

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра органической и биоорганической химии

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ 3-АРИЛ-1-[(3(4))-ПИРИДИНИЛ]-2-ПРОПЕН-1-  
ОНОВ С N- И С-НУКЛЕОФИЛАМИ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 2 курса 251 группы

направления 04.04.01-«Химия»

Институт химии

Смирнова Антона Константиновича

Научный руководитель

профессор, д.х.н., доцент \_\_\_\_\_ Н.В. Пчелинцева

Зав. кафедрой

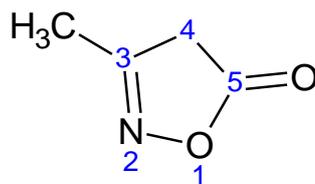
профессор, д.х.н., профессор \_\_\_\_\_ А.Ю. Егорова

Саратов 2022

## Введение

Гетероциклы, содержащие в своем составе атом кислорода или азота, либо оба гетероатома, представляют важнейшие, в плане разнообразия биологического применения, соединения. Синтез веществ с изоксазольным фрагментом в структуре активно привлекает к себе внимание учёных. Во многом это объясняется биологической активностью данных соединений и широким спектром применения в промышленных синтезах. Изоксазолин-5-оны - это пятичленные гетероциклы, способные принимать участие в различных превращениях благодаря своей реакционной способности:

- представляют собой метиленактивные формы с сильно кислым С4-Н;
- имеют 3 потенциальных нуклеофильных центра N2, С4 и экзоциклический атом кислорода карбонила, но обычно наиболее реакционноспособны при N2 или С4, поэтому их иногда называют амбидентными нуклеофилами;
- имеют слабую связь N-O, которая при расщеплении служит внутренним окислителем;
- они могут легко исключить молекулу CO<sub>2</sub> из своей структуры, что может стать причиной дальнейших преобразований.



**Рис. 1** – 3-метилизоксазолин-5-он.

Вследствие такого многообразия реакционной способности изоксазолин-5-оны обнаруживаются в ряде природных продуктов. Их производные являются кандидатами в лекарственные вещества и используются для разработки новых материалов. В этом заключается актуальность работы с подобными системами.

Однако химия арилиденизоксазолинонов изучена довольно скудно, несмотря на возможность модификации структур для дальнейшего изучения.

Производные изоксазол-5-онов могут служить универсальным строительным блоком в направленном органическом синтезе.

## 2. Цель работы и обсуждение результатов

Основываясь на присутствии изоксазол-5-онов в природе, в дополнение к растущему количеству доказательств, подтверждающих их потенциальное применение в разработке лекарственных препаратов, гербицидов и удобрений, можно утверждать, что этот гетероцикл до сих пор важен, как в разработке синтетических методик его получения, так и в дальнейших преобразованиях.

Однако 3-метилизоксазолы изучены не так широко, как 3-арилизоксазолы. 1,5-Дикарбонильные соединения, которые являются перспективными в дальнейших превращениях для создания новых веществ, на основе халконов изоксазолона, до сих пор не получены. Поэтому, целью работы является осуществить синтез новых 1,5-дикарбонильных соединений на основе 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-онов.

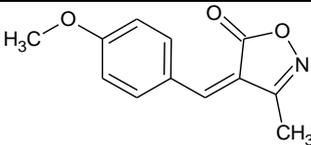
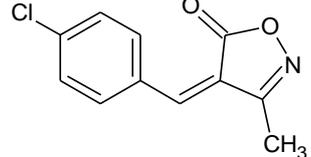
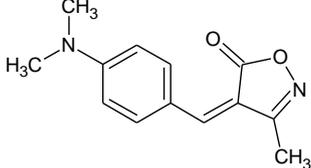
Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- провести обзор литературы по синтезу 4-арилиденизоксазолонов;
- осуществить оптимизацию условий синтеза 3-метил-4-арилиденизоксазол-5-онов;
- выполнить оценку биологической активности синтезированных соединений.
- разработать условия синтеза новых 1,5-дикарбонильных соединений на основе 4-арилиденизоксазол-5-онов;
- идентифицировать полученные соединения физико-химическими методами, включая спектральные.

## 2.1. Оптимизация условий получения исходных 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-онов.

4-Арилиден-3-метилизоксазол-5-оны получены по известной методике, исходя из эквимольных количеств гидроксилamina солянокислого, ацетоуксусного эфира и арилальдегидов в воде в присутствии каталитических количеств винной кислоты. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Характеристика реакций по известной методике

№	Структурная формула	Время реакции, мин (лит./ <u>эксп.</u> )	Выход, % (лит. / <u>эксп.</u> )
4a		60 / <u>60</u>	85 / <u>34</u>
4b		120 / <u>120</u>	80 / <u>28</u>
4c		85 / <u>80</u>	85 / <u>31</u>

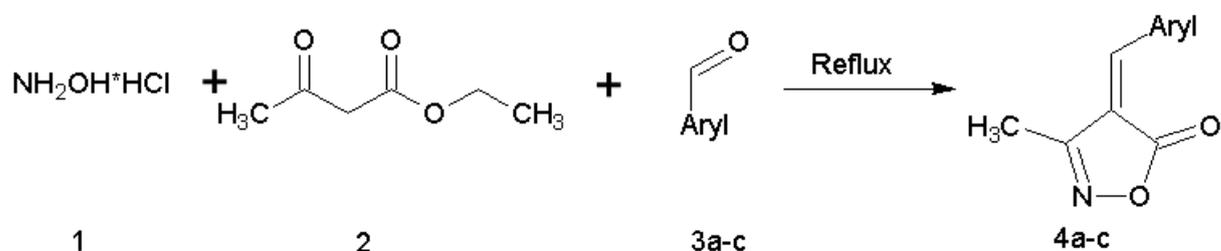
Несмотря на успешность проведённых синтезов и доказанный элементными и спектральными данными факт получения именно арилиденизоксазолонов, в данной методике имелся ряд существенных недостатков:

1. реакция протекала долго, относительно других, более сложных методик синтеза;
2. низкие выходы продукта тормозили бы дальнейшие исследования и расходовали ценные реактивы;
3. в заявленное время халкон выпадал в осадок, но согласно ТСХ, арилальдегиды оставались в реакционной системе, даже при длительном перемешивании;

4. согласно используемой методике, перекристаллизацию проводили из этанола, а в других источниках этанол и иные спирты использовали в качестве растворителей в синтезе.

Оптимизацию методики синтеза арилиденизоксазолонов проводили, изменив некоторые параметры: соотношение используемых реагентов, растворители и катализатор, температурный режим. В ходе экспериментов с температурным режимом и катализатором установлено, что реакция способна протекать за несколько минут и в отсутствие катализатора. Катализ осуществлялся протоном соляной кислоты. Для ускорения этого процесса в последующих экспериментах использовалось большее количество гидроксилamina солянокислого и меньшее количество арилальдегидов. Нагрев требовался лишь на этапе растворения гидроксилamina солянокислого, после чего, его отключали.

Подбор растворителя в синтезе 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-онов осуществлялся при перемешивании гидрохлорида гидроксилamina (1), ацетоуксусного эфира (2) и арилальдегида (3a-c) при нагревании (см.табл.7).



Aryl **4 a-c** : a= 4-OCH<sub>3</sub>; b= 4-Cl; c= 4-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

Таблица 7 - Результаты оптимизации методики синтеза 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-онов **4 a-c** по растворителю и их характеристики

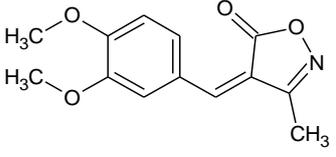
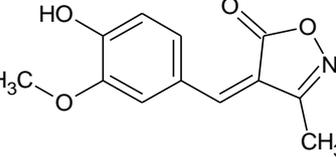
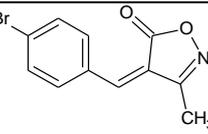
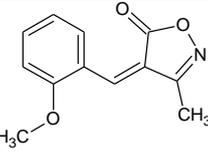
№	Растворитель	Время (мин)	Выход (%)	Т.пл.(°С) (Лит / Эксп.)
<b>4a</b>	H <sub>2</sub> O	13	32,29	179-181/
	<b>EtOH</b>	<b>10</b>	<b>66,00</b>	
	i-PrOH	12	32,08	180-182
	PEG-400	28	34,81	

<b>4b</b>	H <sub>2</sub> O	36	48,26	<u>128-130/</u>
	<b>EtOH</b>	<b>12</b>	<b>61,40</b>	
	i-PrOH	32	46,38	129-131
	PEG-400	48	49,84	
<b>4c</b>	H <sub>2</sub> O	15	47,49	<u>206-209/</u>
	<b>EtOH</b>	<b>10</b>	<b>56,90</b>	
	i-PrOH	12	45,07	207-208
	PEG-400	35	50,35	

Идентификация полученных соединений осуществлялась по температурам плавления известных образцов. Таким образом, проводя реакцию в этаноле, при нагревании на этапе растворения повышенного содержания гидроксилamina солянокислого и с меньшим содержанием арилальдегида, не прибегая к использованию дополнительного катализатора, нам удалось решить проблемы со скоростью реакции и увеличить выходы продукта.

Ряд 4-арилиден-3-метилизоксазолин-5-онов **4 d-m** (табл.8) получен из расчёта на 1 г гидроксилamina солянокислого и минимального количества этанола (5 мл).

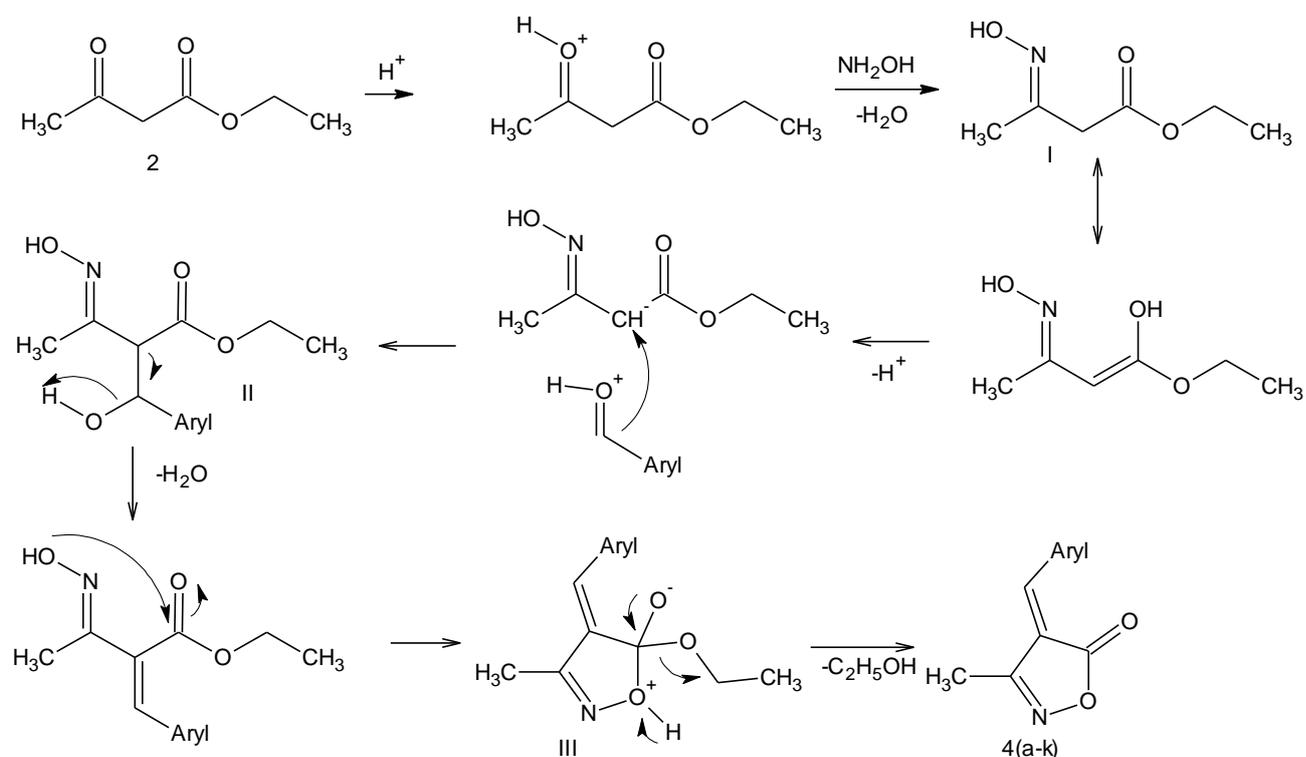
Таблица 8 - Результаты синтеза 4-арилиден-3-метилизоксазолин-5-онов **4 d-k** в этаноле и их характеристики

№	Структурная формула	Время, (мин)	Выход, (%)	Т пл. (Лит / Эксп.)
<b>4d</b>		28	57	162 / <u>161-162</u>
<b>4e</b>		24	69	210-215 / <u>214-215</u>
<b>4f</b>		25	68	132 / <u>130-132</u>
<b>4g</b>		18	58	159-160 / <u>156-159</u>

<b>4h</b>		20	59	140-145 / <u>140-142</u>
<b>4i</b>		32	78	210-211 / <u>209-211</u>
<b>4j</b>		35	54	199-203 / <u>201-202</u>
<b>4k</b>		29	46	197-200 / <u>198-200</u>

Синтезированные 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-оны **4 a-k** представляют собой кристаллические вещества, с чёткими температурами плавления, хорошо растворимые в ацетоне, диметилсульфоксиде (ДМСО), хлороформе.

Образование 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-онов **4 a-k** можно представить следующей вероятной схемой.



Первоначально ацетоуксусный эфир реагировал с гидрохлоридом гидроксилamina в присутствии соляной кислоты с получением оксима **I**, который при последующей реакции с арилальдегидом давал промежуточное соединение **II**. Затем, внутримолекулярная циклизация между гидроксильными и карбонильными группами и удалением  $H_2O$  приводит к получению промежуточного продукта **III**. Наконец, промежуточный продукт **III** теряет одну молекулу этанола, с последующим замыканием кольца с образованием конечного продукта **4**.

Имея весьма широкий спектр биологической активности, как на людях, так и на животных, а также активного применения соединений, содержащих в себе изоксазольный фрагмент, в иных сферах жизнедеятельности, изоксазолонны могут оказывать эффект и на растительный мир. С целью определения характера и силы влияния халконов изоксазолонна было проведено их фитотестирование.

## **2.2. Фитотестирование арилиденизоксазолонов 4 (a-e)**

Фитотестирование - процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест-объектов.

Всхожесть семян в контроле составила 98%. Некоторые из веществ оказали подавляющее действие на всхожесть семян. Наименьший показатель всхожести –  $67 \pm 3\%$ -выявлен при культивировании объектов на растворе ГМБИ (4e) в наибольшей из опытных концентраций. Негативное влияние на всхожесть также оказали растворы ДМБИ (4d) и МБИ (4a) в концентрации  $10^{-10}M$  (всхожесть составила  $85 \pm 4\%$ ), ХБИ (b) в концентрации  $10^{-7}M$  (всхожесть составила  $86 \pm 4\%$ ). В остальных вариантах опыта статистически значимых различий с контрольным значением не выявлено.

Определен показатель корнеобеспеченности контрольных и опытных растений. Этот показатель показывает отношение сухой массы подземной части

к массе надземной части. У проростков контрольных растений показатель равен 0,94 отн.ед, тогда как у растений, культивированных на испытуемых растворах, значение этого показателя варьирует от 0,84 до 1,17 отн.ед. (рисунок 2).

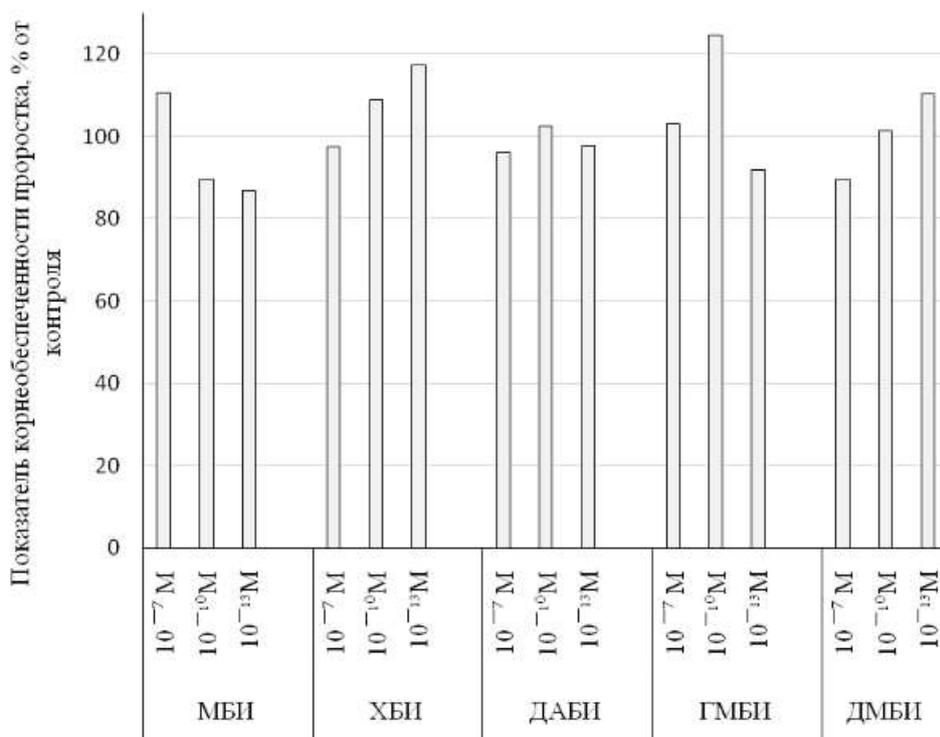


Рис. 2 - Влияние производных изоксазолонна на показатель корнеобеспеченности проростков яровой мягкой пшеницы Саратовская 36.

Установлено, что использование раствора ДАБИ (4с) не оказывает статистически значимого влияния на корнеобеспеченность проростков (0,9-0,97 отн.ед.). Другие испытуемые вещества в некоторых из использованных концентраций способствуют повышению корнеобеспеченности проростков, а именно: ХБИ (4b) в концентрациях  $10^{-10} M$  и  $10^{-13} M$  (1,03 и 1,11 отн.ед., соответственно), ГМБИ (4е) в концентрации  $10^{-10} M$  (1,17 отн.ед.). Следует отметить наличие обратной зависимости между концентрацией растворов (4b) ХБИ и (4d) ДМБИ (4d) и величиной показателя корнеобеспеченности.

Длина первого листа семидневных проростков варьируется от  $48 \pm 15$  мм (контроль) до  $74 \pm 13$  мм (ГМБИ в наименьшей концентрации), при этом

статистически значимых различий по длине первого листа проростков в контроле и вариантах эксперимента, не обнаружено (таблица 9).

Морфометрический анализ проростков показал, что испытуемые вещества оказывают стимулирующее действие на рост корневой системы в длину. Максимальной длины достигла корневая система проростков, культивируемых на растворах ГМБИ и МБИ в концентрации  $10^{-10}$ М - 284 - 302 мм, что в 2 раза больше, чем в контроле.

Выявлена зависимость между ростом побега и концентрацией ХБИ и ДМБИ: зависимость между длиной корневой системы опытных растений и концентрацией раствора имеет прямой характер. В других вариантах опыта корневая система проростков имеет максимальное значение при концентрации  $10^{-10}$ М, минимальное - при концентрации  $10^{-7}$ М.

Таблица 9 - Влияние производных изоксазолена на рост проростка яровой мягкой пшеницы сорта Саратовская 36

Вариант опыта		Длина первого листа, мм	Длина корневой системы, мм	Количество зародышевых корней
<b>Контроль</b>		<b>48±15</b>	<b>141±46</b>	<b>5±0,1</b>
4а (МБИ)	$10^{-7}$ М	50±11	199±46	4,6±0,4
	$10^{-10}$ М	64±12	302±47*	5,1±0,2
	$10^{-13}$ М	63±10	272±41*	4,4±0,2*
4б (ХБИ)	$10^{-7}$ М	66±13	273±57*	4,9±0,2
	$10^{-10}$ М	70±12	232±50	4,8±0,2
	$10^{-13}$ М	53±10	209±42	4,7±0,3
4с (ДАБИ)	$10^{-7}$ М	64±6	234±33*	4,4±0,2*
	$10^{-10}$ М	68±6	275±27*	4,9±0,3
	$10^{-13}$ М	70±12	249±45*	4,4±0,2*
4е (ГМБИ)	$10^{-7}$ М	48±15	176±64	4,3±0,3*
	$10^{-10}$ М	73±10	284±53*	4,1±0,8

	$10^{-13}\text{M}$	$74\pm 13$	$266\pm 50^*$	$4,6\pm 0,2^*$
4d (ДМБИ)	$10^{-7}\text{M}$	$63\pm 9$	$212\pm 34$	$4,9\pm 0,1$
	$10^{-10}\text{M}$	$63\pm 8$	$243\pm 36^*$	$4,2\pm 0,6^*$
	$10^{-13}\text{M}$	$66\pm 12$	$196\pm 51$	$4,9\pm 0,1$

Определен корневой индекс проростков: максимальное значение данного показателя выявлено у проростков, культивированных на растворе ГМБИ в концентрации  $10^{-10}\text{M}$  - 1,54 отн.ед (рисунок 3). Несмотря на существенные различия по длине корневой системы у проростков, культивированных при разных концентрациях производных изоксазолон (таблица 2), корневой индекс проростков, культивированных при различных концентрациях одноименных растворов варьируется незначительно; коэффициент варьирования 1-7%. Исключение составили проростки, культивированные на растворах ГМБИ: корневой индекс которых варьировал от 0,9 при наибольшей концентрации раствора до 1,5 при концентрации  $10^{-10}\text{M}$ ; коэффициент варьирования 24%, что соответствует слабой степени варьирования признака.

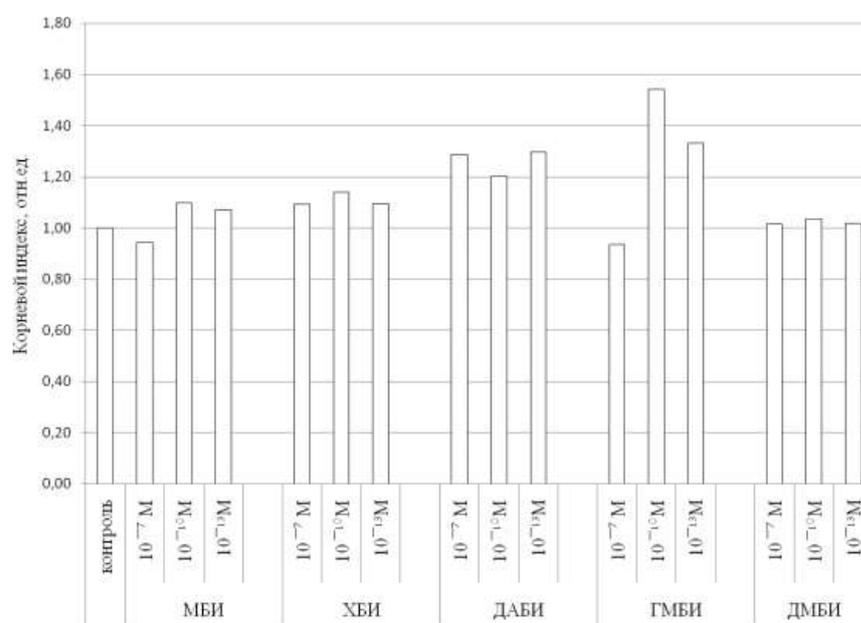


Рис.3 - Влияние производных изоксазолон на корневой индекс проростков яровой мягкой пшеницы сорта Саратовская 36

На основании сопоставления данных морфометрического анализа проростков и тот факт, что при существенном - в 1,3-2,1 раза- увеличении длины корневой системы количество придаточных корней во всех вариантах опыта (за исключением  $10^{-10}$ М МБИ) не изменяется или уменьшается, можно предположить, что стимулирующее действие на рост корневой системы испытуемых веществ, связан с влиянием на митотическую активность клеток в зоне деления точки роста корней или (и) процесс растяжения клеток .

Таким образом, можно заключить, что изоксазолон не наносит вреда экологии и растениям. Установлены некоторые зависимости между структурой исследуемых соединений и эффектами, которые они оказывают. Халконы, содержащие метоксигруппу занижают всхожесть семян, корневой индекс и показатель корнеобеспеченности. Диметиламино- и галогензамещённые арилиденизоксазолон действует, в основном, нейтрально, не нанося вреда и не значительно стимулируя корневую систему. При этом, они являются перспективными для дальнейших исследований. Халкон, содержащий гидроксигруппу, показал наиболее положительные результаты среди всех исследуемых соединений. Опираясь на литературные данные о веществах, стимулирующих рост корневой системы, можно выделить закономерность: они либо имеют калий, который замещает собой водород в гидроксигруппах, либо сами гидроксигруппы, которые способны захватывать калий из почвы.

Эти результаты показывают перспективу дальнейших исследований в области синтеза веществ с ростостимулирующей активностью корневой системы, с обязательным присутствием изоксазолонового фрагмента в структуре. Но имея только арилиденизоксазолон, не получится создать широкий спектр веществ для подобного исследования. Преследуя эту цель, нами был осуществлён синтез 1,5-дикарбонильных соединений на основе арилиденизоксазолонов и циклогексанона, учитывая присутствие в молекулах продуктов активных центров: карбонильной группы и атома углерода в  $\alpha$ -положении, которые являются центрами для дальнейших превращений.

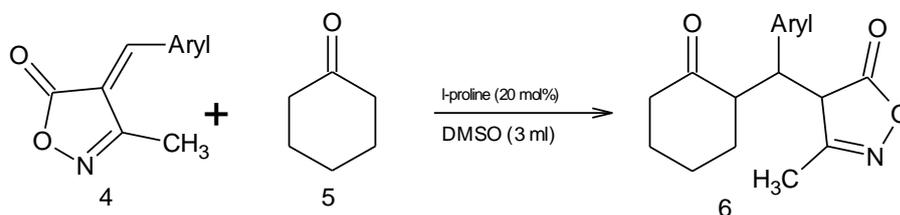
### 2.3. Синтез целевых 1,5-дикарбонильных соединений.

Подход к синтезу 1,5-дикарбонильных соединений, содержащих изоксазолонное кольцо, до сих пор не разработан, что говорит о научной новизне запланированных исследований. Для подбора подходящих условий был выбран арилиденизоксазолон **4a**, являющийся наиболее доступным.

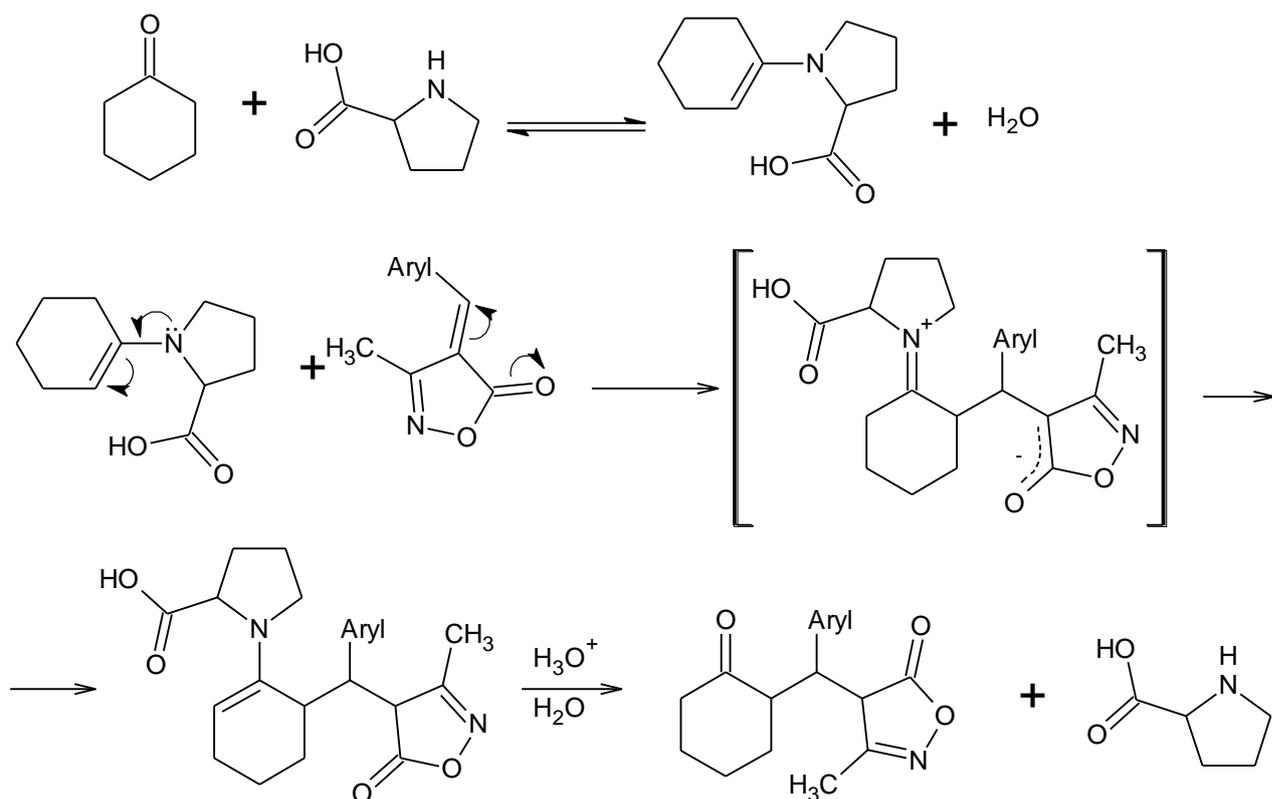
Попытки синтеза по классическим методикам, описанным Валентиной Григорьевной Харченко, с использованием этилового, изопропилового спиртов, ПЭГ-400, гидроксида натрия, гидроксида калия, триэтиламина, не привели к ожидаемым результатам. При этом, при невысокой температуре реакция не происходила, а при продолжительном нагревании наблюдалось осмоление и получение смеси продуктов.

Установлено, что замещенные изоксазолонны вступают в нежелательные процессы при излишнем нагревании (около 50°C). Наличие двух центров присоединения халкона к циклогексанону, может привести к смеси моно- и ди-продуктов. Значит, надо было подобрать такие условия, которые бы не приводили к смеси продуктов и не требовали бы высоких температур.

Таким условиям соответствовала реакция Сторка, с применением полярного апротонного растворителя (диметилсульфоксид) и вторичного амина (пролин).



Реакция Сторка протекает в 3 этапа. Создание енамина из вторичного амина - пролина, и циклогексанона. Затем, енамин присоединяется к арилиденизоксазолону, образуя устойчивый продукт, который, при гидролизе отщепляет пролин, оставляя 1,5-дикарбонильное соединение.



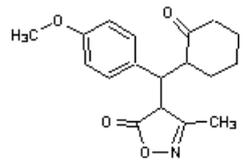
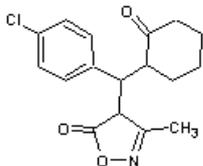
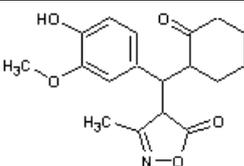
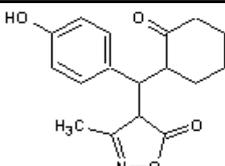
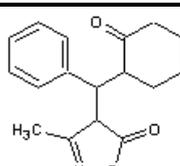
Поскольку продукт получался в виде мелкого порошка, сложно фильтруемого из ДМСО, его выделяли высаливанием из насыщенного раствора поваренной соли. Результаты представлены в таблице 11.

Состав и строение синтезированных соединений **6** установлен на основании данных элементного анализа, ИК- и ЯМР спектроскопии.

Для ИК-спектроскопии характерными оказались полосы оксо-групп в области 1700-1720  $\text{см}^{-1}$ , полосы колебаний С-Н связей метиленовых фрагментов, относящихся к циклогексанону. Интересным оказался широкий явный пик ОН группы в области до 3500  $\text{см}^{-1}$ , который присутствует у всех соединений. Это может быть связано с одной из таутомерных форм изоксазолонa – енольной.

Таблица 10 - Характеристика проведённых синтезов 1,5-дикарбонильных соединений **6 a-h**

№	Структурная формула	Время реакции, мин	Выход, %	Т.пл., °С
---	---------------------	--------------------	----------	-----------

6a		120	64	138-139
6b		100	69	144-145
6d		140	46	85-87
6i		170	57	155-157
6h		90	51	164-165

По данным ЯМР спектроскопии подтвержден факт присутствия енольной формы, поскольку найден малоинтенсивный сигнал гидроксигруппы в слабopольной области, характерные пики у арильных фрагментов, а также дублет протона 8, свидетельствующий о двойной связи в изоксазольном кольце.

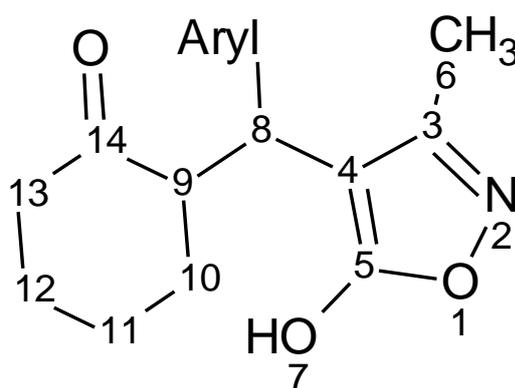


Таблица 11 - Идентификация 1,5-дикарбонильных соединений **6 a,b,d,h**

№	Aryl	Элементный анализ: Найдено / <u>вычислено</u> (%)	ИК-спектр, $\nu$ , см-1	ЯМР <sup>1</sup> H спектр, $\delta$ , м.д.
6a	4-OCH <sub>3</sub>	C: 68,55 / <u>68,96</u> H: 6,71 / <u>6,89</u> N: 4,44 / <u>4,44</u>	-	Aryl = 6,8-7,02 м.д., д.д. H7 = 8,7 м.д., с H8 = 4,31 м.д., д-т. H9-13 = 1-2,72 м.д., м-ты.
6b	4-Cl	C: 63,85 / <u>64,00</u> H: 5,67 / <u>6,01</u> N: 4,38 / <u>4,45</u>	$\nu_{OH} = 3447$ $\nu^{s}_{CH} = 2854$ $\nu^{as}_{CH} = 2925$ $\nu_{C=O} = 1715$	Aryl = 7-7,3 м.д., д.д. H7 = 8,91 м.д. H8 = 4,32 м.д., д-т. H9-13 = 1-2,72 м.д., м-ты.
6d	3-OCH <sub>3</sub> 4-OH	N: 4,23% / <u>5,01</u>	$\nu_{OH} = 3427$ $\nu^{s}_{CH} = 2856$ $\nu^{as}_{CH} = 2932$ $\nu_{C=O} = 1705$	-
6h	H	C: 71,56 / <u>72,10</u> H: 6,71 / <u>6,92</u> N: 4,91 / <u>4,89</u>	$\nu_{OH} = 3444$ $\nu^{s}_{CH} = 2859$ $\nu^{as}_{CH} = 2930$ $\nu_{C=O} = 1710$	Aryl = 7,26-7,5 м.д. H7 = 8,9 м.д. H8 = 4,37 м.д., д-т. H9-13 = 1-2,72 м.д., м-ты.

**Выводы**

1. Оптимизированы условия синтеза 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-онов и осуществлён их синтез.
2. Испытания 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-онов на биологическую активность показали перспективность дальнейших исследований корнестимулирующей активности.
3. Проведён синтез 1,5-дикарбонильных соединений на основе 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-онов и циклогексанона.
4. Предложены вероятные схемы образования 4-арилиден-3-метилизоксазол-5-онов и 3-метил-4-(арилциклогексанон-2-ил)-метилизоксазол-5-онов.

Текст работы оригинален на 80%. Результаты работы прошли апробацию:

1. Смирнов, А.К., Пчелинцева, Н.В., Коробко, В.В. Фитотестирование гетероциклических соединений ряда изоксазолона / Исследования молодых ученых в биологии и экологии: Сб. научных статей - апрель 2022 - с. 133-135.
2. Смирнов, А.К., Пчелинцева, Н.В., Коробко, В.В., Крылатова Я.Г. Влияние гетероциклических соединений ряда изоксазолона на рост и развитие проростков пшеницы (*Triticum Aestivum* L.) // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2022. - Т.22, вып 2. – С.205-214.