

УДК 547.828.3; 632.95

UDC 547.828.3; 632.95

02.00.00 Химические науки

Chemical sciences

СИНТЕЗ ЗАМЕЩЕННЫХ ИЗОКСАЗОЛО[5,4-*b*]ПИРИДИНОВ И ИХ АНТИДОТНАЯ АКТИВНОСТЬ¹

SYNTHESIS OF SUBSTITUTED ISOXAZOLO[5,4-*b*]PYRIDINE AND THEIR ANTIDOTE ACTIVITY

Дядюченко Людмила Всеволодовна

к.х.н., доцент

РИНЦ SPIN-код 1135-3336

ludm.dyadiuchenko@yandex.ru

Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений, Краснодар, Россия

Dyadyuchenko Lyudmila Vsevolodovna

Cand. Chem. Sci, associate professor

RSCI SPIN-code 1135-3336

ludm.dyadiuchenko@yandex.ru

All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection, Krasnodar, Russia.

Дмитриева Ирина Геннадиевна

к.х.н., доцент

РИНЦ SPIN-код 6882-9695

irina.bona.mente@gmail.com

Dmitrieva Irina Gennadievna

Cand. Chem. Sci, associate professor

RSCI SPIN-code 6882-9695

irina.bona.mente@gmail.com

Заводнов Вячеслав Сергеевич

к.х.н., доцент

РИНЦ SPIN-код 2448-3231

zavodnov52@mail.ru

Zavodnov Vaycheslav Sergeevich

Cand. Chem. Sci, associate professor

RSCI SPIN-code 2448-3231

zavodnov52@mail.ru

Макарова Наталья Анатольевна

Старший преподаватель

РИНЦ SPIN-код 8364-2019

makarovanatalya@mail.ru

Кубанский государственный аграрный университет, Краснодар, Россия

Makarova Natalya Anatolievna

Senior lecturer

RSCI SPIN-code: 8364-2019

makarovanatalya@mail.ru

Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia.

С целью разработки новых гербицидных антидотов для вегетирующих растений подсолнечника синтезирована группа новых химических соединений, относящихся к производным изоксазолопиридинов, и изучена их антидотная активность в лабораторном и полевом опыте. Найденны соединения с высоким антидотным эффектом

To develop the novel herbicide antidotes for the sunflower vegetative plants, the group of chemical compounds, belonging to the derivatives of isoxalopyrazolopyridines was synthesized and their antidote activity both in the laboratory and field experiments was studied. The compounds with a high antidote effect were found

Ключевые слова: СИНТЕЗ, ИЗОКСАЗОЛОПИРИДИНЫ, ГИДРОКСИЛАМИН, КАРБОКСАМИДЫ, ЯМР СПЕКТРЫ, МАСС-СПЕКТРЫ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Keywords: SYNTHESIS, ISOXAZOLOPYRIDINE, HYDROXYLAMINE, CARBOXAMIDES, NMR SPECTRUM, MASS-SPECTRUM, BIOLOGICAL ACTIVITY

Doi: 10.21515/1990-4665-122-034

Среди важнейших задач, стоящих перед современными агрономическими, химическими и экологическими науками приоритетными являются разработка простых и технологичных методов

¹ Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-44-230215 p_a и администрации Краснодарского Края

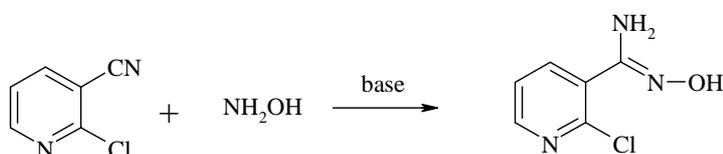
синтеза новых, экологически безопасных органических соединений с целью расширения ассортимента химических средств защиты растений и, в частности, антидотов – веществ, снижающих фитотоксическое действие гербицидов на чувствительные сельскохозяйственные культуры.

Задача наших исследований состоит в поиске эффективных средств защиты подсолнечника от фитотоксического воздействия гербицида 2,4-Д. Подсолнечник в высокой степени чувствителен к вышеназванному гербициду и в случаях непреднамеренного попадания последнего на культуру возможны существенные потери урожая. Нами проводится синтез новых соединений и отбор потенциальных антидотов, способных снизить эти потери.

Азотсодержащие гетероциклы представляют собой весьма интересный класс соединений по причине своей разнообразной и высокой биологической активности. Яркими их представителями являются производные пиразолопиридинов, на основе которых создано и широко применяется большое количество лекарственных средств [1], они проявляют также свойства регуляторов роста подсолнечника [2], сахарной свёклы [3], а также антидотов [4]. В настоящей работе нами осуществлён синтез и изучены антидотные свойства кислородсодержащих аналогов пиразолопиридинов - производных изоксазолопиридинов.

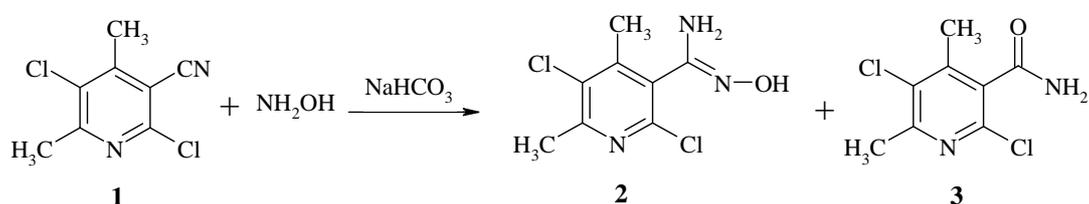
Изоксазоло[5,4-*b*]пиридины в научной литературе представлены лишь единичными публикациями [5]. Для их синтеза используют реакцию 2-хлорникотинонитрилов с гидроксиламином в присутствии основания, приводящую к образованию на первой стадии соответствующего амидоксима:

Схема 1



Ранее нами было изучено взаимодействие 4,6-диметил-2,5-дихлорникотинитрила (соединение **1**, схема 2) с гидроксиламином в среде водного этанола в присутствии бикарбоната натрия в качестве основания [6]. Установлено, что независимо от условий проведения реакции: водный этанол (кипячение в течение 18 ч), водный метанол (кипячение, 28 ч), водный метанол (нагревание 40-45° С, 45 ч), во всех случаях из реакционной массы выделены два продукта, один из которых - целевой амидоксим **2**, второй – 4,6-диметил-2,5-дихлорникотиноиламид **3**:

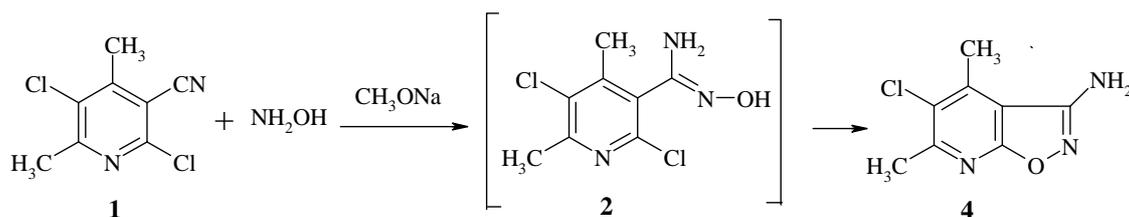
Схема 2



Следовательно, наряду с присоединением гидроксиламина по цианогруппе, протекает конкурирующая реакция – щелочной гидролиз цианогруппы до амидной, причём последняя осуществляется преимущественно, т.к. соотношение продуктов **2** и **3** составляло 1 - 2,2...2,5.

В данной работе, чтобы исключить возможность гидролиза, реакцию проводили в безводных условиях. Для этого в качестве растворителя использовали безводный метанол, в качестве основного катализатора – метилат натрия. Реакция протекает при комнатной температуре, причём не останавливается на стадии образования 4,6-диметил-2,5-дихлорпиридил-3-амидоксима **2**, а осуществляется внутримолекулярное замещение атома хлора в положении 2 гидроксильной группой с гетероциклизацией (схема 3):

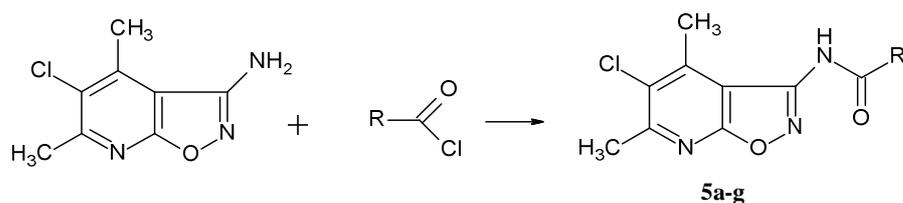
Схема 3



Время протекания реакции 8 часов, выход 3-амино-4,6-диметил-5-хлоризоксазоло[5,4-*b*]пиридина составил 70 %.

Далее взаимодействием изоксазолопиридина **4** с хлорангидридами карбоновых кислот нами получена серия производных **5a-g** (Схема 4). Реакция осуществляется при комнатной температуре или при нагревании в среде безводного бензола в присутствии акцептора хлороводорода (Et₃N) за 5-8 ч:

Схема 4



Где **5a** R = 3-нитро-4-хлорфенил; **5b** R = 3-хлорфенил; **5c** R = 4-метилфенил; **5d** R = циклопропил; **5e** R = бромметил; **5f** R = 2(циклопентил)этил; **5g** R = изопротил.

Структура всех синтезированных соединений подтверждена элементным анализом, данными масс-спектрометрии и ЯМР ¹H-спектроскопии.

В таблице 1 приведены физико-химические характеристики синтезированных 3-амино-4,6-диметил-5-хлоризоксазоло[5,4-*b*]пиридина **4** и карбоксамидов **5a-g** на его основе.

Таблица 1 – Физико-химические константы соединений **4, 5a-g**

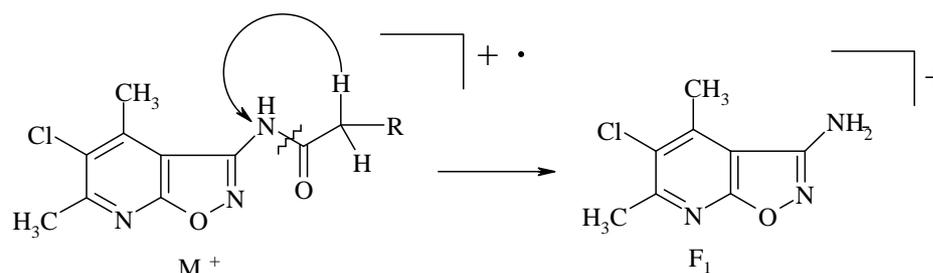
Соединение	Брутто-формула	Найдено Вычислено			Тпл., °С	Выход, %
		С, %	Н, %	Н, %		
4	$C_8H_8ClN_3O$	<u>48,33</u> 48,62	<u>4,16</u> 4,08	<u>21,45</u> 21,26	215-216	69
5a	$C_{15}H_{10}Cl_2N_4O_4$	<u>47,40</u> 47,27	<u>2,58</u> 2,64	<u>14,91</u> 14,70	236-237	69
5b	$C_{15}H_{11}Cl_2N_3O_2$	<u>53,36</u> 53,59	<u>3,18</u> 3,30	<u>12,71</u> 12,50	185-186	65
5c	$C_{16}H_{14}ClN_3O_2$	<u>60,70</u> 60,86	<u>4,51</u> 4,47	<u>13,44</u> 13,31	171-172	74
5d	$C_{12}H_{12}ClN_3O_2$	<u>54,11</u> 54,25	<u>4,49</u> 4,55	<u>15,68</u> 15,81	168-169	70
5e	$C_{10}H_9BrClN_3O_2$	<u>37,45</u> 37,70	<u>2,79</u> 2,85	<u>13,36</u> 13,19	179-180	62
5f	$C_{16}H_{20}ClN_3O_2$	<u>59,94</u> 59,72	<u>6,48</u> 6,26	<u>13,37</u> 13,06	189-190	54
5g	$C_{12}H_{14}ClN_3O_2$	<u>53,61</u> 53,84	<u>5,40</u> 5,27	<u>15,88</u> 15,70	164-165	61

В спектрах ЯМР 1H соединений присутствуют все необходимые сигналы протонов в характерных для них областях (таблица 2).

Таблица 2 – Данные ЯМР 1H спектров соединений **4, 5a-g**

Соединение	Спектр ЯМР 1H (500МГц, DMSO- d_6), δ , м. д. (J, Гц)
4	2,61 (3H, с, 4- CH_3); 2,65 (3H, с, 6- CH_3); 6,24 (2H, уш. с, NH_2).
5a	2,53 (3H, с, 4- CH_3); 2,68 (3H, с, 6- CH_3); 7,25 (1H, уш. с, NH); 7,68...8,72 (3H, м, Ar-H).
5b	2,53 (3H, с, 4- CH_3); 2,68 (3H, с, 6- CH_3); 7,25 (1H, уш. с, NH); 7,38...8,21 (4H, м, Ar-H).
5c	2,35 (3H, с, 4- CH_3 Ar); 2,48 (3H, с, 4- CH_3); 2,60 (3H, с, 6- CH_3); 7,18 (1H, уш. с, NH); 7,26...7,71 (4H, м, Ar-H).
5d	1,09...1,25 (4H, м, 2 CH_2 циклопропана); 2,00 (3H, с, 4- CH_3); 2,29 (3H, с, 6- CH_3); 2,56...2,59 (1H, м, 1H циклопропана); 6,19 (1H, уш. с, NH).
5e	2,60 (3H, с, 4- CH_3); 2,75 (3H, с, 6- CH_3); 4,12 ((2H, с, CH_2); 8,45 (1H, уш. с, NH).
5f	1,18 (4H, м, 2,5- CH_2 циклопентана); 1,41 (2H, м, CH_2CH_2); 1,96 (4H, м, 3,4- CH_2 циклопентана); 2,26 (2H, м, CH_2CH_2); 2,38 (3H, с, 4- CH_3); 2,52 (3H, с, 6- CH_3); 7,80 (1H, уш. с, NH).
5g	1,01 (6H, л, $CH(CH_3)_2$); 2,40 (3H, с, 4- CH_3); 2,58 (3H, с, 6- CH_3); 3,28 (1H, м, $CH(CH_3)_2$); 7,69 (1H, уш. с, NH).

3-Амино-4,6-диметил-5-хлоризоксазоло[5,4-*b*]пиридин **4** устойчив под действием электронного удара, в его масс-спектре пик молекулярного иона имеет максимальную интенсивность. Пики молекулярных ионов карбоксамидов **5a-g** в масс-спектрах тоже проявляются, их интенсивность варьирует от 10 до 65 %. Для первичной фрагментации характерно расщепление связи HN – C(O) с миграцией атома водорода от α -углеродного атома на группу HN:



Последующая более глубокая фрагментация отражена в таблице 3.

Таблица 3 – Данные масс-спектров соединений **4, 5a-g**

Соединение	m/z (относительная интенсивность, %)
4	197 [M] ⁺ (100); 167 [M-NO] ⁺ (49); 133 [167-Cl] ⁺ (19); 119 [133-CH ₃] ⁺ (11)/
5a	380 [M] ⁺ (14); 197 [F ₁] ⁺ (21); 183 [M- F ₁] ⁺ (100); 153 [183-NO] ⁺ (34); 137 [183-NO ₂] ⁺ .
5b	335 [M] ⁺ (10); 182 [F ₁ -CH ₃] ⁺ (9); 139 [M- F ₁] ⁺ (100); 111 [139-CO] ⁺ (33)/
5c	315 [M] ⁺ (19); 197 [F ₁] ⁺ (25); 118 [M- F ₁] ⁺ (100); 103 [118- CH ₃] ⁺ (21).
5d	265 [M] ⁺ (65); 224 [M-циклопропил] ⁺ (14); 197 [F ₁] ⁺ (58); 182 [F ₁ - CH ₃] ⁺ (15); 68 [M-F ₁] ⁺ (100).
5e	318 [M] ⁺ (56); 238 [M-Br] ⁺ (46); 224 [M-CH ₂ Br] ⁺ (68); 197 [F ₁] ⁺ (100); 167 [M-NO] ⁺ (21); 133 [167-Cl] ⁺ (16).
5f	321 [M] ⁺ (57); 252 [M-циклопентил] ⁺ (25); 197 [F ₁] ⁺ (63); 182 [F ₁ - CH ₃] ⁺ (16); 97 [M-F ₁] ⁺ (100).
5g	267 [M] ⁺ (38); 224 [M-C ₃ H ₇] ⁺ (18); 197 [F ₁] ⁺ (59); 70 [M-F ₁] ⁺ (100).

Следующим этапом нашей работы было изучение антидотной активности синтезированных соединений на подсолнечнике по отношению к 2,4-Д.

Первичную оценку антидотной активности проводили на проростках подсолнечника. Для этого проросшие семена подсолнечника с длиной зародышевого корешка 2-4 мм помещали на 1 ч в раствор 2,4-Д в

концентрации 10^{-3} % в расчёте получения 40-60 % ингибирования роста гипокотилия. После гербицидного воздействия проростки промывали водой и помещали в растворы испытуемых на антидотную активность веществ в концентрациях 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} и 10^{-5} % (вариант гербицид+антидот). Спустя 1 ч семена промывали водой и дальнейшее проращивание семян проводили в термостате в течение 3 суток при температуре 28 °С.

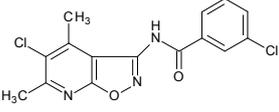
Семена варианта «гербицид» (эталон сравнения) выдерживали 1 ч в растворе 2,4-Д в концентрации 10^{-3} % и 1 ч в воде. Семена контрольного варианта 2 часа выдерживали в воде. Повторность опыта трехкратная. В каждой повторности использовали по 20 штук семян.

Защитный (антидотный) эффект определяли по увеличению длины гипокотилия и корня в варианте гербицид+антидот относительно названных величин в варианте «гербицид» (эталон). Отобранные в ходе лабораторного опыта активные соединения продолжили исследовать в полевых условиях.

В полевых экспериментах растения подсолнечника в наиболее чувствительной фазе (10-16 листьев) обрабатывали 2,4-Д в дозах, обеспечивающих 40-60 % снижение его урожайности. Через сутки после воздействия гербицидом на растения наносили антидоты в дозе 30 г/га. Площадь опытной делянки 2,8 м², повторность пятикратная. Антидотную активность оценивали по увеличению урожая семян подсолнечника в варианте гербицид + антидот в сравнении с эталоном.

Из 8 синтезированных соединений высокую антидотную активность проявило вещество **5b**. Полученные результаты приведены в табл. 4.

Таблица 4. Антидотная активность соединения **5b** в дозе 30 г/га по отношению к 2,4-Д на растениях подсолнечника

Антидот	Доза антидота, г/га	Варианты опыта			
		2,4-Д (гербицид)	2,4-Д + антидот		
			урожайность, ц/га	урожайность, ц/га	антидотная активность
		ц/га			%
 <p>Соединение 5b</p>	30	14,9	20,5	5,6	38*
Контроль	-	33,6	-	-	-

*Различия между вариантами достоверны при $P = 0,90$

Таким образом, проведённое исследование позволило выявить вещество, способное снижать потери урожайности подсолнечника от воздействия гербицида в чрезвычайных ситуациях и заслуживающее в дальнейшем более детального изучения.

Экспериментальная часть

Элементный анализ на С, Н, N синтезированных соединений выполнен на анализаторе Carlo-Erba (мод. 1106). Масс-спектры электронного удара записаны на приборе «Finnigan MAT INCOS 50» (энергия ионизирующего излучения — 70 эВ). Для спектров ЯМР ^1H использовали прибор Jeol 400 МГц. Температуры плавления определены на нагревательном приборе Stuart SMP 30.

Синтез 3-амино-5-хлор-4,6-диметилизоксазоло[5,4-*b*]пиридина (4)

К приготовленному раствору метилата натрия из 1,05 г (18 ммоль) металлического натрия и 60 мл безводного метанола, добавляют 1,26 г (18 ммоль) солянокислого гидроксилamina и перемешивают 0,5 ч при комнатной температуре, затем вносят в реакционную смесь 3,63 г (18 ммоль) 4,6-диметил-2,5-дихлорникотинонитрила **1** и продолжают перешивание ещё 8 ч. Образовавшийся осадок отфильтровывают, после

перекристаллизации из этанола получают 2,5 г (70 %) целевого соединения **4** с т. пл. = 215-216 °С.

Общая методика синтеза N-{5-хлор-4,6-диметилизоксазоло[5,4-*b*]}пиридил-3-}-карбоксамидов (5a-g**)**

Смесь эквимольных количеств 3-амино-5-хлор-4,6-диметилизоксазоло[5,4-*b*] пиридина **4**, триэтиламина и соответствующего хлорангидрида карбоновой кислоты в среде безводного бензола перемешивают при комнатной температуре или нагревают в течение 6-9 ч. Из реакционной массы осадок отфильтровывают, сушат. После перекристаллизации получают целевое соединение **5a-g**.

Литература

1. Gouda M.A. Unifity of 3-Amino-4,5-dimethyl-1*H*- pyrazolo[3,4-*b*]pyridine in Heterocyclic Synthesis / M.A. Gouda // J. Heterocyclic Chem. 2011. V 48. № 1. p. 1-10.
2. Дмитриева И.Г., Дядюченко Л.В., Стрелков В.Д., Макарова Н.А. Пат. РФ, № 2357966. N-замещённые пиразоло-[3,4-*b*]пиридил-3-сульфонамиды, проявляющие рострегулирующую активность. Опубликовано 10.06.2009 г.
3. Назаренко Д.Ю., Стрелков В.Д., Дядюченко Л.В., Дмитриева И.Г. Пат. РФ, № 2338377. Способ стимулирования роста сахарной свеклы регулятором роста. Опубликовано 20.11.2008 г.
4. Стрелков В.Д. Антидоты гербицида 2,4-Д на подсолнечнике / В.Д. Стрелков, Л.И. Исакова, Л.В. Дядюченко., Т.И., Д.Ю. Назаренко // Защита и карантин растений. 2011. № 5. с. 29-31.
5. Dunn A.D. The Addition of Hydroxylamine to Derivatives and Halopyridine Carboxylic Acids / A.D. Dunn // Z. Chem. 1987. V. 27. № 1. p. 337-338.
6. Дмитриева И.Г. Особенности взаимодействия некоторых 2-хлорникотинитрилов с гидроксиламином. Синтез 3-(1,2,4-оксадиазолил-3)-пиридинов и их фрагментация под действием электронного удара / И.Г. Дмитриева, Л.В. Дядюченко, Е.А. Кайгородова // Изв. Вузов. Химия и хим. технол. 2005. Т. 48. № 11. с. 14-17.

References

1. Gouda M.A. Unifity of 3-Amino-4,5-dimethyl-1*H*- pyrazolo[3,4-*b*]pyridine in Heterocyclic Synthesis / M.A. Gouda // J. Heterocyclic Chem. 2011. V 48. № 1. r. 1-10.
2. Dmitrieva I.G., Djadjuchenko L.V., Strelkov V.D., Makarova N.A. Pat. RF, № 2357966. N-zameshjonnye pirazolo-[3,4-*b*]piridil-3-sul'fonilamidy, projavl'jajushhie rostregulirujushhuju aktivnost'. Opublikovano 10.06.2009 g.
3. Nazarenko D.Ju., Strelkov V.D., Djadjuchenko L.V., Dmitrieva I.G. Pat. RF, № 2338377. Sposob stimulirovanija rosta saharnoj svekly reguljatorom rosta. Opublikovano 20.11.2008 g.

4. Strelkov V.D., Isakova L.I., Djadjuchenko L.V., Chubenko T.I., Nazarenko D.Ju. Antidoty gerbicide 2,4-D na podsolnechnike // Zashhita i karantin rastenij. 2011. № 5. s. 29-31.

5. Dunn A.D. The Addition of Hydroxylamine to Derivatives and Halopyridine Carboxylic Acids / A.D. Dunn // Z. Chem. 1987. V. 27. № 1. r. 337-338.

6. Dmitrieva I.G. Osobennosti vzaimodejstvija nekotoryh 2-hlornikotinonitrilov s gidroksilaminom. Sintez 3-(1,2,4-oksadiazolil-3)-piridinov i ih fragmentacija pod dejstviem jelektronogo udara / I.G. Dmitrieva, L.V. Djadjuchenko, E.A. Kajgorodova // Izv. Vuzov. Himija i him. tehnol. 2005. T. 48. № 11. c. 14-17.