

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 4-АРИЛ-2-ГИДРОКСИ-4-ОКСО- N-(2-СУЛЬФАМОИЛФЕНИЛ)БУТ-2-ЕНАМИДОВ

© 2023 г. В. Л. Гейн^{1,*}, О. В. Назарец¹, А. В. Романова¹, О. В. Бобровская¹, В. В. Новикова¹,
Р. Р. Махмудов^{2,3}, Л. А. Балюкина²

¹ Пермская государственная фармацевтическая академия, ул. Полевая 2, Пермь, 614990 Россия

² Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, 614005 Россия

³ Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения,
Пермь, 614045 Россия

*e-mail: geinvl48@mail.ru

Поступило в редакцию 11 марта 2023 г.

После доработки 11 марта 2023 г.

Принято к печати 30 марта 2023 г.

Реакцией метиловых эфиров 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых (ароилпировиноградных) кислот с 2-аминобензолсульфонамидом в ледяной уксусной кислоте в присутствии безводного натрия ацетата синтезированы 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-N-(2-сульфамоилфенил)бут-2-енамиды. Изучена анальгетическая и противомикробная активность полученных соединений.

Ключевые слова: 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-N-(2-сульфамоилфенил)бут-2-енамиды, анальгетическая и противомикробная активность

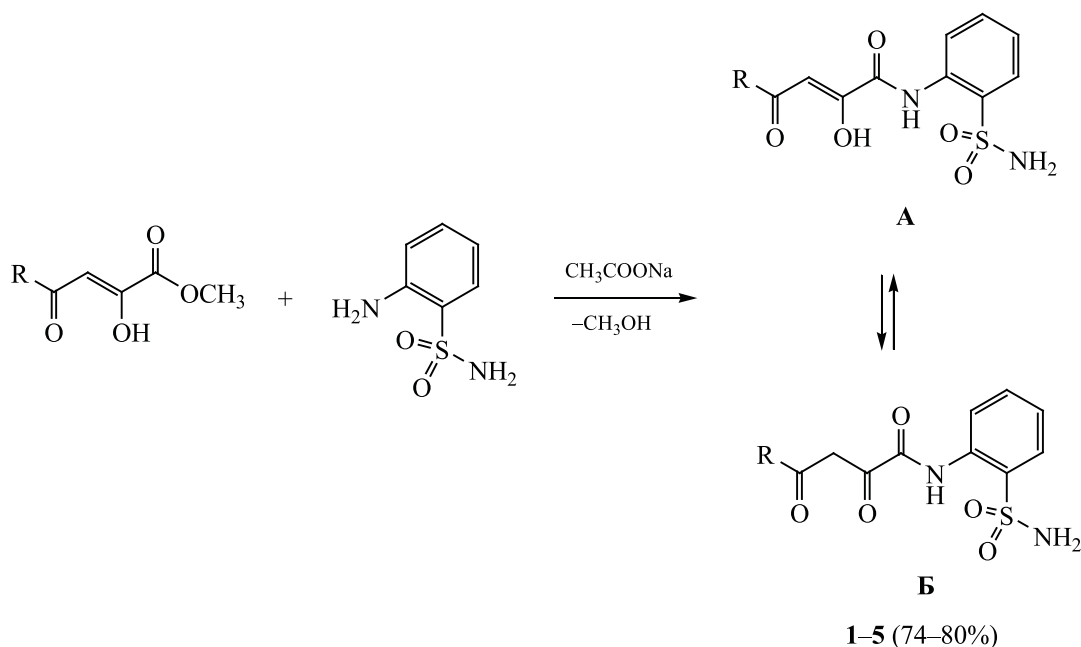
DOI: 10.31857/S0044460X23050025, **EDN:** DBFJNI

Пировиноградная кислота и ее производные (пируваты), являющиеся естественными метаболитами и важными химическими соединениями живых организмов, представляют значительный интерес для целенаправленной модификации структуры биологически активных соединений, как известных лекарственных средств с уже установленными и проверенными видами активности, так и промежуточных продуктов их синтеза. Особое место в этом отношении занимает 2-аминобензолсульфонамид. Известно, что производное 2-аминобензолсульфонамида является промежуточным продуктом в синтезе гидрохлоротиазида (дихлотиазид), который широко применяется в медицинской практике в качестве диуретического и гипотензивного лекарственного средства [1]. Помимо этого, в литературе описаны препараты на основе сульфонамидов с противомикробным, противоаритмическим, антидиабетическим, про-

тивовирусным действием и другими видами [2]. В то же время, производные ароилпировиноградных кислот, в частности N-замещенные амиды, как поликарбонильные соединения, отличаются высокой реакционной способностью, разнообразием химических превращений, позволяющих синтезировать большой спектр веществ, в том числе спироциклических и гетероциклических соединений. Ранее были получены N-замещенные амиды ароилпировиноградных кислот, содержащие в своем составе различные сульфаниламиды (сульфадимидин, сульфатуанидин, сульфациламид, сульфатиазол, сульфаниламид) и обладающие различными видами биологической активности [3, 4].

В связи с этим представляло интерес получить N-замещенные амиды 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащие фрагмент 2-аминобензолсульфонамида, и изучить их биологическое действие.

Схема 1.



R = 4-ClC₆H₄ (**1**), 4-CH₃C₆H₄ (**2**), C₆H₅ (**3**), 4-FC₆H₄ (**4**), 4-CH₃OC₆H₄ (**5**).

В ходе исследований установлено, что 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-N-(2-сульфамойлфенил)бут-2-енамиды **1–5** легко образуются при кипячении 2-аминобензолсульфонамида с метиловыми эфирами ароилпировиноградных кислот в ледяной уксусной кислоте в течение 20–30 мин в присутствии эквивалентного количества безводного натрия ацетата (схема 1).

Соединения **1–5** представляют собой желтые или светло-желтые кристаллические вещества, растворимые в ДМФА, ДМСО, при нагревании – в ледяной уксусной кислоте, диоксане, этаноле, ацетонитриле и нерастворимые в воде.

В ИК спектрах соединений **1–5** наблюдаются полосы валентных колебаний групп NH₂ и NH (3459–3225 см⁻¹), енольной гидроксильной группы (3119–3111 см⁻¹), амидной и кетонной карбонильных групп (1697–1627 и 1640–1600 см⁻¹), а также полосы поглощения сульфонильной группы в двух интервалах (1335–1328 см⁻¹ и 1160–1154 см⁻¹).

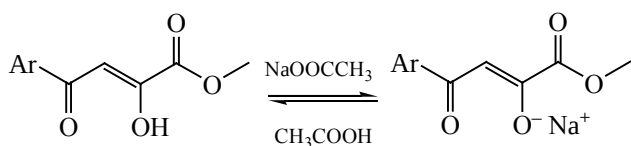
В спектрах ЯМР ¹H соединений **1–5**, кроме сигналов ароматических протонов, присутствуют синглеты протонов енольной группировки HC=C–O

(7.22–7.46 м. д.), SO₂NH₂ группы (7.70–7.87 м. д.) и группы CONH (10.91–10.96 м. д.). Сигналы протонов других групп наблюдаются в ожидаемых областях.

По данным ЯМР ¹H, соединения **1–5** существуют в двух таутомерных формах **A** и **B**, так как в спектрах ЯМР ¹H присутствует сигнал низкой интенсивности при 4.38–4.68 м. д., обусловленный β-метиленовой группой дикетонной формы. Исходя из соотношения значений интегральной интенсивности сигналов β-метиленовой группы и протона в группе O–C=CH, в полученных соединениях преобладает енольная форма **A** (~90%), которая по данным спектров существует в Z-форме, а на кетонную форму **B** приходится (~10%). Отсутствие в спектрах ЯМР ¹H сигнала протона енольной гидроксильной группы, по-видимому, объясняется его значительным уширением в результате обменных процессов, что наблюдается и для других производных ароилпировиноградных кислот [5, 6].

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

Схема 2.



ния дают интенсивное вишневое окрашивание со спиртовым раствором железа(III) хлорида.

Необходимость добавления ацетата натрия в реакционную смесь объясняется тем, что как показано ранее [3, 4, 6], он образует натрийпроизводное исходного эфира ароилпировиноградной кислоты, в котором происходит дезактивация карбонильной группы в α -положении и, следовательно, становится возможной атака сложноэфирного карбонильного фрагмента первичной аминогруппой 2-аминобензолсульфонамида (схема 2).

Синтезированные соединения **1–5** были испытаны на анальгетическую активность методом термического раздражения «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. Установлено, что наиболее высокий анальгетический эффект оказывает соединение **4**, содержащее в ароилпируватном фрагменте электроотрицательный атом фтора.

Синтезированные соединения **1–5** были исследованы также на наличие противогрибковой и антибактериальной активности. Скрининг противомикробной активности осуществляли в отношении типовых штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* NCTC 885-653. Результаты испытаний представлены в табл. 2. Исследования показали, что изученные соединения проявляют антибактериальное действие с минимальной подавляющей концентрацией от 250.0 до 1000.0 мкг/мл, противогрибковое действие с минимальной подавляющей концентрацией в диапазоне от 31.2 до 62.5 мкг/мл, что входит в интервал действия эталона сравнения – флуконазола, то есть соединения обладают противогрибковым эффектом, сравнимым с активностью современного антимикотика флуконазола.

Таким образом, разработана препаративная методика синтеза, которая позволяет получать 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-N-(2-сульфамойлфенил)бут-2-енамиды, обладающие выраженной анальгетической и противогрибковой активностью.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ^1H записывали на приборе Bruker Avance III HD (400 МГц) в $\text{DMSO}-d_6$, внутренний стандарт – ТМС. ИК спектры снимали на ИК Фурье-спектрометрах IRAffinity-1 Shimadzu и ИнфралЮМ ФТ-08 в таблетках KBr. Масс-спектры высокого разрешения получали на масс-спектрометре Shimadzu Nexera X2 LCMS-9030. Элементный анализ проводили на приборе PerkinElmer

Таблица 1. Анальгетическая активность соединений **1–5** по методу «горячая пластина»

Соединение	R	Время оборонительного рефлекс через 2.0 ч, с
1	4-ClC ₆ H ₄	19.50±0.44 ^a
2	4-CH ₃ C ₆ H ₄	20.25±0.97 ^a
3	C ₆ H ₅	21.00±0.63 ^a
4	4-FC ₆ H ₄	22.83±0.66 ^a
5	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	20.67±0.75 ^a
Метамизол натрия		16.60±3.40
Контроль		10.50±0.18

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

Таблица 2. Противомикробная активность соединений 1–5

Соединение	R	МПК, мкг/мл		
		<i>S. aureus</i> ATCC 6538-P	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>C. albicans</i> NCTC 885-653
1	4-ClC ₆ H ₄	250.0	1000.0	62.5
2	4-CH ₃ C ₆ H ₄	1000.0	1000.0	31.2
3	C ₆ H ₅	1000.0	1000.0	31.2
4	4-FC ₆ H ₄	500.0	1000.0	31.2
5	4-CH ₃ OC ₆ H ₄	1000.0	1000.0	62.5
	Диоксидин	62.5	31.2	–
	Флуконазол	–	–	2.0–>64.0 ^a

^a Данные работы [7].

2400. Температуры плавления определяли на приборе Melting Point M-565.

(2Z)-2-Гидрокси-4-оксо-N-(2-сульфамоилфенил)-4-(4-хлорфенил)бут-2-енамид (1). К 0.01 моля 2-аминобензолсульфонамида, растворенного при нагревании в 15 мл ледяной уксусной кислоты, добавляли раствор 0.01 моля метилового эфира 4-хлорбензоилпировиноградной кислоты и 0.01 моля безводного ацетата натрия в 10 мл ледяной уксусной кислоты. Реакционную смесь кипятили 20–30 мин. Выпавший при охлаждении осадок отфильтровывали и перекристаллизовывали из этанола. Выход 2.82 г (74%), т. пл. 264–266°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3459, 3301 (NH₂, NH), 3119 (OH), 1627 [(C=O)NH], 1600 (C=O), 1328, 1159 (SO₂). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 4.38 с (2H, COCH₂CO), 7.46 с (1H, O–C=CH), 7.87 с (2H, SONH₂), 7.12–8.38 м (8H, CH_{Ar}), 10.91 с (1H, NH). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 403.0129 [M + Na]⁺, 405.0101 [M + Na]⁺. Найдено, %: C 50.58; H 3.40; N 7.32; S 8.48. C₁₆H₁₃ClN₂O₅S. Вычислено, %: C 50.47; H 3.44; N 7.36; S 8.42.

Соединения 2–5 получали аналогично.

(2Z)-2-Гидрокси-4-(4-метилфенил)-4-оксо-N-(2-сульфамоилфенил)бут-2-енамид (2). Выход 2.88 г (80%), т. пл. 213–215°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3304, 3225 (NH₂, NH), 3112 (OH), 1685 [(C=O)NH], 1620 (C=O), 1329, 1159 (SO₂). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 2.42 с (3H, CH₃), 4.64 с (2H, COCH₂CO), 7.24 с (1H, O–C=CH), 7.70 с (2H, SONH₂), 7.36–8.43 м (8H, CH_{Ar}), 10.95 с (1H, NH). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 359.0708 [M – H]⁺. Найдено,

%: C 56.81; H 4.50; N 7.84; S 8.86. C₁₇H₁₆N₂O₅S. Вычислено, %: C 56.66; H 4.48; N 7.77; S 8.90.

(2Z)-2-Гидрокси-4-оксо-N-(2-сульфамоилфенил)-4-фенилбут-2-енамид (3). Выход 2.70 г (78%), т. пл. 213–215°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3391, 3285 (NH₂, NH), 3116 (OH), 1697 [(C=O)NH], 1640 (C=O), 1335, 1154 (SO₂). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 4.68 с (2H, COCH₂CO), 7.26 с (1H, O–C=CH), 7.70 с (2H, SONH₂), 7.36–8.44 м (9H, CH_{Ar}), 10.96 с (1H, NH). Масс-спектр (HRMS-ESI), m/z : 345.0549 [M – H]⁺. Найдено, %: C 55.36; H 4.04; N 8.03; S 9.19. C₁₆H₁₄N₂O₅S. Вычислено, %: C 55.48; H 4.07; N 8.09; S 9.26.

(2Z)-2-Гидрокси-4-оксо-N-(2-сульфамоилфенил)-4-(4-фторфенил)бут-2-енамид (4). Выход 2.80 г (77%), т. пл. 226–228°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3308, 3230 (NH₂, NH), 3112 (OH), 1681 [(C=O)NH], 1601 (C=O), 1331, 1159 (SO₂). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 4.67 с (2H, COCH₂CO), 7.27 с (1H, O–C=CH), 7.70 с (2H, SONH₂), 7.39–8.43 м (8H, CH_{Ar}), 10.94 с (1H, NH). Найдено, %: C 52.89; H 3.56; N 7.73; S 8.84. C₁₆H₁₃FN₂O₅S. Вычислено, %: C 52.75; H 3.60; N 7.69; S 8.80.

(2Z)-2-Гидрокси-4-(4-метоксифенил)-4-оксо-N-(2-сульфамоилфенил)бут-2-енамид (5). Выход 2.82 г (75%), т. пл. 217–219°C (EtOH). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3300, 3232 (NH₂, NH), 3111 (OH), 1688 [(C=O)NH], 1602 (C=O), 1329, 1160 (SO₂). Спектр ЯМР ¹H, δ , м. д.: 3.89 с (3H, CH₃O), 4.61 с (2H, COCH₂CO), 7.22 с (1H, O–C=CH), 7.70 с (2H, SONH₂), 7.12–8.45 м (8H, CH_{Ar}), 10.94 с (1H, NH). Найдено, %: C 54.12; H 4.33; N 7.39; S 8.45.

$C_{17}H_{16}N_2O_6S$. Вычислено, %: С 54.25; Н 4.28; N 7.44; S 8.52.

Анальгетическую активность соединений **1–5** определяли на беспородных мышах (самках) массой 18–22 г методом термического раздражения «горячая пластина» [8]. 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 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 [9] по тесту «горячая пластина», который вводили аналогично исследуемым соединениям. Результаты статистически обработаны с вычислением *t*-критерия Фишера–Стьюдента. Эффект считали достоверным при $p < 0.05$ [10].

Противогрибковую и антибактериальную активность полученных соединений **1–5** определяли микрометодом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде [8]. Исследуемые соединения массой 0.05 г растворяли в 5 мл ДМСО, получая основной раствор вещества в концентрации 10⁴ мкг/мл. Данный раствор служил основой для рабочего раствора, имеющего концентрацию 2×10³ мкг/мл, который последовательно разводили двукратно в жидкой питательной среде. Концентрация исследуемых соединений в первой лунке ряда разведений в питательной среде составляла 500.0 мкг/мл. Для определения антибактериальной активности использовали бульон Хоттингера, для определения противогрибковой активности – бульон Сабуро. Для приготовления

взвеси дрожжевых культур применяли двухсуточные культуры, выращенные на агаре Сабуро. Для определения антибактериальной активности использовали типовые суточные культуры, выращенные на питательном агаре. Концентрация микробных клеток в опыте составила 2–5×10⁵ КОЕ/мл (для бактерий), 2–5×10⁴ КОЕ/мл (для грибов). В качестве положительного контроля использовали питательную среду с внесенной исследуемой культурой. В качестве отрицательного контроля использовали интактную питательную среду. Посевы инкубировали в термостате при температуре 35±2° С в течение 20–24 ч. Оценку роста микроорганизмов проводили визуально. В качестве значения МПК (минимальной подавляющей концентрации) принимали наименьшую концентрацию соединения, при которой отсутствует видимый рост тест-организма. Исследования осуществляли в двух повторах, результаты приводили в виде среднего арифметического полученных МПК. В качестве эталона сравнения антибактериальной активности использовали диоксидин. Фунгистатический эффект исследуемых соединений сравнивали с действием флуконазола.

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>

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках государственного задания Пермской государственной фармацевтической академии (тема № 720000Ф.99.1.БН62АБ05000), 2023 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. Машковский М.Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. М.: Новая волна, 2012. С. 496.
2. Москалик М.Ю. Автореф. дис. ... докт. хим. наук. Иркутск, 2021. 42 с.
3. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Дмитриев М.В., Махмудов Р.Р., Белоногова В.Д. // ЖОХ. 2018. Т. 88. Вып. 6. С. 914; Gein V.L., Bobrovskaya O.V., Dmitriev M.V., Makhmudov R.R., Belonogova V.D. // Russ. J. Gen. Chem. 2018. Vol. 88. N 6. P. 1095. doi 10.1134/S1070363218060087
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. Андрейчиков Ю.С., Гейн В.Л., Аникина И.Н. // ЖОрХ. 1986. Т. 22. Вып. 8. С. 1749.
6. Бобровская О.В. Дис. ... докт. фарм. наук. Пермь, 2021. 476 с.
7. Cordeiro R.A., Teixeira C.E.C., Brilhante R.S.N., Castelo-Branco D.S.C.M., Paiva M.A.N., Leite J.J.G., Lima D.T., Monteiro A.J., Sidrim J.J.C., Rocha M.F.G. // Med. Mycol. 2013. Vol. 51. N 1. P. 53. doi. 10.3109/13693786.2012.692489
8. 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. Лепахина, 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.
9. 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.
10. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Ленинград: Медгиз, 1963. С. 81.

Synthesis and Biological Activity of 4-Aryl-2-hydroxy-4-oxo-N-(2-Sulfamoylphenyl)but-2-enamides

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

^a Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990 Russia

^b Perm State National Research University, Perm, 614005 Russia

^c Federal Research Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045 Russia

*e-mail: geinvl48@mail.ru

Received March 11, 2023; revised March 11, 2023; accepted March 30, 2023

The reaction of methyl esters of 4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoic (aroylpyruvic) acids with 2-aminobenzenesulfonamide in glacial acetic acid in the presence of anhydrous sodium acetate, 4-aryl-2-hydroxy-4-oxo-N-(2-sulfamoylphenyl)but-2-enamides were obtained. The analgesic and antimicrobial activity of the obtained compounds was studied.

Keywords: 4-aryl-2-hydroxy-4-oxo-N-(2-sulfamoylphenyl)but-2-enamides, analgesic and antimicrobial activity