впервые показано, что 2,4-ди- и 1,2,4-тризамещенные имидазол-5-оны проявляют антихолинэстеразные свойства. Установлены некоторые закономерности взаимодействия 2,4-ди- и 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов и анилидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот с активными центрами как ацетилхолинэстеразы (АХЭ), так и бутирилхолинэстеразы (БуХЭ).

Практическая ценность. Разработан новый подход для синтеза 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов и выявлены ингибирующие свойства синтезированных соединений по отношению как к ацетилхолинэстеразе, так и к бутирилхолинэстеразе. Выявлено высокоэффективное антибутирилхолинэстеразное вещество – 2-фенил-4-(4-толуолсульфонил)оксибензильден)имидазол-5-он ($IC_{50\%}$ 6 нМ). Найденные закономерности связывания лигандов с холинэстеразами могут быть использованы при конструировании новых высокоэффективных ингибиторов как АХЭ, так и БуХЭ.

Публикации. Основное содержание диссертационной работы изложено в 6-и статьях и 1-ом тезисе доклада конференции.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на V Научной конференции Армянского химического общества (с международным участием), АХО-5 "Актуальные задачи фундаментальной и прикладной химии". Ереван, 2017 г.

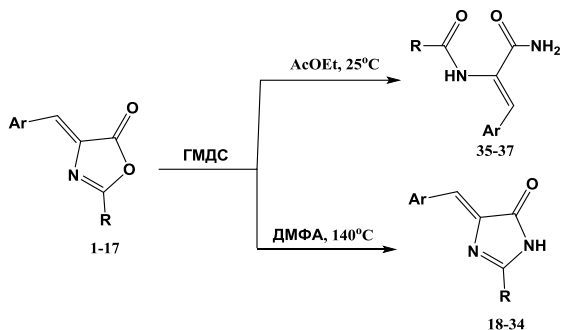
Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 143 страницах компьютерного набора, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, 16-и таблиц, 15-и рисунков и списка цитируемой литературы (181 библиографических ссылок).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. 2,4-Дизамещенные имидазол-5-оны, новый класс ингибиторов холинэстераз

В литературе отсутствуют данные по антихолинэстеразным свойствам имидазол-5-онов. В связи с этим осуществлен синтез и исследование антихолинэстеразных свойств 2,4-дизамещенных имидазол-5-онов **18-34**. Синтез соединений **18-34** осуществлен взаи-

модействием 2-арил-4-арилиден-5(4Н)-оксазолонов **1-17** с 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазаном (ГМДС) в диметилформамиде (ДМФА) в условиях кипячения реакционной смеси от 20 до 60 мин.



1, 18, 35 R = Ar = C₆H₅; **2, 19** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄CH=CH; **3, 20** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OMe-4; **4, 21** R = C₆H₅, Ar = 3,4-CH₂O₂C₆H₃; **5, 22** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄F-4; **6, 23** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄Br-4; **7, 24** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄Cl-4; **8, 25** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄NO₂-3; **9, 26** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄(OSO₂C₆H₄CH₃-4)-4; **10, 27** R = 2-CH₃C₆H₄, Ar = C₆H₄Cl-4; **11, 28** R = 4-CH₃C₆H₄, Ar = C₆H₄OCH₃-4; **12, 29** R = 4-BrC₆H₄, Ar = C₆H₅; **13, 30** R = 4-BrC₆H₄, Ar = C₆H₄(OSO₂C₆H₄CH₃-4)-4; **14, 31** R = 2-ClC₆H₄, Ar = C₆H₄Cl-4; **15, 32** R = 3-O₂NC₆H₄, Ar = C₆H₅; **16, 33, 36** R = 2,4-Cl₂C₆H₃, Ar = C₆H₄OCH₃-4; **17, 34, 37** R = 2,4-Cl₂C₆H₃, Ar = C₆H₄Br-4.

Выходы синтезированных 2-арил-4-арилденимидазол-5-онов **18-34** колеблются в пределах 69-92 %.

При проведении взаимодействия ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов **1-17** с ГМДС в этилацетате при комнатной температуре с хорошими выходами (70-80 %) получены первичные амиды N-замещенных α,β-дегидрааминокислот **35-37**.

Таблица 1
Значения IC_{50%} и селективности 2-фенил-4-(4-толуолсульфонилокси-бензилиден)имидазол-5-она (**26**) и некоторых известных антихолинэстеразных препаратов

| Соединение | IC _{50%} , нМ, AChE (А) | IC _{50%} , нМ BuChE (Б) | Селективность А/Б или Б/А |
|--------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| 26 | 4201±49 | 6±0.3 | 700-БуХЭ |
| Такрин | 190±40 | 47±1.0 | 4-БуХЭ |
| Донепезил | 22±8 | 4150±1700 | 188-АХЭ |
| Ривастигмин | 4150±160 | 37±5 | 122-БуХЭ |
| Галантамин | 800±60 | 7300±830 | 9-АХЭ |
| Фенсерин | 22±1.4 | 1560±45 | 70-АХЭ |
| Гептастигмин | 22±2 | 5±0.1 | 4-БуХЭ |

Исследованы антихолинэстеразные свойства полученных имидазол-5-онов **18-34** и первичных амидов **35-37** по отношению к АХЭ и БуХЭ. Согласно полученным данным 2-арил-4-арилденимидазол-5-оны **18-34**, в основном, являются слабыми ингибиторами ацетилхолинэстеразы (0-41 %), однако по отношению к БуХЭ проявляют сравнительно

высокие ингибирующие свойства (2-87 %). Сравнительно высоким антибутирилхолинэстеразным свойством (87 %) обладает 2-фенил-4-(4-толуолсульфонилоксибензилиден)-имидазол-5-он (**26**). Определены значения концентраций соединения **26**, ингибирующие холинэстеразы на 50 % (IC_{50%}). Полученные данные свидетельствуют о том, что соединение **26** по данным IC_{50%} уступает всем приведенным в табл. 1 известным антиацетилхолинэстеразным препаратам, а по отношению к БуХЭ уступает только гептастигмину. Одновременно соединение **26** по селективности к БуХЭ превосходит все препараты.

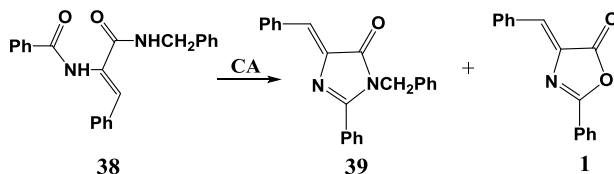
При сравнении антихолинэстеразных свойств имидазол-5-онов **18**, **33**, **34** с первичными амидами **35-37** можно заключить, что циклизация амидов приводит к усилению ингибирующих свойств по отношению к обоим ферментам.

Таким образом, найден новый класс соединений – 2,4-дизамещенные имидазол-5-оны, проявляющие антихолинэстеразные свойства, и как ингибиторы, в основном, специфичные по отношению к БуХЭ.

2. Синтез и антихолинэстеразные свойства 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов

2.1. Оценка дегидратирующих свойств некоторых силилирующих агентов при синтезе 2-фенил-4-бензилиденимидазол-5-она

С целью оценки дегидратирующих свойств некоторых силилирующих агентов в синтезе 2-фенил-4-бензилиденимидазол-5-она (**39**) изучена реакция бензиламида N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланина (**38**) с различными силилирующими агентами (СА). В качестве таковых использовались диметилдихлорсилан (ДМДХС), триметилхлорсилан (ТМХС) и ГМДС.



Изучено влияние как условий реакции (время проведения реакции, растворитель, температура, соотношение реагентов), так и некоторых добавок (пиридин, триэтиламин, N-метилморфолин, имидазол) на выход целевого продукта **39**. Выход **39** определяли спектрофотометрически при 375 нм (максимальное поглощение соединения **39** в УФ-спектре). Амид **38** в этой области не имеет поглощения. В качестве стандарта выбрали интенсивность поглощения при 375 нм чистого имидазолона **39** (I₀). После синтеза исследовались как УФ, так и ИК-спектры неочищенного продукта. Для оценки выхода соединения **39** использовали интенсивность (I_{ex}) спектра поглощения реакционной смеси при 375 нм. Расчеты выхода соединения **39** проводили по уравнению (1).

$$\text{Выход } \mathbf{39} = \frac{I_{\text{ex}} * 100}{I_0} \% \quad (1)$$

По ИК-спектру определяли наличие в реакционной смеси исходного вещества **38** (3177-3271 см⁻¹, NH-амид), целевого имидазол-5-она **39** (1710-1716 см⁻¹, CO-имидазолон) и побочного продукта - 2-фенил-4-бензилиден-5(4H)-оксазолон **1** (1791-1796 см⁻¹,

СО-оксазолон). Полученные результаты показывают, что использование ДМДХС в ДМФА приводит к образованию смеси, ИК-спектр которой содержит сигнал характерного поглощения как исходного материала **38**, так и целевого продукта **39** и побочного продукта **1**. Аналогичная картина наблюдается также в случае использования ТМХС как отдельно, так и в присутствии пиридина или имидазола в качестве добавок. Однако, при использовании в качестве добавки триэтиламин или N-метилморфолин побочный продукт **1** отсутствует, а целевой продукт **39** получается с низкими выходами (11.8-25.5 %). Реакция с участием ТМХС в ДМФА, ацетамиде и диметилацетамиде протекает с образованием побочного продукта **1**. В формамиде не наблюдается образование побочного продукта, однако целевой продукт **39** получается с низкими выходами (6.69-8.85 %). При взаимодействии соединения **38** с ТМХС в диоксане или ацетонитриле исходный материал не претерпевает никаких изменений.

В случае ГМДС диоксан или ацетонитрил также не пригодны для синтеза целевого продукта **39**, однако, реакция в ДМФА после 15 минут кипячения дает хорошие результаты. Следует отметить, что увеличение времени проведения реакции приводит к снижению выхода продукта **39**. В этом случае происходит образование смолы. Необходимо отметить, что реакции, проводимые при относительно низких температурах (100 или 120 °С) также не привели к удовлетворительным результатам. Аналогичный результат был получен при взаимодействии соединения **38** с ГМДС в отсутствие растворителей или в среде пиридина, ацетонитрила, диоксана, ацетамида, формамида или диметилацетамида.

Таким образом, из исследованных силилирующих агентов для синтеза имидазол-5-она **39** наилучшим является ГМДС, который в ДМФА сравнительно быстро (15 минут) приводит к образованию целевого продукта с высоким выходом (84 %).

2.2. Новый подход к синтезу 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов

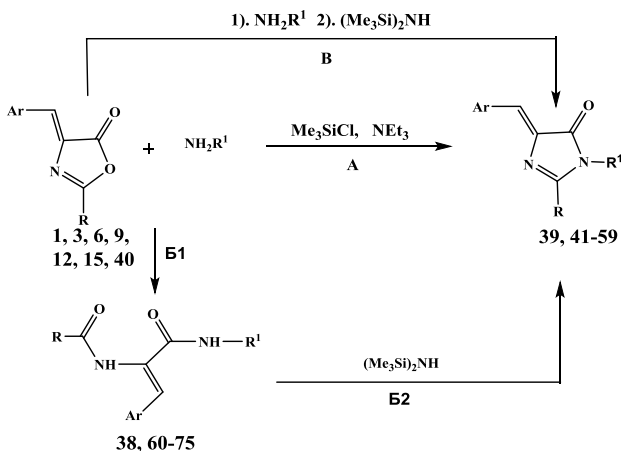
С целью усовершенствования процесса синтеза имидазол-5-онов с применением силилирующих агентов исследовали три пути синтеза целевых продуктов. А) Реакция домино с участием ненасыщенного 5(4Н)-оксазолон, Б) двухстадийный синтез с выделением и очисткой промежуточно образовавшегося амида N-замещенной α,β -дегидроаминокислоты (Б1) и его дегидратация (Б2) и В) объединение двух стадий – Б1 и Б2 в одной колбе (синтез «в одной колбе»). В качестве дегидратирующих агентов применяли как ТМХС, так и ГМДС.

Реакцию 5(4Н)-оксазолонов **1, 3, 6, 9, 12, 15, 40** с ТМХС по пути А осуществляли в присутствии триэтиламина в ДМФА в условиях кипячения реакционной смеси, при этом выходы целевых 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов **39, 41-43, 48, 49, 51, 57, 58** колеблются в пределах 52-72 %.

При дегидратации же амидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот **38, 60-62, 64-69, 71-73, 75** ГМДС-ом в ДМФА выходы целевых соединений составляют 52-94 % (путь Б2). Отметим, что амиды **61-75** с выходом 46-91 % получены взаимодействием ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов **1, 3, 6, 9, 12, 15** и **40** с соответствующими аминами при кипячении в среде этилацетата (путь Б1).

Учитывая высокую реакционную способность ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов по отношению к аминам, нами исследована возможность синтеза целевых продуктов проведением стадий Б1 и Б2 в “одной колбе” (путь В). В связи с этим взаимодействие ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов с аминами проводили кипячением в среде ДМФА и дальнейшим добавлением ГМДС к реакционной смеси. При сопоставлении данных выходов

целевых имидазол-5-онов **39**, **41-59** и времени проведения реакции можно заключить, что использование метода **B** приводит к сравнительно хорошим результатам. Отметим, что при этом исключается процесс выделения амидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот, что и повышает скорость выделения целевых продуктов.



1, 38, 39 R = Ar = C₆H₅, R¹ = CH₂C₆H₅; **41, 60** R = Ar = R¹ = C₆H₅; **42, 61** R = Ar = C₆H₅, R¹ = C₆H₄OCH₃-4; **43, 62** R = Ar = C₆H₅, R¹ = C₆H₄Br-4; **3, 44** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OCH₃-4, R¹ = CH₂C₆H₅; **45, 63** R = R¹ = C₆H₅, Ar = C₆H₄OCH₃-4; **46, 64** R = C₆H₅, Ar = R¹ = C₆H₄OCH₃-4; **47, 65** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OCH₃-4, R¹ = C₆H₄Br-4; **6, 48, 66** R = R¹ = C₆H₅, Ar = C₆H₄Br-4; **9, 49, 67** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4, R¹ = CH₂CH₂OH; **50, 68** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4, R¹ = CH₂CH₂CH₂OH; **51, 69** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4, R¹ = CH₂CH₂N(C₂H₅)₂; **52, 70** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4, R¹ = CH₂C₆H₅; **53, 71** R = R¹ = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4; **54, 72** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4, R¹ = C₆H₄CH₃-4; **55** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4, R¹ = C₆H₄OCH₃-4; **56, 73** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4, R¹ = C₆H₄COCH₃-4; **40, 57, 74** R = C₆H₄OCH₃-4, Ar = R¹ = C₆H₅; **12, 58, 75** R = 4-BrC₆H₄, Ar = R¹ = C₆H₅; **15, 59** R = 3-O₂NC₆H₄, Ar = C₆H₅, R¹ = CH₂C₆H₅.

Исследованы антихолинэстеразные свойства синтезированных соединений **38, 39, 41-75** по отношению как к АХЭ, так и к БУХЭ. Согласно полученным данным, амиды **38, 60-75** являются слабыми ингибиторами по отношению к обоим ферментам. В этом ряду сравнительно высокую антибутирилхолинэстеразную активность проявляет 4-броманилид N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланина (**62**). Как по отношению к АХЭ, так и по отношению к БУХЭ, 1,2,4-тризамещенные имидазол-5-оны **39, 41-59** по сравнению с соответствующими амидами **38, 60-75** проявляют высокую антихолинэстеразную активность. В ряду 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов соединения **39, 49, 50** в концентрации 8×10^{-5} М полностью подавляют активность БУХЭ и являются специфичными (около 7-58 раз) по отношению к этому ферменту.

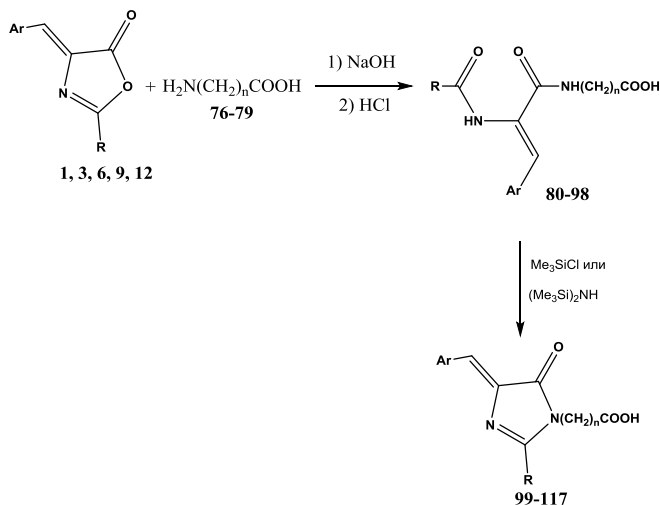
Для амидов **62, 67, 68** и имидазол-5-онов **39, 41-43, 45, 50-52, 57, 59** определялись также концентрации, ингибирующие холинэстеразы на 50 % (IC_{50%}). Полученные данные свидетельствуют о том, что (Z)-1-бензил-2-фенил-4-бензилиденимидазол-5-он (**39**) и (Z)-1,2-дифенил-4-(4-метоксибензилиден)имидазол-5-он (**45**) проявляют сравнительно высокую активность по отношению как к АХЭ, так и к БУХЭ. Отметим, что соединения **39** и **45** проявляют также сравнительно высокую специфичность по отношению к БУХЭ.

3. Синтез гибридных систем, содержащих остаток имидазол-5-она

С точки зрения фармакологии большой интерес могут представить также линейно связанные гетероциклы, так называемые гибридные молекулы, в которых фрагмент имидазол-5-она связан с другой фармакофорной группой. Сочетание в одной молекуле физиологически активных соединений различных фармакофорных структурных единиц может привести к снижению эффективной концентрации, тем самым и возможных побочных эффектов действующего вещества, одновременно усиливая действие препарата. В связи с этим предпринят синтез «гибридных соединений» на основе имидазол-5-онов. В качестве второго компонента были введены остатки аминокислот или ацетилхолина.

3.1. Дегидратация N-замещенных α,β -дегидропептидов с применением различных силилирующих агентов

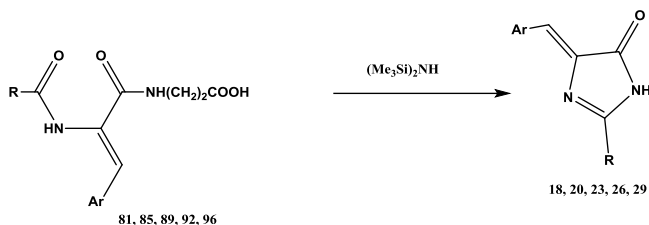
С целью синтеза гибридных молекул, содержащих остатки имидазолона и аминокислот, исследована возможность синтеза (4-арилиден-5-оксо-4,5-дигидро-1Н-имидазол-1-ил)карбоновых кислот **99-117** взаимодействием N-замещенных α,β -дегидропептидов **80-98** с ТМХС или ГМДС.



1 R = Ar = C_6H_5 ; 3 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{OMe-4}$; 6 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$; 9 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{OTos-4}$; 12 R = 4- BrC_6H_4 , Ar = C_6H_5 ; 76 n = 1; 77 n = 2; 78 n = 3; 79 n = 5; 80, 99 R = Ar = C_6H_5 , n = 1; 81, 100 R = Ar = C_6H_5 , n = 2; 82, 101 R = Ar = C_6H_5 , n = 3; 83, 102 R = Ar = C_6H_5 , n = 5; 84, 103 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{OMe-4}$, n = 1; 85, 104 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3-4$, n = 2; 86, 105 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_3-4$, n = 3; 87, 106 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{OMe-4}$, n = 5; 88, 107 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br}$, n = 1; 89, 108 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br-4}$, n = 2; 90, 109 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br-4}$, n = 3; 91, 110 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{Br-4}$, n = 5; 92, 111 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{OTos-4}$, n = 2; 93, 112 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{OTos-4}$, n = 3; 94, 113 R = C_6H_5 , Ar = $\text{C}_6\text{H}_4\text{OTos-4}$, n = 5; 95, 114 R = 4- BrC_6H_4 , Ar = C_6H_5 , n = 1; 96, 115 R = 4- BrC_6H_4 , Ar = C_6H_5 , n = 2; 97, 116 R = 4- BrC_6H_4 , Ar = C_6H_5 , n = 3; 98, 117 R = 4- BrC_6H_4 , Ar = C_6H_5 , n = 5.

Взаимодействие (Z)-N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланилглицина (**80**) с тремя эквивалентами ТМХС в присутствии триэтиламина осуществлено в ДМФА в условиях кипячения реакционной смеси. При этом установлено, что обработка реакционной смеси через 2 ч приводит к образованию целевого имидазолон **99** с выходом 48 %. Аналогичный опыт с тремя эквивалентами ГМДС в течение 1 ч приводит к образованию соединения **99** с выходом 97 %. В связи с этим синтез остальных 1-арил-4-арилденимидазол-5-онов **100-117** осуществлен с применением ГМДС. За ходом реакции следили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ).

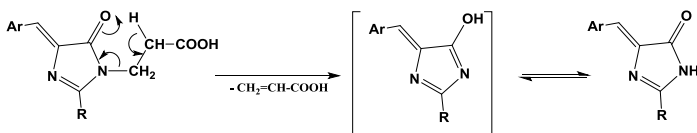
Установлено, что реакции, в основном, завершаются в течение 1 ч. Изучение реакции N-бензоил- α,β -дегидрофенилаланил- β -аланина (**81**) с ГМДС показало, что в течение 10 мин целевая 3-(4-бензилиден-5-оксо-2-фенил-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)пропионовая кислота (**100**) образуется с выходом 81 %. Дальнейшее кипячение реакционной смеси приводит к уменьшению выхода имидазолон **100**. Методом ТСХ установлено, что наряду с соединением **100** (R_f 0.40) имеет место образование нового соединения с R_f 0.65. Количество последнего увеличивается с удлинением времени кипячения реакционной смеси. Обработкой реакционной смеси после трехчасового кипячения был выделен (Z)-2-фенил-4-бензилиденимидазол-5-он (**18**) с выходом 56.8 %. При применении пяти эквивалентов ГМДС в течение двух часов из дипептида **81** имидазолон **18** был получен с выходом 55 %. Аналогичные результаты были получены также при взаимодействии (Z)-N-бензоил- α,β -дегидро-O-п-толуолсульфонилтирозил- β -аланина (**92**) с ГМДС в ДМФА. В этом случае (Z)-2-фенил-4-(4-(п-толуолсульфонилокси)бензилиден)имидазол-5-он (**26**) при кипячении реакционной смеси в течение 5 часов получен с выходом 63 %.



18, 81 R = Ar = C₆H₅; **20, 85** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OCH₃-4; **23, 89** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄Br-4;
26, 92 R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4; **29, 96** R = 4-BrC₆H₄, Ar = C₆H₅.

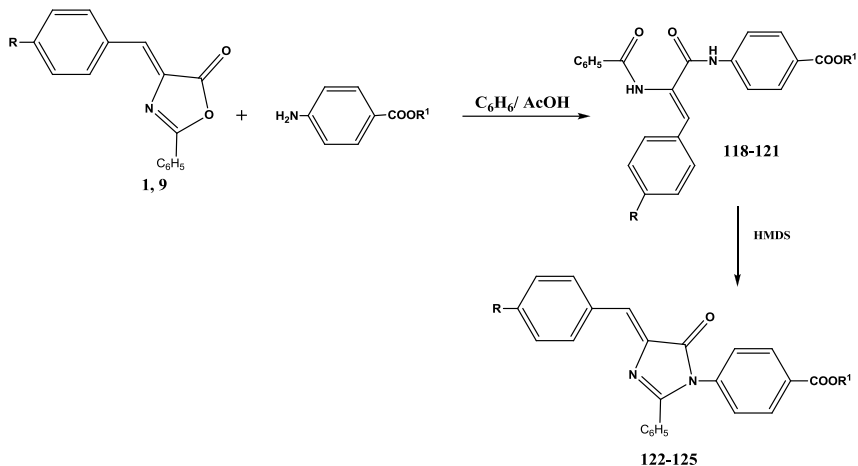
Отметим, что во всех случаях, когда в молекуле пептида содержится остаток β -аланина (**81, 85, 89, 92** и **96**) реакция с ГМДС сопровождается образованием соответствующих имидазолонов **18, 20, 23, 26, 29**.

Методом ТСХ установлено, что соединение **18** образуется также при кипячении имидазолон **81** в ДМФА. Исходя из этого можно предположить, что при взаимодействии дипептидов, содержащих остаток β -аланина **81, 85, 89, 92, 96** с ГМДС образование побочного продукта **18, 20, 23, 26, 29** происходит в результате термического расщепления гетероциклического продукта **100, 104, 108, 111, 115** по следующей схеме:



В пользу сделанного предположения говорит также факт образования акриловой кислоты, наличие которой установлено с помощью ТСХ, при кипячении раствора соединения **81** в ДМФА.

N-Бензоил- α,β -дегидродипептиды, содержащие остаток аминокислоты **118-121** были получены кипячением реакционной смеси ненасыщенных оксазолонов **1** или **9** с соответствующим амином в смеси бензол – уксусная кислота (3:1) в течение одного часа. Выходы дипептидов **118-121** колеблются в пределах 75-85 %. Циклизация пептидов **118-121** в имидазол-5-оны **122-125** также осуществлена реакцией с ГМДС в ДМФА.



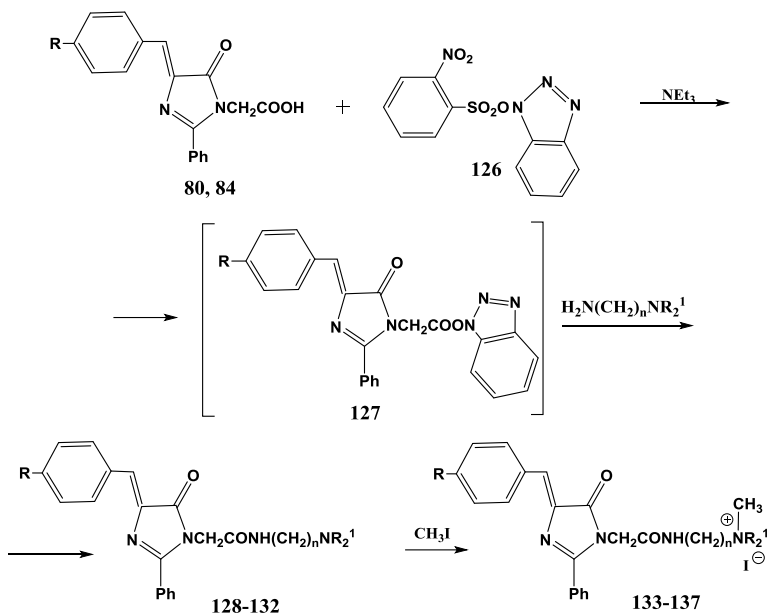
1, 118, 122 R = R' = H; 119, 123 R = H, R' = C₂H₅; 9, 120, 124 R = OTos, R' = H; 121, 125 R = OTos, R' = C₂H₅.

Исследованы антихолинэстеразные свойства полученных дипептидов **80-98** и **118-121** и имидазол-5-онов **99-117** и **122-125** по отношению к АХЭ и БуХЭ. Согласно полученным данным N-замещенные α,β -дегидродипептиды **80-98** и **118-121** или полностью лишены активности, или являются слабыми ингибиторами обеих холинэстераз. Их активности колеблются в интервале 0-31 % для АХЭ и 0-41 % для БуХЭ. Имидазол-5-оны, содержащие в положении 1 остаток карбоновой кислоты **99-117** сравнительно более активно ингибируют холинэстеразы - 1-97 % (АХЭ) и 2-73 % (БуХЭ). При этом по отношению к АХЭ сравнительно высокую ингибирующую активность проявляют соединения **101** (97 %) и **102** (83 %), а соединение **105** ингибирует БуХЭ на 73 %.

3.2. Синтез и антихолинэстеразные свойства аминоалкиламидов (Z)-(4-арилиден-5-оксо-2-фенил-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)карбоновых кислот

С целью создания гибридных систем, содержащих остатки имидазол-5-она и ацетилхолина, нами осуществлен синтез диалкиламиноалкиламидов (Z)-(4-арилиден-5-оксо-2-фенил-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)карбоновых кислот **128-132** и их четвертичных аммониевых аналогов **133-137**.

Синтез амидов **128-132** осуществлен методом активированных эфиров. Оксобензотриазоловые эфиры имидазолилкарбоновых кислот **127** получены в ацетонитриле при комнатной температуре с применением переэтерифицирующего реагента – 1-(*o*-нитрофенилсульфонилокси)бензотриазола (**126**). Эфиры **127**, без выделения из реакционной среды, были прореагированы с 2-(диалкиламино)алкиламинами.



80, 128, 133 R = H, R¹ = CH₃, n = 2; **129, 134** R = H, R¹ = C₂H₅, n = 2; **130, 135** R = H, R¹ = CH₃, n = 3; **84, 131, 136** R = CH₃O, R¹ = CH₃, n = 2; **132, 137** R = CH₃O, R¹ = C₂H₅, n = 2.

Выходы полученных таким образом aminoамидов **128-132** колеблются в пределах 67-71 %. Соответствующие четвертичные аммониевые соли **133-137** синтезированы взаимодействием aminoамидов **128-132** с йодистым метилом в ацетоне при комнатной температуре.

Исследованы антихолинэстеразные свойства aminoамидов **128-132** и их четвертичных аммониевых солей **133-137** по отношению как к АХЭ, так и к БуХЭ. Согласно полученным данным из синтезированных соединений сравнительно высокую антиацетилхолинэстеразную активность проявляет (*Z*)-*N*-(2-диэтиламино)этил)-2-(4-(4-метоксибензилиден)-5-оксо-2-фенил-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)ацетамид (**132**), а по отношению к БуХЭ - (*Z*)-2-(4-бензилиден-5-оксо-2-фенил-4,5-дигидро-1H-имидазол-1-ил)-*N*-(2-(диметиламино)этил)ацетамид (**128**).

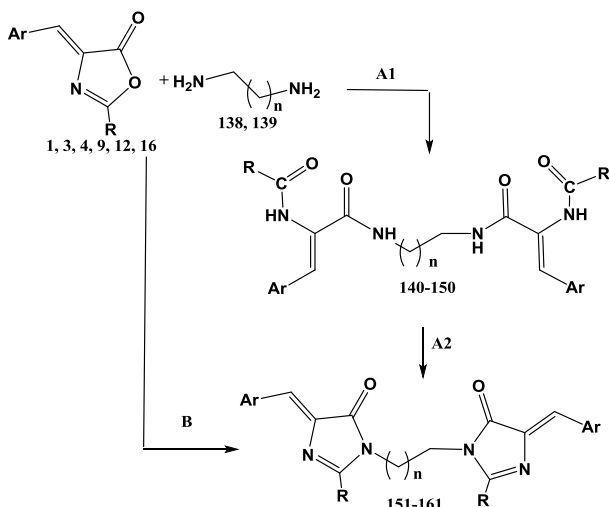
Сопоставлением данных можно заключить, что синтезированные соединения, в основном, более эффективны в отношении БуХЭ, чем АХЭ. Кватернизация третичной аминогруппы aminoамидного остатка почти не влияет на активность соединений при АХЭ, тогда как при БуХЭ наблюдается уменьшение ингибирующей активности.

3.3. Синтез и исследование антихолинэстеразных свойств бис-(4-арилиден-2-арил)-1Н-имидазол-5-онов

Как было показано в предыдущих главах, 1,2,4-тризамещенные имидазол-5-оны проявляют антихолинэстеразные свойства. С целью удвоения имидазол-5-онового остатка в одной молекуле соединенных метиленовой цепочкой по 1-ому положению гетероциклов предпринят синтез бис-(4-арилиден-2-арил)-1Н-имидазол-5-онов **151-161**.

Синтез целевых соединений осуществлен взаимодействием функциональнозамещенных ненасыщенных 5(4Н)-оксазолонов **1, 3, 4, 9, 12, 16** с диаминами **138, 139** двумя методами. В случае метода **A** реакцию проводили в среде этилацетата при кипячении реакционной смеси в течение 10-30 мин. В результате с хорошими выходами (77-97 %) получены бис-амиды **140-150** (стадия **A1**). Дегидратация последних осуществлена с помощью ГМДС в ДМФА при кипячении реакционной смеси в течение 10-45 мин (стадия **A2**). Выходы полученных таким образом целевых бис-имидазол-5-онов **151-161** колеблются в пределах 80-95 %. На примере синтеза (4Z,4'Z)-1,1'-(этан-1,2-диил)-бис(4-бензилиден-2-фенил-1Н-имидазол-5-она) (**151**) исследована возможность проведения двух стадий (**A1** и **A2**) в "одной колбе" без выделения бис-амида **140** (путь **B**).

С этой целью к смеси 2-фенил-4-бензилиден-5(4Н)-оксазолона (**1**) и этилендиамина (**138**) в ДМФА через 30 мин добавляли ГМДС и после завершения реакции (через 30 мин) и обработки реакционной смеси выделяли бис-имидазолон **151** с выходом 81.7 %.



1, 140, 151 R = Ar = C₆H₅, n = 1; **141, 152** R = Ar = C₆H₅, n = 5; **3, 142, 153** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OCH₃-4, n = 1; **143, 154** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OCH₃-4, n = 5; **4, 144, 155** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄O₂CH₂-3,4, n = 1; **145, 156** R = C₆H₅, ArC₆H₄O₂CH₂-3,4, n = 5; **9, 146, 157** R = C₆H₅, Ar = C₆H₄OTos-4, n = 1; **12, 147, 158** R = 4-BrC₆H₄, Ar = C₆H₅, n = 1; **148, 159** R = 4-BrC₆H₄, Ar = C₆H₅, n = 5; **16, 149, 160** R = 2,4-Cl₂C₆H₃, Ar = C₆H₄OCH₃-4, n = 1; **16, 150, 161** R = 2,4-Cl₂C₆H₃, Ar = C₆H₄OCH₃-4, n = 5.

Необходимо отметить, что при синтезе бис-имидазол-5-она **151** по пути **A** в две стадии суммарный выход составляет 69.6 %.

Исследованы ингибирующие свойства синтезированных соединений **140-161** по отношению к АХЭ и БУХЭ. Исходя из полученных данных можно заключить, что сравнительно высокую ингибирующую активность по отношению к АХЭ проявляют N,N'-(1Z,1'Z)-3,3'-(гексан-1,6-диилбис(азанедирил)бис(3-оксо-1-фенилпроп-1-ен-3,2-диил)бис(4-бромобензамид) (**148**) – 57 % и (4Z,4'Z)-1,1'-(гексан-1,6-диил)бис(4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-илметил)-2-фенил-1H-имидазол-5-он) (**156**) – 97 %.

В случае БУХЭ сравнительно высокое ингибирование наблюдается у N,N'-(1Z,1'Z)-3,3'-(этан-1,2-диилбис(азанедирил)бис(1-(4-метоксифенил)-3-оксопроп-1-ен-3,2-диил)бис(2,4-дихлорбензамида) (**149**) – 31 %, а (4Z,4'Z)-1,1'-(гексан-1,6-диил)бис(4-(бензо[d][1,3]диоксол-5-илметил)-2-фенил-1H-имидазол-5-он) (**156**) и (4Z,4'Z)-1,1'-(гексан-1,6-диил)бис(2-(2,4-дихлорофенил)-4-(4-метоксибензилиден)-1H-имидазол-5-он) (**161**) проявляют 100 %-ную активность. Из полученных данных можно заключить, что при переходе от бис-амидов к соответствующим бис-имидазолам антагонистическая активность по отношению к обоим ферментам в основном возрастает. Для бис-имидазолонов **151-161** определены также концентрации, ингибирующие ферменты на 50 % (IC₅₀). Согласно полученным данным все соединения **140-161** по ингибирующим свойствам уступают препарату такрин.

4. Докинг исследование некоторых имидазол-5-онов и анилидов

Осуществлен докинг-анализ некоторых 2,4-дизамещенных (**18, 20, 26**), 1,2,4-тризамещенных (**41, 42, 45, 57**) имидазол-5-онов и анилидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот **60, 61, 63, 74** как с АХЭ, так и с БУХЭ. Полученные энергетические показатели средняя энергия Гиббса ($\Delta G_{ср}$) комплексообразования конформеров исследуемых соединений свидетельствуют о том, что все соединения, кроме имидазолонов **20** и **42**, проявляют сравнительно более высокие значения с БУХЭ, чем с АХЭ (табл. 2). Отметим, что повышение активности при переходе от АХЭ к БУХЭ наблюдается также при сопоставлении данных имидазол-5-онов **18, 20, 26** и **41, 42, 45, 57**. Однако в случае анилидов **60, 61, 63, 74** наблюдается обратная картина.

Для определения сродства исследуемых соединений к АХЭ и БУХЭ были рассчитаны константы связывания (K_c , табл. 2). Данные табл. 2 показывают, что сравнительно высокие значения $\Delta G_{ср}$ и K_c по отношению к БУХЭ наблюдаются у 2-фенил-4-(толуолсульфонилоксибензилиден)имидазол-5-она (**26**). Необходимо отметить, что соединение **26** в экспериментальных условиях проявляет также высокую антибутирилхолинэстеразную активность. При сопоставлении данных $\Delta G_{ср}$ изомеров **42, 45, 57**, можно заключить, что в случае АХЭ сравнительно высокое значение имеет 1,2-дифенил-4-(4-метоксибензилиден)имидазол-5-он (**45**, $\Delta G_{ср} = -8.1$), тогда как в случае БУХЭ – 1-фенил-2-(4-метоксифенил)-4-бензилиденимидазол-5-он (**57**, $\Delta G_{ср} = -10.14$). При удалении метоксигруппы из молекулы обсуждаемого ряда изомеров значение $\Delta G_{ср}$ в случае АХЭ возрастает (**41**, $\Delta G_{ср} = -8.67$), а в случае БУХЭ – нет.

Для выявления типов связывания исследуемых соединений с АХЭ и БУХЭ был проведен конформационный анализ. Следует отметить, что комплексообразование носит, в основном, гидрофобный характер, хотя для АХЭ у соединений **20, 26, 45, 57, 61** и **74** наблюдаются единичные водородные связи с аминокислотными остатками Ser125 (**26**), Tyr337 (**20, 74**), Tyr341 (**45, 57**) и Tyr124 (**61**). В случае БУХЭ водородные связи наблюдаются у анилидов **60** (Thr120) и **61** (Asp78, Ser198).

Аминокислотные остатки ферментов, вовлеченные во взаимодействия с лигандами при комплексообразовании, приведены в табл. 3 и 4. Из этих таблиц видно, что при комп-

лексообразовании 2,4-дизамещенных (**18, 20, 26**), 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов (**41, 42, 45, 57**) и анилидов (**60, 61, 63, 74**) имеются связи, являющиеся общими как для данного ряда соединений, так и для различных рядов одновременно.

Таблица 2

Биофизические константы ($\Delta G_{ср}$ – средняя энергия Гиббса в ккал/моль и K_c – константа связывания) связывания 2,4-дизамещенных (18, 20, 26**), 1,2,4-тризамещенных (**41, 42, 45, 57**) имидазол-5-онов и анилидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот (**60, 61, 63, 74**) с активными центрами АХЭ и БуХЭ**

| № соединения | Фермент | | | |
|--------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|
| | АХЭ | | БуХЭ | |
| | $\Delta G_{ср}$ | K_c | $\Delta G_{ср}$ | K_c |
| 18 | -8.08±0.40 | 6.3x10 ⁵ | -9.26±0.46 | 5.6x10 ⁶ |
| 20 | -8.89±0.44 | 4.3x10 ⁵ | -8.80±0.46 | 2.5x10 ⁶ |
| 26 | -9.53±0.47 | 1.5x10 ⁶ | -10.5±0.52 | 4.4x10 ⁷ |
| 41 | -8.67±0.43 | 1.5x10 ⁶ | -9.2±0.46 | 5.0x10 ⁶ |
| 42 | -7.84±0.39 | 6.3x10 ⁵ | -7.78±0.39 | 4.7x10 ⁵ |
| 45 | -8.1±0.4 | 1.8x10 ⁵ | -9.12±0.45 | 4.4x10 ⁶ |
| 57 | -7.28±0.36 | 4.3x10 ⁵ | -10.14±0.5 | 2.4x10 ⁷ |
| 60 | -8.30±0.41 | 1.5x10 ⁶ | -9.47±0.47 | 8.0x10 ⁶ |
| 61 | -8.60±0.43 | 1.8x10 ⁵ | -9.50±0.47 | 8.4x10 ⁶ |
| 63 | -7.73±0.38 | 6.3x10 ⁵ | -9.12±0.45 | 4.4x10 ⁶ |
| 74 | -8.71±0.43 | 4.3x10 ⁵ | -8.96±0.44 | 3.3x10 ⁶ |

Для АХЭ идентифицировано 4 аминокислотных остатка, которые вовлечены в процесс комплексообразования со всеми 2,4-дизамещенными имидазол-5-онами **18, 20, 26**. В случае 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов **41, 42, 45, 57** также обнаружено 4 аминокислотных остатка (Trp286, Val294, Phe295 и Tyr341), проявляющие сродство ко всем соединениям этого ряда.

В случае же анилидов **60, 61, 63, 74** число этих аминокислотных остатков составляет 5 – Tyr72, Tyr124, Trp286, Tyr337 и Tyr341. Согласно данным табл. 3, 1,2,4-тризамещенные имидазол-5-оны с анилидами имеют общие места связывания с АХЭ по Trp286 и Tyr341, в то время как 2,4-дизамещенные имидазол-5-оны не имеют общих мест связывания с остальными рядами.

Данные табл. 4 показывают, что комплексообразование 2,4-дизамещенных имидазол-5-онов **18, 20, 26** с БуХЭ происходит за счет 9-12 аминокислотных остатков фермента, из которых 7 являются общими для этого ряда соединений. В случае 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов **41, 42, 45, 57** при комплексообразовании с БуХЭ вовлечены 11-14 аминокислотных остатков фермента, из которых общими для всего ряда являются 3 аминокислотных остатка. У анилидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот **60, 61, 63, 74** число этих остатков составляет 7.

Однако, общие места связывания для всех представителей 2,4-ди- и 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов с БуХЭ - это Trp82 и Tyr332. Отметим, что эти аминокислотные остатки являются ключевыми при функционировании БуХЭ.

Таблица 3

Аминокислотные остатки мономера АХЭ, вовлеченные во взаимодействия фермента с 2,4-дизамещенными (18, 20, 26) и 1,2,4-тризамещенными (41, 42, 45, 57) имидазол-5-онами и амидами N-замещенных α,β -дегидроаминокислот (60, 61, 63, 74)

| Аминокислотный остаток АХЭ | № имидазол-5-она и амида | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|--------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|
| | 18 | 20 | 26 | 41 | 42 | 45 | 57 | 60 | 61 | 63 | 74 | |
| Gln71 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + |
| Tyr 72 | + | - | + | - | + | + | - | + | + | + | + | + |
| Val73 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + |
| Asp 74 | + | + | + | - | + | + | - | + | + | - | + | + |
| Leu76 | - | - | - | + | - | + | + | + | - | - | - | - |
| Trp 86 | + | + | + | - | - | - | - | - | + | - | - | + |
| Asp 87 | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | + |
| Gly120 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | + |
| Glu 121 | + | - | + | - | - | - | - | - | + | - | - | + |
| Tyr124 | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + |
| Ser 125 | + | - | + | - | - | - | - | - | + | - | - | + |
| Tyr133 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - |
| Glu 202 | + | - | + | - | - | - | - | - | + | - | - | + |
| Trp 286 | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| His 287 | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| Leu 289 | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | + | - |
| Ser 293 | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | + | - |
| Val 294 | - | - | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| Phe 295 | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - |
| Phe297 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | + | - |
| Tyr 314 | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Tyr 337 | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + |
| Phe 338 | - | - | + | + | + | + | - | + | - | + | - | - |
| Tyr 341 | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Trp 439 | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| His 447 | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Glu 448 | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

*Взаимодействие осуществляется за счет водородной связи; в красном ответственные аминокислотные остатки активного центра АХЭ. (+) - есть взаимодействие. (-) – нет взаимодействия.

Известно, что Trp82 является одним из важных остатков, образующих «холин-связывающую часть» каталитического центра сайта связывания для БухЭ. Tyr332 находится в периферической зоне «горловины» активного центра. Он образует с другими аминокислотными остатками «периферийную анионную часть» и вовлечен в процесс идентификации нативного лиганда. По данным табл. 4 три анилида из четырех также имеют гидрофобные взаимодействия с Trp82 БухЭ.

Общее место взаимодействия с БухЭ для 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов 41, 42, 45, 57 и анилидов 60, 61, 63, 74 наблюдается только при Leu286, который является одним из важнейших аминокислотных остатков «ацильной части» БухЭ.

Таблица 4

Аминокислотные остатки мономера БУХЭ, вовлеченные во взаимодействия фермента с 2,4-дизамещенными (18, 20, 26), 1,2,4-тризамещенными (41, 42, 45, 57) имидазол-5-онами и амидами N-замещенных α,β -дегидроаминокислот (60, 61, 63, 74)

| Аминокислотный остаток БУХЭ | № имидазол-5-она и амида | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|--------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|
| | 18 | 20 | 26 | 41 | 42 | 45 | 57 | 60 | 61 | 63 | 74 | |
| Asp68 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + |
| Gln67 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Asp 70 | + | + | + | + | + | - | - | - | + | + | - | - |
| Trp 82 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - |
| Asp83 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Pro84 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| Gly 115 | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gly 116 | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + |
| Gly117 | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Trp 120 | - | - | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + |
| Tyr 128 | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Glu 197 | + | + | + | + | - | + | + | + | - | - | - | - |
| Ser 198 | - | - | + | + | - | - | - | - | + | + | + | + |
| Pro 285 | - | + | + | - | + | + | + | + | - | - | - | - |
| Leu 286 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Ser 287 | - | - | - | - | + | - | + | + | - | - | - | - |
| Val 288 | - | - | - | + | + | + | - | - | + | + | - | + |
| Trp 231 | - | - | - | + | - | + | - | - | + | + | + | + |
| Ala 328 | + | + | + | - | + | - | + | + | - | + | + | + |
| Phe 329 | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + |
| Tyr 332 | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + |
| Phe 398 | - | - | - | + | - | - | - | - | + | - | + | - |
| Trp 430 | - | - | + | + | + | - | - | - | - | + | + | + |
| Met 437 | + | - | + | - | + | - | - | - | - | + | + | + |
| His 438 | + | - | + | + | - | + | - | - | + | + | + | - |
| Gly 439 | - | - | - | + | - | + | - | - | + | - | - | - |
| Tyr 440 | + | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | - |

*Взаимодействие осуществляется за счет водородной связи; в красном ответственные аминокислотные остатки. (+) - есть взаимодействие. (-) - нет взаимодействия.

Табл. 3, 4 дают возможность оценивать местоположение исследуемых лигандов в активном центре ферментов. Так, 2,4-дизамещенные имидазол-5-оны **18, 20, 26**, в основном, взаимодействуют с π -катион-связывающей частью АХЭ (Trp82, Trp337).

1,2,4-Тризамещенные имидазол-5-оны **41, 42, 45, 57** образуют гидрофобную связь с Phe295, являющимся одним из основных аминокислотных остатков ацилсвязывающей части АХЭ. А анилиды N-замещенных α,β -дегидроаминокислот **60, 61, 63, 74** образуют гидрофобную связь с остатком Tyr337 (π -катионсвязывающая часть).

В случае БУХЭ 2,4-дизамещенные имидазол-5-оны **18, 20, 26** входят в гидрофобные взаимодействия с Asp70, Tyr332 (периферическая анионная часть) и Trp82 (π -катионсва-

зывающая часть), а также с Gly116 (оксианионная часть) и Glu197 (активатор воды) фермента. В отличие от них, 1,2,4-тризамещенные имидазол-5-оны **41, 42, 45, 57**, в основном, связываются только с остатком Trp82 (π -катионсвязывающая часть) и Tyr332 (периферическая анионная часть) БуХЭ. Что касается анилидов **60, 61, 63, 74**, то они связываются с оксианионным центром (Gly116, Gly117) и остатком серина каталитической триады. Из выше сказанного очевидно, что исследуемые соединения лучше блокируют ответственные части активного центра БуХЭ, чем АХЭ. По всей вероятности этим можно объяснить сравнительно большую специфичность синтезированных соединений по отношению к БуХЭ.

Таким образом, проведенный докинг-анализ выявил ряд закономерностей комплексообразования 2,4-ди-, 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов и анилидов N-замещенных α,β -дегидроаминокислот. Накопление новых данных в этом направлении может способствовать при конструировании высокоэффективных антихолинэстеразных соединений из ряда имидазол-5-онов.

5. Фармакологические свойства 2-фенил-4-(4-толуолсульфонилоксибензилиден)имидазол-5-она

Сопоставлением данных IC_{50%} синтезированных нами имидазол-5-онов и некоторых известных антихолинэстеразных соединений (табл. 1) установлено, что 2-фенил-4-(4-толуолсульфонилоксибензилиден)имидазол-5-он (**26**) является высокоактивным и селективным ингибитором БуХЭ. Установлено, что соединение **26** обладает также антирадикальным (в течение 40 мин 20 %, витамин С – 89 %) и антимоноаминоксидазным (53 %, индопан – 86 %) свойствами. Предварительная оценка токсичности соединения **26** показывает, что это вещество малотоксично (максимально переносимая доза – МПД = 1250 мг/кг).

ВЫВОДЫ

1. Показано, что ненасыщенные 5(4Н)-оксазолоны реакцией «в одной колбе» с 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазаном образуют 1,2,4-тризамещенные имидазол-5-оны.
2. Установлено, что реакция дегидратации N-замещенных α,β -дегидропептидов, содержащих остаток β -аланина с 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазаном протекает с отщеплением акриловой кислоты.
3. Показано, что 2,4-ди- и 1,2,4-тризамещенные имидазол-5-оны проявляют ингибирующие свойства как по отношению к ацетилхолинэстеразе, так и бутирилхолинэстеразе.
4. Установлено, что функциональнозамещенные имидазол-5-оны по отношению к АХЭ и БуХЭ проявляют сравнительно высокую ингибирующую активность по сравнению с соответствующими амидами или пептидами.
5. Показано, что в ряду 2,4-дизамещенных имидазол-5-онов 2-фенил-4-(4-толуолсульфонилоксибензилиден)имидазол-5-он является высокоэффективным и высокоселективным ингибитором по отношению к бутирилхолинэстеразе.
6. На основании докинг-анализа установлены некоторые закономерности взаимодействия 2,4-дизамещенных и 1,2,4-тризамещенных имидазол-5-онов с ацетилхолинэстеразой и бутирилхолинэстеразой, свидетельствующие о том, что накопление новых данных в этом направлении может способствовать конструированию высокоэффективных антихолинэстеразных соединений в ряду имидазол-5-онов.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Топузян В. О., Казоян В. М. 2,4-Дизамещенные 5(4Н)-имидазолы: новый класс ингибиторов холинэстераз. Доклады НАН РА, 2018, т. 118, № 3, с. 268-272.
2. Топузян В. О., Казоян В. М., Тамазян Р. А., Айвазян А. Г., Галстян Л. Х. Синтез и антихолинэстеразные свойства [(4Z)-2-арил-4-арилиден-5-оксо-4,5-дигидро-1Н-имидазол-1-ил]карбоновых кислот. ЖОрХ, 2018, т. 54, вып. 9, с. 1355-1363.
3. Topuzyan V. O., Ghazoyan V. M., Novhannisyanyan G. Sh., Novhannisyanyan A. A. Evaluation of the dehydrating properties of some silylating agents in the synthesis of imidazole-5-one. Chem. J. Arm., 2018, v. 71, № 4, p. 551-558.
4. Казоян В. М. Синтез и исследование антихолинэстеразных свойств бис-(4-арилиден-2-арил-1Н-имидазол-5(4Н)-онов. Хим. ж. Арм., 2019, т. 72, № 1-2, с. 86-95.
5. Топузян В. О., Казоян В. М., Унанян Л. С., Оганесян А. А., Галстян Л. Х., Макичян А. Т. Некоторые подходы к синтезу 1,2,4-тризамещенных 5-имидазолонов с применением силилирующих агентов и изучение их антихолинэстеразных свойств. Хим. ж. Арм., 2019, т. 72, № 1-2, с. 159-175.
6. Топузян В. О., Оганесян А. А., Казоян В. М., Алексанян Е. Р. Синтез и антихолинэстеразные свойства (Z)-1-замещенных-2-фенил-4-(п-толуолсульфонилоксибензилиден)-5-имидазолонов. Доклады НАН РА, 2019, т. 119, № 2, с. 162-170.
7. Казоян В. М., Топузян В. О., Галстян Л. Х., Манвелян А. Р. Синтез (Z)-(4-арилиден-5-оксо-2-арил-4,5-дигидро-1Н-имидазол-1-ил)алкилкарбоновых кислот. V Научная конференция Армянского химического общества (с международным участием) АХО-5. "Актуальные задачи фундаментальной и прикладной химии". Ереван, 2017 г., с. 125.

ՂԱԶՈՑԱՆ ՎԱՐԴՈՒՉԻ ՄԱՆՎԵԼԻ

ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ՏԵՂԱԿԱԼ ՎԱՍԻ ԻՄԻԴԱԶՈՒ-5-ՈՆՆԵՐԻ ՄԻՆԹԵԶՆ ՈՒ ՀԱՎԱԽՈՒՐՆԷՍԹԵՐԱԶԱՑԻՆ ՀԱՏՎՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Հակախոլինէսթերազային հատկությունների բացահայտման նպատակով սինթեզվել են մի շարք 2,4-երկտեղակալված իմիդազոլ-5-ոններ: Նպատակային միացությունների սինթեզն իրականացվել է չհազեցած 5(4H)-օքսազոլոնների և 1,1,1,3,3,3-հեքսամեթիլդիսիլազանի (ՀՄԴՍ) փոխազդեցությամբ դիմեթիլֆորմամիդի (ԴՄՖԱ) միջավայրում եռացման պայմաններում: Նույն փոխազդեցությունը էթիլացետատի միջավայրում, սենյակային ջերմաստիճանում իրականացնելով սինթեզվել են մի քանի N-տեղակալված □,□-դեհիդրոամինաթթուների առաջնային ամիդներ: Պարզվել է, որ սինթեզված երկտեղակալված իմիդազոլ-5-ոնները ցուցաբերում են հակախոլինէսթերազային հատկություններ ինչպես ացետիլխոլինէսթերազի (ԱԽԵ), այնպես էլ բուրբիլխոլինէսթերազի (ԲուԽԵ) հանդեպ: Ընդ որում՝ դրանցից մեկը՝ 2-ֆենիլ-4-(պ-տոլուլոսուլֆոնիլօքսիբենզիլիդեն)իմիդազոլ-5-ոնը ԲուԽԵ-ի հանդեպ ցուցաբերած ակտիվությամբ և ընտրողականությամբ գերազանցում է հայտնի մի շարք հակախոլինէսթերազային պրեպարատներին:

N-Բենզոիլ □,□-դեհիդրոֆենիլալանինի բենզիլամիդից 1-բենզիլ-2-ֆենիլ-4-բենզիլիդենիմիդազոլ-5-ոնի ստացման օրինակի վրա ուսումնասիրվել են մի քանի սիլիլացնող ազենտների, այդ թվում՝ դիմեթիլդիքլորսիլանի, տրիմեթիլքլորսիլանի և ՀՄԴՍ-ի, դեհիդրատացնող հատկությունները: Պարզվել է, որ լավագույն արդյունքները ստացվում են ՀՄԴՍ-ի դեպքում:

Մշակվել է ՀՄԴՍ-ի մասնակցությամբ չհազեցած 5(4H)-օքսազոլոններից 1,2,4-եռտեղակալված իմիդազոլ-5-ոնների սինթեզի նոր մոտեցում՝ «սինթեզ մեկ փորձանոթում»: Այս դեպքում բացառվում է օքսազոլոնի և ամինի փոխազդեցության արդյունքում գոյացող □,□-դեհիդրոամինաթթվի ամիդի անջատումը ռեակցիոն խառ-նուրդից և վերջինիս դեհիդրատացումն իրականացվում է ՀՄԴՍ-ով նույն փորձանոթում:

Հետազոտվել են սինթեզված 1,2,4-եռտեղակալված իմիդազոլ-5-ոնների հակախոլինէսթերազային հատկությունները: Պարզվել է, որ դրանք ևս ցուցաբերում են արգելակող ակտիվություն երկու ֆերմենտների՝ ԱԽԵ-ի և ԲուԽԵ-ի հանդեպ:

Իմիդազոլ-5-ոնների հիմքի վրա հիբրիդային միացությունների ստեղծման նպատակով իրականացվել է մի շարք N-տեղակալված □,□-չհազեցած դիպեպտիդների դեհիդրատացիան ՀՄԴՍ-ի կիրառմամբ: Պարզվել է, որ այս ճանապարհով ստացվող իմիդազոլոնկարբոնաթթուները իրենց հակախոլինէսթերազային ակտիվությամբ գերազանցում են համապատասխան դիպեպտիդները: Իմիդազոլ-5-ոնի և ացետիլխոլինի մնացորդներ պարունակող հիբրիդային միացությունների սինթեզն իրականացվել է ակտիվ էսթերների եղանակով՝ փոխազդեցության մեջ դնելով իմիդազոլոնկարբոնաթթուները դիալկիլամինալկիլամինների հետ: Այս դեպքում որպես կարբոքսիլ խումբը ակտիվացնող ռեագենտ օգտագործվել է վերաէսթերացնող ռե-

գենտ՝ 1-(օ-նիտրոֆենիլսուլֆոնիլօքսի)բենզոտրիագոլը: Ստացված իմիդագոլոն-կարբոնաթթուների ամինոամիդներն ու նրանց չորրորդային ամոնիումային աղերը նույնպես օժտված են հակախոլինէսթերազային ակտիվությամբ: Նույն արդյունքն է ստացվել նաև երկու իմիդագոլոնային մնացորդներ պարունակող հիբրիդային միացությունների դեպքում: Վերջինների սինթեզն իրականացվել է համապատասխան բիս-ամիդների ցիկլմամբ ՀՄԴՄ-ով:

Իրականացվել է ստացված միացություններից մի քանիսի դոկինգ-անալիզը, որի արդյունքները թույլ են տալիս անել որոշ ընդհանրացումներ ԱԽԷ-ի կամ ԲուԽԷ-ի ու իմիդագոլ-5-ոնների կոպլեքսագոյացման վերաբերյալ:

Պարզվել է նաև, որ սինթեզված միացություններից համեմատաբար բարձր հակաբուծիքիլոտրինէսթերազային ակտիվությամբ օժտված 2-ֆենիլ-4-(պ-տոլուոլսուլֆոնիլօքսիբենզիլիդեն)իմիդագոլ-5-ոնը ցուցաբերում է թույլ արտահայտված հակառադիկալային և միջին հակամոնոամինոօքսիդազային ակտիվություններ և միաժամանակ օժտված է ցածր թունականությամբ (առավելագույն տանելի կոնցենտրացիան՝ 1200 մգ/կգ է):

**SYNTHESIS AND ANTICHOLINESTERASE ACTIVITY OF
FUNCTIONAL SUBSTITUTED IMIDAZOL-5-ONES**

SUMMARY

In order to find out compounds with anticholinesterase properties a number of 2,4-disubstituted imidazol-5-ones were synthesized. The synthesis of target compounds has been conducted by the interaction of unsaturated 5(4H)-oxazolones and 1,1,1,3,3,3-hexa-methyldisilazane (HMDS) in dimethylformamide (DMFA) in boiling conditions. The same interaction in ethyl acetate has been performed at room temperature, and some primary amides of N-substituted α,β -dehydroamino acids have been received as a result. It has been found out that synthesized disubstituted imidazol-5-ones demonstrate anticholinesterase properties both to the acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE). Moreover, one of that compounds - 2-phenyl-4-(p-toluensulfonyloxybenzilidene)imidazol-5-one, has higher activity and selectivity to the BuChE compared with a number of well known anticholinesterase compounds.

Dehydration properties of some silylating agents, including dichlorodimethylsilane, chlorotrimethylsilane and HMDS, on the example of receiving 1-benzyl-2-phenyl-4-benzylideneimidazol-5-one from the benzylamide of N-benzoyl α,β -dehydrophenylalanine have been studied. It has been proved, that the best results have been received in the case of HMDS.

New approach of synthesis of the 1,2,3-trisubstituted imidazol-5-ones from the unsaturated 5(4H)-oxazolones - "one pot" synthesis has been developed. In this case the isolation of the amide of α,β -dehydroamino acid, which has been received by the interaction of oxazolone and amine from the reaction mixture is excluded, and the latter dehydration has been conducted in the same flask.

The anticholinesterase properties of synthesized 1,2,4-trisubstituted imidazol-5-ones have been studied. It has been found out that they demonstrate inhibition activity both to the AChE and BuChE.

The dehydration of several N-substituted α,β -unsaturated dipeptides, using HMDS, for the purposes of receiving hybrid compounds on the basis of imidazol-5-ones has been conducted. It has been found out that anticholinesterase properties of imidazolonecarboxylic acids synthesized by this way exceed anticholinesterase properties of respective dipeptides. The synthesis of hybrid compounds, containing residues of imidazol-5-one and acetylcholine, has been conducted by the method of activated esters by the interaction of imidazolonecarboxylic acids with dialkylaminoalkylamines. In this case there was used a reesterating agent - 1-(o-nitrophenylsulfonyloxy)benzotriazole as the activating reagent of carboxyl group. Received aminoamides of imidazolonecarboxylic acids and their quaternary ammonium salts also have anticholinesterase properties. The same results were obtained in the case of hybrid compounds, which have two imidazolone residues. Synthesis of the latter has been performed by the cyclization of bis-amides by HMDS.

The docking-analysis of some of the received compounds, the results of which allow to summerise conclusions regarding the formation of complexes of AChE or BuChE and imidazol-5-ones has been conducted.

It has been also found out that from the synthesized compounds with respectively high antibutyrylcholinesterase property 2-phenyl-4-(p-toluensulfonyloxy-benzilide-ne)imidazol-5-one demonstrate weak antiradical and medium antimonoamine oxidase activity, having low toxicity (the maximum tolerated dose is 1200 mg/kg).