

СИНТЕЗ И АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТИЛ-2-{{(2Z)-4-АРИЛ-2-ГИДРОКСИ-4-ОКСОБУТ- 2-ЕНОИЛ}АМИНО}БЕНЗОАТОВ

© 2022 г. В. Л. Гейн^{а,*}, О. В. Назарец^а, А. В. Романова^а, О. В. Бобровская^а, Р. Р. Махмудов^б

^а Пермская государственная фармацевтическая академия, ул. Полевая 2, Пермь, 614990 Россия

^б Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, 614990 Россия

*e-mail: geinvl48@mail.ru

Поступило в редакцию 30 мая 2022 г.

После доработки 30 мая 2022 г.

Принято к печати 10 июня 2022 г.

Взаимодействие метиловых эфиров ароилпировиноградных кислот с метил 2-аминобензоатом (метиловым эфиром антраниловой кислоты) в ледяной уксусной кислоте в присутствии безводного натрия ацетата приводит к метил-2-{{(2Z)-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил}амино}бензоатам. Изучена анальгетическая активность синтезированных соединений.

Ключевые слова: метиловые эфиры ароилпировиноградных кислот, метил-2-{{(2Z)-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил}амино}бензоаты, метиловый эфир антраниловой кислоты, анальгетическая активность

DOI: 10.31857/S0044460X22080017, **EDN:** INPHWK

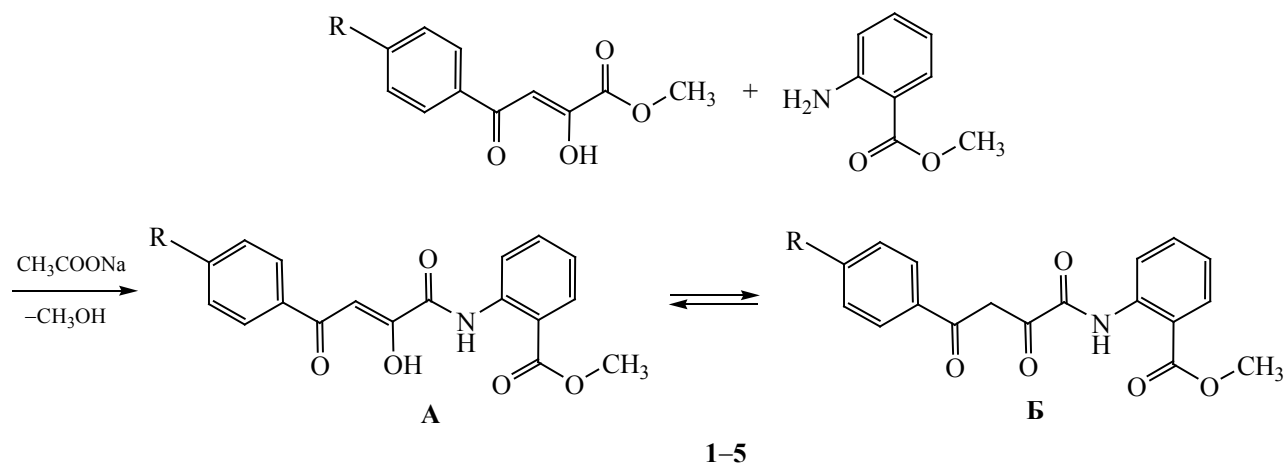
Создание новых высокоэффективных лекарственных средств – актуальная проблема фармацевтической науки, для решения которой предпринимается синтез и поиск соединений, обладающих биологической активностью. Среди производных антраниловой кислоты обнаружены вещества, проявляющие различные виды биологической активности. Соединения этого ряда, преимущественно N-замещенные антраниловой кислоты, обладают выраженной противомикробной [1], противовирусной [2], противовоспалительной [3], анальгетической [4] и другими видами активности. Метиловый эфир антраниловой кислоты и его производные больше известны как важные компоненты в косметической и пищевой промышленности [5], однако они обладают и некоторыми полезными для фармации свойствами, например, кардиотонической [6] и антиандрогенной активностью [7].

В связи с этим нами получены ранее неизвестные N-замещенные амиды 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых (ароилпировиноградных

кислот) с остатком метилового эфира антраниловой кислоты в амидном фрагменте и изучена их анальгетическая активность. Метил-2-{{(2Z)-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил}амино}бензоаты **1–5** легко образуются (через 10–15 мин) с достаточно хорошими выходами (62–87%) при кипячении метиловых эфиров ароилпировиноградных кислот с метил 2-аминобензоатом (метиловым эфиром антраниловой кислоты) в ледяной уксусной кислоте в присутствии эквивалентного количества безводного натрия ацетата [8, 9] (схема 1).

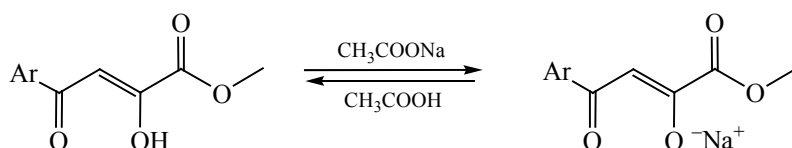
Соединения **1–5** – светло-желтые кристаллические вещества, растворимые в ДМФА, ДМСО, при нагревании – в уксусной кислоте, диоксане, ацетонитриле и нерастворимые в воде. В ИК спектрах соединений **1–5** наблюдаются полосы валентных колебаний связи N–H (3250–3228 см⁻¹), гидроксильной группы (3208–3118 см⁻¹), сложноэфирной, амидной и кетонной карбонильных групп (1707–1698, 1703–1698 и 1620–1610 см⁻¹ соответственно).

Схема 1.



R = H (1), Cl (2), F (3), Br (4), Me (5).

Схема 2.



В спектрах ЯМР ^1H соединений **1–5**, кроме сигналов ароматических протонов, присутствуют синглет трех протонов метоксигруппы (3.87–3.94 м. д.), метинового протона (7.16–7.47 м. д.), протонов группы $\text{NH}_{\text{кетон}}$ (дикетоформа, 11.94–12.00 м. д.) и $\text{NH}_{\text{енол}}$ (енольная форма, 12.18–12.26 м. д.).

По данным ЯМР ^1H , соединения **1**, **3** и **5** существуют в двух таутомерных формах **А** и **Б**. Сигнал низкой интенсивности при 4.58–4.68 м. д. принадлежит β -метиленовой группе дикетоформы. Судя по соотношению величин интегральной интенсивности сигналов β -метиленовой группы и метинового протона, в полученных соединениях преобладает енольная форма **А** (~80–100%), которая, по данным ЯМР, имеет *Z*-конфигурацию, а на кетонную форму **Б** приходится ~0–20%. Соединения **2** и **4** в $\text{DMSO-}d_6$ енолизуются на 100% и находятся в форме **А**. Отсутствие в спектрах ЯМР ^1H сигнала

протона енольной гидроксильной группы, по-видимому, объясняется его значительным уширением в результате обменных процессов, как и у других производных ароилпировиноградных кислот [10, 11]. Все полученные соединения в реакции со спиртовым раствором хлорида железа(III) дают темно-красное окрашивание, что подтверждает присутствие енольной гидроксильной группы в их структуре.

В масс-спектрах соединений **1–5** присутствуют пики молекулярных ионов, подтверждающие указанную структуру.

Исключительное образование амидов **1–5**, по-видимому, происходит [8] вследствие обменного взаимодействия (схема 2) ацетата натрия с енольной формой исходного эфира ароилпировиноградной кислоты. В еноляте натрия карбонильная группа в α -положении дезактивирована и облегчается атака первичной аминогруппы ме-

тил-2-аминобензоата по сложноэфирному карбонилу.

Соединения **1–5** испытывали на аналгетическую активность методом термического раздражения «горячая пластина». Результаты испытаний представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, все анализируемые соединения проявляют выраженное аналгетическое действие и превосходят по аналгетической активности эталон сравнения метамизол натрия. Наиболее высокое аналгетическое действие оказывает соединение **1**, не имеющее заместителей в бензольных циклах.

Таким образом, разработана препаративная методика синтеза метил 2-[[*(2Z)*-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил]амино]бензоатов и установлено, что все полученные соединения обладают выраженной аналгетической активностью.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ^1H записаны на приборе Bruker Avance III HD (400 МГц) в $\text{DMSO-}d_6$, внутренний стандарт – ТМС. ИК спектры снимали на ИК Фурье-спектрометре IRAffinity-1 Shimadzu в таблетках KBr. Масс-спектры высокого разрешения записаны 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.

Метил-2-[[*(2Z)*-2-гидрокси-4-оксо-4-фенилбут-2-еноил]амино]бензоат (1). К 1.51 г (0.01 моль) метил-2-аминобензоата, растворенного при нагревании в 15 мл ледяной уксусной кислоты, добавляли раствор 2.06 г (0.01 моль) метилового эфира бензоилпировиноградной кислоты и 0.82 г (0.01 моль) безводного натрия ацетата в 15 мл ледяной уксусной кислоты. Реакционную смесь кипятили 10 мин. Выпавший при охлаждении осадок отфильтровывали и кристаллизовали из этанола. Выход 2.34 г (72%), т. пл. 160–162°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3229 (N–H), 3202 (O–H), 1698 ($\text{C}=\text{O}_{\text{эфир}}$), 1698 ($\text{C}=\text{O}_{\text{амид}}$), 1610 ($\text{C}=\text{O}_{\text{кетон}}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 3.94 с (3H, COOCH_3), 4.68 с (2H, COCH_2CO), 7.27 с (1H, $\text{CH}=\text{}$), 7.28–8.69 м (9H, H_{Ar}), 12.00 (0.15H, $\text{NH}_{\text{кетон}}$), 12.26 (0.85H, $\text{NH}_{\text{енол}}$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z :

Таблица 1. Анальгетическая активность соединений **1–5**, определенная методом «горячая пластина»

Соединение	Время оборонительного рефлекса через 2.0 ч, с
1	22.30±0.38 ^a
2	20.80±0.56 ^a
3	19.54±0.74 ^a
4	21.60±0.52 ^a
5	21.48±0.54 ^a
Метамизол натрия	16.60
Контроль	10.22

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

324.0877 [$M - \text{H}$]⁺. Найдено, %: С 66.35; Н 4.72; N 4.36. $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_5$. Вычислено, %: С 66.46; Н 4.65; N 4.31.

Соединения **2–5** получали аналогично.

Метил-2-[[*(2Z)*-2-гидрокси-4-оксо-4-(4-хлорфенил)бут-2-еноил]амино]бензоат (2). Выход 2.23 г (62%), т. пл. 188–190°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3243 (N–H), 3207 (O–H), 1707 ($\text{C}=\text{O}_{\text{эфир}}$), 1700 ($\text{C}=\text{O}_{\text{амид}}$), 1620 ($\text{C}=\text{O}_{\text{кетон}}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 3.93 с (3H, COOCH_3), 7.47 с (1H, $\text{CH}=\text{}$), 7.11–8.71 м (8H, H_{Ar}), 12.25 (1H, $\text{NH}_{\text{енол}}$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 360.0638 [$M + \text{H}$]⁺, 362.0614 [$M + \text{H}$]⁺. Найдено, %: С 60.21; Н 3.86; N 3.84. $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClNO}_5$. Вычислено, %: С 60.09; Н 3.92; N 3.89.

(Z)-Метил-2-[[*(2Z)*-2-гидрокси-4-оксо-4-(4-фторфенил)бут-2-еноил]амино]бензоат (3). Выход 2.92 г (85%), т. пл. 145–147°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3250 (N–H), 3118 (O–H), 1700 ($\text{C}=\text{O}_{\text{эфир}}$), 1700 ($\text{C}=\text{O}_{\text{амид}}$), 1610 ($\text{C}=\text{O}_{\text{кетон}}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 3.87 с (3H, COOCH_3), 4.61 с (2H, COCH_2CO), 7.19 с (1H, $\text{CH}=\text{}$), 7.20–8.60 м (8H, H_{Ar}), 11.94 (0.2H, $\text{NH}_{\text{кетон}}$), 12.18 (0.8H, $\text{NH}_{\text{енол}}$). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 342.0781 [$M - \text{H}$]⁺. Найдено, %: С 62.85; Н 4.16; N 4.16. $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{FNO}_5$. Вычислено, %: С 62.97; Н 4.11; N 4.08.

Метил-2-[[*(2Z)*-4-(4-бромфенил)-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил]амино]бензоат (4). Выход 3.51 г (87%), т. пл. 242°C (разл.) (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3242 (N–H), 3208 (O–H), 1707 ($\text{C}=\text{O}_{\text{эфир}}$), 1700 ($\text{C}=\text{O}_{\text{амид}}$), 1610 ($\text{C}=\text{O}_{\text{кетон}}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 3.87 с (3H, COOCH_3), 7.16 с (1H, $\text{CH}=\text{}$), 7.22–

8.63 м (8H, H_{Ar}), 12.19 (1H, NH_{енол}). Масс-спектр (HRMS-ESI), *m/z*: 404.0135 [M]⁺, 406.0114 [M]⁺. Найдено, %: C 53.61; H 3.43; N 3.42. C₁₈H₁₄BrNO₅. Вычислено, %: C 53.49; H 3.49; N 3.47.

Метил-2-[(2Z)-2-гидрокси-4-(4-метилфенил)-4-оксобут-2-еноил]амино}бензоат (5). Выход 2.71 г (80%), т. пл. 135–137°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3228 (N–H), 3187 (O–H), 1703 (C=O_{эфир}), 1703 (C=O_{амид}), 1610 (C=O_{кетон}). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 2.35 с (3H, CH₃), 3.87 с (3H, COOCH₃), 4.58 с (2H, COCH₂CO), 7.17 с (1H, CH=), 7.23–8.63 м (8H, H_{Ar}), 11.94 (0.15H, NH_{кетон}), 12.18 (0.85H, NH_{енол}). Масс-спектр (HRMS-ESI), *m/z*: 338.1033 [M – H]⁺. Найдено, %: C 67.12; H 5.10; N 4.07. C₁₉H₁₇NO₅. Вычислено, %: C 67.25; H 5.05; N 4.13.

Анальгетическую активность соединений 1–5 определяли на беспородных мышах (самках) массой 18–22 г методом термического раздражения «горячая пластина» [12]. Для оценки болевой чувствительности использовали прибор (анальгезиметр) модель ЕН-01 компании Orchid Scientific (Индия). Исследуемые соединения вводили внутрибрюшинно 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 (с) пребывания животных на горячей пластине с момента помещения на горячую поверхность до появления характерных поведенческих реакций на ноцицептивную стимуляцию (облизывание задних лап, подергивание, прыжки). Результаты оценивали по увеличению времени наступления оборонительного рефлекса по сравнению с исходными данными. Контрольной группе животных вводили такой же объем 2%-ного крахмального раствора. В качестве эталона сравнения использовали метамизол натрия (ООО «Фармхимкомплект», Россия) в дозе 93 мг/кг, соответствующей ЕД₅₀ [13] по тесту «горячая пластина» (вводили аналогично исследуемым соединениям). Результаты статистически обработаны с вычислением *t*-критерия Фишера–Стьюдента. Эффект считали достоверным при *p* < 0.05 [14].

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

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

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

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

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Slater M.J. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1998. N 19. P. 2623. doi 10.1016/s0960-894x(98)00214-5.
2. Atta-Ur-Rahman, Iqbal Choudhary M., Majeedb F., Shabbirb M, Ghanib U., Shameel M. // Phytochem. 1997. Vol. 46. N 7. P. 1215. doi 10.1016/S0031-9422(97)80014-3
3. Коркодинова Л.М., Васильева М.Ю., Марданова Л.Г., Шакирова А.Б., Вахрин М.И., Фешин В.П., Колла В.Э. Пат. РФ 2170726 (2001).
4. Robert A. Pat. 1575562 (1969). France.
5. Wiklunda P., Bergmanb J. // Curr. Org. Synth. 2006. N 77. P. 379. doi 10.2174/157017906777934926
6. Tominaga M., Yang Y.H, Ogawa H., Nakagawa K. Pat. 64878 (1982). EP.
7. Roell D., Rosler T.W., Degen S., Matusch R., Baniahad A. // Chem. Biol. Drug Design. 2011. N 77. P. 450. doi 10.1111/j.1747-0285.2011.01116.x
8. 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
9. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Одегова Т.Ф. Пат. РФ 2624226 (2017).
10. Андрейчиков Ю.С., Гейн В.Л., Аникина И.Н. // ЖОрХ. 1986. Т. 22. Вып. 8. С. 1749.
11. Бобровская О.В. Дис. ... докт. фарм. наук. Пермь, 2021. 476 с.
12. 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. Лепехина, 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.
13. 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.
14. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз, 1963. С. 81.

Synthesis and Analgesic Activity of Methyl 2-{[(2Z)-4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl]amino}benzoates

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

^a Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990 Russia

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

*e-mail: geinvl48@mail.ru

Received May 30, 2022; revised May 30, 2022; accepted June 10, 2022

The reaction of methyl esters of aroylpyruvic acids with methyl 2-aminobenzoate in glacial acetic acid in the presence of anhydrous sodium acetate afforded a series of methyl 2-{[(2Z)-4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl]amino}benzoates. The analgesic activity of the synthesized compounds was studied.

Keywords: methyl esters of aroylpyruvic acids, methyl 2-{[(2Z)-4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl]amino}benzoates, anthranilic acid methyl ester, analgesic activity