

**УДК 547.917 + 542.97**

**DOI 10.29039/2413-1725-2023-9-2-276-283**

## **СИНТЕЗ И ПРОГНОЗИРУЕМАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТИЛОВОГО ЭФИРА И ГИДРАЗИДА 4-ГИДРОКСИБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ**

*Цикалова В. Н., Цикалов В. В., Кальчук А. С.*

*Институт биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «КФУ  
им. В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия  
E-mail: vika.tim@list.ru*

С целью поиска наиболее эффективных условий для синтеза получены метиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты в бензоле и в среде метилового спирта, а также гидразид 4-гидроксibenзойной кислоты гидразином метилового эфира и методом активированных эфиров. Приведены прогнозируемые данные по биологической активности синтезированных соединений, полученные в программе PASSOnline.

**Ключевые слова:** этерификация, гидразинолиз, гидроксикислоты, PASSOnline.

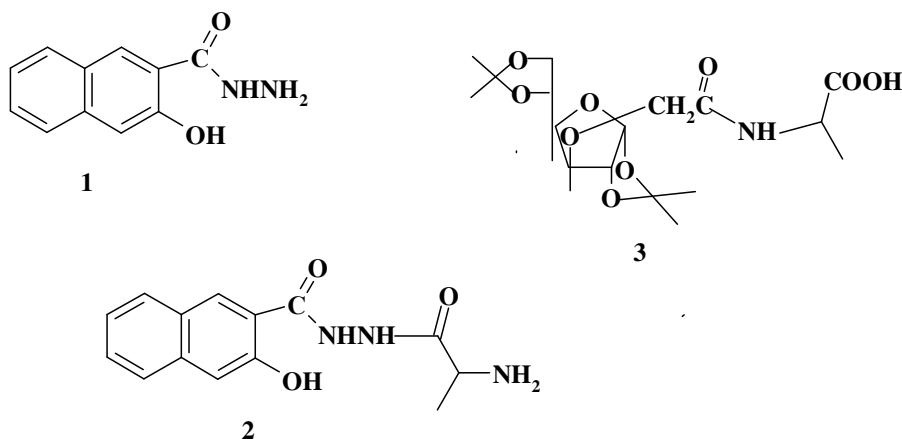
### **ВВЕДЕНИЕ**

Гидроксibenзойные кислоты широко известны, а также изучены как природные компоненты. Обычно они присутствуют в растениях в связанной форме и высвобождаются при гидролизе. Например, 4-гидроксibenзойная кислота в свободном виде обнаруживается в зверобое, витексе, кокосе, ваниле, антильском крыжовнике, нефилтрованном оливковом масле, виноградном вине. Эфиры *n*-гидроксibenзойной кислоты являются парабенами и широко применяются как консерванты пищевой, фармацевтической и косметической промышленности. Так, метиловый эфир *n*-гидроксibenзойной кислоты (Е 218) является пищевой добавкой и обладает антисептическими и антигрибковыми свойствами, этиловый эфир *n*-гидроксibenзойной кислоты – консервант с легким анестезирующим действием на язык (Е 214) [1]. Он используется в косметических и фармацевтических препаратах. Испытания на грызунах показали, что парабены относительно нетоксичны и не накапливаются в организме. Исследования острых, субхронических и хронических эффектов на грызунах также показали, что парабены практически нетоксичны [2, 3]. Парабены быстро всасываются, метаболизируются и выводятся из организма [2].

Поэтому интерес для биологических исследований представляют собой не только сами гидроксibenзойные кислоты как самостоятельные вещества, но и их модификации, такие как эфиры, гидразиды и амиды.

Классическим вариантом этерификации кислот является синтез эфира на основе карбоновых кислот и спиртов в среде органического растворителя в присутствии неорганических кислот или катионита КУ-2, однако для ароматических оксикислот такой подход не дает высокие выходы [4, 5].

Гидразиды карбоновых кислот, в свою очередь, традиционно получают гидразинолизом метиловых или этиловых эфиров кислот. В работе [6] показано применение микроволнового синтеза для данного типа реакций, что существенно повышает выход реакции. Для модификаций карбоксильных групп карбоновых и аминокислот с целью получения гидразидных производных используется метод активированных эфиров в сочетании с карбодимидным методом [7, 8]. Так в работе [9] гидразид 3-гидрокси-2-нафтойной кислоты **1**, полученный гидразинолизом соответствующего метилового эфира, конденсировали с *трет*-бутилоксикарбонил-*L*-аланином (Вос-*L*-аланин) в два этапа. Вос-*L*-Аланин активировали в присутствии 1,5-кратного избытка *N*-гидроксисукцинимид и дициклогексилкарбодимида, а затем отделяли дициклогексилмочевину. После фильтрования полученный раствор активированного эфира соединяли с раствором гидразида 3-гидрокси-2-нафтойной кислоты в ацетонитриле. После выделения был получен соответствующий диацилгидразид **2** с выходом 50 %. Таким же методом активированных эфиров был получен конъюгат **3** с выходом 70 %. Эта методика получения активированных эфиров была использована в данном исследовании как альтернативная гидразинолизу.



Целью данной работы является получение метилового эфира и гидразида 4-гидроксibenзойной кислоты разными подходами, а именно гидразинолизом метилового эфира и методом активированных эфиров, а также расчет прогнозируемой биологической активности полученных соединений с помощью программы PASSOnline [10].

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы: 4-гидроксibenзойная кислота, *N*-гидроксисукцинимид (HOSu), дициклогексилкарбодимид (DCC), метанол.

Анализ состава реакционных смесей, чистоты синтезированных соединений, а также контроль хода реакций осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Kieselgel 60-F254 (Merck) в системе растворителей бензол–пропан-2-ол, 10:1 (А). Вещества обнаруживали визуально по люминесценции в УФ (254 нм).

ИК-спектры сняты с жидких образцов на ИК-спектрофотометре ФСМ-2202, ИК-Фурье спектрометр «Инфраспек».

#### Метил-4-гидроксibenзоат (5).

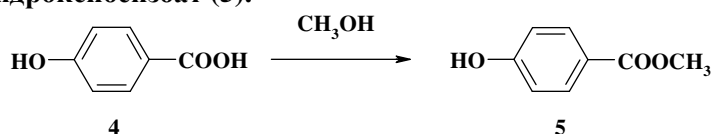


Рис. 1. Схема синтеза эфира 5.

**Вариант 1.** 4-Гидроксibenзойную кислоту массой 13,8 г (0,1 моль) растворили в 50 мл бензола, добавили 5-кратный мольный избыток метанола (20,2 мл; 0,5 моль), 2 мл концентрированной серной кислоты. Смесь кипятили и отделяли воду с использованием ловушки Дина-Старка в течение 6 часов. После отделения воды, органический слой промывали водой 3 раза по 10 мл. Растворитель упаривали, а метил-4-гидроксibenзоат перекристаллизовывали из спирта (рис. 1). Выход полученного соединения 5 составил 13 %. Т. пл. 126–127 °С. Лит. данные: т. пл. 127–128 °С [11].

ИК-спектр ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3279 (O–H), 2963 (O–CH<sub>3</sub>), 1677 (C=O), 1379–1512 (C–H); ( $\delta$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 848 (C–H аром).

**Вариант 2.** 4-Гидроксibenзойную кислоту массой 2 г (0,0145 моль) поместили в метанол объемом 6 мл и добавили 0,5 мл концентрированной серной кислоты. Смесь нагревали на водяной бане в течение 4-х часов до исчезновения исходной кислоты по данным ТСХ. Выпавший осадок эфира 5 отфильтровали, промыли холодным метанолом и высушили. Выход соединения 5 составил 27 %.

#### Гидразид-4-гидроксibenзоат (6).

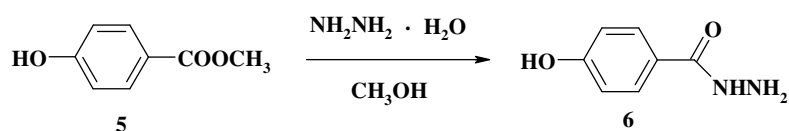


Рис. 2. Схема синтеза гидразида 6 на основе метилового эфира.

**Вариант 1.** Метил-4-гидроксibenзоат массой 0,5 г (0,0033 моль) растворили в 5 мл метанола и добавили 1,5-кратный мольный избыток гидразингидрата (0,25 г, 0,005 моль). Смесь нагревали до кипения метанола на водяной бане в течение 3 часов. Через несколько дней выпавший осадок гидразида отфильтровали, промыв на фильтре 5 мл охлажденного метанола (рис. 2). Выход гидразида 6 составил 48 %. Т. пл. = 265–269 °С. Лит. данные: т. пл. 266–269 °С [6].

ИК-спектр ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3305 (O–H), 3250 (N–H), 1630 (C=O амид I), 1535 (C=O амид II), 1393–1465 (C–H); ( $\delta$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 838 (C–H аром).

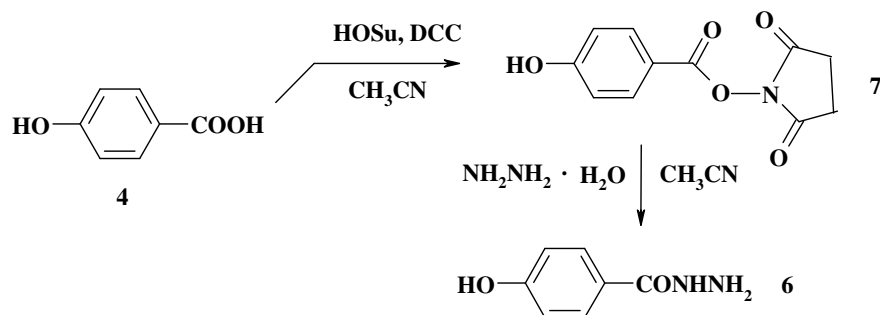
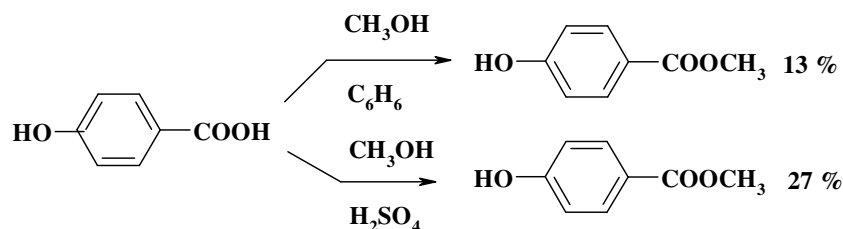


Рис. 3. Получение гидразида **6** через образование соответствующего активированного эфира **7**.

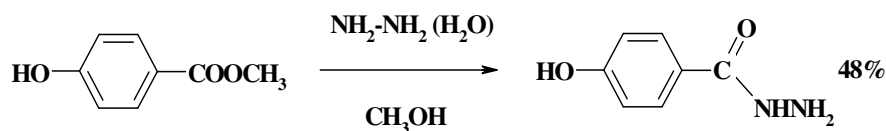
Вариант 2. 4-Гидроксibenзойную кислоту массой 1,0 г (0,0072 моль) растворили в 5 мл ацетонитрила. В полученный раствор добавили 1,24 г (0,0108 моль) N-гидроксисукцинимида и 2,22 г (0,0108 моль) дициклогексилкарбодиимида. Смесь перемешивали до исчезновения исходной кислоты по данным ТСХ. После отделения осадка мочевины в полученный раствор добавили 0,54 г (0,0108 моль) гидразингидрата и перемешивали смесь в течение 1 суток. По окончании реакции полученный гидразид отфильтровали и перекристаллизовали из этилового спирта. Выход соединения **6** составил 64 % (рис. 3).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

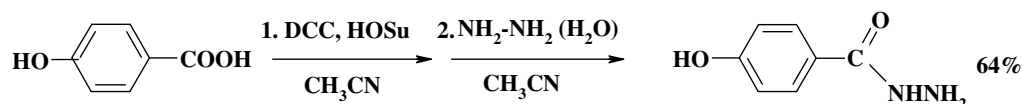
В первом варианте этерификации *n*-гидроксibenзойная кислота взаимодействовала с полуторакратным мольным избытком метанола при кипении в бензоле в качестве растворителя с каталитическим количеством концентрированной серной кислоты. В этом случае выход составил 13 %. Гораздо лучший выход оказался без применения бензола, когда синтез проходил в чистом спирте. В этом случае выход метилового эфира *n*-гидроксibenзойной кислоты составил 27 %.



Гидразид *n*-гидроксibenзойной кислоты вначале получали гидразинолизом метилового эфира соответствующей кислоты полуторократным избытком гидразингидрата в метаноле с выходом гидразида 48 %.



Но лучший результат синтеза гидразида был при использовании метода активированных эфиров. Исходная кислота подвергалась воздействию полуторакратного мольного избытка *N*-гидроксисукцимида и дициклогексилкарбодиимида в ацетонитриле. После исчезновения исходной кислоты по данным тонкослойной хроматографии активированный эфир без выделения подвергался действию гидразингидрата. В этом случае выход гидразида *m*-гидроксibenзойной кислоты составил 64 %.



Для полученных веществ и исходной кислоты оценили прогнозируемую биологическую активность с помощью программы PASSOnline (табл. 1).

**Таблица 1**  
**Оценка биологической активности в программе PASS Online**

Вещество	Pa	Pi	Активность
	0,902	0,004	Antiseborrheic
	0,831	0,006	Membrane permeability inhibitor
	0,872	0,003	Fibrinolytic
	0,847	0,003	Preneoplastic conditions treatment
	0,809	0,030	Phobic disorders treatment
	0,752	0,004	Insulysin inhibitor
	0,793	0,014	Mucositis treatment
	0,858	0,009	Antieczematic
	0,906	0,004	Antiseborrheic
	0,885	0,004	Membrane permeability inhibitor
	0,856	0,004	Fibrinolytic
	0,826	0,003	Preneoplastic conditions treatment
	0,833	0,022	Phobic disorders treatment
	0,722	0,006	Insulysin inhibitor
	0,702	0,024	Mucositis treatment
	0,707	0,043	Antieczematic
	0,731	0,032	Antiseborrheic
	0,654	0,059	Membrane permeability inhibitor
	0,593	0,077	Fibrinolytic
	0,575	0,030	Preneoplastic conditions treatment
	0,746	0,056	Phobic disorders treatment
	0,402	0,087	Insulysin inhibitor
	0,475	0,081	Mucositis treatment

Расчеты в программе PASSOnline для 4-гидроксibenзойной кислоты показали следующие возможные виды биологической активности – «антисеборейная» с вероятностью 90 %, «антиэкземная» с вероятностью 86 %, «ингибитор инсулина» с вероятностью 75%, «фибринолитическая» с вероятностью 87 %, «ингибитор проницаемости митохондриальных мембран» с вероятностью 83 %, «лечение мукозита» с вероятностью 79 %, «лечение фобических расстройств» с вероятностью 81 %, «лечение преднеопластических состояний» с вероятностью 85 %.

Программой PASSOnline для метилового эфира *n*-гидроксibenзойной кислоты были выявлены следующие возможные виды биологической активности – «антисеборейная» с вероятностью 91 %, «антиэкземная» с вероятностью 71 %, «ингибитор инсулина» с вероятностью 72 %, «фибринолитическая» с вероятностью 86 %, «ингибитор проницаемости митохондриальных мембран» с вероятностью 89 %, «лечение мукозита» с вероятностью 70 %, «лечение фобических расстройств» с вероятностью 83 %, «лечение преднеопластических состояний» с вероятностью 82 %.

Программой PASSOnline для гидразида *n*-гидроксibenзойной кислоты были выявлены следующие возможные виды биологической активности – «антисеборейная» с вероятностью 73 %, «ингибитор инсулина» с вероятностью 40 %, «фибринолитическая» с вероятностью 59 %, «ингибитор проницаемости митохондриальных мембран» с вероятностью 65 %, «лечение мукозита» с вероятностью 48 %, «лечение фобических расстройств» с вероятностью 75 %, «лечение преднеопластических состояний» с вероятностью 58 %.

Расчётные значения потенциальной биологической активности *n*-гидроксibenзойной кислотой и её метилового эфира близки. В сравнении с *n*-гидроксibenзойной кислотой и её метиловым эфиром, гидразид *n*-гидроксibenзойной кислоты, проявляет меньшую расчетную биологическую активность, например, «антисеборейная» 73 % против 90 % и 91 % соответственно, «фибринолитическая» 59 % против 77 % и 76 % соответственно, «лечение мукозита» с вероятностью 48 % против 79 % и 70 % соответственно, «ингибитор инсулина» 40 % против 79 % и 70 % соответственно, а «антиэкземная» вообще не прогнозируется.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Для получения метилового эфира 4-гидроксibenзойной кислоты целесообразнее проводить синтез в среде спирта без использования дополнительного растворителя.
2. Гидразид 4-гидроксibenзойной кислоты удобно получать гидразинолизом как метилового эфира кислоты, так и ее активированного эфира, но в последнем случае выход выше, поскольку отсутствует стадия выделения активированного эфира как самостоятельного соединения.

## Список литературы

1. Codex alimentarius fao/who Coordination Committee for Europe – CCEURO. – Режим доступа: <https://web.archive.org>

2. Safety assessment of esters of *p*-hydroxybenzoic acid (parabens) / M. G. Soni, I. G. Carabin, G. A. Burdock // *Food and Chemical Toxicology journal*. – 2005. – Vol. 43, № 7. – P. 985–1015.
3. Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature / M. G. Soni, S. L. Taylor, N. A. Greenberg [et al.] // *Food and Chemical Toxicology journal*. – 2002. – Vol. 40, № 10. – P. 1335–1373.
4. Храпкина М. Н. Практикум по органическому синтезу / М. Н. Храпкина – Л.: Химия, 1977. – С. 150–152.
5. Органикум. Практикум по органической химии. Том II / Г. Беккер, В. Бергер, Г. Домшке [и др.] // М.: Мир, 1979. – С. 74–85.
6. Microwave assisted synthesis of biologically active 4-hydroxy-7 $\nu$ -(phenylcarbonyl)-2*H*-1,2-benzothiazine-3-carbohydrazide 1,1-dioxide derivatives / M. Zaheer, M. Zia-Ur-Rehman, S. Rahman [et al.] // *J. Chil. Chem. Soc.* – 2012. – Vol. 57, № 4. – P. 1492–1496.
7. Якубке Х.-Д. Аминокислоты. Пептиды. Белки. Пер. с нем. к.х.н. Н. П. Запезаловой, к.х.н. Е. Е. Максимова, под ред. д.х.н., проф. Ю. В. Митина / Х.-Д. Якубке, Х. Ешкайт – М.: Мир, 1985. – С. 146–153.
8. Гершкович А. А. Синтез пептидов. Реагенты и методы / А. А. Гершкович – Киев: Наукова думка, 1987. – 264 с.
9. Synthesis of conjugates of glycoamino acids and glycopeptides with carboxylic acid hydrazides / A. E. Zemlyakov, V. O. Kur'yanov, V. N. Tsikalova // *Chemistry of natural compounds*. – 1997. – Vol. 33, № 5. – P. 568–570.
10. Pharma expert predictive services «PASS online» [Electronic resource]: FSBI «Research Institute of biomedical chemistry named after V.N. Orekhovich» The Russian Academy of medical Sciences. – Mode of access: URL: <http://pharmaexpert.ru/PASSOnline>.
11. Open Melting Point Dataset / J. Bradley, A. Williams, S. I. D. Andrew [et al.] // Figshare. – 2014. – Режим доступа: <https://figshare.com/articles/dataset>.

## **SYNTHESIS AND PREDICTED BIOLOGICAL ACTIVITY OF METHYL ESTER AND HYDRAZIDE OF 4-HYDROXYBENZOIC ACID**

***Tsikalova V. N., Tsikalov V. V., Kalchuk A. S.***

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia Federation  
E-mail: vika.tim@list.ru*

In order to find the most efficient conditions for the synthesis methyl ester of 4-hydroxybenzoic acid was obtained in benzene and pure alcohol. Hydrazide of 4-hydroxybenzoic acid has also been prepared by two approaches hydrazinolysis of methyl ester of corresponding acid and the activated ester method. In the first variant of the esterification, *p*-hydroxybenzoic acid reacted with a 1.5-fold excess of methanol by boiling the benzene solvent with a small amount of concentrated sulfuric acid. In this case, the yield was 13 %. A much better yield was found without the use of benzene, when the synthesis took place in pure alcohol. In this case, the yield of *p*-hydroxybenzoic acid methyl ester was 27 %. Hydrazide of *p*-hydroxybenzoic acid was first obtained by hydrazinolysis of the methyl ester of the corresponding acid with a 1,5-fold excess of hydrazine hydrate in methanol with a yield of 48 % hydrazide of *p*-hydroxybenzoic acid.

But the best result in the synthesis of hydrazide was when using the method of activated esters. The starting acid was exposed to a 1,5-fold excess of *N*-hydroxysuccinimide and dicyclohexylcarbodiimide in acetonitrile. The activated ester was subjected to the action of hydrazine hydrate without stages separation. In this case, the yield of hydrazide of *p*-hydroxybenzoic acid was 64 %.

The resulting substances, together with the original acid, were tested for predicted biological activity using the PASSOnline program. The calculated values of the potential biological activity of *p*-hydroxybenzoic acid and its methyl ester turned out to be the same. Compared to *p*-hydroxybenzoic acid and its methyl ester, *p*-hydroxybenzoic acid hydrazide exhibits less calculated biological activity. For example, "anti-seborrheic" 73 % compared 90 % for *p*-hydroxybenzoic acid, "fibrinolytic" 59 % compared 77 % for *p*-hydroxybenzoic acid, "treatment of mucositis" with a probability of 48 % compared 79 % for *p*-hydroxybenzoic acid, "insulin inhibitor" 40 % compared 79 % for *p*-hydroxybenzoic acid, and "anti-eczema" is not predicted at all.

**Keywords:** esterification, hydrazinolysis, hydroxy acids, PASSOnline.

### References

1. Codex alimentarius fao/who Coordination Committee for Europe – CCEURO.
2. Soni M. G., Carabin I. G., Burdock G. A. Safety assessment of esters of *p*-hydroxybenzoic acid (parabens), *Food and Chemical Toxicology journal*, **43(7)**, 985 (2005).
3. Soni M. G., Taylor S. L., Greenberg N. A., Burdock G. A. Greenberg. Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature M. G., *Food and Chemical Toxicology journal*, **40(10)**, 1335 (2002).
4. Hramkina M. N. *Workshop on organic synthesis*. (Leningrad: Chemistry, 1977) (in Russ.)
5. Becker G., Berger V., Domshke G. *Organicum. Workshop on organic chemistry*. (V 2. Moscow: Mir, 1979) (in Russ.)
6. Zaheer M., Zia-Ur-Rehman M., Rahman S., Ahmed N., And Chaudhary M. N. Microwave assisted synthesis of biologically active 4-hydroxy-7 $\nu$ -(phenylcarbonyl)-2*H*-1,2-benzothiazine-3-carbohydrazide 1,1-dioxide derivatives, *J. Chil. Chem. Soc.*, **57(4)**, 1492 (2012).
7. Jakubke H.-D., Eshkayt H. *Amino acids. Peptides*. (Moscow: Mir, 1985) (in Russ.)
8. Gershkovich A. A. *Synthesis of peptides. Reagents and methods*. (Kyiv: Naukova dumka, 1987) (in Russ.)
9. Zemlyakov A. E., Kur'yanov V. O., Tsikalova V. N., Chirva V. Y. Synthesis of conjugates of glycoamino acids and glycopeptides with carboxylic acid hydrazides, *Chemistry of natural compounds*, **33(5)**, 568 (1997).
10. Pharma expert predictive services «PASS online» [Electronic resource]: FSBI «Research Institute of biomedical chemistry named after V. N. Orekhovich» The Russian Academy of medical Sciences. –Mode of access: URL: <http://pharmaexpert.ru/PASSOnline>.
11. Bradley J., Williams A., Andrew S. I. D. Open Melting Point Dataset, *Figshare*, (2014). <https://figshare.com/articles/dataset>.