

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Базанов

БАЗАНОВ ДАНИИЛ РОМАНОВИЧ

**2,4,5-ТРИАРИЛИМИДАЗОЛИНЫ: СИНТЕЗ, РЕАКЦИОННАЯ
СПОСОБНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ**

1.4.16 — медицинская химия

1.4.3 — органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва – 2022

Работа выполнена на кафедре медицинской химии и тонкого органического синтеза
Химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

- Научный руководитель
(консультант)** – Лозинская Наталья Александровна – кандидат химических наук
- Официальные оппоненты** – Белоглазкина Елена Кимовна – доктор химических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», химический факультет, кафедра органической химии, профессор
- Шевцова Елена Феофановна – доктор химических наук, Институт физиологически активных веществ ФГБУН Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (ИФАВ РАН), и.о. зав. лабораторией биомолекулярного скрининга, главный научный сотрудник
- Злотский Семен Соломонович – доктор химических наук, профессор, ФГБОУ «Уфимский государственный нефтяной технический университет», кафедра «Общая, аналитическая и прикладная химия», заведующий кафедрой

Защита диссертации состоится «25» ноября 2022 г. в 12:00 часов на заседании диссертационного совета МГУ.014.7 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, МГУ, Химический факультет, ауд. 446

E-mail: natalylozinskaya@mail.ru (ученый секретарь)
daniil_bazanov@mail.ru (соискатель)

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»:
<https://istina.msu.ru/dissertations/499634581/>

Автореферат разослан «___» _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук


Н.А. Лозинская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Фрагмент имидазолина часто встречается в биологически активных веществах, в том числе в уже имеющихся на рынке лекарственных препаратах. Так, например, среди производных родоначальника класса имидазолинов - 2-замещенного имидазолина - можно выделить агонисты адренорецепторов α_1 и α_2 , которые имеют широкий спектр применения от снятия отека носа при насморке до снижения артериального и внутриглазного давления. Значительно меньше данных существует о биологической активности 4,5-замещенных производных имидазолина. Связано это с меньшей доступностью соответствующих вицинальных этилендиаминов, служащих исходными соединениями для синтеза данных имидазолинов. Кроме того, для подобных производных имидазолинов возможна *цис-транс*-изомерия, осложняющая выделение изомеров в чистом виде и их дальнейшую модификацию. В то же время потребность именно в диастереомерно чистых производных значительно возросла после того, как было обнаружено, что некоторые *цис*-2,4,5-триарилимидазолины – нутлины - способны индуцировать апоптоз в раковых клетках за счет ингибирования белок-белкового MDM2-p53 взаимодействия. Проявляя высокую селективность по отношению к раковым клеткам в сравнении с нормальными, данные имидазолины были особенно эффективны в сочетании с другими противоопухолевыми препаратами, снижая их необходимую дозировку и тем самым уменьшая сопутствующие стандартной противораковой терапии побочные эффекты. Однако, внедрению нутлинов в клиническую практику мешает их низкая растворимость в воде, отчасти связанная с наличием атомов галогена в их структуре. Поэтому разработка новых методов синтеза производных 2,4,5-триарилимидазолинов, обладающих повышенной растворимостью в воде и сохраняющих целевую биологическую активность, является актуальной задачей как органической, так и медицинской химии.

Степень разработанности темы диссертации. В литературе описан ряд синтетических подходов к получению замещенных имидазолинов, в том числе и обладающих противораковой активностью. В диссертационной работе представлен обзор литературы, посвященный ингибиторам p53-MDM2 взаимодействия и их синтезу. Особое внимание уделено методам стереоселективного синтеза производных имидазолинов и выявлено, что существующие варианты стереоселективной сборки 2,4,5-триарилимидазолинового каркаса предполагают в основном алкильные группы и галогены в качестве заместителей. Поэтому синтез и изучение биологической активности потенциально водорастворимых 2,4,5-триарилимидазолинов, содержащих гидрофильные группы, такие как гидроксилы и алкоксигруппы, является актуальной задачей, требующей дополнительного исследования и разработки.

Целью настоящей работы является разработка препаративно удобного метода получения *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов и изучение их реакционной способности, а также направленный синтез производных имидазолинов с антиоксидантной и противораковой активностью и потенциально улучшенной водорастворимостью. В соответствии с данной целью в работе были поставлены следующие задачи:

- разработать препаративный метод синтеза разнообразных алкокси-производных 2,4,5-триарилимидазолинов и изучить их антиоксидантную и противораковую активность с целью выявления наиболее удачной модификации с целевыми свойствами;
- изучить реакционную способность заместителей в арильных кольцах 2,4,5-трис(алкоксиарил)имидазолинов с целью изучения возможности их дальнейшей направленной модификации;
- разработать препаративный метод *N*-сульфонилзамещенных 2,4,5-трис(арил)имидазолинов и изучить их влияние на уровень p53 в раковых клетках и цитотоксичность;
- разработать препаративный метод *N*-карбамоилзамещенных 2,4,5-трис(арил)имидазолинов и изучить их влияние на уровень p53 в раковых клетках и цитотоксичность;

- изучить возможность восстановительного раскрытия имидазолинового кольца в новых производных *цис*-2,4,5-трис(арил)имидазолинов с целью разработки подхода к синтезу труднодоступных *эритро*-1,2-диарил-1,2-этилендиаминов;

Объект и предмет исследования.

Объектом исследования являются *цис*-2,4,5-трис(арил)имидазолины, предметом исследования является их биологическая активность, антиоксидантные свойства и реакционная способность.

Методология и методы исследования

Для подтверждения состава и структуры соединений в работе использованы разнообразные физико-химические методы анализа, в том числе спектральные методы, такие как ЯМР спектроскопия на ядрах ^1H и ^{13}C , масс-спектрометрия (EI и масс-спектрометрия высокого разрешения HRMS-ESI) и элементный анализ. Исследование антиоксидантных свойств проводили спектрофотометрически и электрохимически с помощью циклической вольтамперометрии. Цитотоксичность оценивали на клеточных линиях рака человека спектрофотометрически с использованием МТТ-теста. Изменение уровня p53 и других ключевых белков оценивали с помощью вестерн-блот анализа. Анализ гибели клеток под действием соединений проводили с использованием проточной цитометрии. Достоверность полученных результатов подтверждается их систематической воспроизводимостью.

Научная новизна.

Разработан синтетический подход к новым производным 2,4,5-трис(арил)имидазолинов, содержащим алкокси- и гидрокси-группы в арильных кольцах. Показано, что гидроксиарил-производные имидазолины обладают выраженными антиоксидантными свойствами, но не проявляют цитотоксичности по отношению к раковым клеткам, в то время как алкокси-производные 2,4,5-трис(арил)имидазолинов способны стабилизировать уровень белка p53 и p53-зависимых белков в раковых клетках, провоцируя их гибель по апоптотическому пути в микромолярном диапазоне концентраций. Таким образом, впервые показано, что наличие галогенов в арильных кольцах в положениях 4 и 5 имидазолина не является исключительно необходимым для повышения уровня p53 в раковых клетках, экспрессирующих p53 дикого типа, что открывает путь к созданию новых производных нутлинов, обладающих целевой противораковой активностью, но при этом значительно лучше растворимых в воде, чем существующие аналоги.

Изучено влияние дополнительной модификации атома азота в 2,4,5-трис(арил)имидазолиновом цикле на биологическую активность и растворимость соединений в воде. Показано, что и сульфониламидная, и карбамоильная модификации обеспечивают стабилизацию уровня p53 и улучшают растворимость имидазолинов в воде, но карбамоильная модификация является предпочтительной из-за большей стабильности данных соединений.

Показано, что полученные имидазолины под действием натрия претерпевают восстановительное раскрытие цикла и, в зависимости от условий, могут давать в качестве основного продукта как 1,2-диарил-1,2-этилендиамины, так и замещенные дибензиламины.

Теоретическая и практическая значимость.

Разработан удобный синтетический подход к ранее неизвестным 2,4,5-трис(арил)имидазолинам, обладающим противораковой и антиоксидантной активностью на основе производных, содержащих алкокси- и гидрокси-группы, соответственно. Впервые показано, что замена атомов галогена в арильных заместителях имидазолинового цикла на алкокси-группы не приводит к потере способности соединений стабилизировать уровень p53 в раковых клетках, экспрессирующих белок p53 дикого типа, но при этом значительно повышает растворимость производных имидазолинов в воде. Этот факт является важным при создании лекарственных средств и может быть использован при разработке противораковых препаратов класса нутлинов нового поколения. Рассмотрено два варианта модификации атома азота имидазолинового цикла, изучена зависимость «структура-свойство» и выявлено, что несмотря на то, что обе модификации позволяют увеличить растворимость производных

в воде и повысить уровень p53 и p53-зависимых белков в клетке, и использование карбамоильной модификации является предпочтительной из-за ее большей стабильности. Продемонстрирована разница в реакционной способности алкокси и гидроксизаместителей в арильных кольцах в положениях 2 и 4,5 для 2,4,5-трис(арил)имидазолинов, что открывает путь к их селективной модификации. Разработан метод восстановительного раскрытия имидазолинового цикла под действием металлического натрия, позволяющий получить в зависимости от условий как замещенные дибензиламины, так и 1,2-диарилэтилендиамины с препаративными выходами. Вицинальные диамины такого типа являются труднодоступными соединениями, в то же время потребность в них высока, т.к. они могут быть использованы не только в синтезе разнообразных биологически активных соединений, но и в качестве лигандов при катализе переходными металлами (например, таких как селен-комплексы).

Положения, выносимые на защиту

- Препаративный синтез алкокси-производных *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов может быть осуществлен по реакции ароматических альдегидов с газообразным аммиаком в тетрагидрофуране с последующим *one-pot* дисротаторным замыканием цикла в образующемся тримере под действием сильного основания.

- Имидазолиновый цикл оказывает существенное влияние на реакционную способность заместителей в арильных кольцах *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов, причем наибольшее отличие наблюдается при расположении заместителей в *орто*- и *пара*-положениях к имидазолиновому циклу. Алкокси- и гидроксигруппы в арильных кольцах в положениях 4 и 5 имидазолина обладают большей нуклеофильностью, чем подобные группы в кольце в положении 2, что позволяет проводить их селективные модификации.

- Восстановительное раскрытие имидазолинового цикла под действием натрия в зависимости от условий реакции приводит как к производным 1,2-диарил-1,2-этилендиаминов, так и замещенным дибензиламинам.

- *Цис*-2,4,5-триарилимидазолины, содержащие гидроксигруппы, обладают выраженной антиоксидантной активностью, но не проявляют цитотоксичности по отношению к раковым клеткам.

- *Цис*-2,4,5-триарилимидазолины, содержащие алкоксигруппы в положениях 2 и 4 арильных колец, обладают способностью провоцировать гибель раковых клеток по p53-зависимому апоптотическому пути.

- Наличие сульфониламидной группы в качестве заместителя на атоме азота *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов улучшает их растворимость в воде. Данные производные способны повышать уровень белка p21 и в меньшей степени - белка p53 в раковых клетках, экспрессирующих p53 дикого типа.

- *N*-карбамоилзамещенные 2,4,5-трис(арил)имидазолины способны стабилизировать уровень p53 в раковых клетках, экспрессирующих p53 дикого типа, а также повышать уровни p53-зависимых белков, таких как p21 и *Puma*.

Личный вклад автора состоит в подборе и анализе литературы по основным направлениям работы с последующей систематизацией в обзоре литературы. Автор лично осуществлял синтетические эксперименты, решая актуальные задачи оптимизации методов проведения синтеза и очистки полученных веществ. Автор принимал непосредственное участие в постановке целей и промежуточных задач, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке соединений к изучению их антиоксидантной активности и биологических свойств. Автор также принимал непосредственное участие в представлении ключевых результатов работы на конференциях и подготовке материалов к патентованию и публикации в научных журналах.

Апробация работы и публикации.

Основное содержание работы изложено в 24 публикациях в виде 5 статей в международных рецензируемых научных изданиях, индексируемых виртуальными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованы ВАК для публикации результатов

диссертационных работ, 1 патенте РФ, а также 18 тезисов докладов на международных и российских научных конференциях. Во всех работах вклад автора является определяющим.

Основные материалы работы были представлены в виде стендовых и устных докладов на конференциях: Международные научные конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов 2015", "Ломоносов 2019", "Ломоносов 2020", "Ломоносов 2021" (Москва, Россия), IX Молодежная конференция ИОХ РАН, посвященная 160-летию со дня рождения академика Н.Д. Зелинского (Москва, Россия, 2021), EFMC-ISMС & EFMC-УМСС Virtual Poster Session Powered by the EFMC Young Scientists Network (Базель, Швейцария, 2020), IV Национальный конгресс по регенеративной медицине (Москва, Россия, 2019), XXVIth Young Research Fellow Meeting, (Париж, Франция, 2019), XXV Российский национальный конгресс "Человек и лекарство" (Москва, Россия, 2018), 3rd Russian Conference on Medicinal Chemistry/3-я Российская конференция по медицинской химии (Казань, Россия, 2017), Кластер конференций «Оргхим-2016» (Репино, Санкт-Петербург, Россия, 2016), I Всероссийская молодёжная школа-конференция "Успехи синтеза и комплексообразования", (Москва, Российский университет дружбы народов, Россия, 2016), IV Всероссийская конференция по органической химии и XVIII Молодежная школа-конференция по органической химии (Россия, Москва, Институт Органической Химии, 2015), Всероссийская Симпозиум: Второй Междисциплинарный Симпозиум по медицинской, органической и биологической химии, (Россия, Крым, Новый Свет, 2015), 5-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (Волгоград, Россия, 2021).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 17-03-01320, 20-03-00915) и РНФ (грант 22-23-20141)

Структура и объем диссертационной работы

Материал диссертации изложен на 146 страницах машинописного текста и состоит из следующих основных разделов: введение, литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальная часть, выводы и список литературы. Диссертация содержит 28 рисунков, 16 таблиц и 34 схемы. Список литературы включает 221 наименование.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность тематики исследования, сформулированы цели и задачи, описаны научная новизна и практическая значимость полученных результатов, обозначен личный вклад автора в исследование и достоверность полученных им результатов.

Обзор литературы посвящен анализу работ по роли белок-белкового взаимодействия MDM2-p53 в организме, включает в себя примеры известных ингибиторов данного взаимодействия, а также результаты доклинических и клинических испытаний соединений имидазолинового ряда как кандидатов в лекарственные средства для противораковой терапии. Также в обзоре обсуждаются синтетические подходы к получению имидазолинов, в том числе стереоселективные.

В **Экспериментальной части** приведены методики синтеза целевых и промежуточных соединений, подтверждение состава и структуры полученных соединений методами ¹H и ¹³C ЯМР спектроскопии, масс-спектропии высокого разрешения, описаны методы молекулярного моделирования, измерения антиоксидантной активности и биологического тестирования.

Разработка методологии синтеза новых производных *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов

Синтез алкокси-замещенных *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов

В данной работе нами была выдвинута гипотеза, что замена атомов галогена в ингибиторах MDM2-p53 взаимодействия имидазолинового ряда на гидрофильный заместитель позволила бы решить проблему, связанную с их низкой растворимостью в воде и способностью имидазолинового цикла к окислению. В то же время данная группа не должна

быть очень большой, чтобы сохранять способность ароматических колец в положениях 4 и 5 занимать соответствующие карманы связывания в активном центре MDM2. Выбор пал на кислородсодержащие заместители, такие как гидроксид и алкокси-группы. Выбор данных заместителей был обусловлен еще и тем, что наличие донорных групп в имидазолиновом цикле затрудняет его ароматизацию до имидазола. Схематично цель данного исследования представлена на Рис.1.

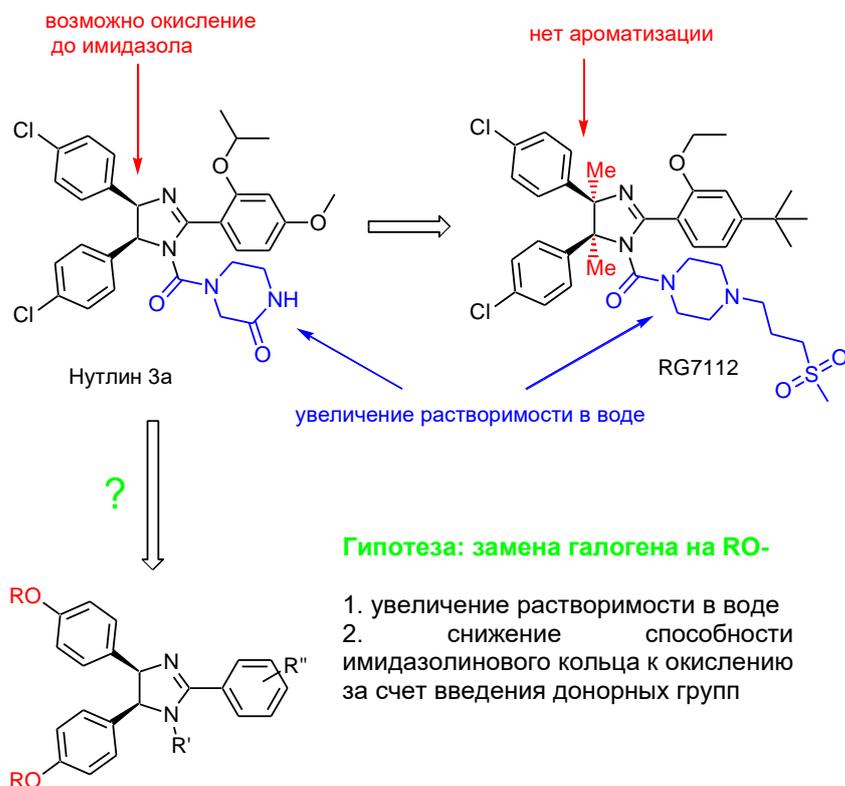


Рисунок 1. Предполагаемый результат замены атомов галогена в *цис*-имидазолиновом цикле на алкокси/гидрокси-группы.

Первым этапом работы стала разработка универсального синтетического подхода к разнообразным алкокси и гидрокси-замещенным 2,4,5-триарилимидазолинам. Данный этап работы предполагал использование фрагментного подхода для первичной оценки способности кислородсодержащих имидазолинов влиять на уровень p53 в раковых клетках и их цитотоксичности с целью выбора наиболее подходящего скаффолда для дальнейшей модификации. Нами было показано, что целевые структуры могут быть получены по реакции ароматических альдегидов с растворами аммиака, преимущественно в ТГФ, с последующей *one-pot* дисротаторной циклизацией образующихся тримерных продуктов в *цис*-имидазолины под действием трет-бутилата калия или другого сильного основания (схема 1). Дисротаторное замыкание пентадиенового аниона приводит именно к *цис*-продукту по правилам орбитальной симметрии, а экспериментально на это указывают химические сдвиги протонов С-Н имидазолинового кольца. Для *цис*-структур сигнал протонов С-Н имидазолинового кольца находится в области 5-5,5 м.д., а для *транс*-структур наблюдается сигнал в области 4-5 м.д. Следует отметить, что при длительной обработке *цис*-продукта сильным основанием, таким как трет-бутилат калия, происходит изомеризация в более стабильный *транс*-изомер.

Данный синтетический подход успешно применен для получения серии новых алкокси-производных *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов, также были синтезированы галоген и алкил-производные для сравнения их биологических свойств с алкокси-аналогами (схема 1, табл.1).

Схема №1. Синтез исходных триарилимидазолинов.

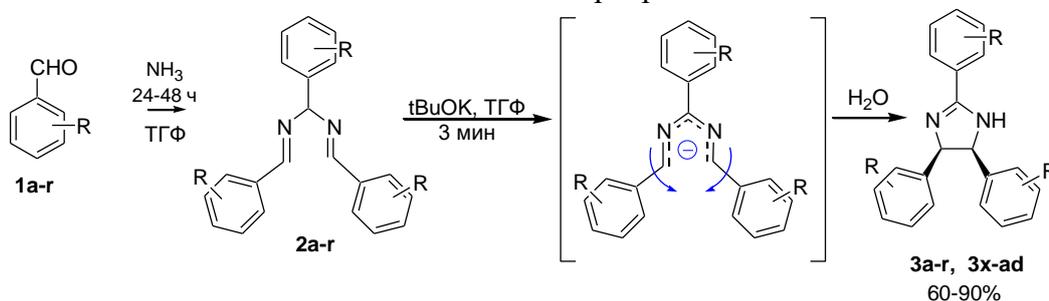
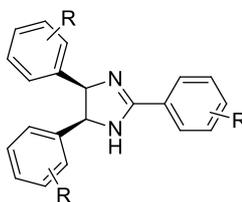


Таблица №1. Выходы триарилимидазолинов **3a-ad**.



№	R	Выход, %	№	R	Выход, %
3a	2-MeO	63	3p	4-Br	60
3b	3-MeO	68	3q	4-F	80
3c	4-MeO	95	3r	3,5-диMeO	78
3d	2,3-диMeO	67	3s	4-OH	65
3e	2-EtO,3-MeO	83	3t	4-OH,(4-MeO)*	95
3f	2,4-диMeO	76	3u	3-OH*	95
3g	3,4-диMeO	53	3v	2,5-диOH*	88
3h	2,5-диMeO	62	3w	3,4,5-триHO*	87
3i	3,4,5-триMeO	84	3x	4-Me	95
3j	4-EtO	38	3y	3-Me	68
3k	3-MeO,4-EtO	73	3z	2-Me	72
3l	2-Cl	93	3aa	4-Et	77
3m	4-Cl	72	3ab	4-iPr	80
3n	2,4-диCl	93	3ac	2,4,5-триMeO	70
3o	3,4-диCl	87	3ad	2,3,4-триMeO	75

*См. схему 2.

Для анализа зависимости структура-биологическая активность были также получены гидроксипроизводные имидазолины **3s-w** по реакции соответствующих метокси-производных с VBr_3 с последующей обработкой этанолом (схема 2). Обнаружено, что более высокая реакционная способность 4-алкоксиарил-групп в положениях 4 и 5 имидазолинового кольца по сравнению с положением 2 может быть использована для получения продукта селективного гидролиза **3t** при использовании небольшого избытка VBr_3 или при проведении реакции в течение 4 ч вместо 24 ч.

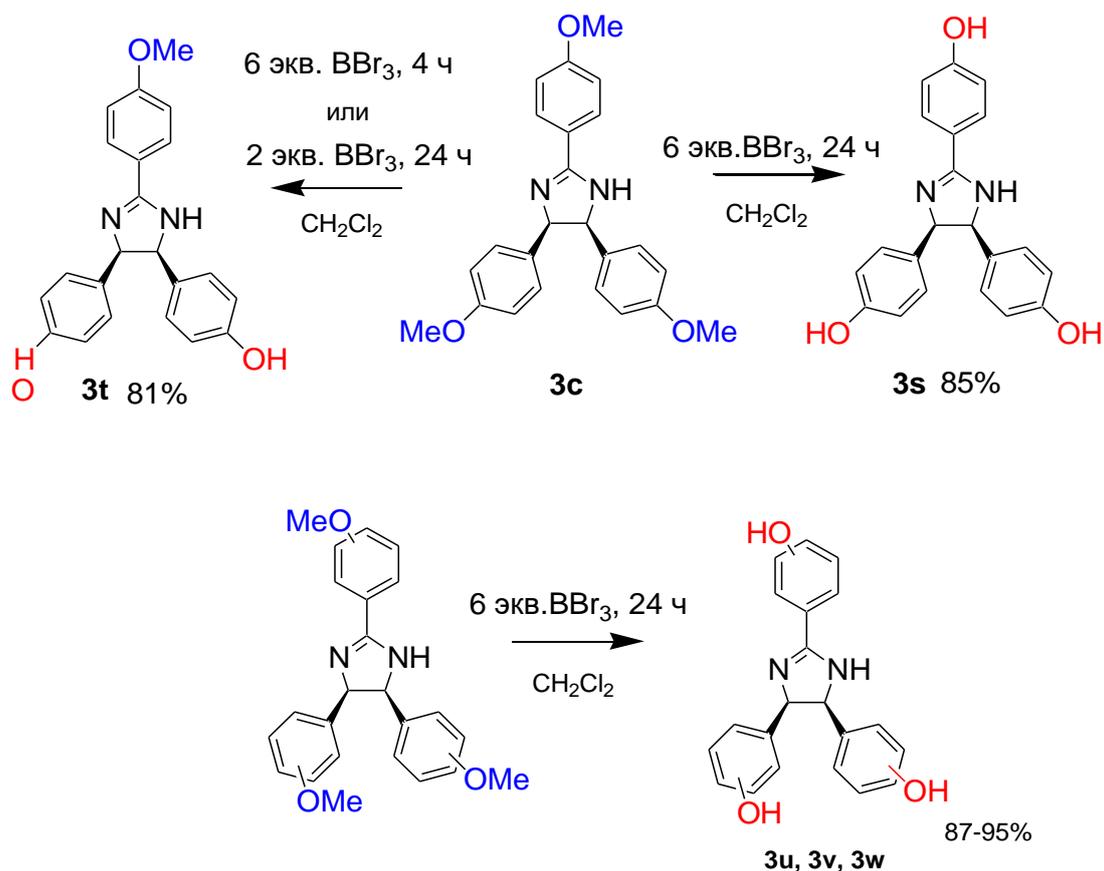


Схема 2. Селективный частичный и полный гидролиз метоксипроизводных имидазолинов.

Таким образом, имидазолиновый цикл напрямую влияет на реакционную способность заместителей в арильных кольцах, причем лучше всего этот эффект проявляется для заместителей, находящихся в *para*-положении по отношению к имидазолиновому циклу. Для арильного кольца в положении 2 электроноакцепторные свойства амидинового заместителя уменьшают нуклеофильность кислорода метокси-группы и затрудняют его реакцию с кислотой Льюиса, в то время как донорные свойства СН-групп в положениях 4 и 5 имидазолинового цикла, наоборот, облегчают это взаимодействие.

Модификация 2,4,5-(гидроксифенил)имидазолинов

Для дальнейшего изучения различной реакционной способности в арильных кольцах в положении 4,5 и 2 и возможности ее использования для селективных модификаций нами была также проведена реакция полученных гидрокси-производных с дихлоруксусной кислотой и ее производными. Выбор данной кислоты для создания сложноэфирной связи был обусловлен тем, что дихлорацетат-ион является миметиком пируват-аниона и ингибирует киназу пируватдегидрогеназы, меняя дыхательный цикл раковой клетки с гликолиза на привычное нормальным клеткам гликолитическое окисление. Это приводит к тому, что раковые клетки, ранее способные выживать в условиях гипоксии, теряют эту способность и в них провоцируется апоптоз. Несмотря на то, что для эффективности данного процесса действующая концентрация дихлорацетат аниона должна быть достаточно высока из-за плохой биодоступности ионных соединений, дихлорацетат натрия в настоящее время находит применение в сопутствующей противораковой терапии. Поскольку производные имидазолинов тоже провоцируют апоптоз, но по другому механизму, нами была изучена возможность создания ковалентных относительно легко гидролизуемых конъюгатов дихлоруксусной кислоты с производными имидазолина с целью изучения выхода к мультинаправленным противоопухолевым препаратам. В качестве простейших моделей для создания сложных эфиров нами были выбраны соединения **3s** и **3u**, с *para*- и *meta*-расположением гидрокси-групп по отношению к имидазолиновому циклу (схема 3).

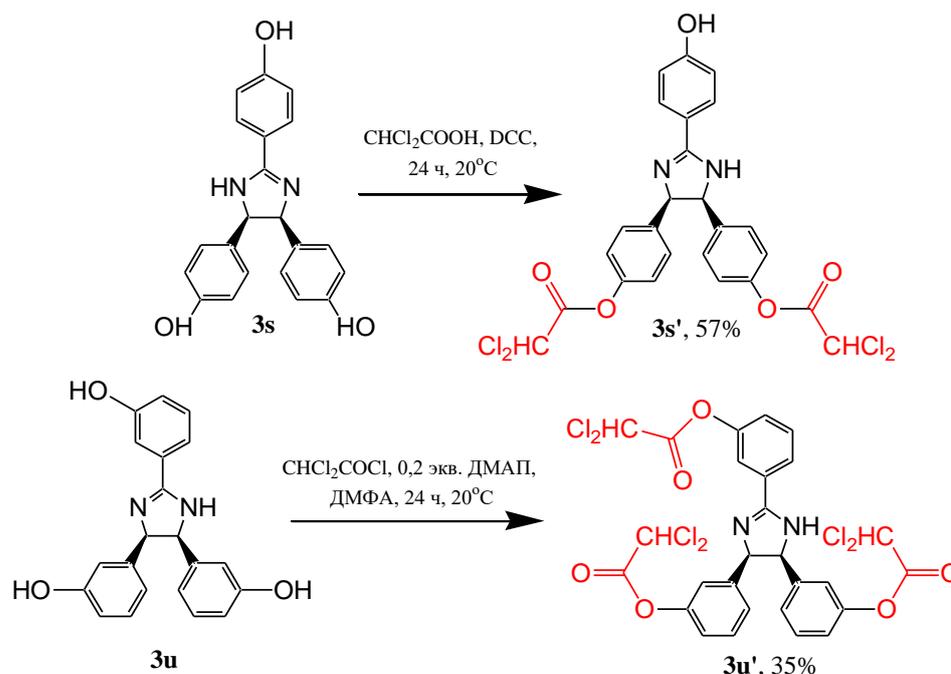


Схема 3. Синтез эфиров гидроксифенил-имидазолинов и дихлоруксусной кислоты.

В данной реакции также было показано, что в случае *para*-замещенных гидолксиимидазолинов разница в нуклеофильности гидроксигрупп позволяет селективно модифицировать заместители в положениях 4 и 5 имидазолинового кольца, что хорошо согласуется с данными, полученными в случае гидролиза алкокси-групп.

Антиоксидантная активность имидазолинов

Особый интерес представляло сравнение антиоксидантных свойств полученных гидроксидных и алкокси-производных имидазолинов. Для оценки антиоксидантной активности этих соединений было использовано три метода: а) хемилюминесцентная модель свободнорадикального окисления люминола, инициированного смесью гемоглобин-пероксид водорода (Hb-H₂O₂-Lm) в водной среде; б) спектрофотометрический тест с использованием ДФПГ-радикала и в) электрохимические исследования с использованием циклической вольтамперометрии. Результаты антирадикальной активности выражены в виде относительной величины по отношению к стандарту - тролоксу (тролокс-эквиваленты, ТЕАС), в то время как активность по отношению к супероксид-аниону выражена в мкМ (табл. 2).

Таблица №2. Антиоксидантная активность 2,4,5-триарилимидазолинов¹

Соединения	Антиоксидантная активность		
	Хемилюминесцентный метод (Hb-H ₂ O ₂ -Lm)		Тест ДФПГ
	Гидроксильный радикал, ТЕАС	Супероксид анион радикал, мкМ	ТЕАС
3a, 3d, 3h, 3i, 3m, 3p	<0.1	>500	-
3s	<0.1	>500	<0.1
3t	<0.1	>500	<0.1
3v	1.4	110	2.5
3w	3.5	100	3.8

¹ Исследования хемилюминесцентным методом выполнены совместно с н.с. Безнос О.В. (НИИ Глазных болезней им. Гельмгольца, Москва). ДФПГ тест выполнен совместно с к.х.н. Грачевой Ю.А. (МГУ, химический факультет) при непосредственном участии соискателя.

Антиоксидантную активность в отношении гидроксильного радикала и супероксида аниона в системе гемоглобин-пероксид водорода-люминол проявляют только гидроксипроизводные **3v** и **3w** с эквивалентной антиоксидантной способностью тролокса 1,4 и 3,5 соответственно (табл.2). Соединения **3s** и **3t**, содержащие только одну гидроксильную группу в арильном заместителе, не проявляют антиоксидантную активность, что согласуется с общими структурными требованиями к антиоксидантам. Для подтверждения активности соединений **3v** и **3w** был проведен спектрофотометрический тест ДФПГ, в котором соединения **3v** и **3w** показали активность в 2,5 и 3,8 раза выше, чем у стандарта (тролокс). Изученные соединения **3v** и **3w** обладают хорошими антиоксидантными свойствами по сравнению с близкими структурными аналогами - пропилгаллатом и галловой кислотой, для которых диапазон ТЕАС составляет 1,9-4,2 в зависимости от метода измерения.

Электрохимическое исследование свойств гидрокси-имидазолинов²

Окислительно-восстановительные свойства соединений **3s**, **3t**, **3v**, **3w** изучали методом циклической вольтамперометрии (ЦВА) в ацетонитриле (CH₃CN) с использованием стеклоуглеродного (СУ) электрода. Полученные окислительно-восстановительные потенциалы соединений представлены в таблице 3. Окислительно-восстановительное поведение хорошо коррелирует с данными антиоксидантной активности: наибольшую активность проявляют наиболее легкоокисляемые вещества **3v** и **3w** (табл. 2 и 3). Также интересно, что первые пики окисления **3s**, **3t**, **3v**, **3w** значительно смещены в сторону катодных потенциалов по сравнению с гидрохиноном (E_a = 1,56 В). Следовательно, можно предположить, что присутствие имидазолинового цикла приводит к повышению стабильности образующихся катион-радикалов (схема 4), что приводит к разделению первого и второго пиков окисления (рис. 2). Возможно, это указывает на участие имидазолинового цикла в делокализации электронной плотности.

Таблица №3. Электрохимические потенциалы некоторых 2,4,5-триарилимидазолинов (СУ-электрод, 200 мВ/с, C= 1 мМ в ацетонитриле). * - на обратном скане

Соединение	E _{a1} , V	E _{a2} , V	E _{c1} , V	E _{c2} , V
3s	1.05	1.37	-	-
3t	0.96	1.25	-0.85	-
3v	0.90/0.41*	1.33/0.79*	-1.65	-2.03
3w	0.76	-	-1.02	-
Тролокс	1.02/0.74*	-	-	-

Схема 4. Возможный механизм окисления **3v**.

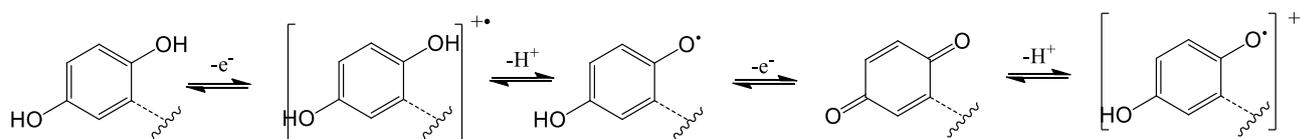
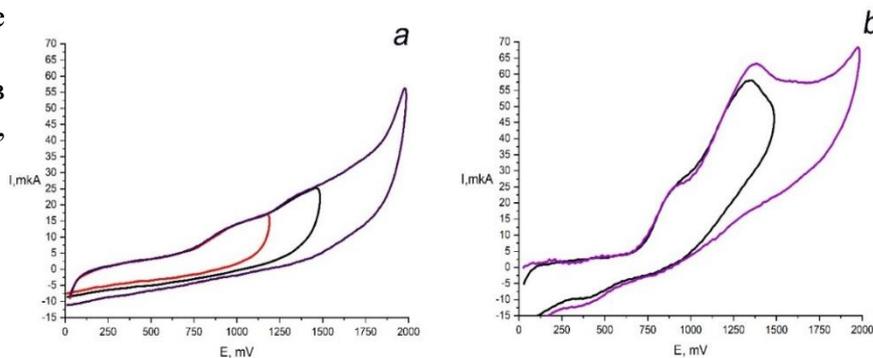


Рисунок 2. Циклические вольтамперограммы соединения **3s** (a) и **3v** (b) в ацетонитриле (СУ-электрод, 200 мВ/с, C= 1 мМ).



² Электрохимические исследования выполнены совместно с к.х.н. Тюриным В.Ю. (МГУ, химический факультет) при непосредственном участии соискателя

Молекулярное моделирование взаимодействия имидазолинов с активным сайтом связывания MDM2

Важной задачей являлся анализ возможности встраивания новых имидадолиновых структур в область связывания MDM2 с p53. Для этих целей нами выбран вариант молекулярного моделирования (Autodock), позволяющий оценить возможную геометрию связывания в сайте MDM2 в сравнении с нутлином. Трехмерная структура белка для проведения расчета была взята из базы данных PDB (4HG7).

Результаты проведенного моделирования показывают, что исследуемые соединения могут располагаться внутри активного сайта связывания MDM2 с расчётной энергией в диапазоне от -6 до -9 ккал/моль. Геометрия связывания схожа с геометрией связывания нутлина: *цис*-метоксифенильные кольца встроены непосредственно в два кармана сайта связывания MDM2 (Trp23 и Leu26), тогда как третий фенильный заместитель располагается в третьем кармане связывания (Phe19) (рисунок 3).

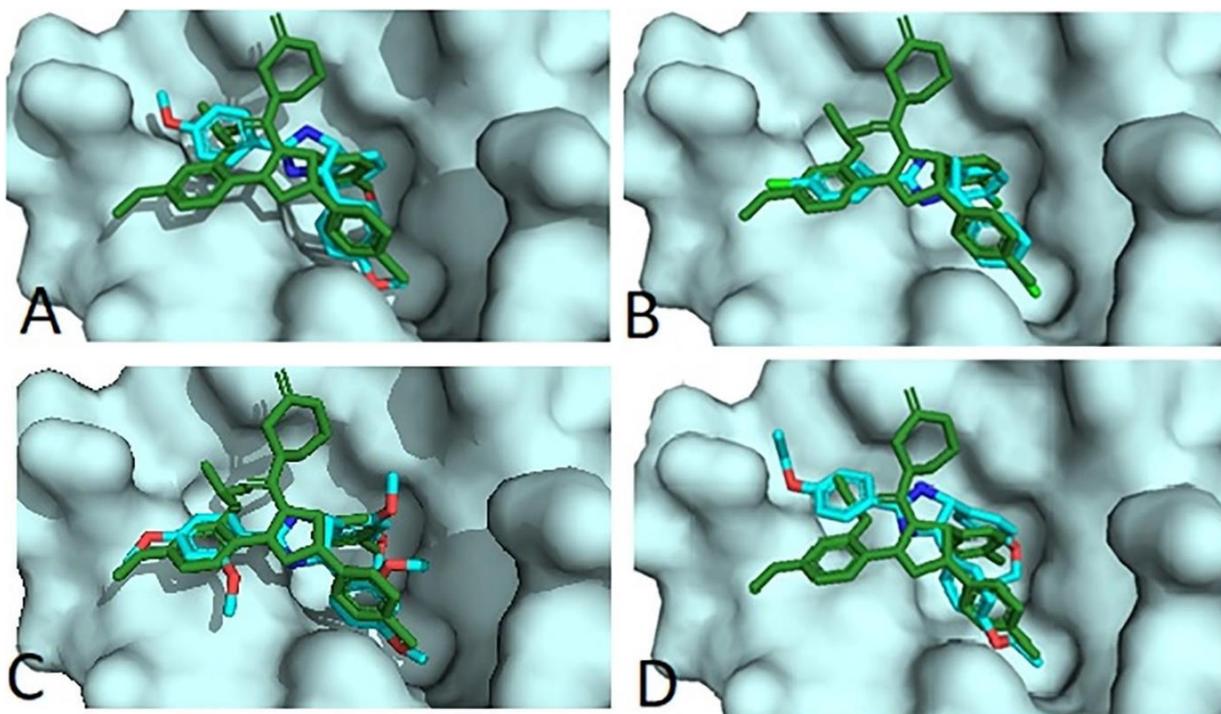
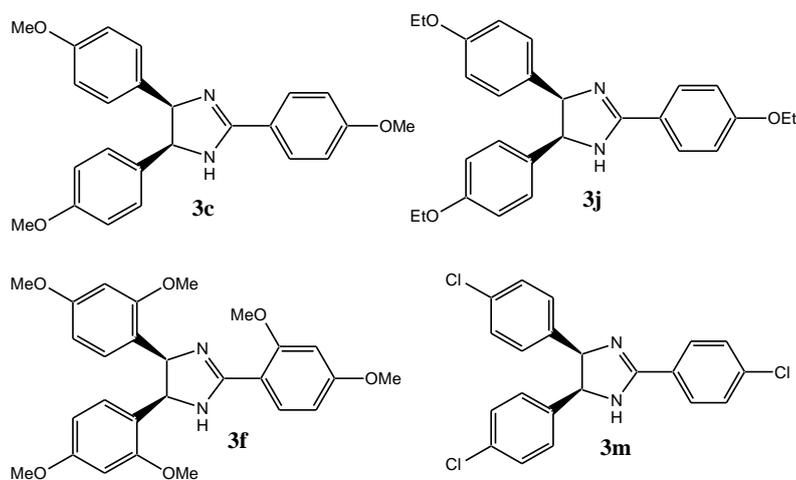
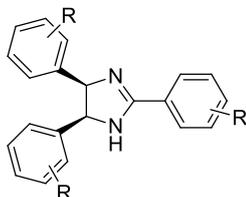


Рисунок 3. Молекулярное моделирование связывания (A) 3c, (B) 3m, (C) 3f и (D) 3j (голубой), в сравнении с нутлином-3а (зеленый) в сайте связывания p53 белка MDM2.

Изучение биологической активности *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов

Таблица 4. Цитотоксичность имидазолиновых производных **3a-ad** по отношению к клеточной линии A549.



	Заместитель	A549 (IC ₅₀ , μM)		Заместитель	A549 (IC ₅₀ , μM)
3a	2-МеО	27.36±0.79	3l	2-Cl	10.68±0.18
3b	3-МеО	64.31±1.04	3m	4-Cl	20.25±1.88
3c	4-МеО	43.90±1.87	3n	2,4-диCl	164.41±13.74
3d	2,3-diMeO	16.18±0.29	3o	3,4-диCl	13.72±1.02
3e	2-EtO,3-МеО	24.26±2.10	3p	4-Br	9.05±0.20
3f	2,4-диMeO	9.32±0.47	3q	4-F	107.83±4.65
3g	3,4-диMeO	84.69±0.76	3s	4-OH	n.a. ¹
3h	2,5-диMeO	21.42±1.07	3t	4-OH(R ¹),4-	n.a. ¹
3i	3,4,5-триMeO	n.a. ¹	3u	3-OH	310.60±16.67
3j	4-EtO	13.26±0.37	3v	2,5-диOH	n.a. ¹
3k	3-МеО,4-EtO	67.49±0.04	нутлин-3a		15.12

¹ n.a. отсутствие активности

На первом этапе биологического исследования незамещенных имидазолинов была произведена оценка их цитотоксичности с целью выбора оптимальной структуры для дальнейшей модификации. Цитотоксичность полученных имидазолинов в отношении клеточной линии карциномы легкого A549 оценивали с помощью МТТ-теста (табл. 4)³. Цитотоксическая активность алкоксизамещенных имидазолинов была сравнима с активностью галогензамещенных соединений - аналогов ядра нутлина (см. **3f** и **3p** табл.4). Для некоторых соединений также была дополнительно измерена цитотоксичность по отношению к клеточной линии НСТ116 как дикого типа, так и не содержащей p53. Оказалось, что цитотоксичность полученных производных для обеих клеточных линий практически не отличалась. Примечательно, что замена алкоксигруппы на гидроксигруппу в арильных заместителях в положении 4 и 5 приводила к резкому снижению цитотоксичности по отношению ко всем клеточным линиям (таблица 5).

Таблица 5⁴. Цитотоксичность некоторых имидазолиновых производных по отношению к клеточной линии НСТ116 и линии, не содержащей p53 НСТ116 p53^{-/-}. Отн. погрешность 10%.

Соединение	IC ₅₀ (мкМ) НСТ116	IC ₅₀ (мкМ) НСТ116 p53 ^{-/-}	Соединение	IC ₅₀ (мкМ) НСТ116	IC ₅₀ (мкМ) НСТ116 p53 ^{-/-}
3w	>50	>50	3h	10,3	8,6
3v	>50	>50	3g	>50	>50

³ Исследования выполнены совместно с к.х.н. Аникиной Л.В. (ИФАВ РАН, Черногловка)

⁴ Исследования выполнены совместно с д.м.н. Штилем А.А.

3s	>50	>50	3i	>50	>50
3c	6,0	11,2	3d	6,2	17,6

Несмотря на то, что результаты на клеточных линиях НСТ116 показали, что цитотоксичность полученных имидазолинов могла быть результатом p53-независимого пути клеточной гибели, нами была дополнительно изучена способность полученных соединений повышать уровень p53 в клетках, поскольку для нутлинов известно, что собственная цитотоксичность этих соединений не всегда напрямую сопряжена с их способностью повышать уровень p53 в клетке. Для этого были выбраны соединения **3c**, **3f**, **3j**, **3m**, показавшие наилучшие результаты при молекулярном моделировании и цитотоксичность в низкомикромолярном диапазоне концентраций. Тестирование проводилось на клеточной линии аденокарциномы легкого A549. Важно отметить, что базальный уровень p53 в клетках A549 достаточно низок. И, хотя обработка нутлинами или их аналогами приводит к существенной стабилизации уровня p53 в клетках A549, эти соединения сами по себе не индуцируют апоптоз в данных клетках. Индукция апоптоза в этой клеточной линии происходит только при сочетании нутлинов с другими агентами, например, цисплатином, который повреждает ДНК, хотя во многих других клеточных линиях нутлины вполне способны индуцировать апоптоз и сами по себе. Однако, индукция апоптоза приводит к каспаз- и кальпаин-зависимому расщеплению p53 и снижению его концентрации в клетке, и в этом случае не получается корректно оценить влияние нутлина на уровень p53, поскольку белок постоянно расходуется. Поэтому, для корректной оценки стабилизации уровня p53 использовали именно клеточную линию A549.

A549 cell line

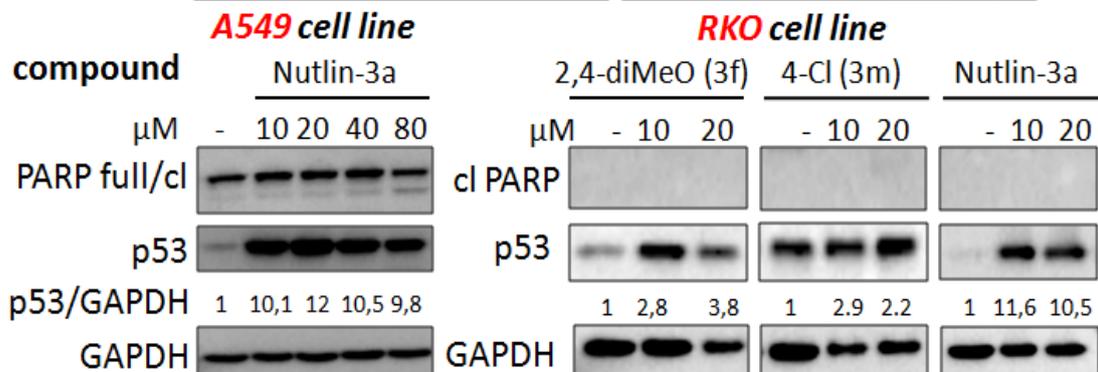
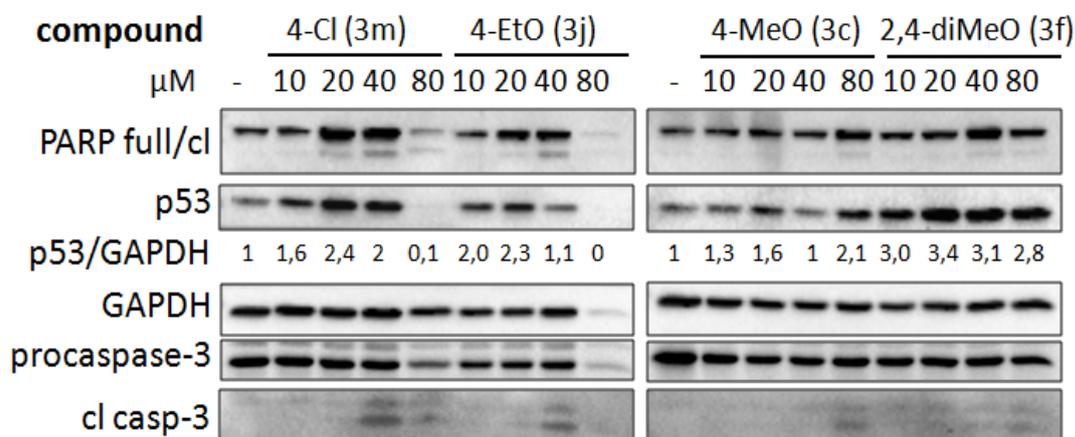


Рисунок 4. Повышение уровня p53 соединениями **3c**, **3f**, **3j** и **3m**. Вестерн-блот-анализ общих клеточных лизатов из клеток A549 или RKO после обработки указанными соединениями. GAPDH использовали в качестве контроля.

Клетки A549 обрабатывали соединениями **3c**, **3f**, **3j** и **3m** в концентрациях 10, 20, 40 и 80 мкМ⁵. Концентрации были выбраны в соответствии с определенными для них значениями IC₅₀. После обработки в течение 24 часов определяли уровень p53 методом вестерн-блотта (рис. 4). Анализ подтвердил, что все соединения способны слегка повышать уровень p53. Производное **3f** (2,4-диMeO) в концентрации 20 мкМ продемонстрировало наилучшую эффективность для стабилизации p53. Денситометрический анализ p53, нормированных на глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу (ГАФД), показал, что обработка этим соединением приводила к повышению уровня p53 в 3,4 раза по сравнению с необработанными клетками. Для соединений **3c**, **3j** и **3m** также наиболее эффективной была концентрация 20 мкМ, при которой уровень p53 повышался в 1,6, 2,3 и 2,4 раза соответственно (рис. 4). Для подтверждения эффективности производного **3f** использовали также клеточную линию карциномы толстой кишки RKO. По данным вестерн-блот анализа, обработка клеток RKO соединением **3f** в концентрации 10 и 20 мкМ повышала уровень p53 в 2,8 и 3,8 раза соответственно (рис.4). В качестве положительного контроля был использован нутлин 3а, продемонстрировавший увеличение уровня p53 в 10,1-12 раз в клетках A549 и 10,6-11,5 раз в клетках RKO. Учитывая тот факт, что синтезированные нами имидазолины представляют собой базовые структуры и не включают ряд ключевых для связывания нутлина заместителей, эффективность производного **3f** на основании фрагментного подхода показалась нам достаточной для того, чтоб рассматривать его как соединение, пригодное для дальнейших целевых модификаций. Кроме того, можно видеть, что клеточные линии, чувствительные к нутлину-3а, проявляют также пропорциональное повышение уровня p53 и после обработки соединением **3f**. При этом важно отметить, что нутлин 3а не индуцировал апоптоз в клетках A549 вплоть до концентрации 20 мкМ.

Поскольку для противораковой терапии предпочтительной является гибель раковых клеток путем апоптоза, для оценки соотношения количества клеток A549, погибших по апоптотическому и некротическому пути были использованы соединения **3c**, **3f**, **3j** и **3m** в

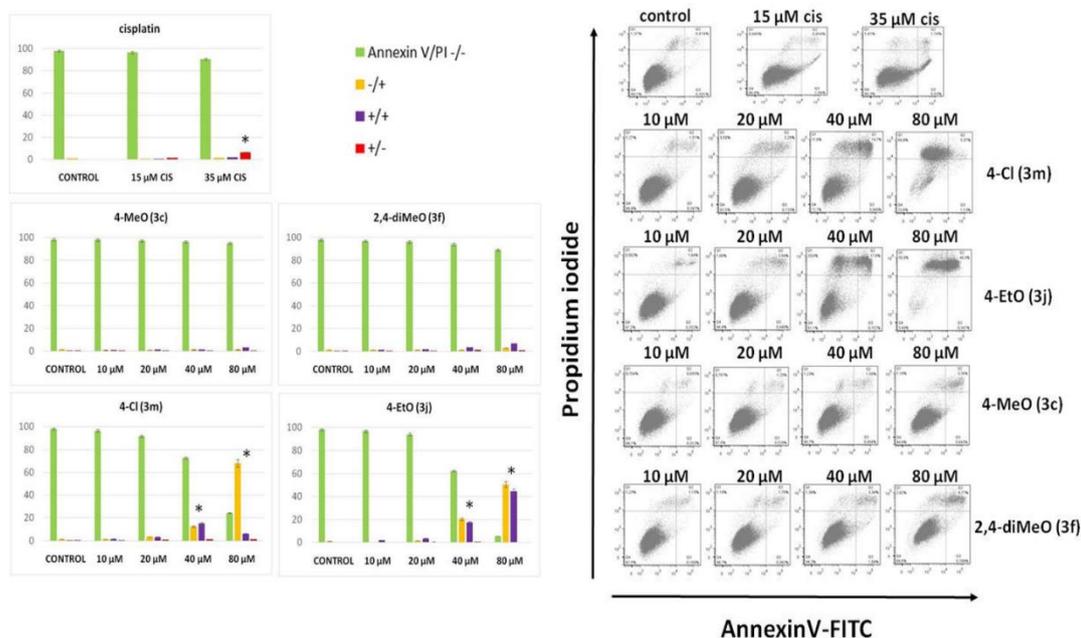


Рисунок 5. Проточная цитометрия клеток A549, обработанных цисплатином, **3c**, **3f**, **3j** и **3m**. Клетки окрашивали конъюгатом аннексина V-FITC и йодида пропидия (PI). Обозначение для аннексина V/PI: -/-, жизнеспособные клетки; -/+ апоптотические клетки; +/+ поздние апоптотические клетки; +/- некротические клетки.

⁵ Тестирование проводилось совместно с аспирантом Первушиным Н.В. и к.б.н. в.н.с. Копеиной Г.С., факультет фундаментальной медицины, МГУ

концентрации 10-80 мкМ. После инкубации в течении 24 ч был проведен анализ методом проточной цитометрии (рис.5). В качестве положительного контроля запуска апоптоза использовали цисплатин.

Анализ гибели клеток показал, что в отличие от цисплатина, 4-МеО- и 2,4-диМеО-производные **3c** и **3f** в концентрациях до 40 мкМ не увеличивали апоптотические или некротические популяции (рис.5). При этом 4-Cl- и 4-EtO-производные **3j** и **3m** в концентрациях 40 и 80 мкМ вызывали существенное накопление некротических клеток до 70% (рис.5).

Таким образом, 4-МеО- и 2,4-диМеО-производные **3c** и **3f** не вызывают некротическую гибель клеток в концентрациях до 80 мкМ и способны стабилизировать уровень p53. Напротив, 4-Cl- и 4-EtO-производные **3j** и **3m** способствуют некротической гибели клеток и менее эффективны для стабилизации p53.

Важность наличия метокси-группы в положении 4 по отношению к имидазолиновому ядру для стабилизации p53 была продемонстрирована на клеточной линии A549 на примере соединений **3d** и **3h** в концентрациях 10 и 20 мкМ. Эти соединения являются изомерами производных **3f** и **3c**, но при этом не имеют пара-заместителя в фенильном кольце. Оба соединения демонстрируют отсутствие влияния на уровень p53, что свидетельствует о важности наличия метокси-группы в *para*-положении арильных заместителей для проявления целевой активности.

Молекулярное моделирование взаимодействия сульфонамидных и карбамоильных производных имидазолинов с MDM2 и MDMX

Для выбора дальнейших модификаций было выполнено молекулярное моделирование для производных, содержащих карбамоильные и сульфонамидные группы на атоме азота имидазолинового кольца. Данные заместители обычно содержат гидрофильные группы и используются для повышения растворимости нутлинов в воде. При этом заместители на основе карбамоила являются классическими для модификаций нутлинов, сульфонамидная группа была выбрана нами впервые в качестве альтернативной гидрофильной группы. На данном этапе мы использовали программный пакет Schrodinger и рассмотрели варианты взаимодействия для MDM2 и MDMX (PDB 4HG7 и 7C3Y соответственно) в динамике, с учетом воды в сайте связывания. Связывание с MDM2 и MDMX для наиболее эффективных модификаций, показавших целевую биологическую активность, приведены на рис. 6-8. Согласно данным

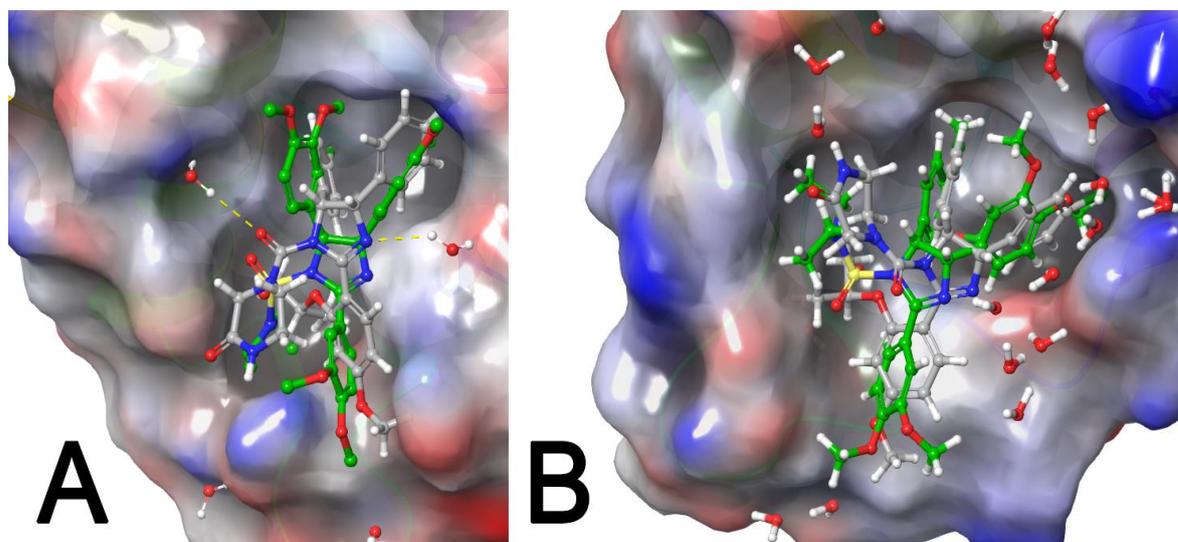


Рисунок 6. Расположение соединения **4i** (зеленый) в сайте связывания p53 белков MDMX (A) и MDM2 (B) в сравнении с нутлином-3a (серый).

молекулярного моделирования все активные соединения занимают в сайте связывания позицию, аналогичную нутлину.

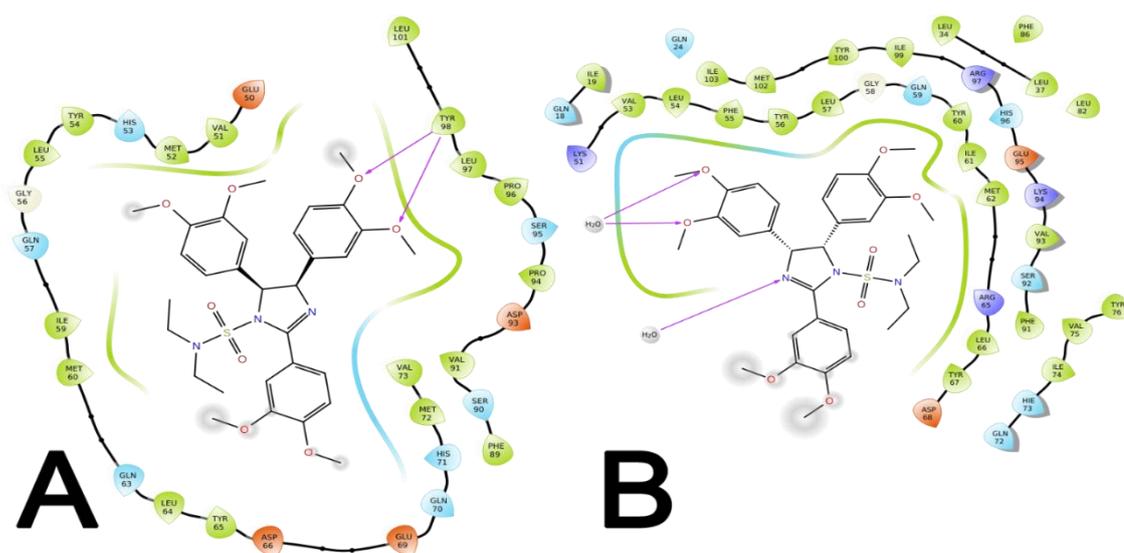


Рисунок 7. 2D карта взаимодействия лиганд-белок для **4i**-MDMX (**A**) и **4i**-MDM2 (**B**). Светло-зеленые линии между соединением и аминокислотными остатками соответствуют гидрофобным взаимодействиям, синие линии — полярным. Фиолетовые стрелки соответствуют водородной связи. Оранжевый цвет соответствует отрицательно заряженным остаткам; синий цвет

Для сульфонамидного производного **4i** диэтиламинный фрагмент имитирует как гидрофобное взаимодействие алифатического заместителя нутлина, так и изопропильную группу в фрагменте нутлина-3а с Phe61 и Tyr67. Метоксифенильные группы во внешней части сайта связывания обеспечивают взаимодействие с растворителем, а алкоксиарильные группы в положениях 4 и 5 имидазолинового кольца расположены во внутренней части сайта связывания и обеспечивают гидрофобное взаимодействие с Leu57, Leu54, Phe99. Также они участвуют в водородных связях структурной воды.

В случае моделирования связывания новых карбамидных производных *cis*-имидазолинов с белком MDM2 также подтверждается тот факт, что активные соединения занимают ту же позицию в сайте связывания, что и нутлин, с небольшими вариациями.

Основное отличие по данным молекулярного моделирования заключается в дополнительной водородной связи и π - π -стекинга для наших соединений, тогда как для нутлин-3а эти взаимодействия ограничены из-за его громоздкого изопропилового заместителя. С другой стороны, более крупные заместители в положении 1 и в ароматических кольцах в положениях 4 и 5 (например, -OMe в **51** по сравнению с -Cl в нутлине-3а) могут ослаблять важное взаимодействие с His96, увеличивая расстояние между структурными ароматическими кольцами системы. Так, **51** взаимодействует с His96 через водородную связь со структурной молекулой воды.

Метоксифенильные группы обеспечивают ключевые гидрофобные взаимодействия (например, с Val53, Phe55 и Tyr56). Кроме того, различные метоксигруппы и атом азота в положении 3 имидазолинового кольца участвуют в многочисленных водородных связях со структурной водой, что является существенным преимуществом предложенных структур по сравнению с нутлином-3а.

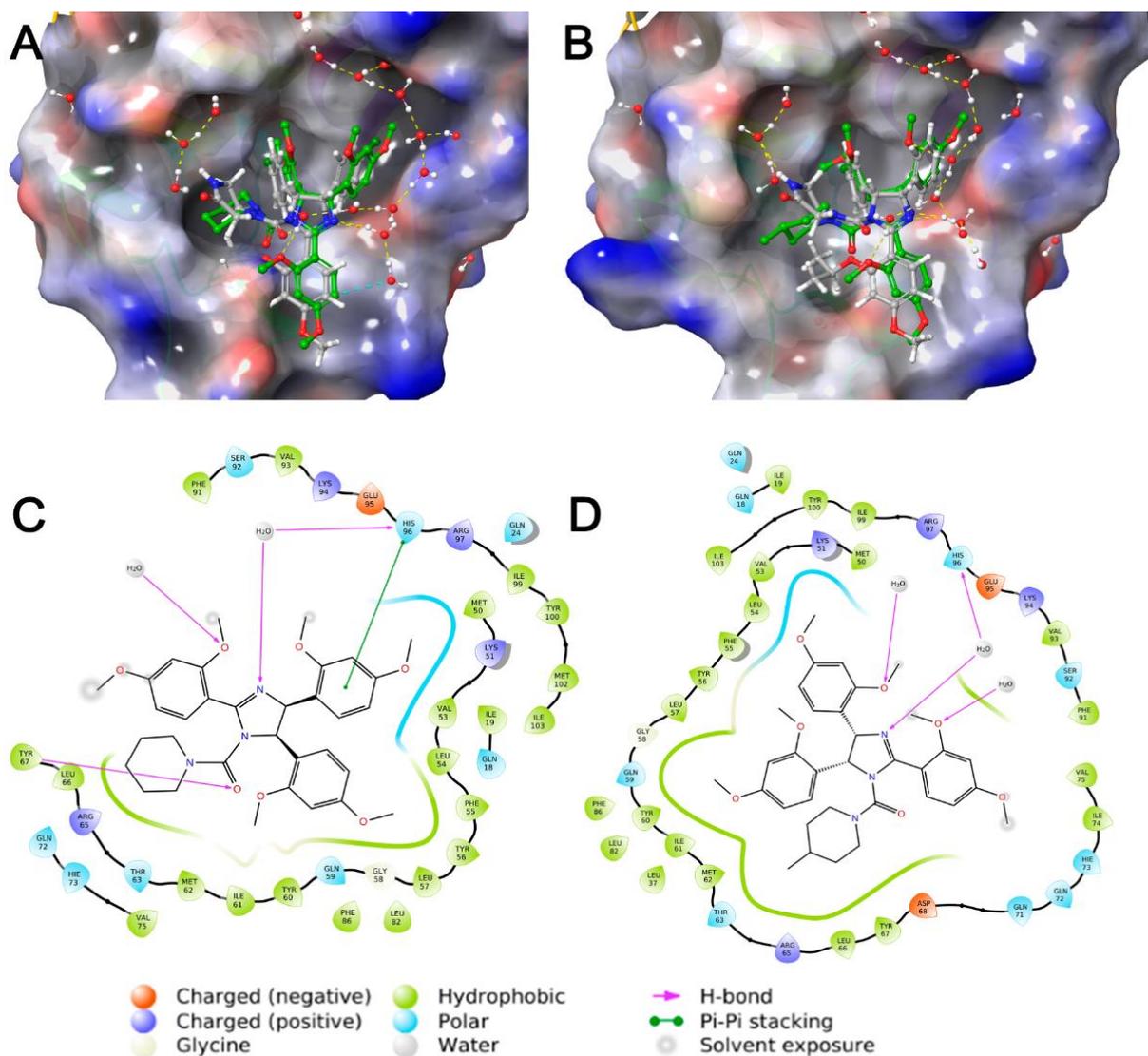


Рисунок 8. Молекулярное моделирование связывания **5k** (A) и **5l** (B) (зеленый) в сайте связывания p53 белка MDM2 по сравнению с нутлином-3а (серый). 2D Карта взаимодействия лиганд-белок для **5k** (C) и **5l** (D) в сайте связывания p53 белка MDM2.

Синтез N-сульфонилпроизводных *цис*-2,4,5-(алкоксифенил)имидазолинов

В качестве первого варианта модификации выбран подход с использованием SO₂ группы в качестве линкера. Исходные *N,N*-диалкилсульфамоилхлориды получали при кипячении сульфурилхлорида со вторичным амином с последующей очисткой путем перегонки. Синтез целевых сульфонимидазолинов был осуществлен согласно схеме 5, причем наилучшие выходы были достигнуты в случае тозилпроизводных **4a,d,f** (табл. 6).

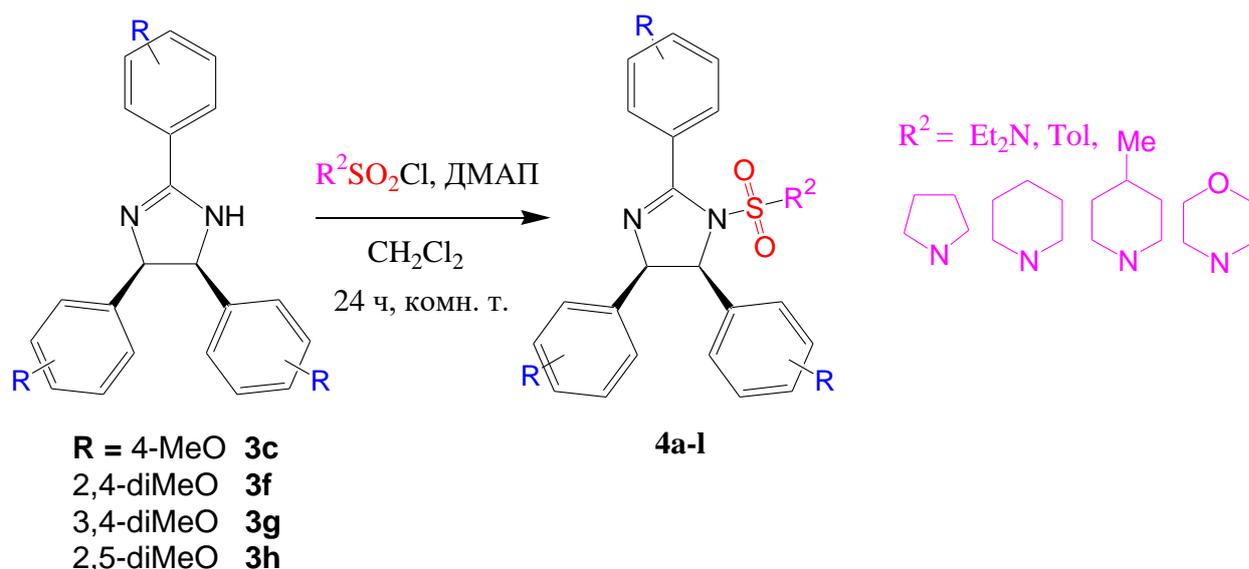


Схема 5. Модификация 2,4,5-три(метоксифенил)имидазолинов по атому азота с использованием сульфопроизводных.

Таблица 6. Выходы сульфониловых производных 2,4,5-триарилимидазолинов.

	R₁	R₂	Выход, %		R₁	R₂	Выход, %
4a	4-MeO	Толуил	85	4g	3,4-диMeO		31
4b	4-MeO		78	4h	3,4-диMeO		35
4c	4-MeO		76	4i	3,4-диMeO	Et ₂ N	37
4d	2,4-диMeO	Толуил	73	4j	3,4-диMeO		27
4e	2,4-диMeO		36	4k	2,5-диMeO		81
4f	3,4-диMeO	Толуил	36	4l	2,5-диMeO		76

Растворимость нутлина в воде была описана как чрезвычайно низкая (<0,1 мг/л) при нормальных условиях. Поэтому для соединений **4g**, **4h**, **4i** и **4j** измерена растворимость в дистиллированной воде и обнаружено, что введение сульфониламидной модификации сочетания с метоксизаместителями приводит к значительному улучшению растворимости имидазолинов в воде. Растворимость сульфониимидазолинов в воде определялась гравиметрически и составляла от 60 до 100 мг/л при 20°C. Таким образом показано, что данные производные обладают гораздо более высокой растворимостью в воде, что делает целесообразным дизайн лекарственных препаратов на их основе.

Синтез карбамоил-замещенных *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов

Стандартным методом модификации имидазолинов по атому азота для серии нутлинов является модификация с использованием трифосгена и соответствующих аминов (схема 6, табл. 7). Синтезирован ряд алкокси производных: производные 2,4-диметоксифенила (**3f**), 2-метокси (**3a**), 3,4-диметокси (**3g**), 3,5-диметокси (**3r**), 4-хлор (**3m**) и 2,4-дихлор (**3n**) производные.

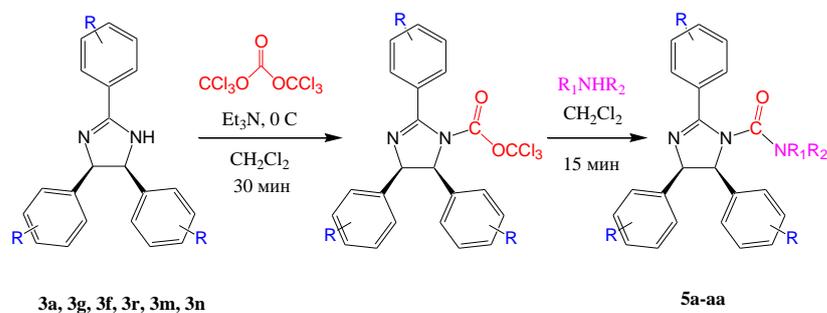


Схема 6. Синтез карбамоил-замещенных *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов

Таблица 7. Выходы карбамоил производных имидазолинов.

Соединение	R	R ₂	Выход, %	Соединение	R	R ₂	Выход, %
5a	4-MeO		37	5o	3,4-диMeO		33
5b	4-MeO		40	5p	3,4-диMeO		14
5c	4-MeO		42	5q	3,4-диMeO		30
5d	4-MeO		75	5r	3,4-диMeO		40
5e	4-MeO		40	5s	3,4-диMeO		35
5f	4-MeO		41	5t	3,4-диMeO		29
5g	4-MeO		37	5u	3,5-диMeO		47
5h	2-MeO		40	5v	3,5-диMeO		40
5i	2,4-диMeO		34	5w	3,5-диMeO		26

5j	2,4-диMeO		39	5x	4-Cl		37
5k	2,4-диMeO		66	5y	2,4-диCl		56
5l	2,4-диMeO		55	5z	2,4-диCl		40
5m	2,4-диMeO		20	5aa	2,4-диCl		70
5n	3,4-диMeO		15				

Данный метод в отличие от модификации сульфоамидхлоридами не требует синтеза промежуточных реагентов и протекает *one-pot*, что, несомненно, является преимуществом. Умеренные выходы в данной реакции могут быть оптимизированы при увеличенных нагрузках. Таким образом, нами была показана возможность модификации разнообразных алкокси-содержащих имидазолинов по азоту имидазолинового цикла.

Синтез новых 2-замещенных производных алкокси-имидазолинов

Известно, что арильный заместитель в положении 2 имидазолинового цикла нутлинов играет важную роль в связывании с MDM2, занимая Phe карман связывания (рис. 9). Возможно, отчасти с этим связаны лучшие биологические характеристики соединения **3f** в сравнении с другими 4-метоксипроизводными, поскольку 2,4-диметоксифенильный фрагмент имеет структурное сходство с арильным фрагментом в положении 2 нутлина (рис. 9). Поэтому следующим этапом работы стала разработка метода, позволяющего собирать имидазолины, разнообразно замещенные не только по атому азота, но и по положению 2.

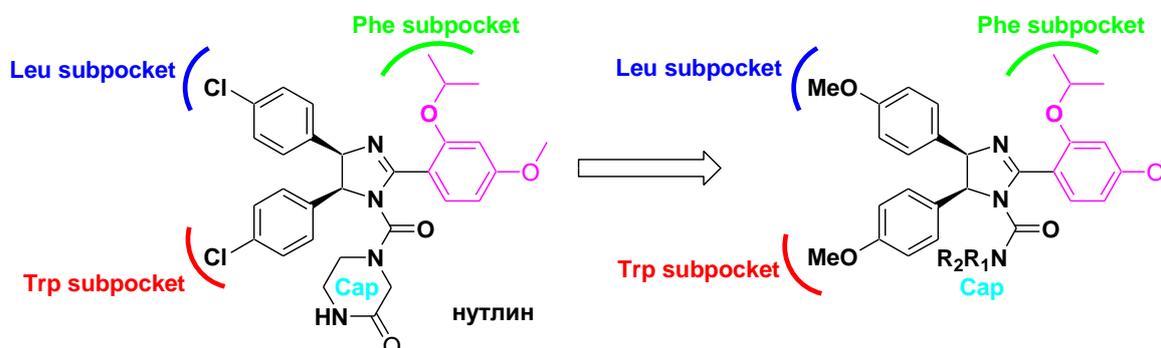


Рисунок 9. Предполагаемое направление дальнейших модификаций имидазолинов по положению 2.

Восстановление 2,4,5-триарилимидазолинов металлическим натрием

Нами было показано, что в условиях, аналогичных реакции Буво-Блана, применяемой для сложных эфиров, происходит восстановление имидазолинового цикла с образованием целевых

эритро-вицинальных диаминов. Условия реакции были нами дополнительно модифицированы под наш субстрат. Так оказалось, что при проведении реакции в этиловом или бутиловом спирте требуются большие избытки натрия из-за его быстрого расходования. Сократить требуемые количества натрия удалось, проводя реакцию в смеси тетрагидрофуран/изопропанол, добавляя изопропанол дозированно в ходе реакции.

В ходе оптимизации условий реакции нами была обнаружена интересная зависимость продуктов реакции от соотношения ТГФ и изопропилового спирта. Так, при растворении исходного вещества в 30 мл ТГФ с последующим добавлением изопропанола (концентрация имидазолина 70 мМ/л) восстановление соединений **3с**, **3х**, **3у**, **3z**, **3аа**, **3аб** приводит не к вицинальным диаминам, а к дибензиламинам, в то время как при увеличении количества исходного ТГФ до 60 мл (концентрация имидазолина 35 мМ/л) основным продуктом реакции является *эритро*-этилендиамин (схема 7). Для остальных производных (см. таблицу) были получены преимущественно *эритро*-диамины с умеренными выходами.

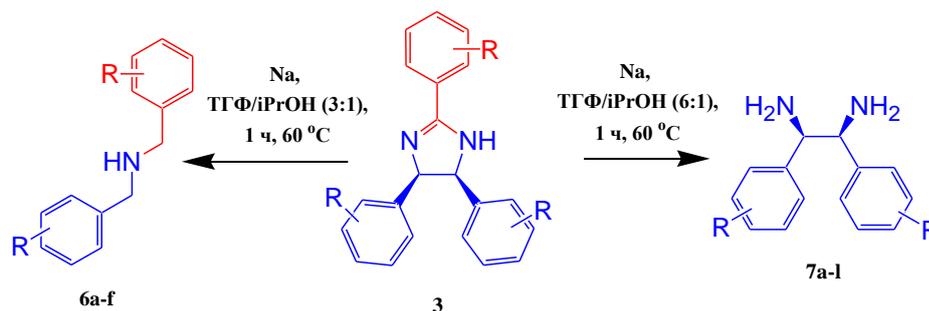


Схема 7. Восстановление 2,4,5-триарилимидазолинов металлическим натрием.

Таблица №8. Выходы продуктов восстановления имидазолинов металлическим натрием.

Исходный имидазолин (3)	ТГФ:iPrOH 3:1 (продукт, выход %)	ТГФ:iPrOH 6:1 (продукт, выход %)
3z (2-Me)	55% (6a)	43% (7a)
3у (3-Me)	45% (6b)	40% (7b)
3x (4-Me)	62% (6c)	42% (7c)
3аа (4-Et)	53% (6d)	62% (7d)
3аб (4-iPr)	68% (6e)	- ¹
3a (2-MeO)	50% (7e)	45% (7e)
3b (3-MeO)	- ²	- ²
3с (4-MeO)	65% (6f)	86% (7f)
3j (4-EtO)	- ¹	29% (7g)
3h (2,5-диMeO)	53% (7h)	40% (7h)
3f (2,4-диMeO)	43% (7i)	58% (7i)
3g (3,4-диMeO)	- ³	40% (7j)
3ад (2,3,4-триMeO)	- ³	35% (7k)
3ас (2,4,5-триMeO)	- ²	20% (7l)
- ¹ неидентифицируемая смесь		
- ² в обоих случаях получается смесь диаминов		
- ³ реакция не проводилась		

Вероятно, с увеличением количества спирта в реакционной смеси пропорционально возрастает доля образующегося в ходе реакции изопропанола с натрием основания, что сказывается на изменении механизма реакции. В случае избытка изопропанола образующийся изопропилат может провоцировать ретро-циклизацию имидазолина до диазапентадиена с его последующим восстановлением до дибензиламина, в то время как при небольших концентрациях спирта преобладающим процессом становится одноэлектронный

перенос с поверхности металла и восстановление имидазолинового цикла до имидазолидинового.

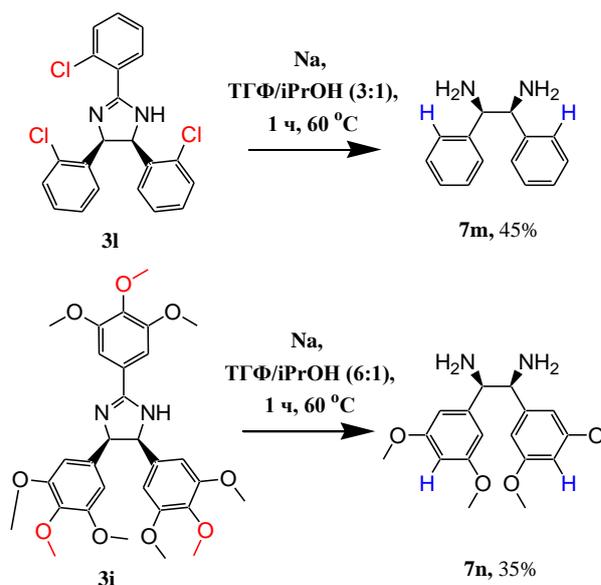


Схема 8. Нестандартные продукты восстановления 2,4,5-триарилимидазолинов металлическим натрием.

Ограничения метода показаны на схеме 8. Так, в условиях реакции происходит восстановление галогеновых заместителей, а также восстановительное элиминирование метокси-группы в стерически нагруженных полиалкоксисубстратах.

Сборка имидазолинового с новым типом замещения по положению 2

Для создания имидазолинового цикла был выбран метод, основанный на использовании альдегида в качестве карбонильной компоненты с одновременным окислением образующегося имидазолидина. В качестве окислителя выбран молекулярный йод, как хорошо зарекомендовавший себя метод в синтезе имидазолинов. Нами было показано на модельной реакции с *эритро*-1,2-(4-метоксифенил)этилендиамином **7f**, что данная реакция может быть проведена с хорошими выходами, причем время реакции зависит от реакционной способности альдегида. Так, для альдегида, содержащего акцепторный галоген, реакция проходит за 3 ч, в то время как реакция с диалкоксиальдегидами требовала кипячения вплоть до нескольких суток (схема 9). Синтез 2-изопропокси-4-метоксibenзальдегида осуществляли по стандартным методикам.

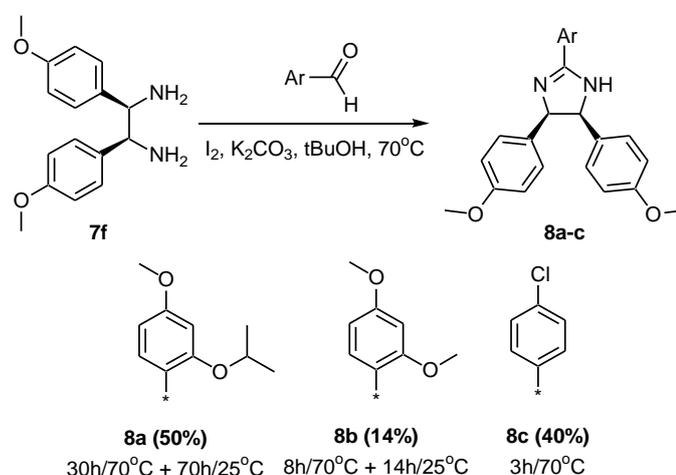


Схема №9 Синтез имидазолинов нового типа.

Полученный имидазолин **8a** был введен в реакцию с трифосгеном и пиперидином для введения дополнительного заместителя на атом азота (схема 10). Полученное соединения является близким аналогом нутлина **3a**, но при этом содержит метоксигруппы вместо атомов галогена и обладает значительно лучшей растворимостью в воде, чем нутлин.

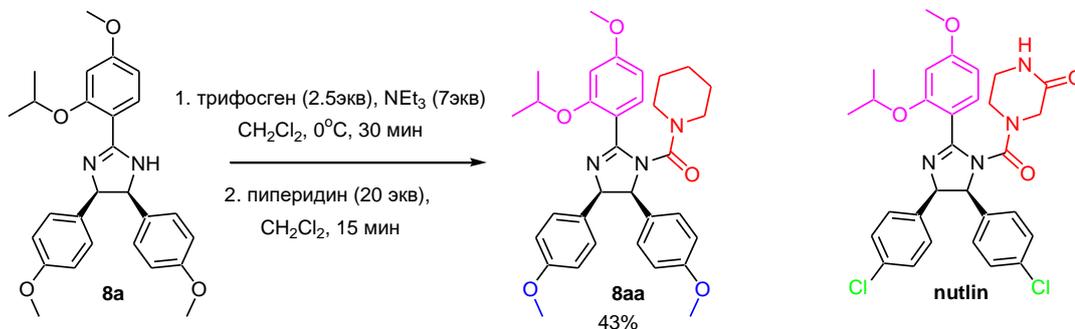


Схема №10 Модификация новых 2-замещенных 4,5-диарилимидазолинов.

Биологическая активность замещенных 2,4,5-триарилимидазолиновых производных

На следующем этапе нашей работы была изучена биологическая активность синтезированных нами модифицированных имидазолинов. Была изучена их цитотоксичность, а также способность влиять на уровень p53 и p53-зависимых белков в клетке.

Биологическая активность сульфонамидных производных 2,4,5-триарилимидазолинов⁶

Нами проанализирована способность синтезированных сульфонамидных соединений стабилизировать уровень p53 и повышать экспрессию p21 (ген CDKN1A). Биологическую активность соединений **4b**, **4c**, **4e-g**, **4i-l** изучали на трех раковых клетках, экспрессирующих p53 дикого типа: аденокарциноме легкого A549, карциноме толстой кишки RKO и нейробластоме SH-SY5Y, для которых нутлин вызывал стабилизацию p53.

Методом вестерн-блотт-анализа было показано, что сульфониламидные производные **4b**, **4c**, **4k**, **4l** не влияют на уровень p53 и p21, в то время как 3,4-диMeO производные **4g-j** в концентрациях 10-20 мкМ повышали уровень p53 и p21 в клетках A549 и RKO (рис. 12), причем повышение уровня p21 было значительно выше, чем влияние на p53. Наибольшую активность соединения проявили на штамме раковых клеток RKO. Показано, что соединение **4g** вызывает повышение уровня p21 в 7,1 раз в концентрации 20 мкМ, практически не оказывая влияния на уровень p53. По отношению к белку p53 среди сульфонамидных производных наилучшие результаты показали соединения **4h** и **4i**, вызывающие повышение уровня p53 в 2,7 и 3,3 раза, соответственно, в концентрации 10 мкМ в клеточной линии RKO.

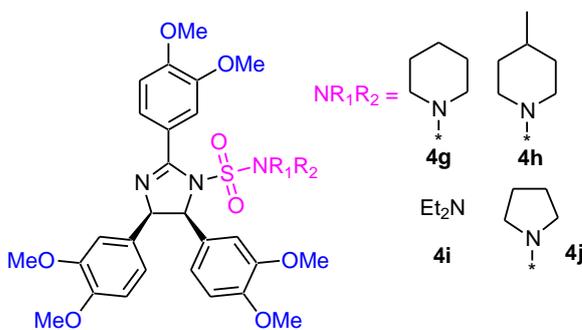


Рис. 11. Наиболее активные сульфонамидные производные

При этом соединения **4f-j** не индуцируют апоптоз в клетках A549 и RKO в концентрации до 20 мкМ, эти соединения не вызывают расщепления PARP (рис. 12). Анализ гибели клеток методом проточной цитометрии также показал, что соединения **4h** и **4i** в концентрации 20 мкМ, подобно нутлину, не снижали жизнеспособность клеток по сравнению с контрольными клетками и не индуцировали апоптоз или

⁶ Тестирование проводилось совместно с аспирантом Первушиным Н.В. и к.б.н. в.н.с. Копеиной Г.С., факультет фундаментальной медицины, МГУ

некроз. Сходные результаты были показаны для SH-SY5Y: все испытанные соединения (10 мкМ) не приводили к расщеплению PARP.

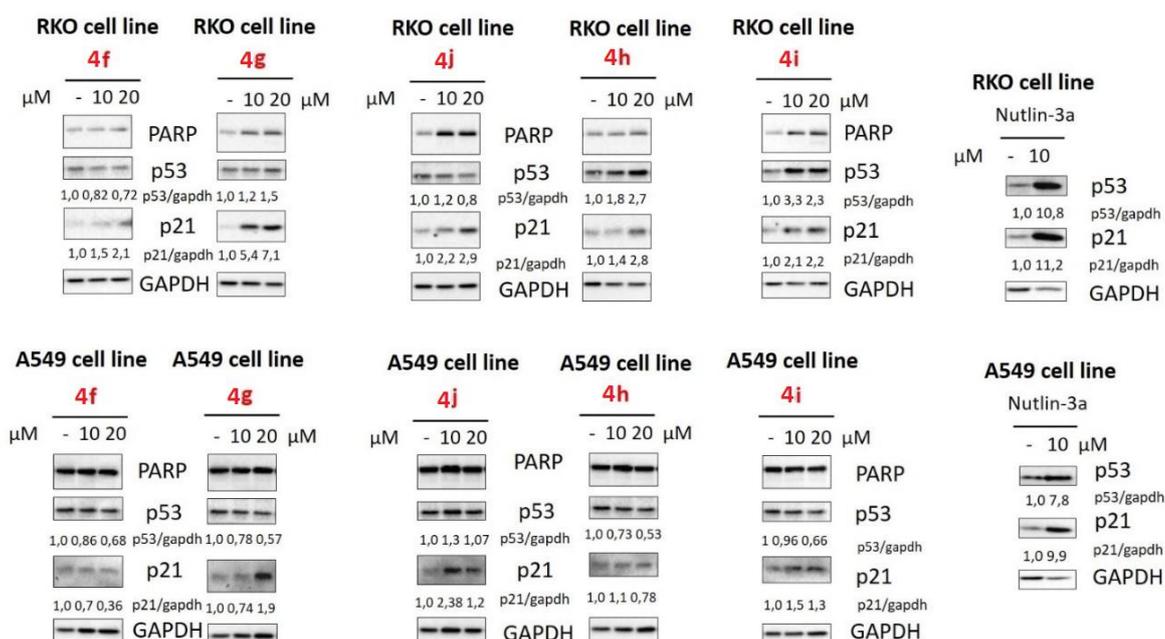
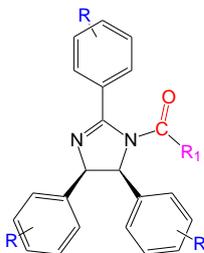


Рисунок 12. Вестерн-блот-анализ общих клеточных лизатов клеток A549 или RKO после обработки соединениями **4f-j**. GAPDH использовали в качестве контроля.

В совокупности результаты данного этапа показывают, что несколько соединений, принадлежащих к сульфонамидным производным имидазолина, способны индуцировать p21, но их влияние на увеличение уровня p53 не столь значительно. Согласно анализу обработанных клеток A549, RKO и SH-SY5Y, наиболее эффективными соединениями оказались 3,4-диметоксизамещенные соединения **4g**, **4h**, **4i** и **4j** (рис.11).

Биологическая активность карбамоильных производных 2,4,5-триарилимидазолинов



На первом этапе анализа биологической активности карбамоильных производных нами проведено измерение цитотоксичности методом МТТ теста. Результаты исследования показали, что большинство соединений обладают цитотоксичностью в микромолярном диапазоне (Табл. 9).

Таблица 9. Цитотоксичность карбамоильных производных имидазолинов⁷

	R	R ¹	Ингибирующая активность, (IC ₅₀ , μM)		
			A549	HCT-116	MCF-7
5a	4-MeO	Et ₂ N	58.2±9.2	54.4±9.2	69±9
5b	4-MeO	морфолинил	165±100	>200	131,5±39
5c	4-MeO	пиперидинил	53.9±7	54±6	62±8
5d	4-MeO	4-метил пиперидинил	38±5	37.9±11	38,5±6
5e	4-MeO	пирролидинил	124±60	115,3±21,5	167±70
5f	4-MeO	азепанил	38,8±4,5	27,1±2,3	35,8±3,6

⁷ Исследования цитотоксичности выполнены совместно с к.х.н. Грачевой Ю.А.

5g	4-MeO	N-Вос пиперазинил	89,8±7,5	40,5±5,5	59,8±7,4
5h	2-MeO	пиперидинил	60,4±26,3	58,8±24,2	75±40
5i	2,4-диMeO	Et ₂ N	35,2±6,4	30,4±7,6	31,5±13,8
5j	2,4-диMeO	морфолинил	105,7±20, 2	126,3±80,5	161±100
5k	2,4-диMeO	пиперидинил	30±2,5	23,3±5,5	31,3±2,4
5l	2,4-диMeO	4-метил пиперидинил	17,8±2,1	16,2±2,5	17±5
5m	2,4-диMeO	N-Вос пиперазинил	21±3	12,6±4,5	19,4±2,5
5n	3,4-диMeO	Et ₂ N	105.2±25	50.7±10	64.7±15
5o	3,4-диMeO	морфолинил	123.4±41. 5	131±38	115±35
5p	3,4-диMeO	пиперидинил	104.4±50. 5	102.6±73.2	>200
5q	3,4-диMeO	4-метил пиперидинил	123.1±50	112,3±27	108.8±15
5r	3,4-диMeO	пирролидинил	-	>200	151±50
5s	3,4-диMeO	азепанил	102.1±50	77.9±7.2	84.3±12
5t	3,4-диMeO	N-метил пиперазинил	>200	>200	104±35
5u	3,5-диMeO	Et ₂ N	24,6±6,3	9,3±4,7	29,4±9,1
5v	3,5-диMeO	морфолинил	93.6±20	97,5±12,3	94,2±10
5w	3,5-диMeO	N-метил пиперазинил	104,3±36	64,6±36	100,8±75,5
5x	4-Cl	пиперидинил	16,2±3,1	11,2±2,5	14,6±4,5
5y	2,4-диCl	Et ₂ N	25,2±8,2	24,2±12,1	40,6±8,2
5z	2,4-диCl	морфолинил	18,7±2,5	17,7±1,5	18,1±1,7
5aa	2,4-диCl	N-Вос пиперазинил	86,6±45,4	21±8	74,1±40,2

Для анализа активности на белках⁸ нами отобраны 22 соединения, преимущественно содержащие хорошо зарекомендовавший себя ранее 2,4-диметоксифрагмент Эти соединения были протестированы на клеточной линии карциномы толстой кишки RKO.



Среди всех соединений два производных (**5l** и **5k**) продемонстрировали многообещающие результаты в концентрации 20 мкМ (рис.14). Их введение приводило к 4.82-кратному (**5l**) и 5.12-кратному (**5k**) увеличению р53 по сравнению с необработанными клетками.

⁸ Тестирование проводилось совместно с аспирантом Первушиным Н.В. и к.б.н. в.н.с. Копеиной Г.С., факультет фундаментальной медицины, МГУ

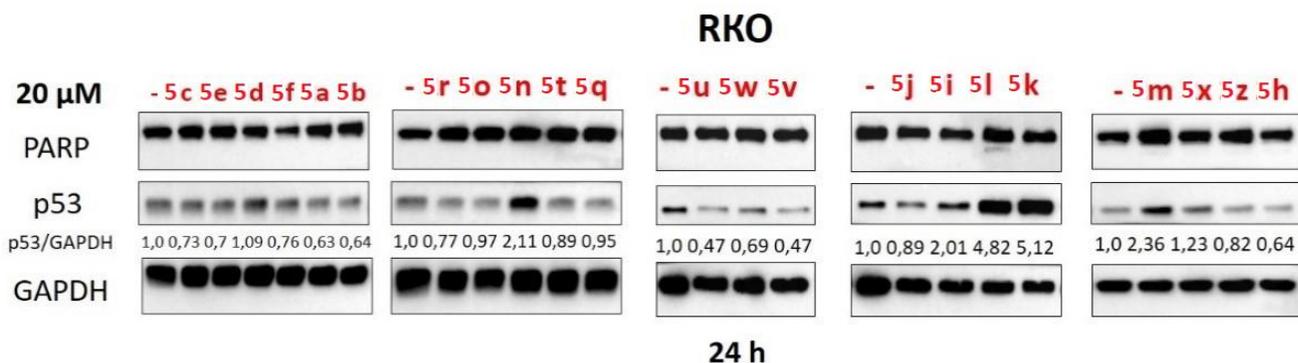


Рисунок 14. Вестерн-блот анализ тотальных клеточных лизатов клеток RKO при обработке соединениями. GAPDH использовали в качестве контроля.

Производное **5l** также способно стабилизировать уровень p53 в диапазоне концентраций 500 нМ–10 мкМ: от 1.31 (500 нМ) до 3.8-кратного (10 мкМ). Обработка соединением **5k** приводила к эффективному накоплению p53 только при 5 и 10 мкМ. Оба соединения вызывали рост уровня p21, начиная с 500 нМ.

Анализ гибели клеток с использованием окрашивания аннексином V-FITC/PI показал, что только **5l** в некоторой степени ослаблял жизнеспособность клеток по сравнению с необработанными клетками RKO (рис.15C). Сходные результаты были продемонстрированы с использованием другого проточного цитометрического анализа, анализа sub-G1 (рис.15C), в котором процент популяции sub-G1 отражает количество апоптотических клеток. Соединения **5l** и **5k** также были протестированы на двух клеточных линиях нейробластомы, SK-N-SH и SH-SY5Y. Помимо анализа p53 и p21, проведена оценка уровня другого белка, индуцируемого p53, Puma. Мы обнаружили, что оба соединения значительно повышали уровни p53 (до 4,11–**5l**), p21 (до 5,47–**5l**) и Puma (до 1.7–**5k**) (рис.16 A, B) в SK-N-SH. Более того, показано, что оба производных также значительно повышали уровни p53 (до 6,83–**5l**), p21 (до 11,2–**5l**) и Puma (до 2,83–**5l**) (рис.16 D, E) в клетках SH-SY5Y. Согласно анализу sub-G1, **5l** и **5k** не снижали жизнеспособность клеток, в отличие от нутлин-3а и RG7388, в обеих клеточных линиях (рисунок №15 C, F). Также была проанализирована биологическая активность двух соединений **5l** и **5k** в линии клеток остеосаркомы SJSA-1 и линии рака предстательной железы LNCaP. Примечательно, что для SJSA-1 характерна амплификация гена MDM2. Обработка клеток производным **5l** вызывала повышение уровня p53 до 3,1, p21 до 13,7 и Puma до 4,22 на обеих линиях раковых клеток. Таким образом, несмотря на амплификацию MDM2 в клетках SJSA-1, **5l** оказывается способен повышать уровень p53.

Таким образом по совокупности соединение **5l** было более эффективным, чем **5k**, и вызывало высокое накопление уровней p53, p21 и Puma в исследованных линиях раковых клеток, экспрессирующих p53 дикого типа и может рассматриваться как основа для дальнейших модификаций при создании новых водорастворимых имидазолинов с потенциальной противоопухолевой активностью.

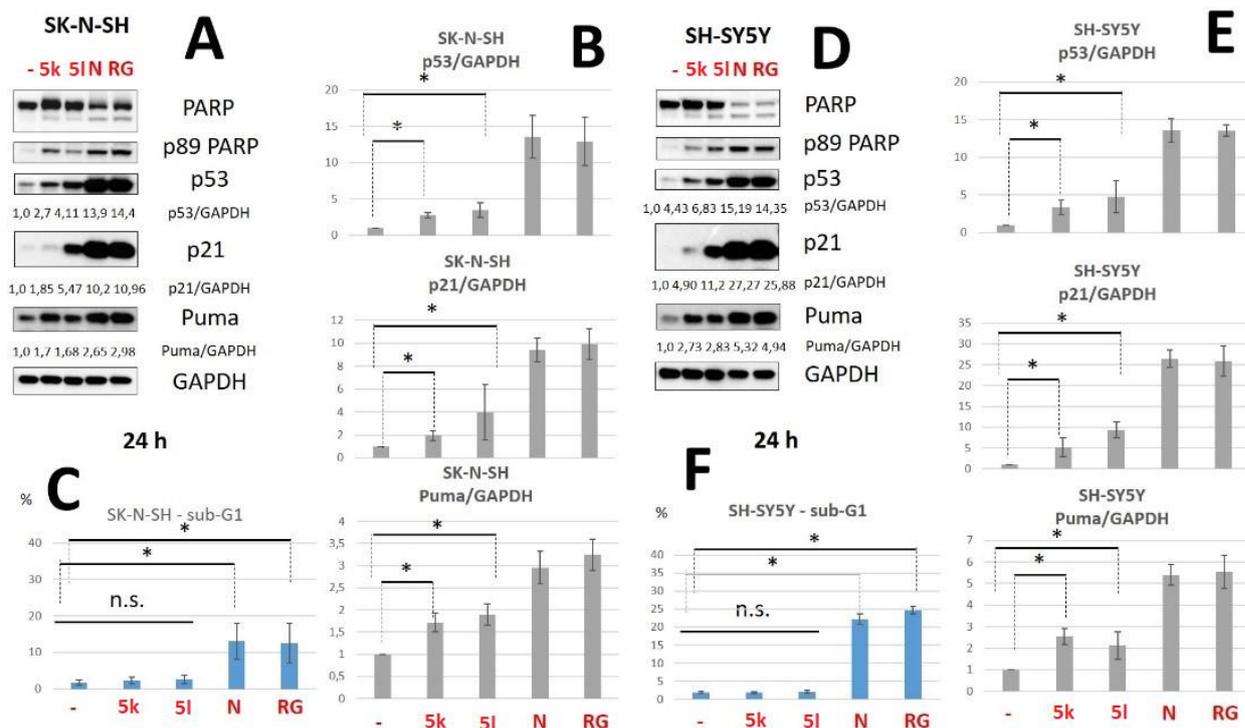
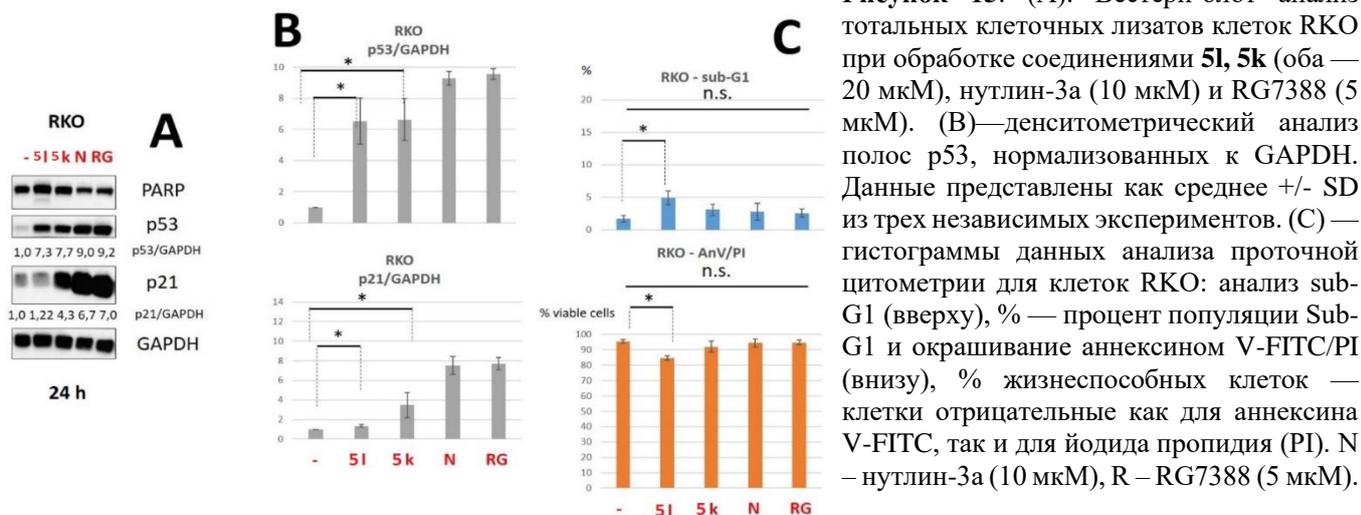


Рисунок 16. Вестерн-блот-анализ суммарных клеточных лизатов клеток SK-N-SH (А) и SH-SY5Y (Г) при обработке соединениями **5l**, **5k** (оба — 20 мкМ), нутлин-3а (10 мкМ) и RG7388 (5 мкМ). (В, Е) — денситометрический анализ полос p53, p21 и Puma, нормализованных к GAPDH, в клетках SK-N-SH (В) и SH-SY5Y (Е). Данные представлены как среднее +/- SD из трех независимых экспериментов. (С, F) - гистограмма данных анализа проточной цитометрии для клеток SK-N-SH с использованием анализа sub-G1, % - процент популяции Sub-G1. N — нутлин-3а (10 мкМ), R — RG7388 (5 мкМ).

ВЫВОДЫ

1. Разработан метод препаративного синтеза новых производных *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов и изучена возможность их дальнейшей модификации. Показано, что алкокси- и гидроксизаместители в арильных кольцах в положениях 2 и 4,5 имидазолинового кольца обладают разной реакционной способностью, что позволяет проводить их селективную модификацию. Влияние имидазолинового кольца на нуклеофильность данных заместителей наиболее сильно проявляется для заместителей, находящихся в *пара*-положении по отношению к имидазолиновому циклу.
2. Изучены антиоксидантные свойства полученной серии гидроксизаместителей и алкоксизаместителей производных 2,4,5-триарилимидазолинов. Показано, что антиоксидантная активность *цис*-2,4,5-(3,4,5-тригидроксифенил)имидазолина превышает активность тролокса в 3,5 – 3,8 раз (хемилюминесцентный метод и ДФПГ тест, соответственно).
3. Показано, что алкоксипроизводные *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов обладают способностью стабилизировать уровень p53 в некоторых штаммах раковых клеток и проявляют цитотоксичность в микромолярном диапазоне концентраций. Продемонстрирована важность наличия метокси-группы в *пара*-положении арильного кольца по отношению к имидазолиновому циклу для проявления способности влиять на уровень p53 в раковых клетках.
4. Получена серия *N*-сульфонил- и *N*-карбамоилпроизводных имидазолинов. Показано, что данные соединения обладают значительно более высокой растворимостью в воде, чем известные аналоги нутлина, что позволяет использовать их в дальнейшем дизайне соединений, обладающих биологической активностью.
5. Разработан препаративный метод синтеза новых *эритро*-1,2-диарил-1,2-этилендиаминов по реакции имидазолинов с металлическим натрием. Показано, что, в зависимости от условий, в данной реакции могут быть получены как вицинальные диамины, так и производные дибензиламины.
6. Продемонстрирована возможность препаративного синтеза новых производных имидазолинов, содержащих фармакофорные группы в положении 2 имидазолинового цикла, по реакции *эритро*-1,2-ди(алкоксиарил)-1,2-этилендиаминов с альдегидами в присутствии йода в качестве окислителя.
7. Изучена биологическая активность полученных *N*-сульфонил-*цис*-2,4,5-триарилимидазолинов на разных штаммах раковых клеток. Среди серии 3,4-диметоксиарил-*N*-сульфонилпроизводных найдено соединение **4g**, повышающее уровень белка p21 в 7,1 раз и соединения **4h,i,j**, повышающие уровень p53 в 2,3-3,3 раза в клетках линии RKO.
8. Изучена противораковая активность *N*-карбамоилпроизводных *цис*-2,4,5-триарилимидазолинов на разных штаммах раковых клеток. Показано, что соединения **5l** и **5k** в концентрации 20 мкМ повышали уровень p53 в сравнении с необработанными клетками RKO, в 7.3 и 7.7 раз, также соединение **5l** повышало уровень p53 и p21 в клетках нейробластомы SK-N-SH (в 4.11 и в 5.47 раз, соответственно), SH-SY5Y (в 6.83 и в 11.2 раз, соответственно), в клетках остеосаркомы SJSА-1 и рака предстательной железы LNCaP повышение уровня p53 составило до 3.1, p21 - до 13.7 и Рuma - до 4.22 раз). Таким образом, *цис*-*N*-(4-метилпиперидин-1-илкарбонил)-2,4,5-трис(2,4-метоксифенил)имидазолин **5l** может быть использован для дальнейшей разработки водорастворимых противораковых препаратов на его основе.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

Публикации в журналах Scopus, Web of Science, RSCI, рекомендованных для защиты в диссертационных советах МГУ:

1. **D.R. Bazanov**, N.V. Pervushin, E.V. Savin, M.D. Tsymliaikov, A.I. Maksutova, V.Yu. Savitskaya, S.E. Sosonyuk, Yu.A. Gracheva, M.Yu. Seliverstov, N.A. Lozinskaya, G.S. Kopeina. Synthetic Design and Biological Evaluation of New p53-MDM2 Interaction Inhibitors Based on Imidazoline Core // *Pharmaceuticals* — 2022. — Vol. 15, no. 4. — P. 444. DOI: 10.3390/ph15040444. IF=5.22 (Web of Science).
2. **D.R. Bazanov**, N.V. Pervushin, V.Yu. Savitskaya, L.V. Anikina, M.V. Proskurnina, N.A. Lozinskaya, G.S. Kopeina. 2,4,5-tris(alkoxyaryl)imidazoline derivatives as potent scaffold for novel p53-mdm2 interaction inhibitors: Design, synthesis, and biological evaluation // *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* — 2019. — Vol. 29, no. 16. — P. 2364–2368. DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.06.007. IF=2.57 (Web of Science).
3. **D.R. Bazanov**, N.V. Pervushin, E.V. Savin, M.D. Tsymliaikov, A.I. Maksutova, S.E. Sosonyuk, G.S. Kopeina, N.A. Lozinskaya. Sulfonamide derivatives of cis-imidazolines as potent p53-mdm2/mdmx protein-protein interaction inhibitors // *Medicinal Chemistry Research* — 2021. — Vol. 30. — P. 2216–2227. DOI: 10.1007/s00044-021-02802-w. IF=1.97 (Web of Science).
4. **D.R. Bazanov**, V.Yu. Savitskaya, N.A. Maximova, V.Yu. Tyurin, Yu.A. Gracheva, N.B. Chesnokova, O.V. Beznos. S.E. Sosonyuk, N.A. Lozinskaya. Antioxidant activity and redox properties of cis-2,4,5-tris(hydroxyaryl)imidazolines // *Mendeleev Communications* — 2022. — Vol. 32. — P. 680–682. DOI: 10.1016/j.mencom.2022.09.038. IF=1.84 (Web of Science).
5. **D.R. Bazanov**, N.A. Maximova, M.Y. Seliverstov, N.A. Zefirov, S.E. Sosonyuk, N.A. Lozinskaya. Synthesis of covalent conjugates of dichloroacetic acid with polyfunctional compounds // *Russian Journal of Organic Chemistry* — 2021. — Vol. 57, no. 11. — P. 1834–1840. DOI: 10.1134/s107042802111004x. IF=0.86 (Web of Science).

Другие публикации:

1. ФГБОУ ВО МГУ им М.В. Ломоносова. 2,4,5-Три(метоксифенил) цис-имидазолин и способ их получения / **Базанов Д.Р.**, Лозинская Н.А., Первушин Н.В., Копейна Г.С., Аникина Л.В., Савицкая В.Ю., Максудова А.И. // Патент РФ №2730497С1. – Номер заявки: 2019124301. – Дата регистрации 24.08.2020. – Дата публикации 24.08.2020.
2. **Д.Р. Базанов**. Синтез новых антиоксидантов на основе реакции альдегидов с аммиаком. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2015» / Отв. ред. А.И. Андреев, А.В. Андриянов, Е.А. Антипов. [Электронный ресурс] — М.: МАКС Пресс, 2015. — 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).
3. **Д.Р. Базанов**, Н.А. Лозинская, А.А. Маркова, А.А. Штиль, Н.С. Зефирова. Синтез новых производных цис-имидазолинов и исследование их противоопухолевой активности Всероссийская Симпозиум : Второй Междисциплинарный Симпозиум по медицинской, органической и биологической химии - 2015, Новый Свет, Крым, Россия, 27 сентября - 1 октября 2015. Сборник тезисов, с 97.
4. **Д.Р. Базанов**, Т.Д. Ксенофонтова, Н.А. Лозинская, Н.С. Зефирова, М.В. Проскурнина, Н.Б. Чеснокова, О.В. Безнос. Региоселективный синтез новых производных имидазолинов на основе полифенолов и изучение их антиоксидантной активности. IV Всероссийская конференция по органической химии и XVIII Молодежная школа-конференция по органической химии, 22-27 ноября 2015 года, Москва, Институт Органической Химии, Россия, 22-27 ноября 2015. Тезисы доклада, с 111.
5. **Д.Р. Базанов**, Т.Д. Ксенофонтова, Н.А. Максимова, Н.А. Лозинская, О. В. Безнос, Н.Б. Чеснокова. Синтез и исследование антиоксидантной активности гидрокси производных имидазолина. I Всероссийская молодёжная школа-конференция “Успехи синтеза и комплексообразования” Сборник тезисов, с 87.
6. **Д.Р. Базанов**, Т. Д. Ксенофонтова, Н. А. Максимова, О. В. Ходорко, Н. А. Лозинская, В. Ю. Тюрин, А. А. Маркова, О. В. Безнос, Н. Б. Чеснокова, А. А. Штиль, Н. С. Зефирова. Синтез

- и биологическая активность новых производных цис-имидазолинов. Тезисы докладов кластера конференций по органической химии Оргхим-2016, 27июня-1июля 2016, Санкт-Петербург (пос. Репино), с 528. Издательство ВВМ Санкт-Петербург, 2016.
7. **D.R. Bazanov**, N.A. Lozinskaya, L.V. Anikina, S.G. Klochkov, M.V. Proskurnina. Cis-imidazolines as precursors for creation potential antitumor agents. 3rd Russian Conference on Medicinal Chemistry. Abstract book, с 129. Kazan, 2017
 8. **Д.Р. Базанов**, Н. А. Лозинская, М. В. Проскурнина, Л. В. Аникина, С. Г. Клочков. Антипролиферативные свойства новых производных производных цис-2,4,5-триарилимидазолинов. Сборник материалов XXV Российского национального конгресса Человек и лекарство. Тезисы докладов, том 1, Секция «Разработка и создание новых лекарственных препаратов», с 55.
 9. **Д.Р. Базанов**, В.Ю. Савицкая, Н.В. Первушин, Н.А. Лозинская, Г.С. Копеина, Л.В. Аникина, М.В. Проскурнина. Novel cis-imidazoline derivatives as precursors for potent inhibitors of mdm2-p53 interaction. Book XXVIth Young Research Fellow Meeting 2019, с 76, 2019.
 10. **Д.Р. Базанов**, Н.А. Лозинская. Восстановление 2,4,5-триарилимидазолинов металлическим натрием. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2019» / М: МАКС Пресс, 2019. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).
 11. **Д.Р. Базанов**, Н.В. Первушин. Изучение биологической активности алкоксиарилпроизводных имидазолина как потенциальных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2019» / М: МАКС Пресс, 2019. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).
 12. Н.В. Первушин, **Д.Р. Базанов**, В.Ю. Савицкая, Л.В. Аникина, М.В. Проскурнина, Н.А. Лозинская, Г.С. Копеина. Исследование эффективности действия алкоксиарилпроизводных имидазолина в качестве потенциальных ингибиторов белок- белкового взаимодействия p53-МДМ2. Материалы IV Национального конгресса по регенеративной медицине, том 4, с 179–179.
 13. **Базанов Д.Р.**, Первушин Н., Савин Е.В., Рунин Д.И., Копеина Г.С., Лозинская Н.А. Sulfonamide derivatives of cis 2,4,5 tris(alkoxyaryl) imidazolines: design, synthesis, and biological evaluation. EFMC-ISMC & EFMC-YMCS Virtual Poster Session Powered by the EFMC Young Scientists Network, Book of abstracts, P122.
 14. D.I. Runin, **D.R. Bazanov**, N.A. Lozinskaya, E.V. Savin. Reduction of 2,4,5-triarylimidazolines as a method for the preparation of vicinal diamines and pyrazines. EFMC-ISMC & EFMC-YMCS Virtual Poster Session Powered by the EFMC Young Scientists Network, Book of abstracts, P090.
 15. Е.В. Савин, Н.В. Первушин., **Д.Р. Базанов**. Синтез и биологическая активность сульфонамидных производных цис-2,4,5- трис(алкоксиарил)-имидазолинов. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2020». / М.: МАКС Пресс, 2020. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM);
 16. Д.И. Рунин, **Д.Р. Базанов**, Е.В. Савин. Восстановление 2,4,5-арилимидазолинов как способ получения вицинальных диаминов и пиразинов. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2020». / М.: МАКС Пресс, 2020. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM);
 17. Е.В. Савин, **Д.Р. Базанов**, Н.В. Первушин. Синтез и оценка биологической активности N-замещенных цис-2,4,5-трис(алкоксиарил)-имидазолинов. Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2021» / М.: МАКС Пресс, 2021. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM);
 18. **Д.Р. Базанов**, Н.В. Первушин, Е.В. Савин, Д.И. Рунин, Г.С. Копеина, Н.А. Лозинская. Синтез, химические свойства и биологическая активность новых производных 2,4,5-триарилимидазолинов. IX Молодёжная конференция ИОХ РАН, с 48–48. Москва, 2021.
 19. **Д.Р. Базанов**, Н.В. Первушин, Е.В. Савин, Г.С. Копеина, Н.А. Лозинская. Метоксифенилпроизводные имидазолинов как низкомолекулярные активаторы p53. MedChem-Russia 2021, том 1, с 336. Издательство ВолгГМУ Волгоград, 2021.