

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕТИЛОВЫХ ЭФИРОВ АРОИЛПИРОВИНОГРАДНЫХ КИСЛОТ С 4-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТОЙ. АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

© 2024 г. В. Л. Гейн^{1,*}, Д. В. Чалков¹, О. В. Бобровская¹, С. С. Зыкова¹, К. В. Намятова¹

¹ Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пермь, 614990 Россия

*e-mail: geinvl48@mail.ru

Поступило в редакцию 18 июля 2024 г.

После доработки 24 августа 2024 г.

Принято к печати 26 августа 2024 г.

Взаимодействием метиловых эфиров ароилпировиноградных кислот с 4-аминобензойной (*para*-аминобензойной) кислотой в ледяной уксусной кислоте в присутствии безводного ацетата натрия получены 4-{[(2*Z*)-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил]амино}бензойные кислоты. В отсутствие безводного ацетата натрия реакция в смеси ледяная уксусная кислота–этанол (1:1) приводит к образованию 4-{[(2*Z*)-4-арил-1-метокси-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино}бензойных кислот. Строение полученных соединений подтверждено методами ЯМР ¹H и ¹³C {¹H}, ИК спектроскопии. Изучена антиоксидантная активность синтезированных соединений.

Ключевые слова: метиловые эфиры ароилпировиноградных кислот, *para*-аминобензойная кислота, 4-{[(2*Z*)-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил]амино}бензойные кислоты, 4-{[(2*Z*)-4-арил-1-метокси-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино}бензойные кислоты, антиоксидантная активность

DOI: 10.31857/S0044460X24050011, EDN: FKQXCO

ВВЕДЕНИЕ

Поиск как новых биологически активных соединений, так и синтонов для их синтеза является актуальной задачей для фармацевтической науки, в частности для получения эффективных и безопасных лекарственных средств. Интересными объектами данных исследований является 4-аминобензойная (*para*-аминобензойная) кислота и ее производные, которые довольно широко распространены в природе и участвуют в различных физиологических процессах растительных, животных клеток и клеток микроорганизмов. В литературе *para*-аминобензойная кислота может упоминаться как бактериальный витамин H₁, B_x или B₁₀ [1]. Кроме того, *para*-аминобензойная кислота известна как предшественник в

биосинтезе фолиевой кислоты (B₉) [2] и убихинона (коэнзим Q) [3, 4], также обладает собственной иммуномодулирующей, противовирусной, антиоксидантной, антигипоксической, антикоагулянтной [5, 6], антифибротической [7], антирадикальной активностью [8].

Следует отметить, что *para*-аминобензойная кислота имеет огромное значение для синтеза лекарственных средств, относящихся к различным фармакотерапевтическим группам, например: антибактериальные, противоопухолевые, местноанестезирующие, противосудорожные, антиаритмические, противорвотные, гастрокинетические, антипсихотические, нейролептические средства [9]. Все вышеуказанные свойства *para*-аминобензойной кислоты

открывают новые возможности для ее применения в фармацевтической и медицинской практике.

Кроме того, среди N-замещенных амидов и енаминоэфиров ароилпировиноградных кислот обнаружены соединения с различными видами биологической активности. Так, производные 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-N-фенилбут-2-енамидов ранее показали противоопухолевую активность в мышинной модели ксенотрансплантата рака [10], у бис-N-замещенных 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-енамидопроизводных выявили ингибирующую активность против интегразы ВИЧ *in vitro* [11, 12], производные метил-2-{[(2Z)-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил]амино}бензоатов [13] и метил-(2Z)-4-арил-2-{4-[(4,6-диметилпиримидин-2-ил)-сульфамоил]фениламино}-4-оксобут-2-еноатов обладают выраженным анальгетическим действием [14]. В патенте [15] отмечается бактериостатическая активность метилового эфира 2-(4-бромфениламино)-5,5-диметил-4-оксо-2-гексеновой кислоты в отношении *Mycobacterium tuberculosis*.

В связи с этим, представляло интерес получить ранее неизвестные N-замещенные амиды 4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еновых (ароилпировиноградных) кислот и N-замещенные метиловые эфиры 2-амино-4-арил-4-оксобут-2-еновых кислот, содержащие остаток 4-аминобензойной кислоты, и далее изучить их антиоксидантную активность, включая прогнозирование данного вида активности с использованием веб-ресурса PASS online.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

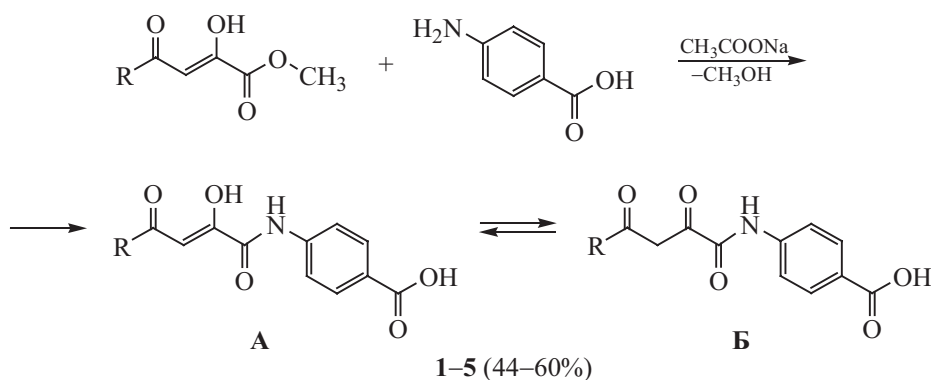
С целью получения ранее неизвестных N-арил-амидов ароилпировиноградных кислот и изучения антиоксидантной активности взаимодействием метиловых эфиров ароилпировиноградных кислот с 4-аминобензойной кислотой в среде ледяной уксусной кислоты в присутствии эквивалентного количества безводного ацетата натрия осуществлен синтез новых 4-{[(2Z)-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил]амино}бензойных кислот **1–5** (схема 1).

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

В ИК спектрах соединений **1–5** наблюдаются полосы, обусловленные валентными колебаниями связи N–H (3357–3340 см^{-1}), карбоксильной и енольной гидроксильных групп (3100–3068 см^{-1}), карбоксильной и кетонной карбонильных групп (1704–1681 и 1703–1677 см^{-1} соответственно), амидной группы N–C–O (1611–1603 см^{-1}).

В спектрах ЯМР ^1H соединений **1–5**, кроме сигналов ароматических протонов, присутствуют синглеты протонов енольной группировки $\text{HC}=\text{C}-\text{O}$ (7.14–7.30 м. д.), группы CONH (10.80–10.89 м. д.) и карбоксильной группы (12.72–13.01 м. д.) в виде уширенного синглета. Сигналы протонов других групп наблюдаются в ожидаемых областях. По

Схема 1.



R = 4-MeC₆H₄ (**1**), 4-MeOC₆H₄ (**2**), 3,4-(MeO)₂C₆H₃ (**3**), 4-EtOC₆H₄ (**4**), 3-NO₂C₆H₄ (**5**).

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 4.58–4.76 м. д., который обусловлен наличием β -метиленовой группы дикетонной формы. Исходя из соотношения значений интегральной интенсивности сигналов β -метиленовой группы и протона в группе $\text{O}=\text{C}=\text{CH}$, в полученных соединениях преобладает енольная форма **A** (65–78%), которая, по данным ЯМР, существует в *Z*-форме, а на кетонную форму **B** приходится (22–35%). 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 [16, 17].

В спектрах ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ соединений **1–5** наблюдаются сигналы химических сдвигов ядер атомов углерода четырех карбонильных групп: CONH (158.81–160.38 м. д.), COOH (166.67–166.69 м. д.), $\text{O}=\text{C}=\text{CH}$ (177.20–181.48 м. д.), $\text{C}=\text{O}$ (185.14–193.37 м. д.).

Все полученные соединения **1–5** в реакции со спиртовым раствором железа(III) хлорида дают вишнево-красное окрашивание, что подтверждает наличие енольной гидроксильной группы в их структуре.

Добавление ацетата натрия в реакционную смесь, как показано ранее, способствует образованию амидов **1–5**. По-видимому, это объясняется тем, что ацетат натрия вступает в обменное взаимодействие с исходным эфиром ароилпировиноградной кислоты, образуя натрийпроизводное, в котором происходит дезактивация карбонильной группы в α -положении и, следовательно, становится возможной атака сложноэфирного карбонильного фрагмента первичной аминогруппой 4-аминобензойной кислоты (схема 2) [17, 18].

В продолжение изучения реакции метиловых эфиров ароилпировиноградных кислот с 4-амино-

бензойной кислотой установлено, что направление реакции зависит от условий проведения. Так, при кипячении вышеуказанных реагентов в смеси уксусная кислота–этанол в соотношении 1:1 в течение 10 мин без добавления безводного ацетата натрия образуются 4- $\{[(2Z)$ -4-арил-1-метокси-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино $\}$ бензойные кислоты **6–10** (схема 3). Реакция протекает по механизму, описанному ранее [19, 20]. На первой стадии ароматическая аминогруппа *para*-аминобензойной кислоты присоединяется по двойной связи α -карбонильной группы исходного метилового эфира ароилпировиноградной кислоты с образованием промежуточного соединения **B** (карбиноламина), дегидратация которого приводит к соединениям **6–10** (схема 3).

Синтезированные соединения **6–10** представляют собой ярко-желтые кристаллические вещества, растворимые в ДМФА, ДМСО, при нагревании – в этаноле, изопропанол, диоксане, уксусной кислоте, ацетоне, нерастворимые в воде.

В ИК спектрах соединений **6–10** наблюдаются полосы, обусловленные валентными колебаниями связи $\text{N}=\text{N}$ ($3457\text{--}3376\text{ см}^{-1}$), карбоксильной OH -группы ($3086\text{--}3050\text{ см}^{-1}$), сложноэфирной и карбоксильной карбонильных групп ($1737\text{--}1723$ и $1682\text{--}1677\text{ см}^{-1}$ соответственно), кетонной карбонильной группы ($1626\text{--}1610\text{ см}^{-1}$).

В спектрах ЯМР ^1H соединений **6–10**, кроме сигналов ароматических протонов и связанных с ароматическим кольцом групп, присутствуют синглеты трех метоксильных протонов (3.78–3.86 м. д.), метилиденового протона (6.61–6.69 м. д.), протонов аминогрупп $\text{NH}_{E\text{-форма}}$ (9.85–10.24 м. д.) и $\text{NH}_{Z\text{-форма}}$ (11.71–11.79 м. д.), уширенный синглет протона карбоксильной группы (12.70–12.80 м. д.). По данным ЯМР ^1H , соединения **6–10** существуют в виде *Z*- и *E*-изомеров с преобладанием *Z*-формы. Исходя из соотношения значений интегральных интенсивностей сигналов протона группы NH , а также сигналов

Схема 2.

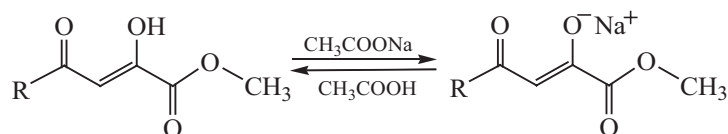
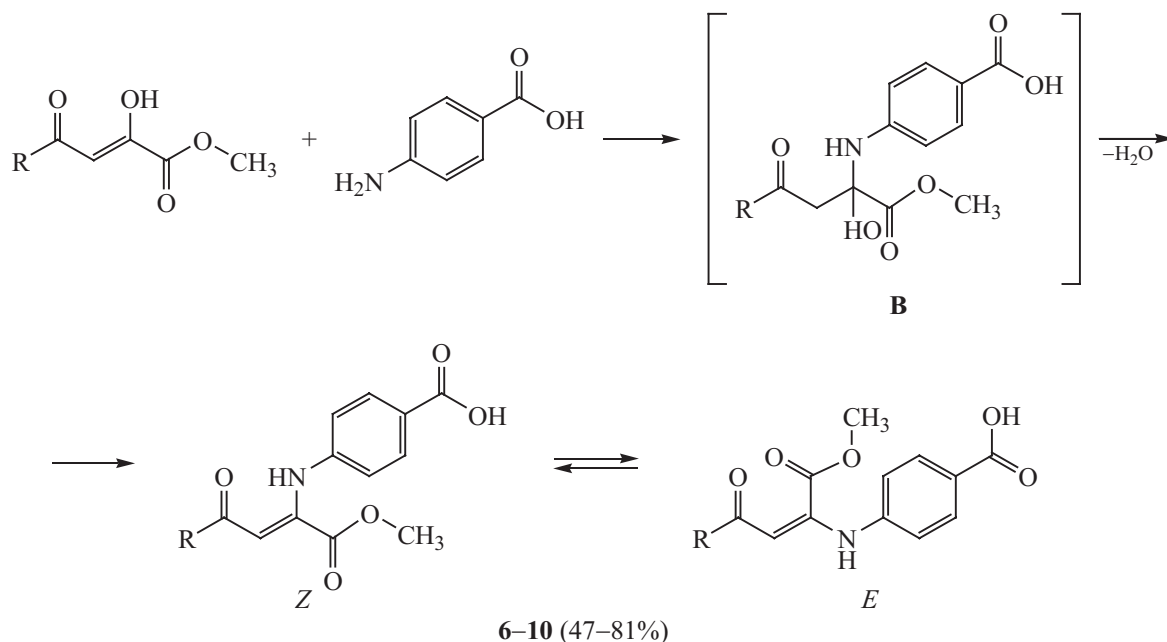


Схема 3.



R = 4-MeC₆H₄ (**6**), 4-MeOC₆H₄ (**7**), 3,4-(MeO)₂C₆H₃ (**8**), 4-EtOC₆H₄ (**9**), 3-NO₂C₆H₄ (**10**).

метиленового протона и метоксильных протонов, на *Z*-форму приходится ~65–82%, на *E*-форму – ~18–35%.

В спектрах ЯМР ¹³C соединений **6–10** наблюдаются сигналы химических сдвигов ядер атомов углерода метоксигруппы (52.48–53.23 м. д.), метиленовой группы (94.45–98.85 м. д.), сложноэфирной группы (163.84–165.95 м. д.), карбоксильной группы (166.60–166.69 м. д.) и кетонной карбонильной группы (184.62–187.62 м. д.).

Все синтезированные соединения **6–10** не дают характерного вишнево-красного окрашивания со спиртовым раствором железа(III) хлорида, что наряду со спектральными данными подтверждает указанную структуру.

С целью прогнозирования антиоксидантной активности соединений **1–10** провели *in silico* прогноз данного вида активности посредством программы PASS online (версия 2.0). При изучении антиоксидантной активности оценивали вероятность наличия (*p_a*) ее проявления, и рассматривали от значений *p_a* > 0.7. Результаты исследования представлены в табл. 1.

Вероятность наличия антиоксидантной активности у соединений **1–10** незначительна и находится в интервале от 13.1 до 23.0%. Однако обнаружено ингибирующее влияние на ферменты антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза и глутатионпероксидаза), что говорит о прооксидантном действии. Согласно полученным результатам в программе PASS online, с вероятностью от 51 до 84% мишенью для данных соединений является супероксиддисмутаза.

Антиоксидантную активность соединений **1–10** определяли методом окислительного стресса с использованием биосенсора *E. coli* штамм «Эколюм». Значение флуоресценции демонстрирует состояние клеток *E. coli*. При окислительном стрессе под действием сублетальной концентрации водорода пероксида угнетается процесс синтеза флуоресцентного белка с целью адаптации. Следовательно, низкая флуоресцентная активность говорит о повреждении клеток. Значения ИФА обозначают степень угнетения активности биосенсора, соответственно, они находятся в прямой зависимости от токсичности вещества и в обратной – от анти-

Таблица 1. Данные прогнозирования антиоксидантной активности (p_a) соединений **1–10** с помощью сервиса PASS online.

Соединение	Вероятность наличия антиоксидантной активности	Ингибитор супероксиддисмутазы	Ингибитор глутатионпероксидазы
1	–	0.541	0.255
2	0.138	0.510	0.230
3	0.160	0.604	0.208
4	0.131	0.695	0.191
5	–	0.840	0.334
6	0.197	0.515	0.276
7	0.205	0.564	0.256
8	0.230	0.663	0.232
9	0.195	0.700	0.207
10	0.174	0.822	0.358

Таблица 2. Антиоксидантная активность соединений **1–10**.

Соединение	R	ИФА, %
1	4-MeC ₆ H ₄	6.73±0.69 ^a
2	4-MeOC ₆ H ₄	20.81±1.60 ^a
3	3,4-(MeO) ₂ C ₆ H ₃	21.23±1.40 ^a
4	4-EtOC ₆ H ₄	9.42±1.25 ^a
5	3-NO ₂ C ₆ H ₄	0.70±0.52
6	4-MeC ₆ H ₄	64.79±2.66 ^a
7	4-MeOC ₆ H ₄	71.57±0.91 ^a
8	3,4-(MeO) ₂ C ₆ H ₃	71.22±0.44 ^a
9	4-EtOC ₆ H ₄	53.87±1.87 ^a
10	3-NO ₂ C ₆ H ₄	60.75±0.27 ^a
Тролокс	–	–0.04±0.02

^a $p < 0.05$ по отношению к эталону сравнения (тролокс).

оксидантной активности. Результаты испытаний представлены в табл. 2.

По данным фармакологического скрининга установлено, что все исследованные соединения **1–10** являются прооксидантами. Программа PASS online позволила предположить мишень действия для объектов исследования.

Обнаружено, что выраженные прооксидантные свойства в отношении биосенсора *E. coli* штамм «Эколюм» обнаружены у соединений **6–10**, что может говорить не только о стимуляции процесса окислительного стресса, но и о прямом цитотоксическом действии.

В рамках скрининга выявлено, что в ряду соединений **1–10** переход от N-замещенных амидов **1–5** к енаминоэфирам ароилпировиноградных кислот **6–10** увеличил прооксидантную активность. Присутствие в арильном остатке метоксигрупп приводит к значительному увеличению прооксидантной активности.

ВЫВОДЫ

Таким образом, разработан препаративный способ синтеза 4-[(2*Z*)-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил]амино}бензойных кислот **1–5** и 4-[(2*Z*)-4-арил-1-метокси-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино}бензойных кислот **6–10**, имеющих в

своей структуре несколько реакционноспособных центров, что позволяет получать на их основе различные производные. Наличие в арильном остатке метоксигрупп приводит к значительному увеличению прооксидантной активности. Представленные результаты по изучению антиоксидантной активности свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований и поиска соединений, обладающих цитотоксическим действием в ряду 4-[[*(2Z)*-4-арил-1-метокси-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино}бензойных кислот.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ^1H записывали на приборе Bruker Avance III HD (400 МГц) в $\text{DMSO}-d_6$, внутренний стандарт – ТМС. Спектры ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ записывали на приборе Bruker Avance III HD (100 МГц) в $\text{DMSO}-d_6$, внутренний стандарт – ТМС. ИК спектры снимали на Фурье-спектрометре ИнфраЛИОМ ФТ-08 (Люмэкс-маркетинг, Россия) в таблетках KBr. Элементный анализ проводили на приборе PerkinElmer 2400. Температуры плавления определяли на приборе Melting Point M-565 (Buchi Labortechnik AG, Швейцария).

4-[[*(2Z)*-2-Гидрокси-4-(4-метилфенил)-4-оксобут-2-еноил]амино}бензойная кислота (1). К 1.37 г (0.01 моль) 4-аминобензойной кислоты, растворенной при нагревании в 15 мл ледяной уксусной кислоты, добавляли раствор 2.20 г (0.01 моль) метилового эфира 4-метилбензоилпировиноградной кислоты и 0.82 г (0.01 моль) безводного ацетата натрия в 15 мл ледяной уксусной кислоты. Реакционную смесь кипятили 20 мин. Выпавший при охлаждении осадок обрабатывали этанолом, отфильтровали и перекристаллизовали из этанола. Выход 1.59 г (49%), т. пл. 230–231°C (EtOH). ИК спектр, ν , см^{-1} : 3348 (NH), 3100 (OH), 1704 (COOH), 1677 (C=O), 1606 (N-C-O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.41 с (3H, CH_3), 4.62 с (2H, COCH_2CO), 7.19 с (1H, O-C=CH), 7.39–7.99 м (8H, CH_{Ar}), 10.84 с (1H, CONH), 12.73 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, δ_{C} , м. д.: 21.14, 94.08, 119.74, 119.95, 126.50, 127.55, 128.50, 129.29, 129.69, 130.07, 130.50, 141.56, 144.60, 160.22, 166.69, 179.17, 185.14. Найдено, %: C 66.58; H 4.58; N 4.40. $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_5$. Вычислено, %: C 66.46; H 4.65; N 4.31.

Соединения **2–5** получали аналогично.

4-[[*(2Z)*-2-Гидрокси-4-(4-метоксифенил)-4-оксобут-2-еноил]амино}бензойная кислота (2). Выход 2.05 г (60%), т. пл. 222–223°C (EtOH). ИК спектр, ν , см^{-1} : 3340 (NH), 3080 (OH), 1686 (COOH , C=O), 1606 (N-C-O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 3.88 с (3H, CH_3O), 4.59 с (2H, COCH_2CO), 7.16 с (1H, O-C=CH), 7.11–8.09 м (8H, CH_{Ar}), 10.81 с (1H, CONH), 12.73 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, δ_{C} , м. д.: 55.62, 93.76, 114.54, 119.73, 119.93, 125.61, 126.45, 129.97, 130.06, 141.60, 160.32, 163.99, 166.68, 177.76, 185.48. Найдено, %: C 63.44; H 4.37; N 4.18. $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{NO}_6$. Вычислено, %: C 63.34; H 4.43; N 4.10.

4-[[*(2Z)*-2-Гидрокси-4-(3,4-диметоксифенил)-4-оксобут-2-еноил]амино}бензойная кислота (3). Выход 1.89 г (51%), т. пл. 221–223°C (EtOH). ИК спектр, ν , см^{-1} : 3356 (NH), 3078 (OH), 1703 (COOH , C=O), 1603 (N-C-O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 3.87 с (3H, CH_3O), 3.88 с (3H, CH_3O), 4.62 с (2H, COCH_2CO), 7.20 с (1H, O-C=CH), 7.13–7.96 м (7H, CH_{Ar}), 10.81 с (1H, CONH), 12.72 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, δ_{C} , м. д.: 55.65, 55.82, 94.10, 109.96, 111.52, 119.73, 119.91, 122.52, 125.80, 126.46, 130.07, 141.62, 148.92, 154.01, 160.36, 166.69, 177.20, 185.97. Найдено, %: C 61.58; H 4.68; N 3.86. $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_7$. Вычислено, %: C 61.45; H 4.61; N 3.77.

4-[[*(2Z)*-2-Гидрокси-4-оксо-4-(4-этоксифенил)-бут-2-еноил]амино}бензойная кислота (4). Выход 1.67 г (47%), т. пл. 222–223°C (EtOH). ИК спектр, ν , см^{-1} : 3351 (NH), 3068 (OH), 1681 (COOH , C=O), 1606 (N-C-O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 1.36 т (3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, J 7.0 Гц), 4.15 к (2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, J 7.0 Гц), 4.58 с (2H, COCH_2CO), 7.14 с (1H, O-C=CH), 7.08–8.06 м (8H, CH_{Ar}), 10.80 с (1H, CONH), 13.01 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, δ_{C} , м. д.: 14.32, 63.69, 93.66, 114.88, 119.51, 119.90, 125.52, 126.44, 129.97, 130.07, 141.61, 160.38, 163.26, 166.69, 177.64, 185.47. Найдено, %: C 64.11; H 4.76; N 4.03. $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_6$. Вычислено, %: C 64.22; H 4.82; N 3.94.

4-[[*(2Z)*-2-Гидрокси-4-(3-нитрофенил)-4-оксобут-2-еноил]амино}бензойная кислота (5). Выход 1.57 г (44%), т. пл. 252–253°C (1,4-диоксан : ацетон (1:4)). ИК спектр, ν , см^{-1} : 3357 (NH), 3079 (OH), 1691 (COOH , C=O), 1611 (N-C-O). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 4.76 с (2H, COCH_2CO), 7.30 с (1H, O-C=CH), 7.84–8.71 м (8H, CH_{Ar}), 10.89 с (1H, CONH), 12.72 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, δ , м. д.: 95.43, 119.79, 119.99, 121.74, 122.73, 126.51, 126.59, 127.56,

127.80, 130.08, 130.61, 130.79, 133.47, 134.56. 134.56, 134.84, 141.33, 141.46, 148.11, 148.22, 158.81, 159.92, 166.67, 180.27, 181.48, 193.04, 193.37. Найдено, %: С 57.19; Н 3.46; N 7.95. $C_{17}H_{12}N_2O_7$. Вычислено, %: С 57.31; Н 3.39; N 7.86.

4-[[*(2Z)*-4-(4-Метилфенил)-1-метокси-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино]бензойная кислота (6). К 1.37 г (0.01 моль) 4-аминобензойной кислоты, растворенной при нагревании в 15 мл этанола, добавляли раствор 2.20 г (0.01 моль) метилового эфира 4-метилбензоилпировиноградной кислоты в 15 мл ледяной уксусной кислоты. Реакционную смесь кипятили 10 мин. Выпавший при охлаждении осадок обрабатывали этанолом, отфильтровали и перекристаллизовали из этанола. Выход 2.14 г (63%), т. пл. 225–226°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3397 (NH), 3070 (COOH), 1731 ($COOCH_3$), 1678 (COOH), 1610 (C=O). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 2.36, 2.39 с (3H, CH_3), 3.78, 3.83 с (3H, $COOCH_3$), 6.61, 6.64 с (1H, N=C=CH), 7.10–7.97 м (8H, CH_{Ar}), 9.92 с (0.25H, $NH_{E-форма}$), 11.73 с (0.75H, $NH_{Z-форма}$), 12.73 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}C\{^1H\}$, δ_C , м. д.: 20.94, 21.00, 52.51, 53.08, 95.72, 98.61, 119.73, 119.96, 125.73, 126.05, 127.51, 127.53, 129.01, 129.29, 130.54, 130.86, 135.27, 135.79, 142.21, 143.07, 143.28, 143.33, 146.95, 148.16, 164.15, 165.78, 166.60, 186.55, 189.90. Найдено, %: С 67.13; Н 5.12; N 4.05. $C_{19}H_{17}NO_5$. Вычислено, %: С 67.25; Н 5.05; N 4.13.

Соединения 7–10 получали аналогично.

4-[[*(2Z)*-1-Метокси-4-(4-метоксифенил)-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино]бензойная кислота (7). Выход 2.17 г (61%), т. пл. 185–186°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3381 (NH), 3050 (COOH), 1723 ($COOCH_3$), 1677 (COOH), 1621 (C=O). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 3.84 с (3H, CH_3O), 3.78, 3.81 с (3H, $COOCH_3$), 6.61, 6.67 с (1H, N=C=CH), 6.98–8.00 м (8H, CH_{Ar}), 9.87 с (0.18H, $NH_{E-форма}$), 11.74 с (0.82H, $NH_{Z-форма}$), 12.72 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}C\{^1H\}$, δ_C , м. д.: 52.51, 53.05, 55.31, 55.42, 95.98, 98.83, 113.72, 114.01, 119.59, 119.86, 125.65, 125.93, 129.66, 129.77, 130.60, 130.91, 131.12, 143.45, 143.55, 146.55, 147.81, 162.43, 162.98, 164.28, 165.95, 166.69, 185.73, 189.10. Найдено, %: С 64.33; Н 4.75; N 3.84. $C_{19}H_{17}NO_6$. Вычислено, %: С 64.22; Н 4.82; N 3.94.

4-[[*(2Z)*-1-Метокси-4-(3,4-диметоксифенил)-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино]бензойная кислота (8). Выход 1.81 г (47%), т. пл. 196–197°C (1,4-ди-

оксан–ацетон, 1:10). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3376 (NH), 3086 (COOH), 1731 ($COOCH_3$), 1678 (COOH), 1621 (C=O). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 3.84 с (3H, CH_3O), 3.83, 3.86 с (3H, CH_3O), 3.79, 3.81 с (3H, $COOCH_3$), 6.64, 6.68 с (1H, N=C=CH), 7.00–7.97 м (7H, CH_{Ar}), 9.88 с (0.20H, $NH_{E-форма}$), 11.76 с (0.80H, $NH_{Z-форма}$), 12.72 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}C\{^1H\}$, δ_C , м. д.: 52.48, 53.05, 55.43, 55.53, 55.61, 55.69, 96.16, 98.74, 110.21, 110.29, 110.85, 111.07, 119.47, 119.66, 121.67, 121.97, 125.52, 125.86, 130.59, 130.68, 130.87, 131.20, 143.40, 143.54, 146.49, 147.70, 148.61, 148.77, 152.35, 152.96, 164.28, 165.87, 166.63, 185.64, 189.08. Найдено, %: С 62.19; Н 4.88; N 3.74. $C_{20}H_{19}NO_7$. Вычислено, %: С 62.33; Н 4.97; N 3.63.

4-[[*(2Z)*-1-Метокси-4-(4-этоксифенил)-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино]бензойная кислота (9). Выход 2.99 г (81%), т. пл. 209–210°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3399 (NH), 3050 (COOH), 1726 ($COOCH_3$), 1678 (COOH), 1626 (C=O). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 1.35 т (3H, CH_3CH_2O , J 7.2 Гц), 3.78, 3.82 с (3H, $COOCH_3$), 4.12 к (2H, CH_3CH_2O , J 7.2 Гц), 6.61, 6.65 с (1H, N=C=CH), 6.96–7.99 м (8H, CH_{Ar}), 9.85 с (0.23H, $NH_{E-форма}$), 11.71 с (0.77H, $NH_{Z-форма}$), 12.70 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}C\{^1H\}$, δ_C , м. д.: 14.37, 52.48, 53.04, 63.33, 63.48, 95.92, 98.85, 114.10, 114.39, 119.54, 119.82, 125.58, 125.86, 129.64, 129.76, 130.41, 130.56, 130.87, 130.90, 143.43, 143.51, 146.47, 147.72, 161.69, 162.27, 164.25, 165.90, 166.64, 185.65, 189.04. Найдено, %: С 65.16; Н 5.13; N 3.73. $C_{20}H_{19}NO_6$. Вычислено, %: С 65.03; Н 5.18; N 3.79.

4-[[*(2Z)*-1-Метокси-4-(3-нитрофенил)-1,4-диоксобут-2-ен-2-ил]амино]бензойная кислота (10). Выход 2.89 г (78%), т. пл. 231–232°C (EtOH). ИК спектр, ν , cm^{-1} : 3457 (NH), 3084 (COOH), 1737 ($COOCH_3$), 1682 (COOH), 1610 (C=O). Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 3.80, 3.86 с (3H, $COOCH_3$), 6.67, 6.69 с (1H, N=C=CH), 7.17–8.69 м (8H, CH_{Ar}), 10.24 с (0.35H, $NH_{E-форма}$), 11.79 с (0.65H, $NH_{Z-форма}$), 12.80 уш. с (1H, COOH). Спектр ЯМР $^{13}C\{^1H\}$, δ_C , м. д.: 52.73, 53.23, 94.45, 97.51, 120.33, 120.56, 121.75, 121.78, 126.21, 126.43, 126.72, 130.30, 130.50, 130.54, 130.86, 133.54, 133.59, 139.11, 139.67, 142.74, 142.80, 148.00, 148.13, 148.61, 149.91, 163.84, 165.37, 166.52, 166.54, 184.62, 187.62. Найдено, %: С 58.23; Н 3.88; N 7.47. $C_{18}H_{14}N_2O_7$. Вычислено, %: С 58.38; Н 3.81; N 7.56.

Антиоксидантную активность соединений 1–10 определяли методом окислительного стресса

с использованием биосенсора *E. coli* штамм «Эколюм». Индукция окислительного стресса создавалась путем добавления 3%-ного раствора пероксида водорода (сублетальная концентрация). Измерение флуоресценции проводили с применением микропланшетного ридера Synergy H1 (Biotek, США). В лунку 96-луночного темного непроницаемого планшета помещались 100 мкл питательной среды Бульон LB по Lennox (ООО «ДИА-М», Россия), 50 мкл культуры клеток биосенсора *E. coli* штамм «Эколюм», 25 мкл раствора исследуемого вещества ($1 \cdot 10^{-3}$ мм. соединений, растворенных в 1 мл ДМСО), либо ДМСО (контрольный раствор), а также 25 мкл 3%-ного раствора пероксида водорода. Определение флуоресценции осуществляли после экспозиции в течение 40 мин при 37°C при длине волны возбуждения 490 нм и длине волны флуоресценции 585 нм. Измерение флуоресценции осуществляли с помощью многофункционального гибридного фотометра для микропланшетов SynergyH1 (BioTek Instruments, США) [21]. Результаты статистически обработаны с вычислением критерия Фишера–Стьюдента. Эффект считали достоверным при $p < 0.05$ [22]. Для количественного анализа антиоксидантной активности рассчитывалось ингибирование флуоресцентной активности (ИФА) по формуле (1):

$$\text{ИФА} = (X_1 - X_2)/X_1 \times 100\%, \quad (1)$$

где X_1 – флуоресценция лунки контрольного раствора, содержащего ДМСО; X_2 – флуоресценция лунки с исследуемым соединением.

В качестве эталона сравнения использовали тролокс – водорастворимую форму витамина Е.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

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

Чалков Данил Владимирович, ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-0367-3863>

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

Зыкова Светлана Сергеевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7395-4951>

Намятова Кристина Витальевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7529-9746>

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках государственного задания Пермской государственной фармацевтической академии (тема №720000Ф.99.1.БН62АБ05000, 2024 г.).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Combs G.F., Jr., McClung J.P. The Vitamins. Academic Press, 2017. P. 454.
2. Basset G.J.C., Quinlivan E.P., Ravanel S., Rebeille F., Nichols B.P., Shinozaki K., Seki M., Adams-Phillips L.C., Giovannoni J.J., Gregory 3rd J.F., Andrew D.H. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2004. Vol. 101. N 6. P. 1496. doi 10.1073/pnas.0308331100
3. Pierrel F., Hamelin O., Douki T., Kieffer-Jaquinod S., Muhlenhoff U., Ozeir M., Lill R., Fontecave M. // Chem. Biol. 2010. Vol. 17. N 5. P. 449. doi 10.1016/j.chembiol.2010.03.014
4. Marbois B., Xie L. X., Choi S., Hirano K., Hyman K., Clarke C.F. // J. Biol. Chem. 2010. Vol. 285. N 36. P. 27827. doi 10.1074/jbc.M110.151894
5. Иманова С.Ф. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2007. 24 с.
6. Акберова С.И. // Изв. РАН. Сер. биол. 2002. № 4. С. 477; Akberova S.I. // Biol. Bull. Russ. Acad. Sci. 2002. Vol. 29. N 4. P. 390. doi 10.1023/A:1016871219882
7. Sawalha K. // Arch. Gen. Int. Med. 2018. Vol. 2. N 3. P. 19. doi 10.4066/2591-7951.1000052
8. Hu M.-L., Chen Y.-K., Chen L.-C., Sano M. // J. Nutr. Biochem. 1995. Vol. 6. N 9. P. 504. doi 10.1016/0955-2863(95)00082-B
9. Kluczyk A., Popek T., Kiyota T., De Macedo P., Stefanowicz P., Lazar C., Konishi Y. // Curr. Med. Chem. 2002. Vol. 9. N 21. P. 1871. doi 10.2174/0929867023368872
10. Liang K., Smith E.R., Aoi Y., Stoltz K.L., Katagi H., Woodfin A.R., Rendleman E.J., Marshall S.A., Murray D.C., Wang L., Ozark P.A., Mishra R.K., Hashizume R., Schiltz G.E., Shilatifard A. // Cell. 2018. Vol. 175. N 3. P. 766. doi 10.1016/j.cell.2018.09.027
11. Zeng L.F., Jiang X.H., Sanchez T., Zhang H.S., Dayam R., Neamati N., Long Y.Q. // Bioorg. Med. Chem. 2008. Vol. 16. N 16. P. 7777. doi 10.1016/j.bmc.2008.07.008
12. Nair V., Okello M. // Molecules. 2015. Vol. 20. N 7. P. 12623. doi 10.3390/molecules200712623
13. Гейн В.Л., Назарец О.В., Романова А.В., Бобровская О.В., Махмудов Р.Р. // ЖОХ. 2022. Т. 92. Вып. 8. С. 1163; Gein V.L., Nazarets O.V., Romanova A.V., Bobrovskaya O.V.,

- Makhmudov R.R.* // Russ. J. Gen. Chem. 2022. Vol. 92. N 8. P. 1367. doi 10.1134/S1070363222080011
14. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Дмитриев М.В., Мухомов 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
 15. *Miles H.D.* Pat. US 6683110 B1 (2004). USA.
 16. Андрейчиков Ю.С., Гейн В.Л., Аникина И.Н. // ЖОрХ. 1986. Т. 22. Вып. 8. С. 1749.
 17. Бобровская О.В. Дис. ... докт. фарм. наук. Пермь, 2021. 476 с.
 18. 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
 19. Козлов А.П., Варкентин Л.И., Андрейчиков Ю.С. // ЖОрХ. 1984. Т. 20. Вып. 10. С. 2198.
 20. Гейн В.Л., Бобровская О.В., Дмитриев М.В. // ЖОрХ. 2017. Т. 53. Вып. 6. С. 881; *Gein V.L., Bobrovskaya O.V., Dmitriev M.V.* // Russ. J. Org. Chem. 2017. Vol. 53. N 6. P. 898. doi 10.1134/S1070428017060148
 21. Зыкова С.С., Шустов М.В., Талисманов В.С. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2023. Т. 12. № S4. С. 134; *Zykova S.S., Shustov M.V., Talismanov V.S.* // Drug Development and Registration. doi 10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1655
 22. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз, 1963. С. 81.

Reaction of Aroylpyruvic Acids Methyl Esters with 4-Aminobenzoic Acid. Antioxidant Activity of the Obtained Compounds

V. L. Gein^{1,*}, D. V. Chalkov¹, O. V. Bobrovskaya¹, S. S. Zykova¹, and K. V. Namyatova¹

¹ Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, 614990 Russia
*e-mail: geinvl48@mail.ru

Received July 18, 2024; revised August 24, 2024; accepted August 26, 2024

4-{[(2Z)-4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl]amino}benzoic acids were synthesized by reacting methyl esters of aroylpyruvic acids with 4-aminobenzoic (*p*-aminobenzoic) acid in glacial acetic acid in the presence of anhydrous sodium acetate. 4-{[(2Z)-4-Aryl-1-methoxy-1,4-dioxobut-2-en-2-yl]amino}benzoic acids were synthesized by reacting the above reagents in a mixture of glacial acetic acid–ethanol (1:1) without adding anhydrous sodium acetate. Structure of the obtained compounds was confirmed by ¹H and ¹³C{¹H} NMR and IR spectroscopy. The antioxidant activity of the synthesized compounds was studied.

Keywords: methyl esters of aroylpyruvic acids, *p*-aminobenzoic acid, 4-{[(2Z)-4-aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl]amino}benzoic acids, 4-{[(2Z)-4-aryl-1-methoxy-1,4-dioxobut-2-en-2-yl]amino}benzoic acids, antioxidant activity