

СИНТЕЗ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТИЛ-4-[(4-АРИЛ-2-ГИДРОКСИ-4-ОКСОБУТ-2-ЕНОИЛ)- АМИНО]БЕНЗОАТОВ

© 2022 г. В. Л. Гейн^{a,*}, А. В. Романова^a, О. В. Бобровская^a, О. В. Назарец^a,
Р. Р. Махмудов^b, Е. В. Градова^b

^a Пермская государственная фармацевтическая академия, ул. Полевая 2, Пермь, 614990 Россия
^b Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, 614990 Россия
*e-mail: geinvl48@mail.ru

Поступило в Редакцию 13 июня 2022 г.
После доработки 7 июля 2022 г.
Принято к печати 12 июля 2022 г.

В результате реакции метиловых эфиров 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых (ароилпировиноградных) кислот с этил-4-аминобензоатом (бензокаином, анестезином) в ледяной уксусной кислоте в присутствии безводного ацетата натрия синтезированы этил-4-[(Z)-(4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил)амино]бензоаты. Полученные соединения проявляют выраженную анальгетическую активность.

Ключевые слова: этил-4-[(Z)-(4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил)амино]бензоаты, этил 4-аминобензоат (бензокаин, анестезин), анальгетическая активность

DOI: 10.31857/S0044460X22110051, **EDN:** LNHGBN

В структуре амидов ароилпировиноградных кислот находится несколько реакционных центров, что позволяет проводить с их участием целенаправленный синтез соединений различных классов, вводя в их состав фармакофорные группы. Амиды ароилпировиноградных кислот проявляют различные виды биологической активности: анальгетическую, противосудорожную, противовоспалительную, противомикробную и другие [1, 2].

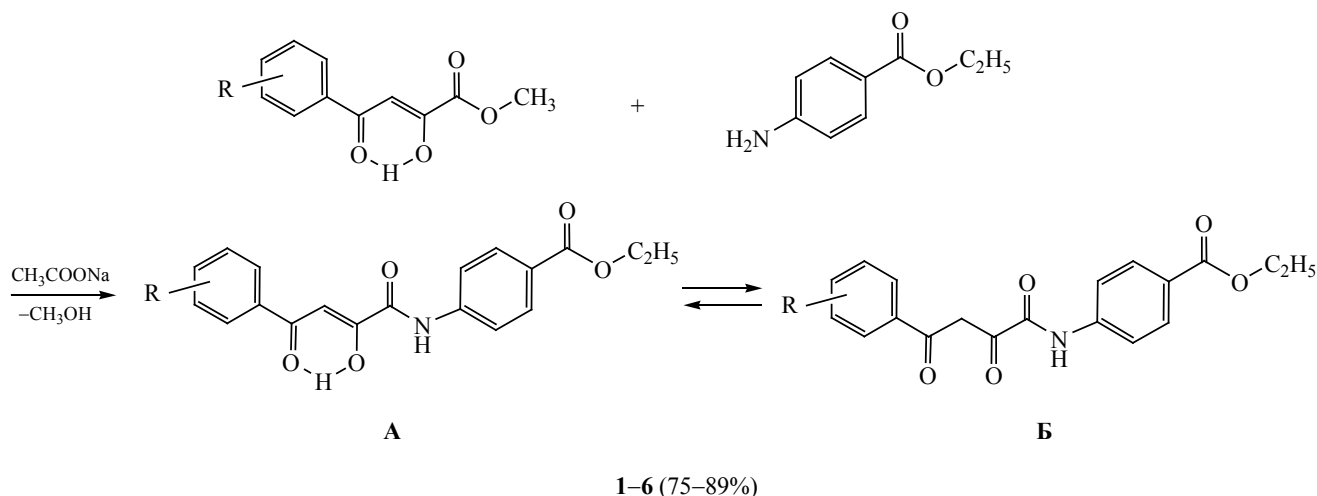
С целью изучения биологического действия нами получены N-ариламидамы 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот с этоксикарбонил-фенильной группой в амидном фрагменте, которая является структурной основой лекарственного средства бензокаина (анестезина) – местноанестезирующего средства, обладающего поверхностной анестезией [3]. Реакцию проводили по известной методике [4–7] при кипячении этил-4-аминобензоата (бензокаина) с метиловыми эфирами ароилпи-

рвиноградных кислот в ледяной уксусной кислоте в течение 15–20 мин в присутствии безводного натрия ацетата и получили этил-4-[(Z)-(4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил)амино]бензоаты **1–6** (схема 1). Соединение **2** получено ранее [5], нами воспроизведен его синтез.

Соединения **1–6** представляют собой светло-желтые или желтые кристаллические вещества, растворимые в ДМСО, ДМФА, при нагревании – в диоксане, ледяной уксусной кислоте, ацетонитриле, этаноле и нерастворимые в воде.

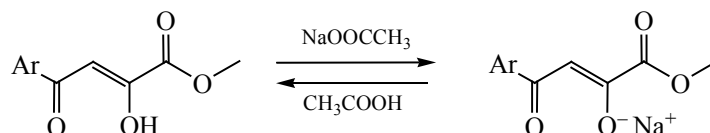
В ИК спектрах соединений **1–6** наблюдаются полосы валентных колебаний связи N–H ($3377\text{--}3350\text{ см}^{-1}$), гидроксильной группы ($3125\text{--}3116\text{ см}^{-1}$), сложноэфирной, амидной и кетонной карбонильных групп ($1715\text{--}1705$, $1710\text{--}1690$ и $1610\text{--}1603\text{ см}^{-1}$). В спектрах ЯМР ^1H соединений **1–6** кроме сигналов ароматических протонов присутствуют триплет и квартет протонов этокси-группы (1.32–1.41 и 4.29–4.38 м. д., J 7.2 Гц), синглеты

Схема 1.



R = 4-Cl (1), 4-F (2), 4-Br (3), 4-Me (4), 3,4-(MeO)₂ (5), 2,4-Cl₂ (6).

Схема 2.



протонов енольной группировки HC=C-O (6.83–7.27 м. д.) и группы CONH (10.83–10.95 м. д.). Сигналы протонов других групп наблюдаются в ожидаемых областях.

По данным ЯМР ¹H, соединения 1–6 существуют в двух таутомерных формах А и Б, так как в их спектрах ЯМР ¹H присутствует сигнал низкой интенсивности при 4.61–4.70 м. д., принадлежащий метиленовой группе дикетонной формы. Исходя из соотношения интегральной интенсивности сигналов метиленовой группы и протона в группе O=C=CH, в полученных соединениях преобладает енольная форма А (~ 90%), которая по данным спектров существует в Z-форме, а на кетонную форму Б приходится (~ 10%). Отсутствие в спектрах ЯМР ¹H сигнала протона енольного гидроксила, по-видимому, объясняется обменными процессами, наблюдающимися и в других произ-

водных ароилпировиноградных кислот [8, 9]. Все полученные соединения дают характерное интенсивное окрашивание со спиртовым раствором железа(III) хлорида.

В масс-спектрах соединений 1–6 присутствуют пики молекулярных ионов, подтверждающие их структуру.

Исключительное образование амидов 1–6, по-видимому, объясняется тем, что натрия ацетат вступает в обменное взаимодействие с исходным эфиром ароилпировиноградной кислоты [4, 6, 7], образуя натрийпроизводное, в котором дезактивирована карбонильная группа в α-положении и становится возможной атака сложноэфирного карбонильного фрагмента первичной аминогруппой бензокаина (схема 2).

Соединения 1–6 были испытаны на анальгетическую активность методом термического разра-

Таблица 1. Анальгетическая активность соединений **1–6**, определенная методом «горячая пластина»

Соединение	R	Время оборонительного рефлекса через 2.0 ч, с
1	4-Cl	20.20±1.26 ^a
2	4-F	23.30±1.44 ^a
3	4-Br	19.60±2.68 ^a
4	4-Me	20.83±2.66 ^a
5	3,4-(MeO) ₂	22.80±1.74 ^a
6	2,4-Cl ₂	21.20±1.26 ^a
Метамизол натрия		116.60±3.40
Контроль		11.89±2.20

^a $p < 0.05$ по сравнению с контролем.

жения «горячая пластина». Результаты испытаний представлены в табл. 1. Из данных таблицы следует, что все анализируемые соединения проявляют выраженное анальгетическое действие, превосходящее по анальгетической активности эталон сравнения – метамизол натрия. Наиболее высокий анальгетический эффект оказывает соединение **2** с атомом фтора в ароилпируватном фрагменте.

Таким образом, препаративная методика синтеза позволяет получить этил-4-[(*Z*)-(4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил)амино]бензоаты, обладающие выраженной анальгетической активностью.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ¹H записывали на приборе Bruker Avance III HD (400 МГц) в ДМСО-*d*₆, внутренний стандарт – ТМС. ИК спектры снимали на ИК Фурье-спектрометре IRAffinity-1 Shimadzu в таблетках KBr. Масс-спектры высокого разрешения получали на масс-спектрометре Shimadzu Nexera X2 LCMS-9030. Элементный анализ проводили на приборе Perkin Elmer 2400. Температуры плавления определяли на приборе Melting Point M-565.

Этил-4-[(*Z*)-2-гидрокси-4-оксо-4-(4-хлорфенил)бут-2-еноил]амино}бензоат (1**).** К 1.65 г (0.01 моль) этил-4-аминобензоата, растворенного при нагревании в 15 мл ледяной уксусной кислоты, добавляли раствор 2.41 г (0.01 моль) метилового эфира 4-хлорбензоилпирувоиноградной кислоты и 0.82 г (0.01 моль) безводного ацетата натрия в 10 мл ледяной уксусной кислоты. Реакционную смесь кипятили 20 мин. Выпавший при охлажде-

нии осадок отфильтровывали и кристаллизовали из этанола. Выход 3.06 г (82%), т. пл. 198–200°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3354 (N–H), 3116 (O–H), 1714 [(C=O)OC₂H₅], 1694 [(C=O)NH], 1607 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 1.33 т (3H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.30 к (2H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.65 с (2H, COCH₂CO), 7.22 с (1H, O–C=CH), 7.64–8.11 м (8H, CH_{Ar}), 10.90 с (1H, NH). Масс-спектр (HRMS-ESI), *m/z*: 372.0646 [*M* – H]⁺, 374.0620 [*M* – H]⁺. Найдено, %: С 61.19; Н 4.29; N 3.82. C₁₉H₁₆ClNO₅. Вычислено, %: С 61.05; Н 4.31; N 3.75.

Соединения **2–6** получали аналогично.

Этил-4-[(*Z*)-2-гидрокси-4-оксо-4-(4-фторфенил)бут-2-еноил]амино}бензоат (2**).** Выход 2.75 г (77%), т. пл. 183–185°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3350 (N–H), 3116 (O–H), 1712 [(C=O)OC₂H₅], 1690 [(C=O)NH], 1603 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 1.32 т (3H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.30 к (2H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.65 с (2H, COCH₂CO), 7.20 с (1H, O–C=CH), 7.39–8.19 м (8H, CH_{Ar}), 10.88 с (1H, NH). Масс-спектр (HRMS-ESI), *m/z*: 356.0935 [*M* – H]⁺. Найдено, %: С 63.72; Н 4.55; N 3.98. C₁₉H₁₆FNO₅. Вычислено, %: С 63.86; Н 4.51; N 3.92.

Этил-4-[(*Z*)-4-(4-бромфенил)-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил]амино}бензоат (3**).** Выход 3.64 г (87%), т. пл. 196–197°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3355 (N–H), 3116 (O–H), 1714 [(C=O)OC₂H₅], 1694 [(C=O)NH], 1610 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 1.32 т (3H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.30 к (2H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.64 с (2H, COCH₂CO), 7.18 с (1H, O–C=CH), 7.77–8.01 м (8H, CH_{Ar}), 10.89 с (1H, NH). Масс-спектр (HRMS-ESI), *m/z*: 416.0138

$[M]^+$, 418.0120 $[M]^+$. Найдено, %: С 54.44; Н 3.82; N 3.40. $C_{19}H_{16}BrNO_5$. Вычислено, %: С 54.56; Н 3.86; N 3.35.

Этил-4-{{(Z)-2-гидрокси-4-(4-метилфенил)-4-оксобут-2-еноил}амино}бензоат (4). Выход 2.75 г (78%), т. пл. 147–148°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3352 (N–H), 3117 (O–H), 1714 [(C=O)OC₂H₅], 1696 [(C=O)NH], 1608 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 1.41 т (3H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 2.59 с (3H, CH₃), 4.38 к (2H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.70 с (2H, COCH₂CO), 7.27 с (1H, O–C=CH), 7.45–8.09 м (8H, CH_{Ar}), 10.95 с (1H, NH). Масс-спектр (HRMS-ESI), *m/z*: 352.1190 $[M - H]^+$. Найдено, %: С 68.11; Н 5.45; N 3.91. $C_{20}H_{19}NO_5$. Вычислено, %: С 67.98; Н 5.42; N 3.96.

Этил-4-{{(Z)-2-гидрокси-4-(3,4-диметоксифенил)-4-оксобут-2-еноил}амино}бензоат (5). Выход 3.55 г (89%), т. пл. 178–180°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3377 (N–H), 3125 (O–H), 1705 [(C=O)OC₂H₅], 1705 [(C=O)NH], 1605 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 1.32 т (3H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 3.87 с (3H, CH₃O), 3.89 с (3H, CH₃O) 4.30 к (2H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.62 с (2H, COCH₂CO), 7.20 с (1H, O–C=CH), 7.14–8.01 м (7H, CH_{Ar}), 10.84 с (1H, NH). Масс-спектр (HRMS-ESI), *m/z*: 398.1248 $[M - H]^+$. Найдено, %: С 63.24; Н 5.36; N 3.47. $C_{21}H_{21}NO_7$. Вычислено, %: С 63.15; Н 5.30; N 3.51.

Этил-4-{{(Z)-2-гидрокси-4-оксо-4-(2,4-дихлорфенил)бут-2-еноил}амино}бензоат (6). Выход 3.06 г (75%), т. пл. 177–179°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3371 (N–H), 3118 (O–H), 1715 [(C=O)OC₂H₅], 1710 [(C=O)NH], 1610 (C=O). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 1.32 т (3H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.29 к (2H, CH₃CH₂O, *J* 7.2 Гц), 4.61 с (2H, COCH₂CO), 6.83 с (1H, O–C=CH), 7.58–7.95 м (7H, CH_{Ar}), 10.83 с (1H, NH). Масс-спектр (HRMS-ESI), *m/z*: 406.0255 $[M]^+$, 408.0229 $[M]^+$, 407.0288 $[M]^+$, 409.0261 $[M]^+$. Найдено, %: С 55.87; Н 3.65; N 3.50. $C_{19}H_{15}Cl_2NO_5$. Вычислено, %: С 55.90; Н 3.70; N 3.43.

Анальгетическую активность соединений **1–6** определяли на беспородных мышах (самках) массой 18–22 г методом термического раздражения «горячая пластина» [10]. Для оценки болевой чувствительности использовали анальгезиметр, модель EN-01 компании Orchid Scientific (Индия). Исследуемые соединения вводили вну-

трибрюшинно в дозе 50 мг/кг в виде взвеси в 2%-ном крахмальном растворе за 30 мин до помещения животных на нагретую до 53.5°C металлическую пластину. Показателем оценки болевой чувствительности служила длительность пребывания животных на горячей пластине с момента помещения на горячую поверхность до появления характерных поведенческих реакций на ноцицептивную стимуляцию (облизывание задних лап, подергивание, прыжки), измеряемая в секундах. Результаты оценивали по увеличению времени наступления оборонительного рефлекса по сравнению с исходными данными. Контрольной группе животных вводили 2%-ный крахмальный раствор в эквивалентных количествах. В качестве эталона сравнения использовали метамизол натрия (ООО «Фармхимкомплект», Россия) в дозе 93 мг/кг, соответствующей ЕД₅₀ [11] по тесту «горячая пластина», который вводили аналогично. Результаты статистически обработаны с вычислением *t*-критерия Фишера–Стьюдента. Эффект считали достоверным при $p < 0.05$ [12].

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Гейн Владимир Леонидович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>

Бобровская Ольга Васильевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3394-9031>

Назарец Ольга Владимировна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1674-5117>

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2022 г.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам учреждения, в котором проводились исследования, и утвержденным правовым актам РФ и международных организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Милютин А.В. Дис. ... докт. фарм. наук. Пермь, 1998. 256 с.
2. Андрейчиков Ю.С., Милютин А.В., Крылова И.В., Сараева Р.Ф., Дормидонтова Е.В., Дровосекова Л.П., Назметдинов Ф.Я., Колла В.Э. // Хим.-фарм. ж. 1990. Т. 24. № 7. С. 33; *Andreichykov Yu.S., Milyutin A.V., Krylova I.V., Saraeva R.F., Dormidontova E.V., Drovosekova L.P., Nazmetdinov F.Ya., Kolla V.E.* // *Pharm. Chem. J.* 1990. Vol. 24. N 7. P. 473. doi 10.1007/BF00764994.3
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2012. С. 309.
4. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Гейн Л.Ф. // *ЖОрХ.* 2014. Т. 50. Вып. 11. С. 1703; *Gein V.L., Bobrovskaya O.V., Gein L.F.* // *Russ. J. Org. Chem.* 2014. Vol. 50. N 11. P. 1692. doi 10.1134/S1070428014110268
5. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Одегова Т.Ф. Пат. РФ 2624226 (2017).
6. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Русских А.А., Петухова Н.Н. // *ЖОХ.* 2018. Т. 88. Вып. 2. С. 338; *Gein V.L., Bobrovskaya O.V., Russkikh A.A., Petukhova N.N.* // *Russ. J. Gen. Chem.* 2018. Vol. 18. N 2. P. 334. doi 10.1134/S1070363218020238
7. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Ковтоногова И.В., Новикова В.В. // *ЖОХ.* 2015. Т. 85. Вып. 4. С. 588; *Gein V.L., Bobrovskaya O.V., Kovtonogova I.V., Novikova V.V.* // *Russ. J. Gen. Chem.* 2015. Vol. 85. N 4. P. 833. doi 10.1134/S1070363215040106
8. Андрейчиков Ю.С., Гейн В.Л., Аникина И.Н. // *ЖОрХ.* 1986. Т. 22. Вып. 8. С. 1749.
9. Бобровская О.В. Дис. ... докт. фарм. наук. Пермь. 2021. 476 с.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильева, О.Л. Верстаковой, М.В. Журавлевой, В.К. Лепихина, Н.В. Коробова, В.А. Меркулова, С.Н. Орехова, И.В. Сакаевой, Д.Б. Утешева, А.Н. Яворского. М.: Гриф и К, 2012. Ч. 1. 944 с.
11. Сигидин Я.А., Шварц Г.Я., Арзамасцев А.П., Либерман С.С. Лекарственная терапия воспалительного процесса: Экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов. М.: Медицина, 1988. 240 с.
12. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз, 1963. С. 81.

Synthesis and Analgesic Activity of Ethyl 4-[(4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl)amino]benzoates

V. L. Gein^{a,*}, A. V. Romanova^a, O. V. Bobrovskaya^a, O. V. Nazarets^a,
R. R. Makhmudov^b, and E. V. Gradova^b

^a Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990 Russia

^b Perm State Natsional Research University, Perm, 614990 Russia

*e-mail: geinvl48@mail.ru

Received June 13, 2022; revised July 7, 2022; accepted July 12, 2022

The reaction of methyl esters of 4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoic acids (aroylpyruvic acids) with ethyl ester of 4-aminobenzoic acid (benzocaine, anesthesin) in glacial acetic acid in the presence of anhydrous sodium acetate gave rise to ethyl (Z)-4-(4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enamido)benzoates. The analgesic activity of the synthesized compounds was studied.

Keywords: ethyl (Z)-4-(4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enamido)benzoates, ethyl ester of 4-aminobenzoic acid (benzocaine, anesthesin), analgesic activity