



УДК 577.112.854:577.344:547.782'538.14.057

СИНТЕЗ ХРОМОФОРОВ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ БЕЛКОВ И ИХ АНАЛОГОВ

© 2013 г. М. С. Баранов, К. А. Лукьянов, И. В. Ямпольский[#]Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 19.09.2012 г. Принята к печати 02.11.2012 г.

Белки семейства зеленого флуоресцентного белка (GFP, Green Fluorescent Protein) широко применяются в экспериментальной биологии в качестве генетически кодируемых флуоресцентных маркеров. Хромофоры GFP-подобных белков имеют общее структурное ядро – 3,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-он. Настоящий обзор посвящен методам синтеза его производных, замещенных по различным положениям. Рассмотрены как наиболее универсальные и широко используемые методы, так и необычные, подтвержденные единичными примерами. Наиболее распространенный метод синтеза замещенных 3,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-онов включает получение азлактонов, затем из них *N*-ацилдегидроаминокислот, и наконец, циклизацию последних с образованием целевых гетероциклических соединений. Соответственно, обзор состоит из трех разделов: 1) синтез азлактонов, 2) основные пути синтеза производных *N*-ацилдегидроаминокислот, 3) методы циклизации амидов *N*-ацилдегидроаминокислот и все прочие синтезы 3,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-онов.

Ключевые слова: флуоресцентный белок, хромофор, GFP, азлактон, имидазолон.

DOI: 10.7868/S0132342313030044

СОДЕРЖАНИЕ

Введение

1. Синтез оксазолонов

1.1. Конденсация карбонильных соединений с производными *N*-ацилглицина

1.2. Прочие методы синтеза оксазолонов

2. Синтез производных *N*-ацилдегидроаминокислот

2.1. Нуклеофильное раскрытие оксазолонов

2.2. Прочие методы синтеза амидов *N*-ацилдегидроаминокислот

3. Методы синтеза имидазолонов

3.1. Циклизация амидов *N*-ацилдегидроаминокислот

3.2. Прочие методы синтеза имидазолонов

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время различные белки семейства зеленого флуоресцентного белка (GFP) находят все большее применение в экспериментальной биологии в качестве генетически кодируемых флуоресцентных маркеров [1].

В отличие от других природных пигментов, чей биосинтез требует участия множества ферментов и кофакторов, формирование хромофора GFP происходит за счет посттрансляционной модификации собственных аминокислотных остатков. Образование хромофора катализируется самим белком и не требует участия каких-либо сторонних агентов за исключением молекулярного кислорода. Установлено, что хромофоры всех природных белков семейства GFP имеют общее структурное ядро – 5-(4-гидроксибензилиден)-3,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-он (схема 1). Данный фрагмент

Сокращения: Ar – арил; CDI – карбонилдиимидазол; DABCO – 1,4-диазабисцикло[2.2.2]октан; DBU – диазабисциклоундецен; DDQ – 2,3-дихлор-5,6-дициан-1,4-бензохинон; DEAD – диэтилазодикарбоксилат; имидазолон – 5-арилден-3,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-он; DIPEA – диизопропилэтиламин; GFP – зеленый флуоресцентный белок; HOBT – 1-гидроксибензотриазол; LDA – диэтилопропиламид лития; MS – молекулярные сита; оксазолон – 5-арилден-3,5-дигидро-4*H*-оксазол-4-он; NBS – *N*-бромсукцинимид; PMB – *n*-метоксибензил; Py – пиридин; TBDMS – *трет*-бутилдиметилсилил; Ts – тозил; ФБ – флуоресцентный белок.

[#] Автор для связи (+7 (499) 724-81-22; факс: +7 (495) 330-70-56; эл. почта: ivyamp@ibch.ru).

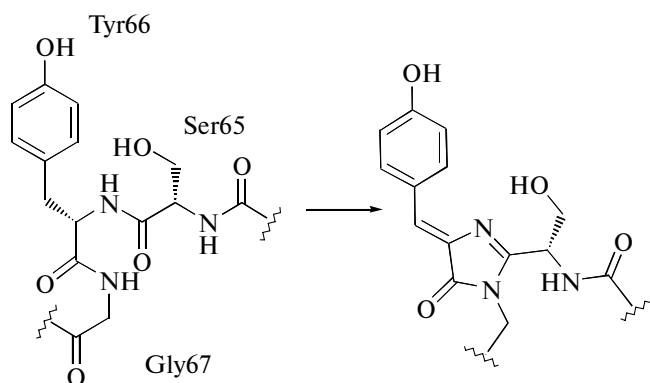


Схема 1. Хромофор GFP и его образование.

образуется за счет циклизации, дегидратации и окисления трех соседних аминокислотных остатков в положениях 65–67 (нумерация по белку GFP медузы *Aequorea victoria*) при участии молекулярного кислорода; каждый из этих трех этапов в свою очередь делится на элементарные стадии, точная природа которых еще не установлена. В отсутствие дальнейших превращений образуется простейший

зеленый хромофор, – непосредственный предшественник многих родственных структур. Последние образуются в ходе модификации аминокислотного остатка в положении 65, при этом за счет увеличения сопряженной системы π -связей происходит образование хромофоров с более длинноволновой флуоресценцией (желтые, красные, пурпурные белки) [1–3] (схема 2).

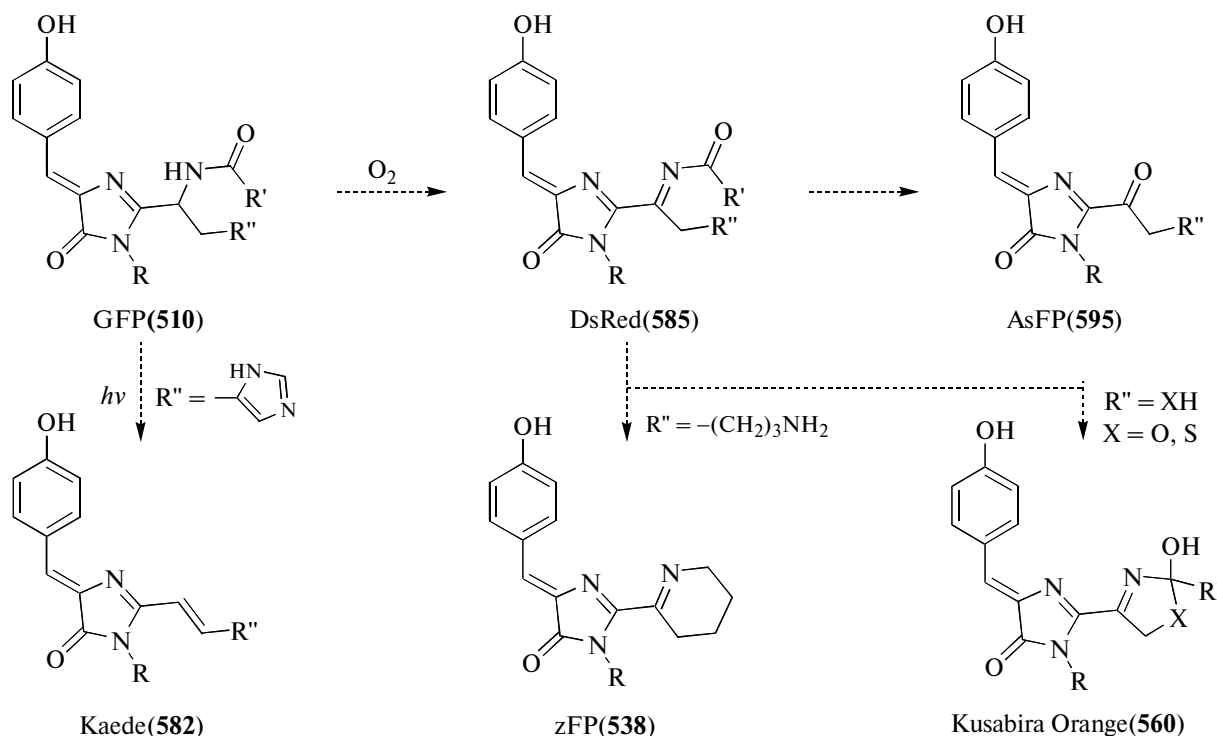


Схема 2. Различные типы хромофоров с длинноволновым поглощением (в скобках указаны максимумы испускания в нанометрах).

С помощью направленного мутагенеза также могут быть получены различные аналоги флуоресцентных белков, содержащие модифицированный хромофор. Было показано, что при заме-

не Тир66 в GFP на другие ароматические аминокислоты образуются флуоресцентные белки с гипсохромным сдвигом [4]. В частности, голубой и синий мутанты GFP содержат остатки Тир66 и

His66 соответственно, а наибольший гипсохромный сдвиг наблюдался при замене остатка Tug66 на Phe в белке Sirius [5].

Механизмы биосинтеза, физические и химические свойства хромофоров ФБ являются объектом пристального внимания исследователей. Для изучения указанных вопросов были привлечены самые разнообразные подходы, такие как рентгеноструктурный анализ, геновая инженерия, изучение продуктов гидролиза ФБ, флуоресцентная спектроскопия, а также многие другие [1, 3–14]. Среди прочих методов отдельное место занимает синтез модельных соединений. Данный подход позволяет получить независимые доказательства химической структуры природных хромофоров, прояснить детали их спектральных свойств, а также влияние на них различных факторов среды [15–18]. Также модельный синтез позволил сотрудникам нашей лаборатории установить подробности механизма биосинтеза хромофоров красных ФБ типа DsRed [19].

В связи с этим, синтез производных 5-(бензилиден)-3,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-она является важной практической задачей. Мы поставили

цель в настоящем обзоре наиболее полно рассмотреть все синтетические пути, позволяющие получить подобные структуры.

Основным из данных подходов является циклизация амидов *N*-ацилдегидроаминокислот, которые в свою очередь, наиболее часто синтезируются путем аминолита оксоаналогов имидазолонов – 5-арилиден-3,5-дигидро-4*H*-оксазол-4-онов (оксазолонов) (схема 3). Производные как оксазолонов, так и *N*-ацилдегидроаминокислот служат основой для множества биологически активных соединений, а также различных гетероциклических систем, поэтому их химия достаточно хорошо проработана. В связи с этим, первые два раздела данного обзора будут посвящены различным методам получения этих производных. В последнем разделе мы рассмотрим методы циклизации амидов *N*-ацилдегидроаминокислот, а также все прочие методы синтеза имидазолонов. Следует отметить, что хромофоры ФБ не содержат в своей структуре гетероатомных заместителей в положениях R¹, R² и R³, поэтому мы не будем рассматривать соответствующие производные в данном обзоре.

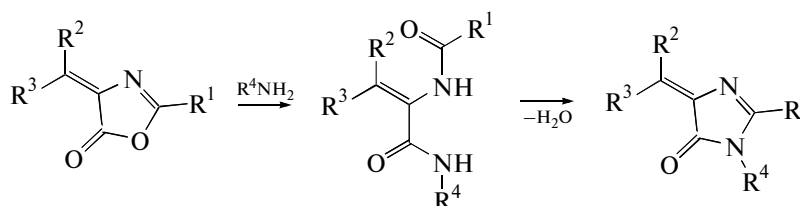


Схема 3. Наиболее часто используемый метод синтеза имидазолонов.

1. СИНТЕЗ ОКСАЗОЛОНОВ

Существует целый ряд подходов, позволяющих получить производные оксазолонов [20], наиболее распространенный – конденсация карбонильных соединений с циклическими производными *N*-ацилглицина.

1.1. Конденсация карбонильных соединений с производными *N*-ацилглицина

Чаще всего оксазолоны получают синтезом Эрленмейера [21] (схема 4).

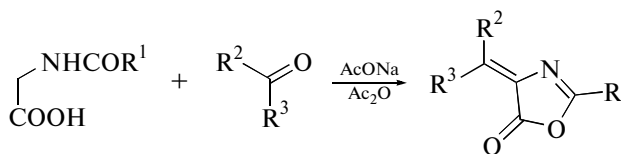


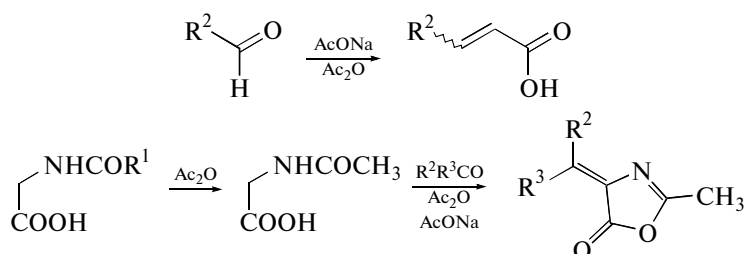
Схема 4. Реакция Эрленмейера.

Процесс представляет собой циклизацию *N*-ацилглицина с последующим присоединением карбонильного соединения. Оригинальная методика не предполагала разделения этих стадий, а в роли как конденсирующего, так и дегидратирующего агента использовалась смесь ацетата натрия

с уксусным ангидридом. Подобная реакция, очевидно, осложнялась побочными процессами, такими как реакция Перкина [22], а также переацилированием глицина, в результате которого вместо искомого соединения образуется его аналог, где R¹ = Me (схема 5).

Таблица 1. Реагенты и конденсирующие агенты, применяемые в синтезе оксазолонов по Эрленмейеру (см. схему 4)

R ¹	R ²	R ³	Конденсирующий агент	Выход, %	Ссылка
CH ₃	2-NO ₂ -C ₆ H ₄	H	Ac ₂ O/AcONa	63	24–26
Ph	CF ₃ CH ₂ CH	H	Zn(OAc) ₂	99+	30
Ph	CH ₃ CO	CH ₃	Pb(OAc) ₂ /Ac ₂ O	36	29
Ph	PhCO	CH ₃	Pb(OAc) ₂ /Ac ₂ O	86	29
Ph	4-OH-C ₆ H ₄	H	KF/Al ₂ O ₃ -Ac ₂ O	90	34
Ph	5-нитротриен-2-ил	H	Ионообменная смола	62	35
Ph	5-нитрофур-2-ил	H	Ионообменная смола	77	35
Ph	Ph	H	Цеолит	80	36
CH ₃	Ph	H	Цеолит	73	36

**Схема 5.** Побочные процессы, осложняющие реакцию Эрленмейера.

Существенным ограничением для этой реакции является активность карбонильных соединений. Так, оригинальная работа предполагала использование лишь альдегидов, а первые данные об использовании кетонов появились только в середине XX века [23]. Тем не менее, использование этой методики позволило получить довольно широкий круг соединений [16, 24–27].

Последующие исследования показали, что в ряде случаев замена конденсирующих агентов позволяет существенно увеличить выход реакции и минимизировать побочные процессы. Это позволило использовать в роли карбонильного агента как менее стабильные, так и менее реакционноспособные соединения. Были применены такие конденсирующие агенты, как DCC (с микроволновым воздействием) [28], ацетат свинца или цинка [29], хлорид цинка [30], триалкилхлорсиланы [31], диэтилпирокарбонат [32], фторид калия на оксиде алюминия [34], ионообменные смолы и цеолиты [35, 36], комплекс серного ангидрида с диметилацетамидом [37], полифосфорная кислота [38] и т.п. (табл. 1).

Также и карбонильные компоненты могут быть заменены на различные аналоги, например,

на имины [39] или аддукты альдегидов с сульфитом натрия [40].

Как уже было сказано, одним из побочных процессов реакции Эрленмейера является переацилирование *N*-ацилглицинов. Данный процесс практически не наблюдается в мягких условиях, однако для малореакционноспособных субстратов он начинает играть существенную роль. Избежать подобной реакции удавалось либо упомянутым выше отказом от использования ангидрида, либо, например, заменой Ac₂O на ангидрид, соответствующий используемому *N*-ацилглицину [16].

Однако более успешным подходом стало полное разделение стадий реакции Эрленмейера (схема 6). Наиболее удобными и мягкими реагентами для проведения первой стадии являются карбодиимиды. При этом могут быть использованы как классический DCC [41], так и его аналоги [42–44]. Данная методика позволяет работать с весьма чувствительными субстратами [45, 46], а также характеризуется высокими выходами (схема 7).

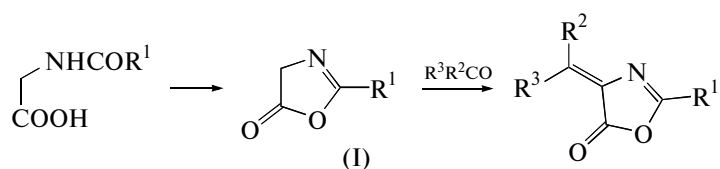


Схема 6. Постадийное проведение реакции Эрленмейера.

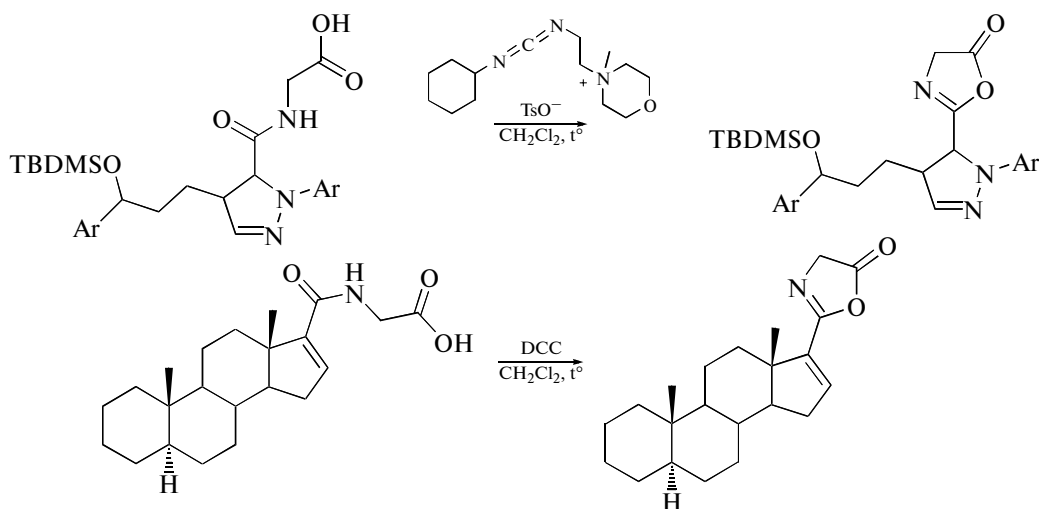


Схема 7. Примеры мягкой циклизации *N*-ацилглицинов.

В качестве циклизующего агента также успешно могут применяться хлорформаты [47, 48], а в некоторых случаях и уксусный ангидрид. Последний чаще всего используется для производных бензойных кислот [49, 50] (циклическое производное гиппуровой кислоты иногда называют азлактоном Эрленмейера [51]). Интересный пример подобного превращения – реакция, проходящая в присутствии сильных кислот, например,

тетрафторборной, – в таком случае удается получить твердые устойчивые соли соответствующих оксазолонов (I) [52].

Предварительный перевод *N*-ацилглицинов в нитрофениловые эфиры также позволяет получить циклические производные [53], однако данный метод так и не нашел препаративного применения.

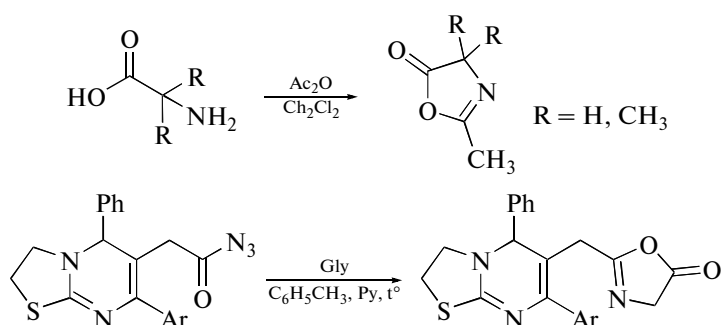


Схема 8. Использование свободного глицина в синтезе оксазолонов (I).

Избежать предварительного получения *N*-ацилглицинов позволяют one-pot-методы с использованием свободного глицина. Так, сообщается о получении метильного производного под

действием уксусного ангидрида [54] (см. схему 8), но, что более интересно, широкий круг соединений удастся получить при действии азидов или хлорангидридов различных кислот на глицин в

присутствии основания [55]. Подобное превращение может быть успешно проведено даже на достаточно сложном субстрате [56].

В завершение — о методах конденсации оксазолонов (I) с карбонильными соединениями (схема 9).

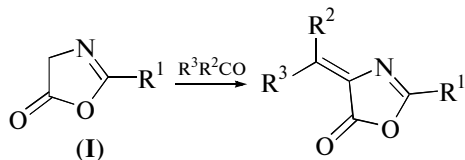


Схема 9. Конденсация оксазолонов (I) с карбонильными соединениями.

Подобная конденсация может быть проведена в присутствии различных оснований, таких как пиридин, триэтиламин [57] или пиколин [58]. Применяют также ацетат свинца [51] и непосредственное сплавление реагирующих компонентов [51, 59], в том числе при микроволновом содействии [60, 61]. В недавних публикациях сообщается об успешном применении оксида алюминия и ионных жидкостей [62, 63].

1.2. Прочие методы синтеза оксазолонов

Несмотря на обилие синтетических подходов, основанных на реакции Эрленмейера, существует немало альтернативных методик синтеза оксазолонов.

Одной из часто употребляемых методик служит дегидратация *N*-ацилдегидроаминокислот (схема 10). Данная циклизация может быть проведена термически [64] или под действием различных обезвоживающих агентов как достаточно жестких, таких как уксусный ангидрид [65], хлорформиаты [47] или триэтилсилан в TFA [66], так и более мягких, таких как DCC [67].

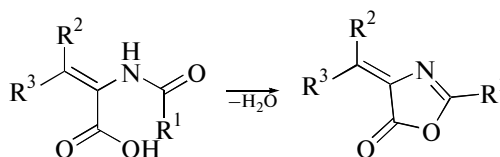


Схема 10. Получение оксазолонов дегидратацией *N*-ацилдегидроаминокислот.

Другой весьма успешный подход состоит в использовании производных 3-гидрокси-*N*-ациламинокислот. Подобное превращение зачастую протекает под действием различных ацилирующих агентов в присутствии основания [68], что позволяет предположить, что в ходе процесса, происходит образование *O*-ацилированного продукта (циклического или линейного) с последующим элиминированием кислоты. Продукт ацилирования в некоторых случаях удается выделить и охарактеризовать — см., например, работу [69]. Условия проведения этой реакции можно достаточно широко варьировать, что позволяет, с одной стороны, использовать даже эфиры *N*-ацил-3-гидроксиаминокислот [70] или 3-алкоксипроизводные [71], а с другой, — работать с чувствительными субстратами [72] (схема 11):

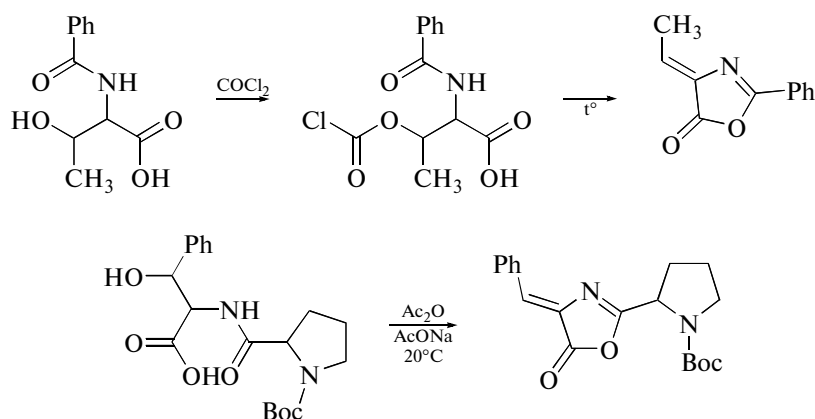


Схема 11. Примеры образования оксазолонов из *N*-ацил-3-гидроксиаминокислот.

Образование двойной *экзо*-связи в положении 4 также возможно в различных азлактонах (и в их аналогах, так называемых псевдо-азлактонах) [73].

Существует несколько примеров успешного окисления этих циклических производных с использованием целого ряда окислителей [74] (схема 12).

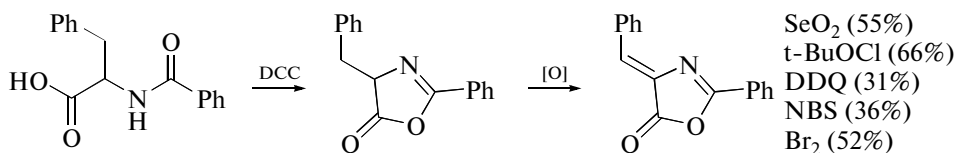


Схема 12. Окисление азлактонов (в скобках указан выход продукта).

Сходным методом, включающим в себя различные окислительные реакции и стадии элиминирования

галогеноводорода, был получен один из хромофоров белка семейства зеленых флуоресцентных белков [75] (схема 13).

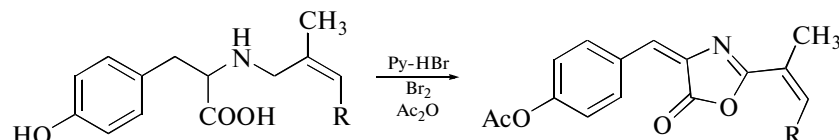


Схема 13. Синтез оксазолон — предшественника модельного хромофора ФБ.

Эlegantным решением по образованию двойной *экзо*-связи является использование *N*-хлор-ацетилпроизводных аминокислот или родственных им соединений [76–78]. При этом в результа-

те последовательных стадий циклизации, элиминирования галогеноводорода и перегруппировки двойных связей удается получить искомым продукт [79, 80] (схема 14).

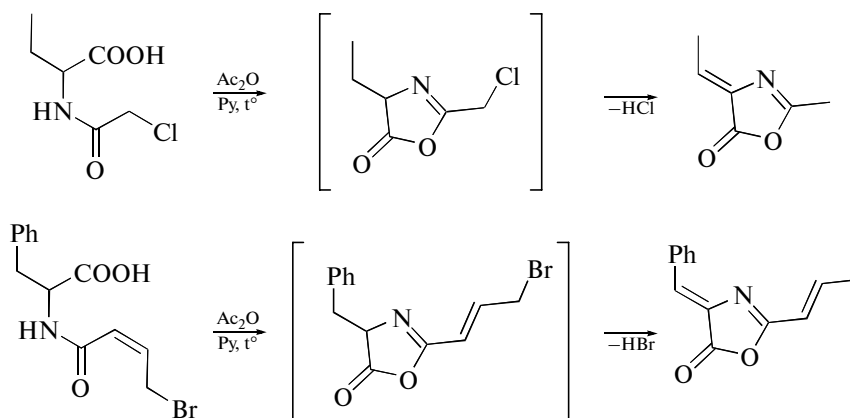


Схема 14. Синтез оксазолонов с использованием *N*-галогенацетилпроизводных.

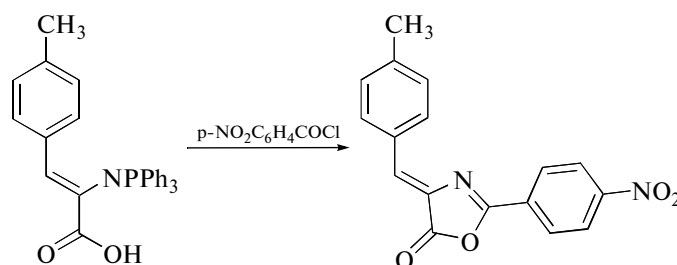


Схема 15. Синтез оксазолон из фосфазенового производного.

Фосфазены, полученные из легкодоступных 2-азидокоричных кислот, также служат отличными предшественниками оксазолонов. Они достаточно легко взаимодействуют с хлорангидридами с образованием искомым циклических структур [81, 82] (схема 15).

5-Арилиден-3,5-дигидро-4*H*-тиазол-4-оны, тиопроизводные оксазолонов, могут в некоторых случаях быть переведены в соответствующие оксоаналоги [83]. Однако данная реакция не является универсальной и не получила широкого распространения.

В завершение стоит отметить, что полученные оксазолоны в некоторых случаях могут быть модифицированы с сохранением оксазолонового цикла, что позволяет получить новые производные на основе уже имеющихся веществ; подобные превращения хорошо описаны в обзоре [20].

2. СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ N-АЦИЛДЕГИДРОАМИНОКИСЛОТ

N-Ацилдегидроаминокислоты являются важными синтетическими предшественниками как для получения аминокислот [84], так и в синтезе различных гетероциклических систем. В связи с этим было разработано большое количество самых разнообразных методов их получения. Важнейший из них — нуклеофильное раскрытие 5-арилиден-3,5-дигидро-4*H*-оксазол-4-онов.

2.1. Нуклеофильное раскрытие оксазолонов

Оксазолоны достаточно легко вступают в реакцию с нуклеофильными агентами. Широкое применение получила так называемая реакция Эрленмейера-Плехля [84, 85], одной из стадий которой является гидролиз оксазолонового цикла (схема 16). Легко протекает и аминлиз данных соединений (схема 17).

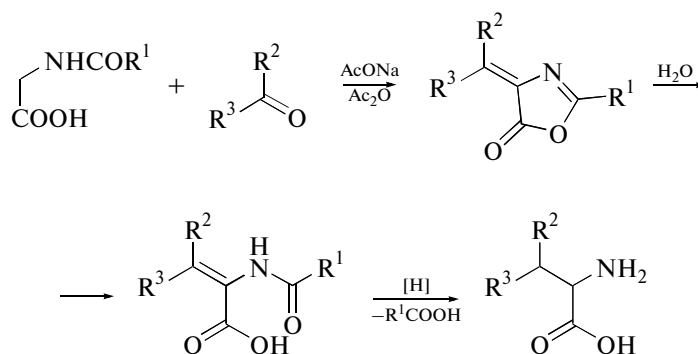


Схема 16. Реакция Эрленмейера–Плехля.

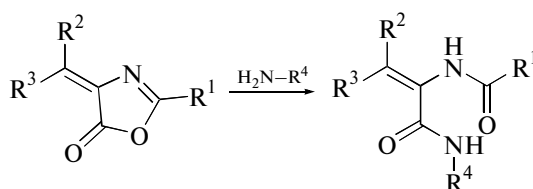


Схема 17. Аминлиз 5-арилиден-3,5-дигидро-4*H*-оксазол-4-онов.

Механизм данного процесса, а также эффекты заместителей в положениях С2 и С4 были хорошо изучены [86, 87]. Иногда помимо раскрытия кольца наблюдалась также изомеризация двойной связи и, гораздо реже, сопряженное присоединение [88, 89]. Однако в большинстве случаев данная реакция протекает гладко, без каких-либо побочных процессов и служит отличным источником синтетически и биологически важных продуктов [16, 48, 88–93].

Условия превращения могут широко варьироваться при сохранении высокого выхода ключевого продукта, что хорошо видно из табл. 2.

Помимо указанных растворителей могут быть также использованы гликоли [94], диоксан [78], DMF [95] или THF [72].

В завершение раздела следует упомянуть возможность применения тиоаналогов оксазолонов (5-арилиден-3,5-дигидро-4*H*-тиазол-4-онов) [96] для синтеза *N*-ацилдегидроаминокислот. К сожа-

Таблица 2. Примеры аминолита оксазолонов (см. схему 17)

R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Растворитель, условия	Выход, %	Ссылка
Ph	Ph	CH ₃	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	бензол	69	90
Ph	Ph	CH ₃	Bzl	бензол	98	90
Ph	Ph	CH ₃	<i>c</i> -C ₆ H ₁₁	бензол	76	90
CH ₃	Ph	H	Ph	AcOH	90	48
Ph	Ph	H	<i>n</i> -C ₄ H ₉	AcOH	93	48
Et	4-AcO-C ₆ H ₄	H	CH ₃	EtOH	95+	16
CH ₃	Ph	H	H	CHCl ₃	96	91
Ph	пиперональ	H	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	t°/Cu	95+	92
CH ₃	Ph	H	CH ₃	H ₂ O	53	93
Ph	Ph	H	OBzl	Et ₂ O	78	88

лению, подобные соединения труднодоступны, что не позволяет широко их использовать.

2.2. Прочие методы синтеза амидов *N*-ацилдегидроаминокислот

Кроме упомянутого аминолита, существует немало альтернативных подходов к синтезу производных *N*-ацилдегидроаминокислот. В данной главе мы остановимся на основных из них, а также покажем несколько типичных синтезов из этой области.

Поскольку как *N*-ацилдегидроаминокислоты, так и их эфиры могут быть легко переведены в соответствующие амиды, мы не будем разделять методы синтеза тех и других. Подробности таких превращений хорошо описаны в обзорах, посвященных химии *N*-ацилдегидроаминокислот [97–99].

Подход, основанный на ацилировании незамещенных по азоту дегидроаминокислот и их производных (схема 18), не нашел широкого применения. Причины этого – труднодоступность подобных субстратов, их неустойчивость к гидролизу [100], а также весьма агрессивные условия ацилирования [101, 102] (схема 18).

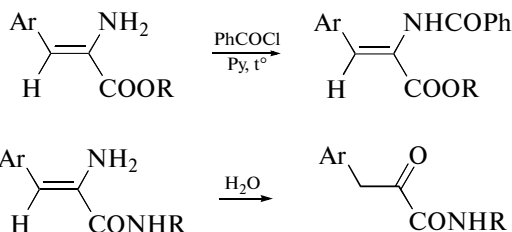


Схема 18. Реакции незамещенных дегидроаминокислот.

Ы

В связи с этим, более успешными оказались альтернативные методы, в которых формирование двойной связи происходит после ацилирования аминогруппы.

Ключевой из подобных подходов включает в себя отщепление молекулы воды от 3-гидроксипроизводных *N*-ациламино кислот. Активирование гидроксигруппы для последующего элиминирования может быть проведено сочетанием таких реагентов как дихлорацетилхлорид/триэтиламин [103], Ts₂O/DABCO [104], Ph₃P/DEAD [105], диэтиламинотрифторид серы/DIPEA [106], а также действием различных карбодиимидов в присутствии солей меди(I) [107, 108] или же действием CDI [109]. Интересный пример подобного превращения представляет использование Вос₂O, которое сопровождается введением защитной группы

[110] (схема 19). Стереоселективных результатов элиминирования удается достичь при использовании тионилхлорида в присутствии сильного осно-

вания [111]. Образующийся при этом серосодержащий гетероцикл (А) определяет последующую конфигурацию продукта (схема 19).

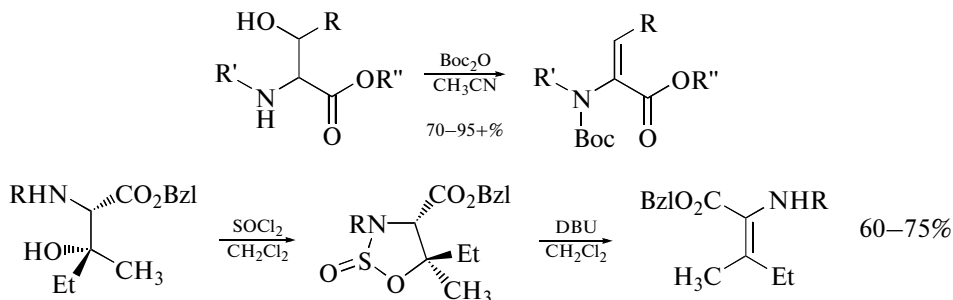


Схема 19. Реакции элиминирования в синтезе *N*-ацилдегидроаминокислот.

В качестве альтернативы 3-гидроксипроизводным, могут быть использованы их серные [112] или селеновые [113] аналоги. В подобном случае синтез включает дополнительную стадию окисления. Этот подход эффективен при использовании

полимерного носителя [114] (схема 20). Удобным оказалось также использование *N*-хлорпроизводных *N*-ациламино кислот, отщепление молекулы HCl из них сопровождается перегруппировкой двойной связи [115] (схема 21).

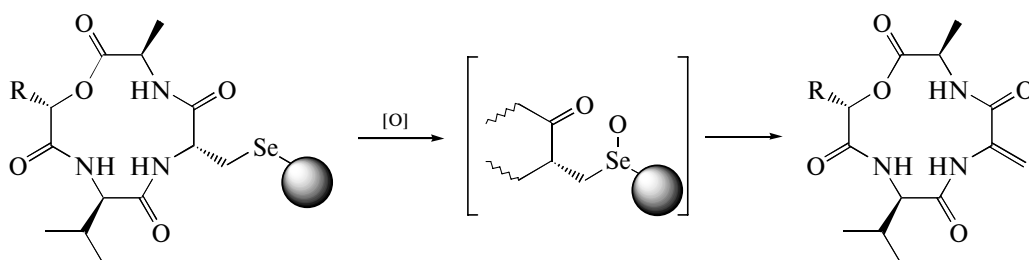


Схема 20. Использование селеновых производных в синтезе *N*-ацилдегидроаминокислот.

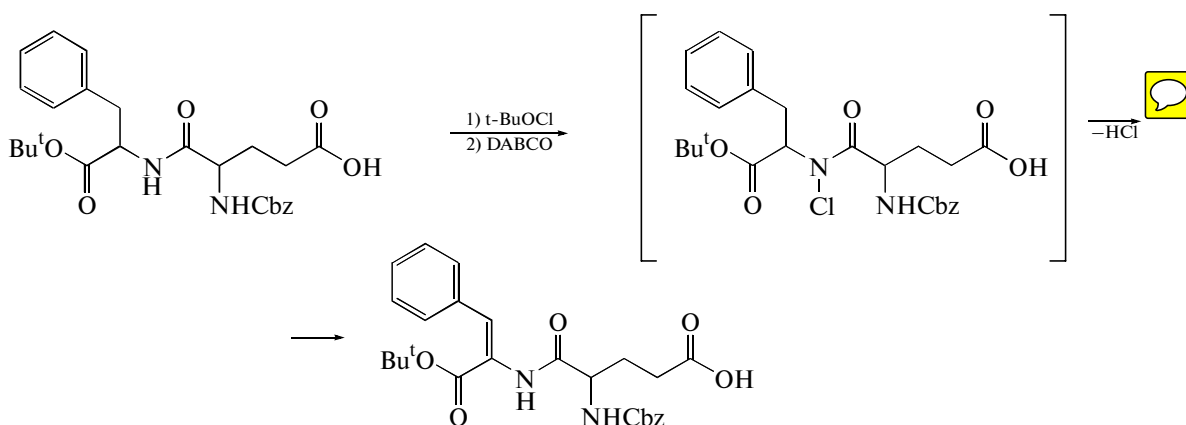


Схема 21. Применение *N*-хлорирования в синтезе *N*-ацилдегидроаминокислот.

Сообщается также об успешном использовании в подобных синтезах α -азидосоединений [116]. Очевидно, в ходе процесса происходит серия окис-

лительно-восстановительных реакций с последующим ацилированием, что накладывает некоторые ограничения на используемый субстрат (схема 22).

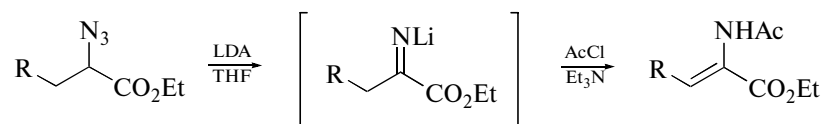


Схема 22. Синтез эфира *N*-ацилдегидроаминокислоты из α -азидосоединения.

α -Кетокислоты и их производные в некоторых случаях могут служить предшественниками

N-ацилдегидроаминокислот [117, 118] (схема 23).

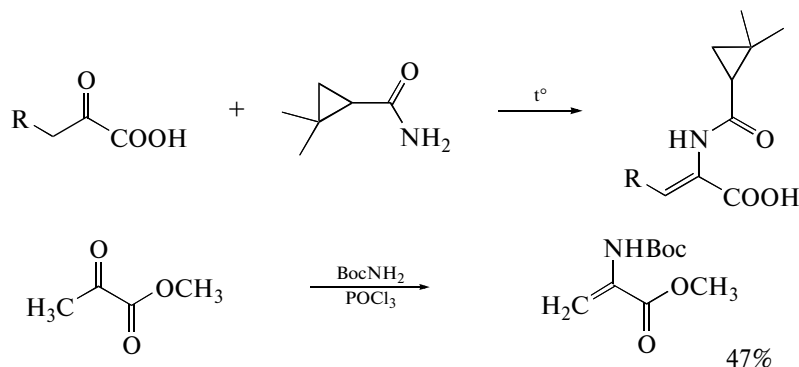


Схема 23. Получение *N*-ацилдегидроаминокислот из производных α -кетокислот.

Помимо рассмотренной реакции Эрленмейера, существуют и другие методы синтеза производных *N*-ацилдегидроаминокислот, включающие в себя различные конденсации, приводящие к образованию двойной *экзо*-связи в положении 4. Одним из подобных превраще-

ний стало использование различных вариантов реакции Виттига. Такие реакции позволяют получить советующие производные с выходами до 80–95% в условиях не накладывающих значительных ограничений на строение субстрата [119–121] (схема 24).

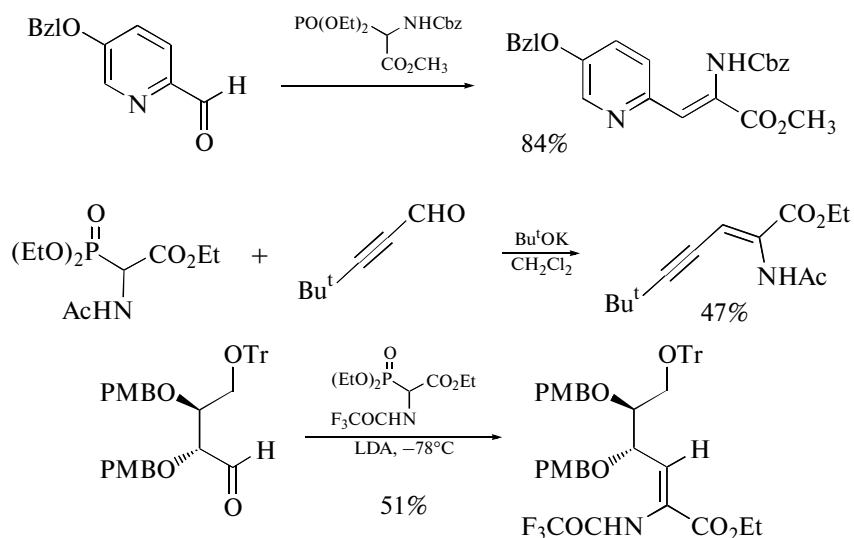


Схема 24. Синтез производных *N*-ацилдегидроаминокислот по реакции Виттига.

Проведение таких реакций возможно и без выделения фосфорного производного [122, 123] (схема 25).

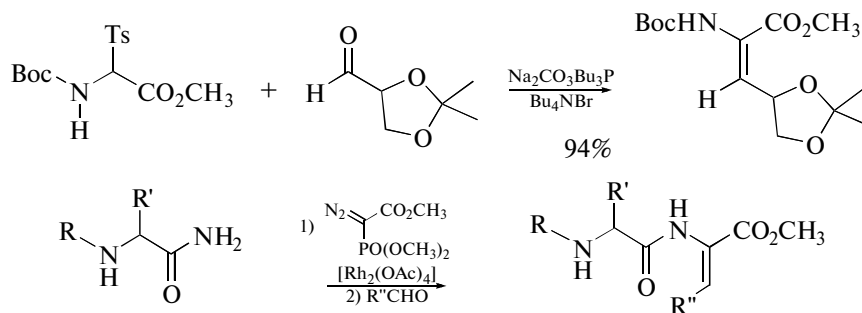


Схема 25. Синтез *N*-ацилдегидроаминокислот по Виттигу без выделения фосфорных производных.

Помимо реагентов Виттига, в конденсацию с карбонильными соединениями могут быть введены *N*-ациламинояная кислота [124], циануксусный эфир (схема 26) [125] или различные

кремниевые производные [126, 127] (схема 26). Хорошего результата удается достичь при замене карбонильных компонентов нитросоединениями [128] (схема 27).

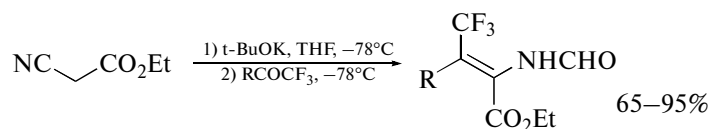


Схема 26. Циануксусный эфир в синтезе производного *N*-ацилдегидроаминокислоты.

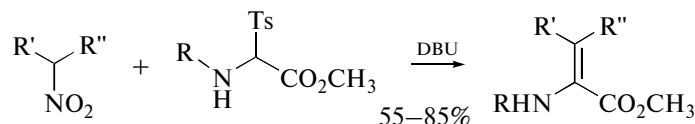


Схема 27. Использование нитроалканов в синтезе *N*-ацилдегидроаминокислот.

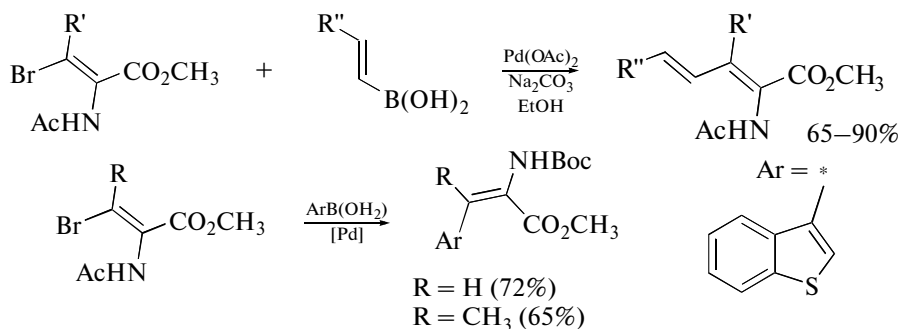


Схема 28. Применение реакции Сузуки в синтезах *N*-ацилдегидроаминокислот.

Очевидно, что простые производные *N*-ацилдегидроаминокислот, полученные, например, дегидратацией производных серина, могут быть модифицированы с образованием более сложных веществ. Наиболее эффективными в этом отно-

шении показали себя различные палладий-катализируемые реакции, например, реакция Сузуки [129, 130] (схема 28). Галогенированные производные аминокислот могут вступать в реакцию Соногаширы [131] (схема 29).

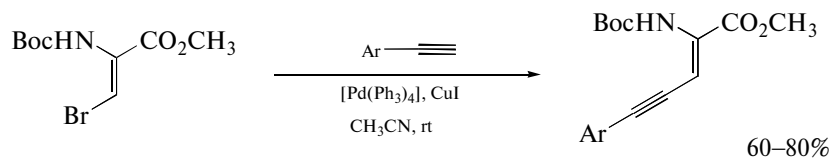


Схема 29. Реакция Соногаширы.

3. МЕТОДЫ СИНТЕЗА ИМИДАЗОЛОНОВ

3.1. Циклизация амидов *N*-ацилдегидроаминокислот

Как было сказано выше, наиболее распространенным, простым и логичным методом синтеза имидазолонов является циклизация амидов *N*-ацилдегидроаминокислот (схема 30).

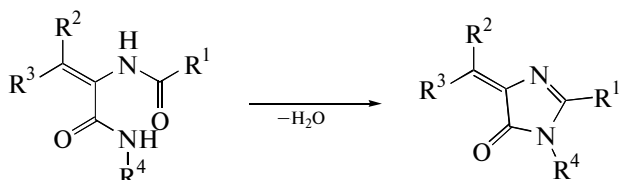


Схема 30. Циклизация амидов

N-ацилдегидроаминокислот в имидазолонны.

Данная реакция зачастую протекает в достаточно мягких условиях и редко осложняется побочными процессами. В связи с этим в литературе представлено не такое большое число различных методов подобного дегидратирования.

Самым простым способом удаления воды из амидов *N*-ацилдегидроаминокислот, является термическое воздействие, которое может проводиться как в растворе [91], так и в отсутствие растворителя [132]. Стоит отметить, что данный метод применим даже к относительно чувствительным субстратам [93], особенно при содействии молекулярных сит [133].

Более распространены подходы, сопряженные с использованием основных реагентов. В качестве последних чаще всего используются карбонаты щелочных металлов [16, 133–136], реже применяются щелочь [137–139], третичные амины [93, 140] или пиридин [141, 142], а микроволновое содействие позволяет использовать основную окись алюминия [143].

В некоторых случаях не менее удачной оказывается циклизация в кислых условиях [88, 144, 145], при этом в качестве действующего агента может быть применен уксусный ангидрид [146] (табл. 3).

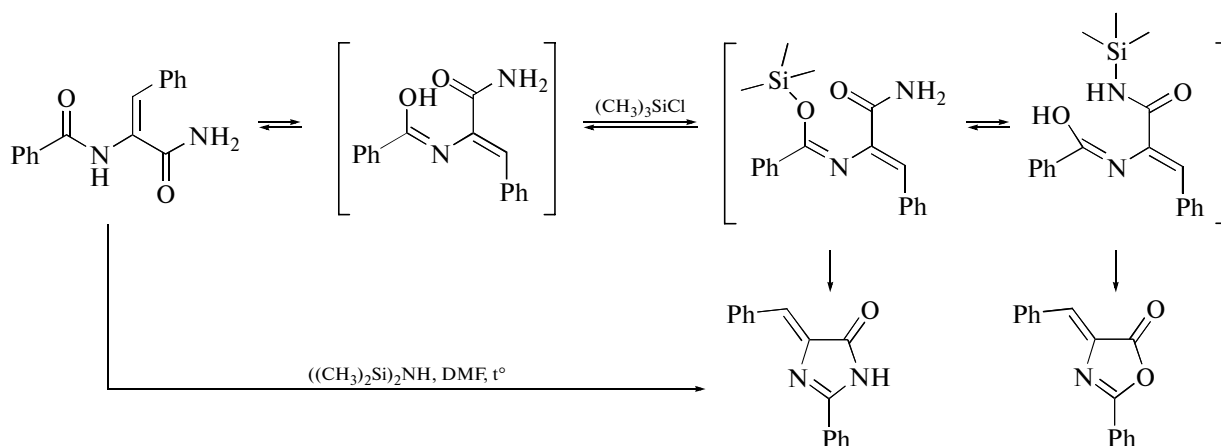


Схема 31. Циклизация амидов *N*-ацетилдегидроаминокислот под действием силанов.

Из более экзотических методов циклизации амидов *N*-ацилдегидроаминокислот можно отметить использование таких реагентов, как окситрихлорид фосфора [92], диазодикарбоксилаты [141], хлорид цинка [147] и гексаметилдисилазан или триметилсилилхлорид [148]. В последнем случае превращение протекает по достаточно необычному механизму (схема 31).

3.2. Прочие методы синтеза имидазолонов

Существует не так много альтернативных методов синтеза 5-арилден-3,5-дигидро-4*H*-имидазол-4-онов; их можно разделить на две группы. К первой относятся методы, в которых образование имидазолонового ядра проводится по анало-

гии с синтезом Эрленмейера для оксазолонов, через промежуточное образование циклических производных (II), которые затем могут быть конденсированы с карбонильной компонентой (схема 32).

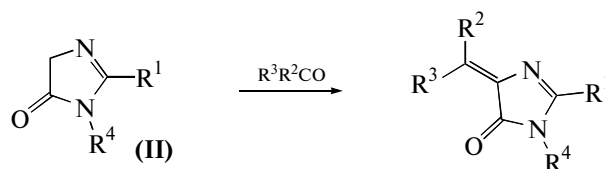


Схема 32. Синтез имидазолонов, аналогичный реакции Эрленмейера.

Однако оказалось, что использование амидов *N*-ациламинокислот в подобном синтезе зача-

Таблица 3. Примеры циклизации производных дегидроаминокислот (см. схему 30)

R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Условия	Выход, %	Ссылка
CH ₃	Ph	H	<i>c</i> -C ₆ H ₁₁	DMF, кип.	37	91
CH ₃	4-OH-C ₆ H ₄	H	CH ₂ COOCH ₃	220°C	62	132
CH ₃	4-OH-C ₆ H ₄	H	CH ₂ CH ₂ NH ₂	K ₂ CO ₃ , EtOH, кип	75	133
CH ₃	4-OH-C ₆ H ₄	H	CH ₂ CH ₂ NH ₂	MS, EtOH, кип	45	133
CH ₃	4-NO ₂ -C ₆ H ₄	H	CH ₃	Et ₃ N, THF, кип	90	140
Ph	Ph	H	Ph	AcONa, AcOH, кип	60	144
Ph	Ph	H	OH	3N HCl, кип	53	145

стую не приводит к успешному результату. Так, при попытке создания одного из модельных хромофоров GFP было показано, что такое превра-

щение протекает с крайне низким выходом и может быть использовано лишь для ограниченного числа соединений [149] (схема 33).

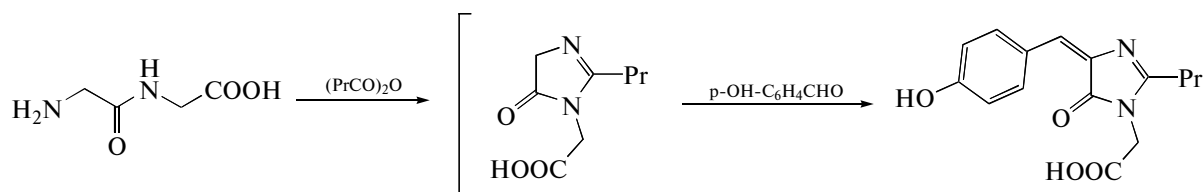


Схема 33. Синтез модельного хромофора GFP на основе амида пропионилглицина.

В связи с этим, для эффективного создания имидазолон (II), потребовалось пойти на различного рода ухищрения.

Одним из подобных методов стала конденса-

ция имидаатов с эфирами глицина. Такой подход зачастую не подразумевает выделения соединения (II) и позволяет сразу получить готовые имидазолоновые производные [150, 151] (схема 34).

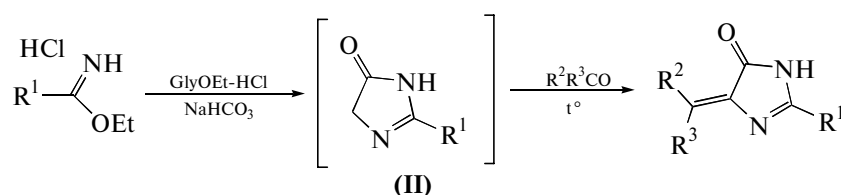


Схема 34. Реакция имидаатов с эфирами глицина и их последующая конденсация с карбонильными производными с образованием имидазолон.

Однако в некоторых случаях [152, 153] производное (II) удавалось выделить в индивидуальном виде, при этом была обнаружена его неустойчивость в присутствии любых окислителей, которые приводят к образованию его димера. Интересная

вариация данного метода была применена в синтезе алкалоидов семейства ропаладина [154]: авторы заменили эфир глицина эфиром триптофана, в этом случае конденсация сопровождается спонтанным дегидрированием (схема 35).

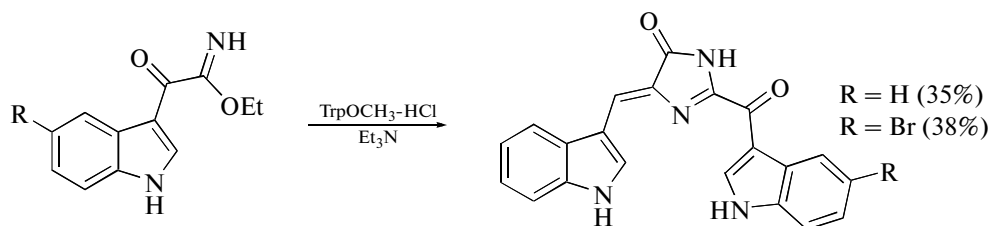


Схема 35. Образование имидазолонового цикла в ходе синтеза алкалоидов семейства ропаладина.

Разнообразные конденсации амидинов также позволяют получить некоторые производные типа (II). В качестве второго компонента в подобном синтезе могут быть использованы эфиры [155] или хлорангидрид [153] хлоруксусной кислоты, а также глиоксаль [156] (схема 36).

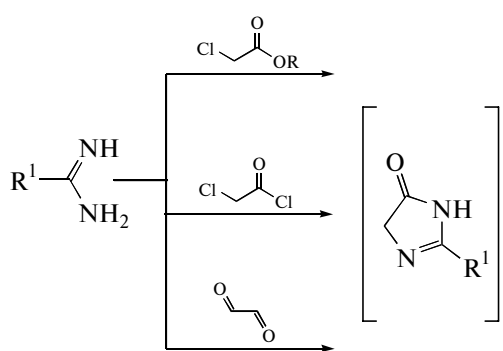


Схема 36. Варианты получения имидазолонов имидазолонов конденсацией амидинов с различными карбонильными реагентами.

Однако все эти подходы не позволяют получить продукт с высоким выходом, а тем более, выделить его в индивидуальном виде. Об успешных последующих конденсациях с карбонильными реагентами сообщается только в случае использо-

вания хлоруксусных эфиров. Попытка развить данную методику исходя из N-(N'-алкилиминоформил)аминокислот [157] не привела к получению приемлемых выходов.

Эффективным путем оказалась конденсация ортоэфиров с амидами глицина [158] или аминокетонитрилом [159] (схема 37). В последнем случае авторам даже удалось успешно выделить продукт (II) в индивидуальном виде.

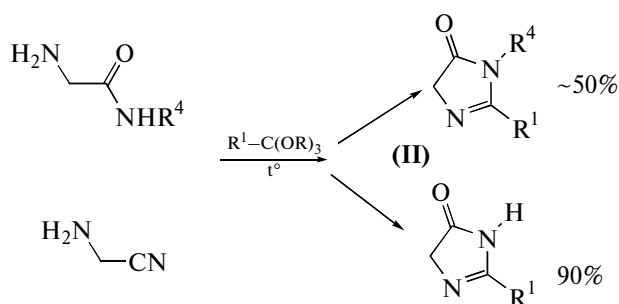


Схема 37. Конденсация ортоэфиров с производными глицина: образование имидазолонов (II).

Интересной, но малоэффективной методикой оказался окислительный гидролиз дикетопиперазинов при действии гипобромита натрия [160] (схема 38).

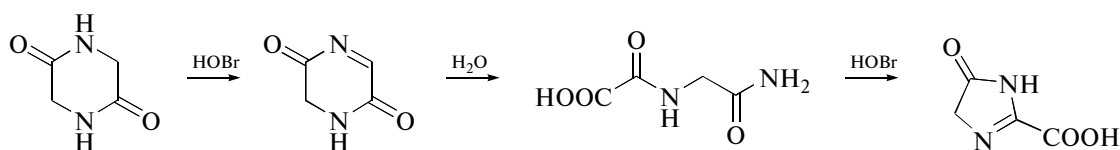


Схема 38. Окислительный гидролиз дикетопиперазина до производного имидазолона.

Один из недавних методов синтеза как соединений (II), так и их конденсированных аналогов, исходит из производных азидоуксусной кислоты [161, 162] (схема 39). Значимые примеры применения этой методики – синтезы модельных хромофоров, аналогов хромофора GFP [163, 164] с фиксированным положением заместителей R² и

R³ (ср. схему 34) относительно двойной связи (схема 40). Подобная фиксация приводит к резкому возрастанию квантового выхода флуоресценции подобных соединений, что позволило авторам высказать предположение о доминирующей роли изомеризации двойной связи для флуоресцентных свойств GFP.

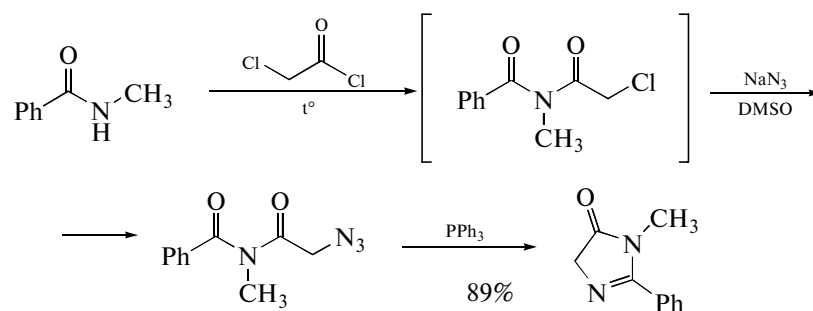


Схема 39. Синтез имидазолонов на основе азидоуксусных производных.

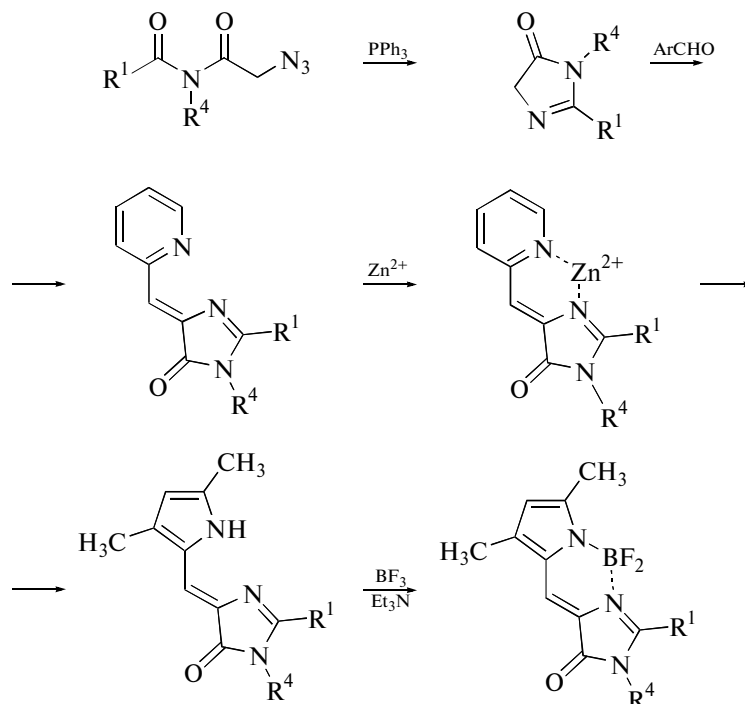


Схема 40. Модельные хромофоры, аналоги хромофора GFP.

В завершение описания этой группы методов синтеза имидазолонов стоит еще раз вернуться к методикам конденсации карбонильных соединений с имидазолонами (II).

Существует не так много различных вариантов проведения подобной конденсации. Так, авторы работ [158, 163] использовали пиперидин или пиридин, другие авторы [155] – бикарбонат натрия; в некоторых случаях реакцию удавалось проводить простым нагреванием реагентов [150, 151]. Обобщение этих данных не позволяет сделать однозначного вывода о предпочтительности той или иной методики, поскольку для каждой из них наблюдался доста-

точно широкий разброс выходов в зависимости от взятого субстрата.

В заключение отметим весьма эффективную методику, примененную для синтеза пиридин-содержащего модельного хромофора и основанную на использовании ионной жидкости [164] (схема 41).

Ко второй группе методов создания имидазолонов относятся подходы, в которых С–С-связь при 4 положении имидазолонового ядра сформирована в одном из исходных реагентов. К таким методам относится, в частности, упомянутая в предыдущем разделе циклизация амидов *N*-ацилдегидроаминокислот. Далее мы опишем другие сходные методы создания имидазолонов.

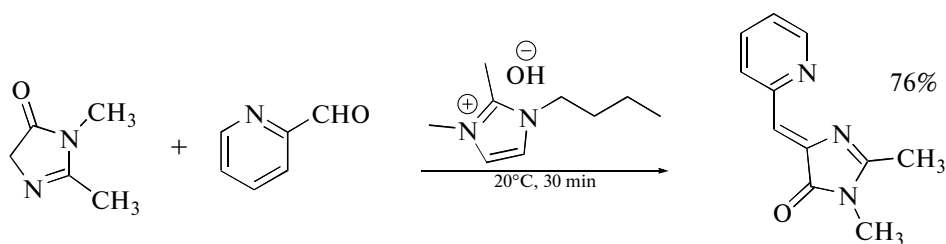


Схема 41. Конденсация пиридин-2-карбальдегида с использованием ионной жидкости.

Одна из ранних подобных реакций основана на конденсации эфиров ацетиленкарбоновых кислот с амидами в условиях основного катализа [165] (схема 42).

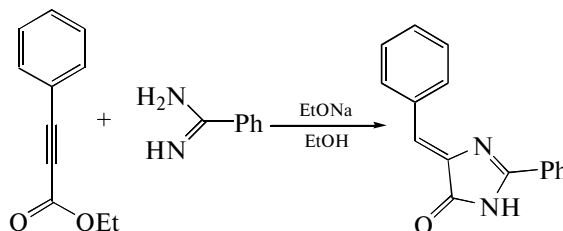


Схема 42. Конденсация бензамидина с эфиром фенилацетиленкарбоновой кислоты.

В 1993 г. было установлено, что циклоприсоединение различных имидатов [166, 167], а также их тиоаналогов [168] к альдимидам позволяет легко получать *N*-замещенные имидазолы (схема 43).

Мягкие условия и относительная доступность исходных реагентов позволили успешно использовать данную методику в синтезе ряда производных [169, 170].

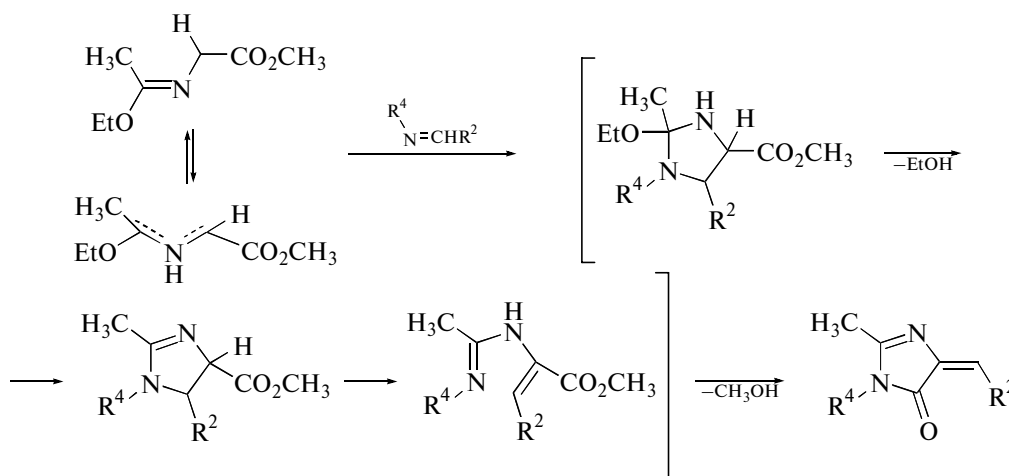


Схема 43. Получение *N*-замещенных имидазолов циклоприсоединением имидатов к альдимидам.

Не так давно была предложена элегантная схема, альтернативная упомянутой выше реакции амидинов с производными 2-галогенуксусной кислоты. Авторы работы [171] предложили проводить медь-катализируемое сочетание амидинов с 2-бромкоричными кислотами (схема 44).

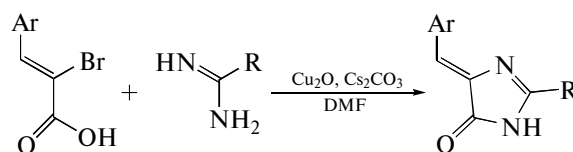


Схема 44. Синтез имидазолов на основе амидинов и α -бромкоричных кислот.

Способность иминов глицина конденсироваться с ароматическими альдегидами, образуя 3-гидрокси-4-ариламинокислоты, была успешно использована в синтезе хромофора, моделирующего

таковой семейства GFP и позволившего изучить некоторые аспекты биосинтеза хромофоров красных ФБ [19]. Для этого авторами работы была проведена следующая цепь превращений (схема 45).

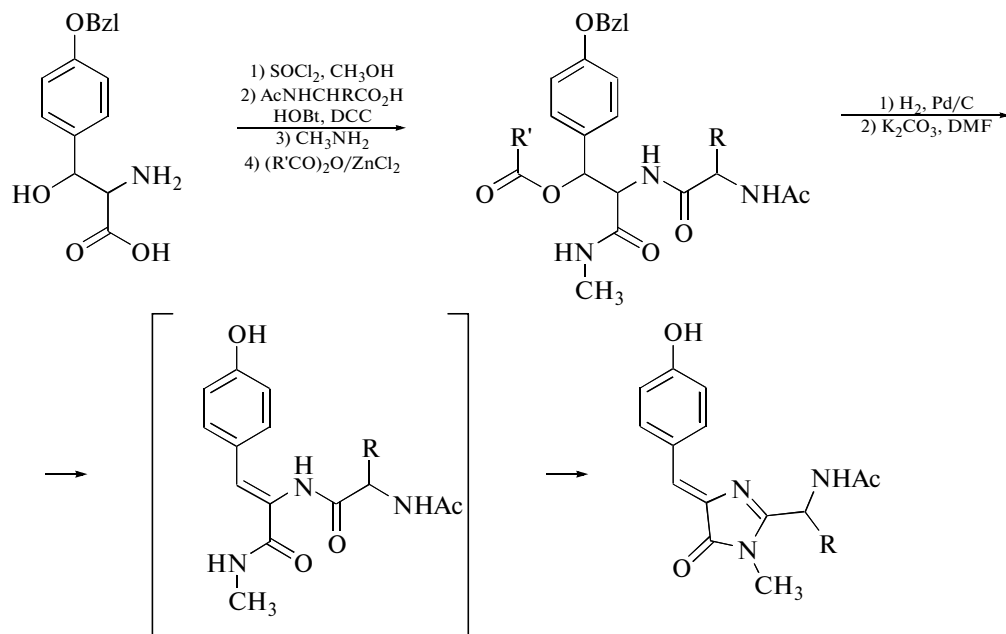


Схема 45. Синтез модельного хромофора исходя из 3-гидрокси-4-ариламинокислоты.

По аналогии с упомянутым ранее синтезом оксазолонов из доступных 2-азидокоричных кислот использование их амидов позволяет в некоторых случаях получить искомые циклические продукты [172] (схема 46). Удобным, но не

получившим развития методом получения оксазолоновых аналогов стало кросс-сочетание винил- и арилборонных кислот с доступными 5-арилиден-2-метилтио-3,5-дегидро-4*H*-имидазол-4-онами [173] (схема 47).

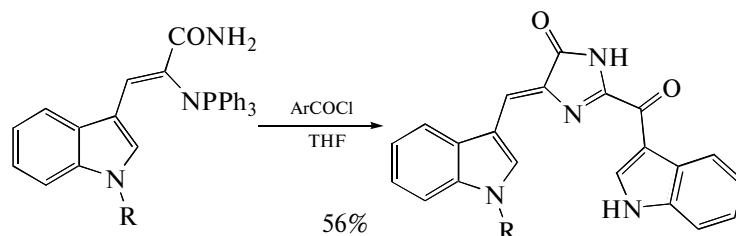


Схема 46. Образование имидазолонового цикла из амида азидокоричной кислоты в синтезе алкалоида ропаладина Д.

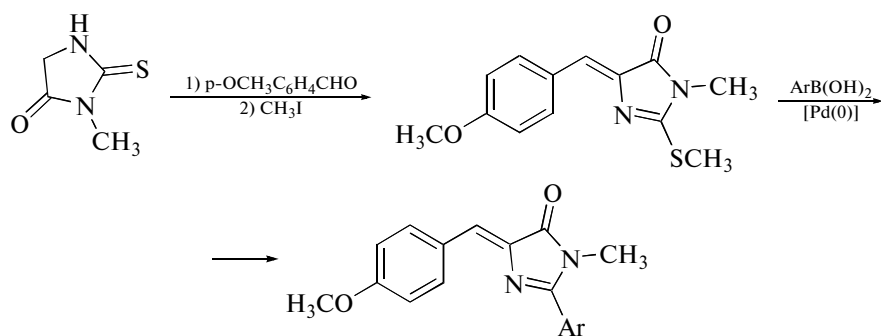


Схема 47. Синтез производных имидазолонов на основе доступных производных тиомочевины.

К сожалению, метод введения более сложных, в том числе алкильных, заместителей в оксазолонны с помощью сходных методик так и не был проработан.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтез модельных соединений хромофоров GFP-подобных белков и их аналогов играет важную роль в детальном понимании функционирования флуоресцентных белков. Встречный синтез позволяет подтвердить или опровергнуть химические структуры, предложенные на основании структурных исследований флуоресцентных белков. Модельные хромофоры позволяют выявить закономерности влияния химического окружения и заместителей на спектральные свойства. Более того, синтез биомиметических предшественников дает возможность моделировать процессы биосинтеза хромофоров. Кроме фундаментального интереса, синтетические имидазолонны находят практическое применение в качестве красителей. Можно отметить недавнюю разработку принципиально новых технологий синквенс-специфического мечения молекул РНК и создания сенсоров на внутриклеточные аналиты с помощью аналогов хромофора GFP [174–176], а также предложение использовать хромофоры Каеде-типа в солнечных батареях [177]. Полученные недавно ярко флуоресцентные аналоги хромофора GFP [178] позволяют надеяться на разработку нового поколения флуоресцентных красителей для мечения в биологических системах.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана программой Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология” и РФФИ (11-04-01293-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chudakov D.M., Matz M.V., Lukyanov S., Lukyanov K.A. // *Physiol. Rev.* 2010. V. 90. P. 1103–1163.
2. Ivashkin P.E., Yampolsky I.V., Lukyanov K.A. // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2009. V. 35. P. 652–669.
3. Subach F.V., Verkhusha V.V. // *Chem. Rev.* 2012. V. 112. P. 4308–4327.
4. Heim R., Prasher D.C., Tsien R.Y. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1994. V. 91. P. 12501–12504.
5. Tomosugi W., Matsuda T., Tani T., Nemoto T., Kotera I., Saito K., Horikawa K., Nagai T. // *Nat. Methods.* 2009. V. 6. P. 351–353.
6. Cody C.W., Prasher D.C., Westler W.M., Prendergast F.G., Ward W.W. // *Biochemistry.* 1993. V. 32. P. 1212–1218.
7. Chatteraj M., King B.A., Bublitz G.U., Boxer S.G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996. V. 93. P. 8362–8367.

8. Kogure T., Karasawa S., Araki T., Saito K., Kinjo M., Miyawaki A. // *Nat. Biotechnol.* 2006. V. 24. P. 577–581.
9. Henderson J.N., Osborn M.F., Koon N., Gepshtein R., Huppert D., Remington S.J. // *J. Am. Chem. Soc.* 2009. V. 131. P. 13212–13213.
10. Piatkevich K.D., Malashkevich V.N., Almo S.C., Verkhusha V.V. // *J. Am. Chem. Soc.* 2010. V. 132. P. 10762–10770.
11. Ward W.W., Bokman S.H. // *Biochemistry.* 1982. V. 21. P. 4535–4540.
12. Palm G.J., Zdanov A., Gaitanaris G.A., Stauber R., Pavlakis G.N., Wlodawer A. // *Nat. Struct. Biol.* 1997. V. 4. P. 361–365.
13. Brejc K., Sixma T.K., Kitts P.A., Kain S.R., Tsien R.Y., Ormo M., Remington S.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997. V. 94. P. 2306–2311.
14. Agmon N. // *Biophys. J.* 2005. V. 88. P. 2452–2461.
15. Niwa H., Inouye S., Hirano T., Matsuno T., Kojima S., Kubota M., Ohashi M., Tsuji F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. P. 13617–13622.
16. Yampolsky I.V., Remington S.J., Martynov V.I., Potapov V.K., Lukyanov S.A., Lukyanov K.A. // *Biochemistry.* 2005. V. 44. P. 5788–5793.
17. Yampolsky I.V., Kislukhin A.A., Amatov T.T., Shcherbo D., Potapov V.K., Lukyanov S., Lukyanov K.A. // *Bioorg. Chem.* 2008. V. 36. P. 96–104.
18. Yampolsky I.V., Balashova T.A., Lukyanov K.A. // *Biochemistry.* 2009. V. 48. P. 8077–8082.
19. Ivashkin P.E., Lukyanov K.A., Lukyanov S.A., Yampolsky I.V. // *J. Org. Chem.* 2011. V. 76. P. 2782–2791.
20. Palmer C.D. *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Volume 60: Oxazoles: Synthesis, Reactions, and Spectroscopy, Part B.* Weinheim.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2004.
21. Erlenmeyer E.J. // *Justus Lieb. Ann. der Chem.* 1893. V. 275. P. 1–8.
22. Perkin W.H. // *J. Chem. Soc.* 1868. V. 21. P. 181–186.
23. Cativiela C., Diaz-de-Villegas M.D., Melendez E. // *J. Het. Chem.* 1985. V. 22. P. 1655–1657.
24. Ryuichi K., Tsunetoshi H., Kunio H., Masayoshi O., Mariko H., Masafumi F., Toshio F. // *J. Med. Chem.* 1995. V. 38. V. 14. P. 2728–2742.
25. Cornforth J., Hui D. // *J. Chem. Soc. PT1.* 1990. V. 5. P. 1459–1462.
26. Winton D.J. // *J. Chem. Soc. PT1.* 1981. P. 344–346.
27. Marrian D.H., Russell P.B., Todd A.R. // *Biochem. J.* 1949. V. 45. P. 533–537.
28. Kidwai M., Kumar R. // *Org. Prep. Proced. Int.* 1998. V. 4. P. 451–453.
29. Gelmi M.L., Clerici F., Melis A. // *Tetrahedron.* 1997. V. 53. P. 1843–1854.
30. Kokai T.K. // *Chem. Abstr.* 1982. V. 96. P. 142836.
31. Rao P.S., Venkataratnam R.V. // *Indian J. Chem. Sect. B.* 1994. V. 33. P. 984–985.
32. Zavyalov S.I., Dorofeyeva O.V., Rumyantseva Y.Y. // *Chem. Abstr.* 1995. V. 122. P. 31378.
33. Topuzyan V.O., Khachvankyan G.Y. // *Chem. Abstr.* 1998. V. 128. P. 321583.

34. Wang Y., Shi D., Lu Z., Dai G. // *Synth. Comm.* 2000. V. 30. P. 707–712.
35. Gaset A., Gorrichon J.P. // *Synth. Comm.* 1982. V. 12. P. 71–79.
36. Boruah A., Baruah P.P., Sandhu J.S. // *J. Chem. Res. Synop.* 1998. P. 614–615.
37. Slater G., Somerville A.W. // *Tetrahedron.* 1966. V. 22. P. 35–42.
38. Haasbroeka P.P., Oliverb D.W., Carpyc A.J. // *J. Mol. Struct.* 2004. V. 690. P. 89–94.
39. Arrieta A., Cossio F.P., Palomo C. // *Tetrahedron.* 1985. V. 41. P. 1703–1712.
40. Khosropour A.R., Khodaei M.J., Hoseini J. // *J. Het. Chem.* 2008. V. 3. P. 683–686.
41. Cabaret D., Liu J., Wakselman M. // *Synthesis.* 1994. V. 5. P. 480–483.
42. Melhado A.D., Luparia M., Dean F.T. // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. v129. V. 42. P. 12638–12639.
43. Hoyng C.F., Mckenna M.G., Walters D. L. // *Synthesis.* 1982. V. 3 P. 191–193.
44. Hashimoto M., Matsumoto M., Terashima S. // *Tetrahedron.* 2003. V. 59. P. 3041–3062.
45. Ritter T., Kværnø L., Werder M., Hauser H., Carreira E.M. // *Org. Biomol. Chem.* 2005. V. 3. P. 3514–3523.
46. Takács E., Berente Z., Háda V., Mahó S., Kollár L., Skoda-Földes R. // *Tetrahedron.* 2009. V. 65 P. 4659–4663.
47. Kumar P., Mishra H.D., Mukerjee A.K. // *Synthesis.* 1980. V. 10. P. 836–839.
48. Tripathy P.K., Mukerjee A.K. // *Synthesis.* 1985. V. 3. P. 285–288.
49. Charles S.C., Burt C.P. // *J. Am. Chem. Soc.* 1955. V. 77. P. 1544–1546.
50. El-Hashash M.A., Afify A.A., Kaddah A.M., El-Kady S.S. // *Synthesis.* 1981. V. 10. P. 798
51. Crawford M., Little W.T. // *J. Chem. Soc.* 1959. P. 729–732.
52. Mestdagh H., Pancrazi A. // *Tetrahedron.* 1984. V. 40. P. 3399–3413.
53. Terence C.C., Charles R.F., Omima N., Andrew W. // *J. Am. Chem. Soc.* 1980. V. 102. P. 6828–6837.
54. Kuroda Y., Ueda H., Nozawa H., Ogoshi H. // *Tetrahedron Lett.* 1997. V. 38. P. 7901–7904.
55. Arief M.M. // *Phosphorus, sulfur and silicon.* 1997. V. 127. P. 159–165.
56. Aly A.A. // *J. Het. Chem.* 2008. V. 45. P. 993–998.
57. Cornforth J., Hui D. // *J. Chem. Soc. PT1.* 1991. P. 2183–2187.
58. Attenburrow J., Elliott D.F., Penny G.F. // *J. Chem. Soc.* 1948. P. 310–318.
59. Nestor J.J., Ho T.L., Simpson R.A., Horner B.L., Jones G.H., McRae G.I., Vickery B.H. // *J. Med. Chem.* 1982. V. 7. P. 795–801.
60. Chandrasekhar S., Karri P. // *Tetrahedron Lett.* 2007. V. 48. P3. 785–786.
61. Dhar S.L., Singh A. // *Tetrahedron Lett.* 2003. V. 44. P. 5637–5640.
62. Conway P.A., Devine K., Paradisi F. // *Tetrahedron.* 2009. V. 65. P. 2935–2938.
63. Dhar S.L., Rai V.K., Yadav B.S. // *Tetrahedron.* 2009. V. 65. P. 1306–1315.
64. Graham D.W., Ashton W.T., Barash L., Brown J.E., Brown R.D., Canning L.F., Chen A., Springer J.P., Rogers E.F. // *J. Med. Chem.* 1987. V. 304. P. 1074–1090.
65. O'Brien J.L., Niemann C. // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. V. 79. P. 80–85.
66. Mauldin S.C., Hornback W.J., Munroe J.E. // *J. Chem. Soc. PT1.* 2001. V. 13. P. 1554–1558.
67. Ward D.E., Vázquez A., Soledade M.C. // *J. Org. Chem.* 1999. V. 64. P. 1657–1666.
68. Carter H.E., Handler P., Melville D.B. // *J. Biol. Chem.* 1939. V. 129. P. 359–371.
69. Toshishige I. // *Bull. Chem. Soc. Japan.* 1972. V. 45. P. 1254.
70. Pines S.H., Kozlowski M.A., Karady S. // *J. Org. Chem.* 1969. V. 34. P. 1621–1627.
71. Carter H.E., Risser W.C. // *J. Biol. Chem.* 1941. V. 139. P. 255–262.
72. Torino D., Mollica A., Pinnen F., Feliciani F., Lucente G., Fabrizi G., Portalone G., Davis P., Lai J., Ma S.-W., Porreca F., Hruby V.J. // *J. Med. Chem.* 2010. v 53. V. 11. P. 4550–4555.
73. Breitholle E.G., Stammer C.H. // *J. Org. Chem.* 1976. V. 41. P. 1344–1349.
74. Lott R.S., Breitholle E.G., Stammer C.H. // *J. Org. Chem.* 1980. v 45. V. 6. P. 1151–1153.
75. McCapra F., Razavi Z., Neary A.P. // *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 1988. V. 12. P. 790–791.
76. Riordan J.M., Stammer C.H. // *Tetrahedron Lett.* 1971. V. 12. P. 4969–4972.
77. Doherty D.G., Tietzman J.E., Bergmann M. // *J. Biol. Chem.* 1943. V. 147. P. 617–637.
78. Phelps D.J., Gaeta F.C. // *Synthesis.* 1982. V. 3. P. 234–235.
79. Shaw K.N., Mcmillan A., Gudmudson A.G., Armstrong M.D. // *J. Org. Chem.* 1958. V. 23. P. 1171–1178.
80. Sheehan J.C., Duggins W.E. // *J. Am. Chem. Soc.* 1950. V. 72. P. 2475–2477.
81. Molina P., Fresneda P.M., Hurtado F. // *Synth. Comm.* 1987. V. 17. P. 485–490.
82. Molina P., Tarraga A., Lidon M.J. // *J. Chem. Soc. PT1.* 1990. P. 1727–1731.
83. Mustafa A., Asker W., Hamid A., Khalifa E., Zayed E.M. // *Justus Lieb. Ann. der Chem.* 1968. V. 713. P. 151–161.
84. Schmidt C.L.A. *The Chemistry of the Amino Acids and Proteins.* Springfield, Ill.; 1944.
85. Plöchl J. // *Chem. Ber.* 1884. P. 1616–1624.
86. Alkaabi S.S., Shawal A.S. // *Can. J. Chem.* 1992. V. 10. P. 2515–2519.
87. Phelps D.J., Godreau P.V., Nicholas E.S. // *J. Chem. Soc. PT2.* 1981. P. 140–142.
88. Shaw E., Mcdowell J. // *J. Am. Chem. Soc.* 1949. V. 71. P. 1691–1698.
89. Khan N.H. // *Synth. Comm.* 1978. V. 8. P. 497–510.

90. *Cativiela C., Garcia J.I., Melendez E.* // *Synthesis*. 1982. V. 9. P. 763–765.
91. *Pelger R., Markert G.* // *Chem. Ber.* 1957. V. 90. P. 1494–1499.
92. *Kartar S.N., Jñanendra N.R.* // *J. Chem. Soc.* 1931. P. 976–980.
93. *Stafforst T., Diederichsen U.* // *Eur. J. Org. Chem.* 2007. V. 6. P. 899–911.
94. *Tu S., Zhang J., Jia R., Zhang Y., Jiang B., Shi F.* // *Synthesis*. 2007. V. 4. P. 558–565.
95. *Guo Y.-M., Oike H., Saeki N., Aida N.* // *Ang. Chem.* 2004. V. 116. P. 5023–5026.
96. *Rahman A.N., Khalil A.M., Manna M.A.* // *Phosphorus, sulfur and silicon*. 1991. V. 60. № 3–4. P. 159.
97. *Hughes A.B.* *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry*. Vol.1 Origins and Synthesis of Amino Acids. Weinheim.; Wiley–VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009.
98. *Bonauer C., Walenzyk T., König B.* // *Synthesis*. 2006. V. 1. P. 1–21.
99. *Schmidt U., Lieberknecht A., Wild J.* // *Synthesis*. 1988. V. 3. P. 159–173.
100. *Manis P.A., Rathke M.W.* // *J. Org. Chem.* 1980. V. 24. P. 4952–4954.
101. *Moriya N., Yoneda N., Miyoshi M., Matsumoto K.* // *J. Org. Chem.* 1982. V. 1. P. 94–98.
102. *Zupet R., Tisler M.* // *J. Org. Chem.* 1994. V. 2. P. 507–508.
103. *Goodall K., Parsons A.F.* // *Tetrahedron Lett.* 1995. V. 36. P. 3259–3260.
104. *Li K.W., Wu J., Xing W., Simon J.A.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1996. V. 118. P. 7237–7238.
105. *Cherney R.J., Wang L.* // *J. Org. Chem.* 1996. V. 61. P. 2544–2546.
106. *Somekh L., Shanzer A.* // *J. Org. Chem.* 1983. V. 48. P. 907–908.
107. *Sai H., Ogiku T., Ohmizu H.* // *Synthesis*. 2003. V. 2. P. 201–205.
108. *Miller M.J.* // *J. Org. Chem.* 1980. V. 45. P. 3131–3132.
109. *Wulff G., Böhne H.* // *Ang. Chem.* 1984. V. 96. P. 362–363.
110. *Ferreira P.M.T., Maia H.L.S., Monteiro L.S., Sacramento J.* // *J. Chem. Soc. PT1*. 1999. P. 3697–3703.
111. *Stohlmeyer M.M., Tanaka H., Wandless N.J.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1999. V. 121. P. 6100–6102.
112. *Rich D.H., Tam J. P.* // *J. Org. Chem.* 1977. V. 42. P. 3815–3820.
113. *Walter R., Roy I.* // *J. Org. Chem.* 1971. V. 36. P. 2561–2563.
114. *Horikawa E., Kodaka M., Nakahara Y., Okuno H., Nakamura K.* // *Tetrahedron Lett.* 2001. V. 42. P. 8337–8339.
115. *Grim M.D., Chauhan V., Shimohigashi Y., Kolar A.J., Stammer C.H.* // *J. Org. Chem.* 1981. V. 46. P. 2671–2673.
116. *Manis P.A., Rathke M.W.* // *J. Org. Chem.* 1980. V. 45. P. 4952–4954.
117. *Graham D.W., Ashton W.T., Barash L., Brown J.E., Brown R.D., Canning L.F., Chen A., Springer J.P., Rogers E.F.* // *J. Med. Chem.* 1987. v 30. V. 6. P. 1074–1090.
118. *Labia R., Morin C.* // *J. Org. Chem.* 1986. V. 51. P. 249–251.
119. *Adamczyk M., Akireddy S.R., Reddy R.E.* // *Org. Lett.* 2001. V. 3. P. 3157–3159.
120. *Krause N., Hoffmann-Röder A., Canisius J.* // *Synthesis*. 2002. V. 12. P. 1759–1775.
121. *Choi J., Shin J.E., Chun K.H.* // *Bull. Korean Chem. Soc.* 1999. V. 20. P. 1123–1126.
122. *Kimura R., Nagano T., Kinoshita H.* // *Bull. Chem. Soc. Japan*. 2002. V. 75. P. 2517–2525.
123. *Buck R.T., Clarke P.A., Coe D.M., Drysdale M.J., Ferris L., Haigh D., Moody C.J., Pearson N.D., Swann E.* // *Chem. Eur. J.* 2000. V. 6. P. 2160–2167.
124. *Xu F., Zacuto M., Yoshikawa N., Desmond R., Hoerrner S., Itoh T., Journet M., Humphrey G.R., Cowden C., Strotman N., Devine P.* // *J. Org. Chem.* 2010. V. 75. P. 7829–7841.
125. *Enders D., Chen Z., Raabe G.* // *Synthesis*. 2005. V. 2. P. 306–311.
126. *Oesterle T., Simchen G.* // *Synthesis*. 1985. V. 4. P. 403–406.
127. *Seethaler T., Simchen G.* // *Synthesis*. 1986. V. 5. P. 390–392.
128. *Nagano T., Kinoshita H.* // *Bull. Chem. Soc. Japan*. 2000. V. 73. P. 1605–1613.
129. *Burk M.J., Allen J.G., Kiesman W., Stoffan K.M.* // *Tetrahedron Lett.* 1997. V. 38. P. 1309–1312.
130. *Kitagawa F., Murase M., Kitamura N.* // *J. Org. Chem.* 2002. V. 15. P. 2524–2531.
131. *Abreu A.S., Ferreira P.M., Queiroz M.J., Gatto E. Sonogashira* // *Eur. J. Org. Chem.* 2004. V. 10. P. 3985–3991.
132. *Granacher C., Gulbas G.* // *Helv. Chim. Acta*. 1927. V. 10. P. 819–826.
133. *Petersen A., Riber P., Andersen L.H., Brondsted N.* // *Synthesis*. 2007. V. 23. P. 3635–3638.
134. *Chen K.Y., Cheng Y.-M., Cheng-Hsuan L., Cheng-Chih H., Mei-Lin H., Lee G., Chou P.T.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 129. P. 4534–4535.
135. *Pruger P., Bach Y.* // *Synthesis*. 2007. V. 7. P. 1103–1106.
136. *Xiang H., Alasdair F.B., Tonge P.J.* // *Org. Lett.* 2002. V. 4. V. 9. P. 1523–1526.
137. *Erlenmeyer E.* // *Chem. Ber.* 1900. V. 33. P. 2036–2041.
138. *Lykkeberg J., Klitgaard N.A.* // *Acta Chim. Scand.* 1972. V. 26. P. 2687–2694.
139. *McCapra F., Razavi Z., Neary A. P.* // *J. Chem. Soc.* 1988. V. 12. P. 790–791.
140. *Yang J.-S., Huang G.-J., Liu I.-H., Peng S.-M.* // *Chem. Comm.* 2008. V. 11. P. 1344–1346.
141. *Bhatt P.V., Wadla W., Rain I. M., Pravin M.P.* // *Het. Comm.* 2006. V. 1. P. 79–82.
142. *Lee C., Chen Y., Lin H., Zhong Y., Chang C., Tsai C., Kao C., Chien N.* // *Tetrahedron*. 2012. V. 68. P. 5898–5907.
143. *Maazaahir K., Mohan R.* // *J. Chin. Chem. Soc.* 2003. V. 50. P. 1075–1078.

144. *Cativiela C., Melendez E.* // *Heterocycles*. 1984. V. 2. P. 2775–2781.
145. *Pradeer K.T. A Facile* // *Synthesis*. 1985. V. 3. P. 285–288.
146. *Bondock S., Khalifa W., Fadda A.A.* // *Synth. Comm.* 2006. V. 36. P. 1601–1612.
147. *Zarif M., El-Sheriff H.A., Tadros M.E.* // *Bull. Chem. Soc. Japan*. 1982. V. 7. P. 2267–2270.
148. *Topuzyan V.O., Arutyunyan L.G., Oganesyan A.A.* // *Russ. J. Org. Chem.* 2007. V. 6. P. 868–871.
149. *Shimomura O.* // *FEBS Lett.* 1979. V. 104. P. 220–222.
150. *Kidwai A.R., Devasia G.M.* // *J. Org. Chem.* 1962. V. 27. P. 4527–4531.
151. *Lehr H., Karlan S., Goldberg M.W.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1953. V. 75. P. 3640–3645.
152. *Kjaer A.* // *Acta Chim. Scand.* 1953. V. 7. P. 1030–1035.
153. *Griffiths G.J., Hauck M.B., Imwinkelried R., Kohr J., Roten C.A., Stucky G.C.* // *J. Org. Chem.* 1999. V. 22. P. 8084–8089.
154. *Janosik T., Johnson A.-L., Dergman G.* // *Tetrahedron*. 2002. V. 58. P. 2813–2819.
155. *Devasia M.* // *Tetrahedron Lett.* 1976. V. 17. P. 571–572.
156. *Ekeley J.B., Ronzio A.R.* // *J. Am. Chem. Soc.* 1935. V. 57. P. 1353–1356.
157. *Ito Y., Inulushi Y., Saegusa J.* // *Synth. Comm.* 1974. V. 4. P. 289–295.
158. *Brunken J., Bach G.* // *Chem. Ber.* 1956. V. 89. P. 1363–1373.
159. *Ramachandra S.H.* // *Tetrahedron Lett.* 1984. V. 25. P. 363–366.
160. *Goldschmidt S., Steigerwald Ch.* // *Chem. Ber.* 1925. V. 58. P. 1346–1353.
161. *Takeuchi H., Hagiwara S., Eguchi S.* // *Tetrahedron*. 1989. V. 45. P. 6375–6386.
162. *Barbosa Y., Hart D.J., Magomedov N.A.* // *Tetrahedron*. 2006. V. 62. P. 8748–8754.
163. *Wu L., Burgess K.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. V. 130. P. 4089–4096.
164. *Baldrige A., Solntsev K.M., Song C., Tanioka N., Kowalik J., Hardcastle K., Tolbert L.M.* // *Chem. Comm.* 2010. V. 46. P. 5686–5688.
165. *Ruhemann S., Cunnington A. V.* // *J. Chem. Soc.* 1899. V. 75. P. 954–963.
166. *Lerestif J.M., Bazureau J.P., Hamelin J.* // *Tetrahedron Lett.* 1993. V. 49. P. 4639–4642.
167. *Lerestif J.M., Bazureau J.P., Hamelin J.* // *Tetrahedron*. 1995. V. 51. P. 6757–6774.
168. *Yokoyama M., Menjo Y., Togo H.* // *Synthesis*. 1994. V. 12. P. 1467–1471.
169. *Kerneur G., Lerestif J.M., Bazureau P., Hamelin J.* // *Synthesis*. 1997. V. 3. P. 287–290.
170. *Baldrige A., Kowalik J., Tolbert L.M.* // *Synthesis*. 2010. V. 14. P. 2424–2437.
171. *Gong X., Yang H., Liu H., Jiang Y., Zhao Y., Fu H.* // *Org. Lett.* 2010. V. 14. P. 3128–3131.
172. *Fresneda P.M., Molina P., Sanz M. A.* // *Synlett*. 2000. V. 8. P. 1190–1193.
173. *Oumouch S., Bourotte M., Schmitt M., Bourguignon J.-J.* // *Synthesis*. 2005. V. 1. P. 25–28.
174. *Paige J.S., Wu K.Y., Jaffrey S.R.* // *Science*. 2011. V. 333. P. 642–646.
175. *Paige J.S., Nguyen-Duc T., Song W., Jaffrey S.R.* // *Science*. 2012. V. 335. P. 1194–1196.
176. *Baldrige A., Feng S.H., Chang Y.T., Tolbert L.M.* // *Combinat. Chem.* 2011. V. 13. P. 214–217.
177. *Chuang W.T., Chen B.S., Chen K.Y., Hsieh C.C., Chou P.T.* // *Chem. Comm.* 2009. V. 7. P. 6982–6984.
178. *Baranov M.S., Lukyanov K.A., Borissova A.O., Shamir J., Kosenkov D., Slipchenko L.V., Tolbert L.M., Yampolsky I.V., Solntsev K.M.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2012. V. 134. P. 6025–6032.

Synthesis of the Chromophores of Fluorescent Proteins and Their Analogs

M. S. Baranov, K. A. Lukyanov, I. V. Yampolsky[#]

[#]Phone/fax: +7 (499) 742-81-22; e-mail: ivyamp@gmail.com

Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,

Miklukho–Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

Members of the green fluorescent protein (GFP) family are widely used in experimental biology as genetically encoded fluorescent tags. Chromophores of GFP-like proteins share a common structural core: 3,5-dihydro-4H-imidazol-4-one. This review covers synthetic approaches to 3,5-dihydro-4H-imidazol-4-ones, substituted at different positions. General, as well as specific methods, represented by single examples are considered. The most popular synthetic route to substituted 3,5-dihydro-4H-imidazol-4-ones includes synthesis of azlactones, followed by transformation into N-acyldehydroaminoacids and, finally, cyclization into target heterocycles. Accordingly, the review is divided into three parts: the first part covers syntheses of azlactones, the second part covers main approaches to N-acyldehydroaminoacids, and in the third part we summarize cyclizations of N-acyldehydroaminoacids, as well as all other approaches to 3,5-dihydro-4H-imidazol-4-ones.

Keywords: fluorescent protein, chromophore, GFP, azlactone, imidazolone.