

На правах рукописи



Калистратова Антонида Владимировна

**Синтез новых регуляторов роста растений
антистрессового действия в ряду замещенных мочевин и
карбаматов**

02.00.03 – ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва - 2017

Работа выполнена на кафедре химии и технологии биомедицинских препаратов ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева».

Научный руководитель:

кандидат химических наук
ОЩЕПКОВ Максим Сергеевич,
доцент кафедры химии и технологии
биомедицинских препаратов Российского
химико-технологического университета
имени Д.И. Менделеева

Официальный оппоненты:

доктор химических наук, профессор
ГРАЧЕВ Михаил Константинович,
заведующий кафедрой органической химии
Московского педагогического
государственного университета

кандидат химических наук
ХОРОШУТИН Андрей Васильевич,
старший научный сотрудник кафедры химии
нефти и органического катализа
Московского государственного университета
имени М.В. Ломоносова

Ведущая организация:

**Государственный научно-
исследовательский институт
органической химии и технологии**

Защита состоится «16» февраля 2018 г. в 11⁰⁰ на заседании диссертационного совета Д 212.204.04 при РХТУ им. Д.И. Менделеева (125047 г. Москва, Миусская пл., д.9) в конференц-зале (ауд. 443).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ им. Д.И. Менделеева и на сайте <http://diss.muctr.ru/author/216/>

Автореферат диссертации разослан « ___ » _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д 212.204.04

Пожарская Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Актуальность исследования. Разработка новых эффективных регуляторов роста растений, соответствующих современным тенденциям по переходу от уничтожающих сорную растительность препаратов к соединениям с регуляторными свойствами, способных интенсифицировать развитие культурных растений и тормозить рост сорняков или обеспечивать селективность гербицидов, является одной из приоритетных задач в области агрохимии. При этом особого внимания заслуживают регуляторы роста, индуцирующие устойчивость культурных растений к действию гербицидов, которые могут применяться на различных стадиях их роста и развития. Кроме того, применение антидотов позволяет получать хорошие урожаи на почвах, которые загрязнены применявшимися в течение нескольких лет персистентными фитотоксикантами, в число которых входят, например, синтетические ауксины и антиауксины, а также блокирующий образование ароматических аминокислот в клетках растений глифосат. Значительный интерес представляет также возможность использования регуляторов роста растений антистрессового действия для выращивания сельскохозяйственных культур в зонах рискованного земледелия, к которым относится значительная часть посевных площадей нашей страны, и в загрязненной атмосфере с повышенным содержанием озона.

В качестве потенциальных регуляторов роста растений перспективны бифункциональные соединения с мочевиными и карбаматными структурными элементами. Это объясняется тем, что такие соединения могут взаимодействовать с рецепторами, предназначенными для связывания с цитокининами — пуриновыми фитогормонами, отвечающими за клеточное деление, дифференциацию клеток и метаболизм белков и полисахаридов. Расширение круга синтетических аналогов цитокининов другими классами соединений позволяет рассчитывать на получение веществ с определенной фитоактивностью и селективностью рострегуляторных свойств.

Соединения с карбаматными и мочевиными функциональными группами привлекательны благодаря своей доступности, т.к. их синтез легко осуществим в промышленности, что существенно облегчает быстрое внедрение и масштабное производство. Поэтому получение новых регуляторов роста с антистрессовым механизмом действия и антидотной активностью в ряду замещенных мочевины и карбаматов является актуальной задачей для прикладной органической химии и современного сельского хозяйства.

Цель работы. Получение новых классов фитоактивных соединений в ряду замещенных мочевины и карбаматов, в том числе оптически активных, в качестве

новых регуляторов роста растений с антистрессовым механизмом действия и антидотной активностью.

Степень разработанности. Фитогормоны и их синтетические агонисты, среди которых особую роль играют соединения с цитокининовой активностью, могут быть эффективными регуляторами роста растений. Они контролируют рост, деление и дифференциацию клеток, играют важную роль в процессах роста и развития корневой системы, в формировании хлоропластов, в метаболизме и дыхании.

До настоящего времени цитокининовая активность синтетических аналогов использовалась преимущественно для получения соединений со свойствами дефолиантов для хлопчатника (препараты ДРОПП и цитодеф). Известен нарушающий транспорт электронов в фотосистеме II бискарбаматный гербицид бетанал со свойствами цитокинина, являющийся одним из лучших гербицидов для борьбы с сорными растениями в посевах свеклы. Модификация структуры данного соединения показала, что на основе бискарбаматов могут быть получены регуляторы роста растений с антистрессовым типом активности, которые могут быть использованы в качестве индукторов устойчивости к неблагоприятным погодным факторам. К ним относится немногочисленный класс бискарбаматов на основе N-алкоксихарбониламиноэтанола, объединенный под названием картолины. Картолины обладают рострегуляторной активностью антистрессового типа, защищая растения от избытка солей в почвах, недостатка влаги и заморозков. В связи с этим представляет интерес расширение спектра их синтетических аналогов, с целью повышения активности, избирательности действия, упрощения синтеза и с целью получения соединений с антидотной активностью.

Также перспективным представляется синтез оптически активных регуляторов роста растений, т.к. в области биологически активных соединений особое место занимают соединения с асимметрическим атомом углерода, поскольку на их основе можно получать вещества с высокой избирательностью по отношению к биохимическим мишеням. Использование индивидуальных стереомерных форм вещества для получения новых функциональных производных, обладающих потенциальной физиологической активностью, в современных исследованиях не имеет альтернативы.

Научная новизна и практическая ценность. Обнаружены ранее не описанные в литературе особенности реакционной способности щавелевой кислоты и ее эфиров.

В результате проделанной работы получен новый класс регуляторов роста растений с антистрессовой и антидотной активностью, представленный

соединениями, содержащими одновременно мочевиный и карбаматный структурные элементы, соединенные между собой этиленовым мостиком.

Впервые получены оптически активные производные оксалиламиноалкиламещенных карбаматов. Отработанная схема синтеза позволяет получать широкий спектр функциональных оптически активных производных.

Предложен принципиальный подход к разработке препаративных форм регуляторов роста растений на основе комплексов с белковоподобными сополимерами.

Степень достоверности и апробация результатов работы. Структуры полученных соединений подтверждены с использованием комплекса физико-химических методов анализа (^1H и ^{13}C -ЯМР, УФ-спектроскопия, ВЭЖХ-МС и МАСС-спектрометрия, элементный анализ, температуры кипения и плавления, коэффициент преломления, спектры кругового дихроизма регистрировали в ИНЭОС РАН им. А.Н.Несмеянова). ИК-спектры получены на оборудовании Центра коллективного пользования РХТУ имени Д.И.Менделеева. Изучение биологической активности синтезированных соединений осуществлялось на базе АО «Щелково Агрохим».

Основные результаты работы представлялись на X, XI и XII Международных конгрессах молодых ученых по химии и химической технологии (Москва, **2015**, **2016**, **2017**), на VII Молодежной конференции ИОХ РАН, (Москва **2017**), на VIII Научной конференции молодых ученых «Инновации в химии: достижения и перспективы» (Москва, **2017**) и на VIII Международная конференция Российского химического общества имени Д. И. Менделеева «Ресурсо- и энергосберегающие технологии в химической и нефтехимической промышленности» (Москва, **2017**). По материалам исследований опубликовано 6 научных статей, 2 из которых в журналах из перечня рекомендованных ВАК, получено 2 патента. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 15-29_05785 офи_м.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Материалы работы изложены на 146 страницах машинного текста, включая 17 таблиц, 31 рисунок, 27 схем. Список литературы включает 178 ссылок.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

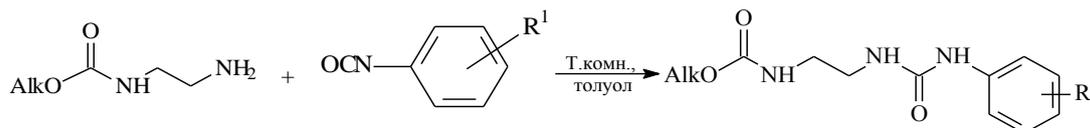
Разработка эффективных регуляторов роста растений позволяет решать такие важные задачи, как повышение устойчивости культурных растений к природным факторам (засуха, заморозки, осмотическая нагрузка, озон), что крайне актуально в зонах рискованной земледелия, к которым относятся большинство сельскохозяйственных угодий Российской Федерации, и преодоление

Повышение рострегуляторной активности возможно за счет увеличения прочности связывания представленных на рис. 2 соединений с соответствующими биомишенями.

1. Синтез N-арил-N'-алкоксикарбониламиноэтилмочевин

Синтез целевых N-арил-N'-алкоксикарбониламиноэтилмочевин осуществляли по схеме 1.

Схема 1



Исходные N-2-аминоэтилалкилкарбаматы и изоцианаты получали по схемам 2 и 3, соответственно. Вос-замещенный этилендиамин (**4**) синтезировали из третбутилпирокарбоната с выходом 90 %.

Схема 2

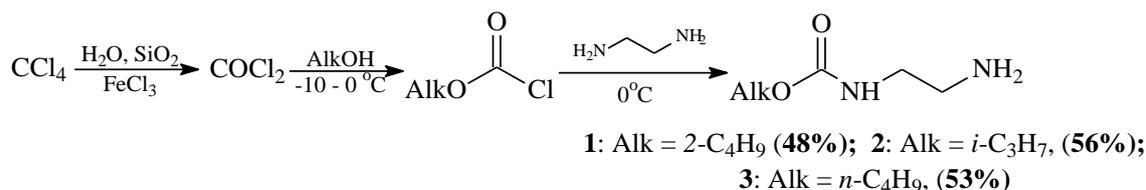
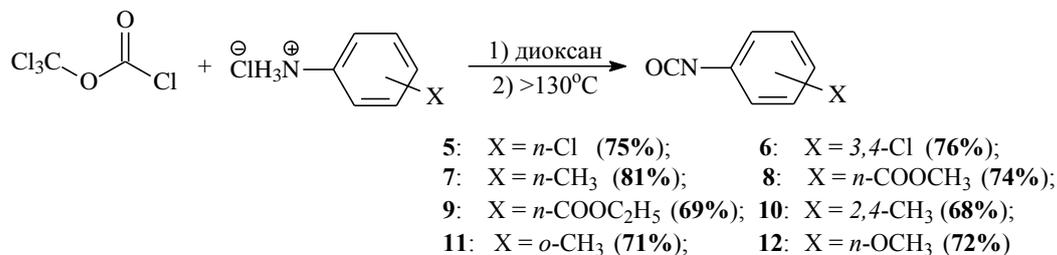
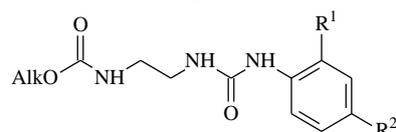


Схема 3



Выходы синтезированных по схеме 1 N-арил-N'-алкоксикарбонил-аминоэтилмочевин представлены в таблице 1.

Взаимодействие изоцианатов с алкоксикарбониламиноэтиламинами в среде толуола идет легко, быстро и с высокими выходами. Целевой продукт, как правило, нерастворим в толуоле и получается в чистом виде после отделения фильтрованием и кристаллизации из изопропанола. В качестве основного побочного продукта можно упомянуть, образующуюся в следовых количествах N,N'-бис-арилмочевину, которая нерастворима в изопропаноле и не затрудняет выделение целевого бифункционального производного этилендиамина.

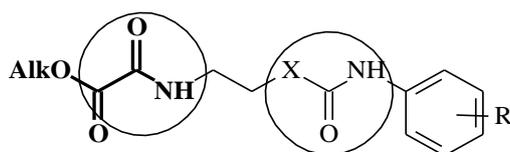
Таблица 1 – Характеристики и выход *N*-арил-*N'*-алкоксикарбониламиноэтилмочевин

№ п.п.	R	R ¹	R ²	T пл. °С	Выход, %
13	<i>втор</i> -C ₄ H ₉	H	CH ₃	162-164	87
14	<i>втор</i> -C ₄ H ₉	CH ₃	H	161-163	92
15	<i>втор</i> -C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃	162-164	95
16	<i>втор</i> -C ₄ H ₉	H	COOC ₂ H ₅	155-157	89
17	<i>изо</i> -C ₃ H ₇	CH ₃	CH ₃	197-198	95
18	<i>изо</i> -C ₃ H ₇	H	CH ₃	183-183	98
19	<i>изо</i> -C ₃ H ₇	H	COOC ₂ H ₅	165-166	88
20	<i>изо</i> -C ₃ H ₇	CH ₃	H	181-183	91
21	<i>н</i> -C ₄ H ₉	CH ₃	H	161-163	89
22	<i>трет</i> -C ₄ H ₉	H	CH ₃	165-167	43
23	<i>трет</i> -C ₄ H ₉	H	Cl	170-172	70

К недостаткам рассмотренной схемы синтеза *N*-арил-*N'*-алкоксикарбониламиноэтилмочевин через *N*-2-аминоэтилалкилкарбаматы можно отнести необходимость использования токсичного фосгена на стадии получения хлорформиатов и низкий выход синтеза в реакциях этилендиамина с хроформиатами.

2. Синтез *N*-арил-*N'*-алкоксиоксалиламиноэтилмочевин и карбаматов

В качестве альтернативных рассмотренным выше карбамоилэтилмочевинам и картолину-2 могут выступать их структурные аналоги – производные щавелевой кислоты (Рис. 3).

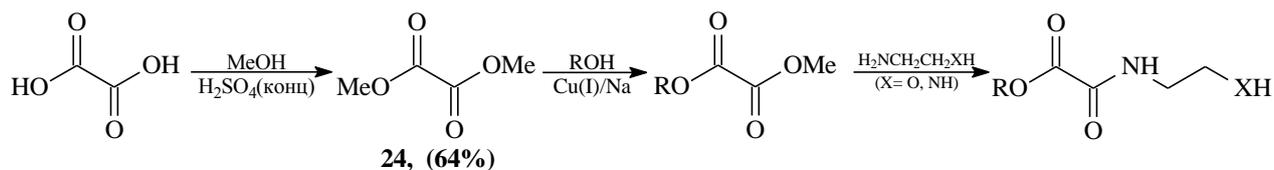


X = O, NH

Рисунок 3 – Общая структура аналогов *N*-арил-*N'*-алкоксикарбониламиноэтилмочевин и *N*-арил-*O*-алкоксикарбониламиноэтилкарбаматов на основе щавелевой кислоты

В качестве исходного соединения для синтеза алкилоксалиламиноэтилмочевин и карбаматов нами были выбраны алкиловые эфиры щавелевой кислоты, с последующим получением на их основе промежуточных оксаматов. Учитывая литературные данные о получении амидоэфиров щавелевой кислоты через ее диэтиловый эфир и хлорангидрид моноэфира, мы предположили, что целесообразно проводить получение моноамидов целевых эфиров щавелевой кислоты через ее несимметричные алкилметилловые эфиры (Схема 4).

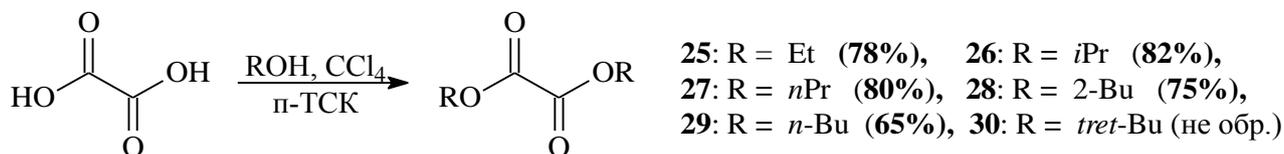
Схема 4



Однако получение смешанных эфиров щавелевой кислоты оказалось затруднительным. Переэтерификация диметилового эфира щавелевой кислоты (**24**) в присутствии солей меди (I) или алкоголята натрия приводила к образованию смеси моно- и диалкиловых эфиров, образующих при перегонке трехкомпонентную смесь с исходным диметилксалатом. Для эфиров с радикалами более сложного строения, например, при переэтерификации третбутанолом, реакция не проходила вовсе. Использование в синтезе оксалилхлорида нежелательно из-за его труднодоступности и высокой реакционной способности, поэтому на следующем этапе нами было принято решение по синтезу целевых амидоэфиров щавелевой кислоты через ее симметричные эфиры.

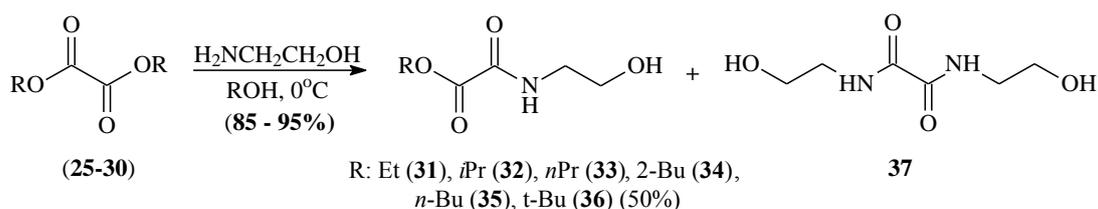
Реакция этерификации щавелевой кислоты с азеотропной отгонкой воды описана для получения метиловых и этиловых эфиров щавелевой кислоты, в то время как для эфиров с более разветвленными радикалами подобных данных нет. В соответствии с этим для получения диизопропилоксалата (**26**) нами была проведена прямая этерификации щавелевой кислоты с азеотропной отгонкой воды. Неожиданно реакция привела к образованию диизопропилового эфира **26** с достаточно высоким выходом, что говорит о значительной взаимной активации карбоксильных групп щавелевой кислоты в реакциях нуклеофильного замещения. Данный метод синтеза оказался универсальным. Он подходит для получения целого ряда низкомолекулярных симметричных эфиров щавелевой кислоты (Схема 5).

Схема 5

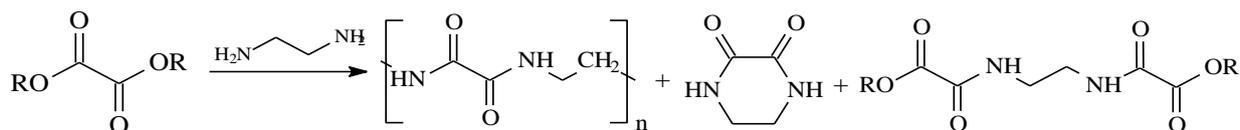


Исключение в представленном ряду представляет только дитретбулоксалат (**30**), который был получен по реакции третбутанола с оксалилхлоридом с выходом 75%.

Как оказалось, все полученные эфиры легко подвергаются аминолитизу этаноламином уже при 0°C. Повышение температуры приводит к образованию побочного N,N'-бис(2-гидрокси-этил)оксамида (**37**) (Схема 6).

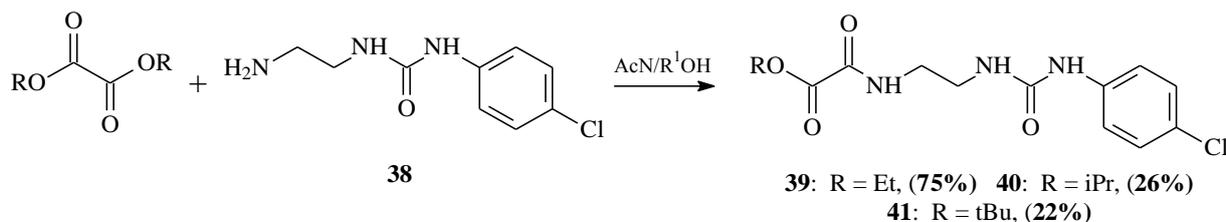


Полученные нами данные о реакционной способности симметричных эфиров щавелевой кислоты **25-30** в реакциях аминолиза существенно упрощают синтез ее этаноламидов. Однако перенести эту схему синтеза на аминолиз оксалатов этилендиамином с получением N-2-аминоэтилоксаматов не удастся. В первую очередь это связано с одинаковой реакционной способностью как аминогрупп этилендиамина, так и алкоксильных групп диэфиров щавелевой кислоты. Не происходит заметного снижения ацилирующей способности сложноэфирной группы и после перевода второй карбоксилатной группы в амидную. Возможные направления превращений представлены на схеме 7.



Использование *Вос*-этилендиамина (**4**) для получения моноамида щавелевой кислоты с последующим снятием *Вос*-защиты также может привести к образованию как полимерной смолы, так и циклических производных щавелевой кислоты. Попытки получения и дальнейшего использования 2-(алкилоксалиламино)этиламина в виде его соли с трифторуксусной кислотой в реакции с изоцианатом также не привели к целевому продукту. В результате была получена смесь большого количества трудно разделяемых продуктов, что, возможно, связано и с участием аммонийной группы в процессе аминолиза эфиров щавелевой кислоты.

В соответствии с этим для синтеза целевых N-арил-N'-алкилоксамоилэтилмочевин нами была реализована схема 8.

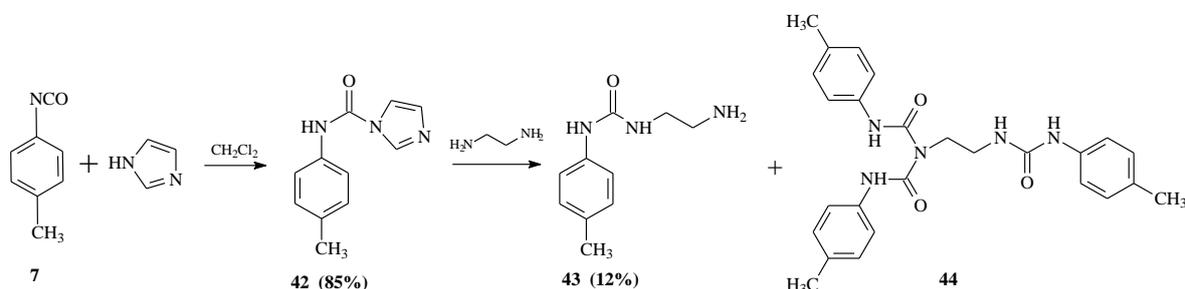


Основной проблемой в данном случае является получение N-арил-N'-(2-амино)этилмочевины **38**. Прямое взаимодействие изоцианатов с этилендиамином в

условиях большого избытка последнего и низкой температуры (до -78°C) все равно приводит к образованию в качестве основного продукта этиленбисмочевины. Использование для синтеза 2-аминоэтилмочевины **38** *Вос*-защиты позволяет получать целевую дизамещенную мочевину **39** с суммарным выходом по всем стадиям порядка 13 %. Несмотря на увеличение суммарного выхода аминоэтилзамещенной мочевины **39** практически в два раза, выход по данному методу на последней стадии значительно меньше, чем при прямом аминолизе диэтилового эфира щавелевой кислоты и составляет всего 21 %. Кроме того, дитретбутилпирокарбонат является дорогим реагентом и не может быть использован в условиях промышленного синтеза.

Получение целевых *N*-арил-*N'*-(2-аминоэтил)мочевин путем взаимодействия изоцианата с имидазолом, с последующим переаминированием промежуточной мочевины **42** по схеме 9 также не дает удовлетворительных результатов. Взаимодействие промежуточной мочевины **42** с этилендиамином без растворителя в микроволновом реакторе при 120°C в течение часа приводит к образованию в качестве основного продукта производного этилендиамина **44** с биуретовой функциональной группой. Целевая *N*-*n*-толил-*N'*-(2-аминоэтил)мочевина (**43**) образуется с выходом 12 %. Без нагревания аммонолиз мочевины **42** не проходит.

Схема 9



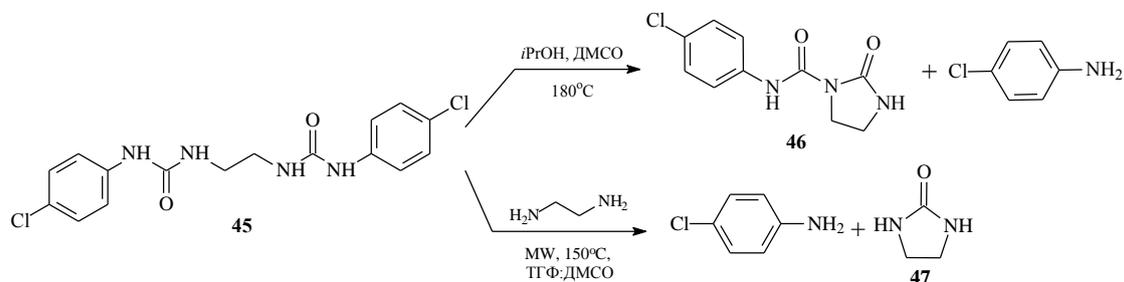
Сложности, возникающие при попытке получения аминоэтилзамещенной мочевины с использованием имидазола или *Вос*-защиты, низкие выходы, необходимость проведения дополнительных стадий и дороговизна реактивов определяют необходимость поиска новых путей получения целевой мочевины или изменения всей схемы синтеза конечных соединений.

В связи с этим, на следующем этапе нами была рассмотрена возможность получения целевых алкилкарбамоилэтилзамещенных мочевин **13-23** и промежуточных аминоэтилзамещенных мочевин, исходя из этиленбисмочевины **45**, путем ее переаминирования и алкоголиза.

Алкоголиз исходной симметричной бисмочевины **45** изопропанолом в кипящем ДМСО привел к образованию продукта внутримолекулярной циклизации – 1-[*N*-(*n*-хлорфенил)карбамоил]-2-оксоимидазолидина (**46**) (Схема 10). Аммонолиз

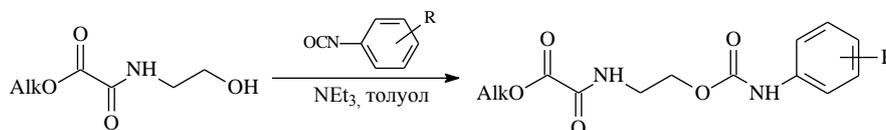
бисмочевины **45** при нагревании реакционной смеси в микроволновом реакторе привел к образованию оксоимидазолидина **47** (Схема 10). При комнатной температуре и при температуре кипения этилендиамина исходная бисмочевина не вступала в реакцию переамидирования.

Схема 10



Таким образом бисмочевина на данном этапе не пригодна для дальнейшего получения на ее основе целевых структур, а целевые мочевины на основе щавелевой кислоты становятся трудно доступными.

С точки зрения синтетической доступности более перспективны карбаматы **48-67**, синтез которых легко осуществим взаимодействием алкилоксалиламиноэтанола с соответствующими изоцианатами (Табл. 2).

Таблица 2 – Выход *N*-арил-*O*-алкилоксалиламиноэтилкарбаматов

№	Alk	R	Выход, %	№	Alk	R	Выход, %
48	Et	4-Cl	90	58	iPr	3,4-Me	44
49	Et	4-Me	71	59	iPr	4-OMe	65
50	Et	2-Me	49	60	iPr	4-COOEt	57
51	Et	3,4-Me	47	61	iPr	H	68
52	Et	4-OMe	51	62	n-Pr	4-Me	35
53	Et	4-COOEt	46	63	tBu	4-Cl	85
54	Et	H	78	64	tBu	4-Me	79
55	iPr	4-Cl	84	65	n-Bu	4-Cl	63
56	iPr	4-Me	91	66	n-Bu	4-Me	47
57	iPr	2-Me	34	67	2-Bu	4-Cl	70

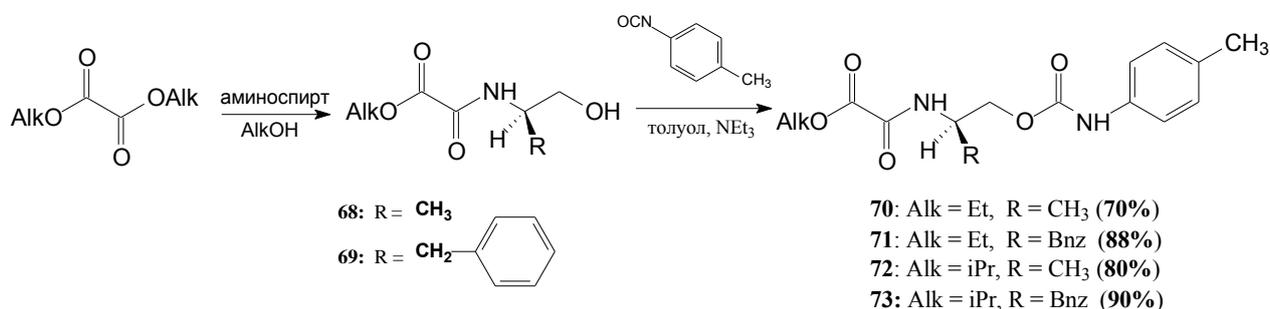
3. Синтез хиральных *N*-арил-*O*-алкоксиоксалиламиноэтилкарбаматов

В связи с присутствием в структурах целевых соединений аминоспиртов представляет интерес синтез новых хиральных соединений на основе стереоизомерных аминоспиртов, для получения которых можно использовать оптические изомеры аминокислот. На основе соединений с асимметрическим атомом углерода можно получать вещества с высокой избирательностью по отношению к

биохимическим мишеням. Поэтому использование индивидуальных стереомерных форм вещества для получения новых функциональных производных, обладающих потенциальной физиологической активностью, весьма актуально и в современных исследованиях не имеет альтернативы.

В связи с этим разработанная нами схема синтеза N-арил-O-алкоксиоксалиламино-этилкарбаматов была применена для получения их хиральных аналогов, исходя из хиральных аминоспиртов, получаемых восстановлением соответствующих оптически активных аминокислот (Схема 11). Строение оптически активных аминоспиртов и карбаматов было подтверждено с использованием спектроскопии ЯМР и кругового дихроизма.

Схема 11



Выходы хиральных производных щавелевой кислоты **70-73** достаточно высоки и в целом соответствуют выходам ахиральных карбаматов **48-67**. Таким образом получение оптически активных производных карбаматов, как и их ахиральных аналогов, возможно в случае необходимости их более детального исследования и в укрупненных количествах.

4. Синтез O-(N,N-диалкилоксамоиламино)этилкарбаматов

Проявление цитокининподобной активности может сопровождаться и другими типами биологического действия, например, противораковой активностью, кроме того биологической активностью обладают и многие производные щавелевой кислоты в частности ее амиды. В связи с этим актуальна задача по расширению ряда производных щавелевой кислоты. В частности нами были синтезированы O-(N,N-диалкилоксамоиламино)этилкарбаматы по общей схеме 12 (Табл. 3).

Схема 12

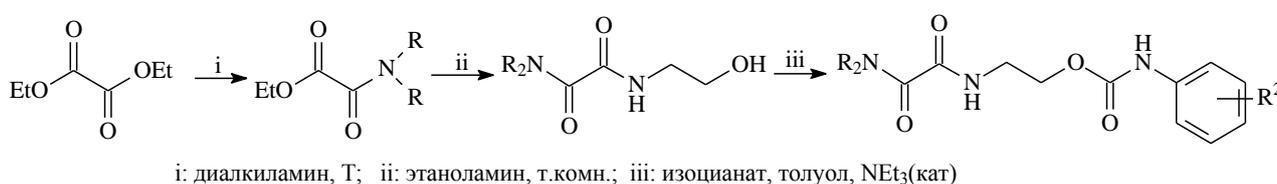
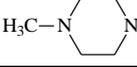


Таблица 3 - Выходы целевых *O*-(*N,N*-диалкилоксамоиламино)этилкарбаматов и промежуточных соединений

Тип амина	Выход амидоэфира		Выход диамида		Выход карбамата		
	№	Выход, %	№	Выход, %	№	R ²	Выход, %
Et ₂ N	74	79	80	68	86	n-CH ₃	79
					87	n-Cl	68
	75	81	81	69	88	n-CH ₃	71
					89	n-Cl	69
	76	75	82	75	-		-
	77	74	83	83	-		-
	78	69	84	77	90	n-CH ₃	82
	79	78	85	72	-		-

В структуре целевых *N*-арил-*O*-[*N,N*-диалкилоксамоиламино]этилкарбаматов **86-90** присутствуют одновременно карбаматный и оксамидный фрагменты, что потенциально может привести к проявлению новых видов активности за счет наличия дополнительной карбонильной группы, которая обеспечивает более прочное связывание с биомишенями. Замена алкоксильной группы на диалкиламидную в свою очередь должна привести к повышению стабильности, и как следствие к более высокой эффективности этих соединений в растительных клетках.

5. Рострегуляторная активность *N*-арил-*N'*-алкоксикарбониламиноэтилмочевин

Ряд синтезированных нами *N*-арил-*N'*-алкоксикарбониламиноэтилмочевин был испытан на рострегуляторную активность антистрессового типа.

Испытания проводились на культуре клеток табака, выращиваемой в строго контролируемых условиях (Табл. 4). Исследуемые соединения существенно влияют на метаболизм растений, что выражается в интенсификации процессов роста на фоне снижения потребления кислорода. Для соединения **19** наблюдается явно выраженный антистрессовый механизм, проявляющийся в ингибировании роста в условиях неблагоприятных факторов среды и в более чем двукратной активации метаболических процессов.

Испытания на засухоустойчивость (Табл. 5) показывают, что испытанные соединения превосходят по своей активности хлорхолинхлорид. Наиболее активными в данном случае оказались соединения **17** и **21**.

Таблица 4 – Результаты испытаний *N*-арил-*N'*-алкоксикарбониламиноэтилмочевин на культуре клеток табака

Соединение	Интенсивность роста клеток (плотность суспензии, d), % к контролю	Удельная интенсивность дыхания (CO ₂ /d), % к контролю
13	195,1 ± 2,0	109,0 ± 0,8
14	180,2 ± 1,0	136,2 ± 1,1
15	114,2 ± 1,0	54,6 ± 0,5
17	145,2 ± 1,2	29,5 ± 0,3
18	159,6 ± 1,2	128,4 ± 1,1
19	94,9 ± 1,1	250,1 ± 2,1
21	173,1 ± 1,3	128,7 ± 1,1
Картолин-2	152,3 ± 1,1	63,2 ± 0,5
Контроль	100,1 ± 1,0	100,1 ± 1,1

Таблица 5 – Результаты испытаний на засухоустойчивость в сравнении с хлорхолинхлоридом и с картолином-2

№	С, мг/л	Засухоустойчивость		
		Потеря воды, %	Выживаемость % к контролю	Сухая масса, мг/растение
13	10	7,1 ± 0,2	21,3 ± 0,2	0,51 ± 0,03
	1	5,0 ± 0,1	27,4 ± 0,1	1,12 ± 0,02
	0,1	5,7 ± 0,2	33,8 ± 0,2	1,98 ± 0,01
14	10	5,0 ± 0,2	37,3 ± 0,2	0,74 ± 0,01
	1	3,0 ± 0,1	21,1 ± 0,1	1,40 ± 0,02
	0,1	3,2 ± 0,1	45,7 ± 0,3	1,08 ± 0,01
15	10	7,1 ± 0,4	4,5 ± 0,1	-0,75 ± 0,03
	1	0,20 ± 0,01	49,4 ± 0,2	0,54 ± 0,02
	0,1	2,1 ± 0,1	21,6 ± 0,2	0,51 ± 0,02
17	10	4,1 ± 0,2	73,6 ± 0,4	0,01 ± 0,01
	1	1,3 ± 0,1	109,5 ± 0,5	0,01 ± 0,01
	0,1	1,4 ± 0,2	45,4 ± 0,4	0,43 ± 0,01
18	10	2,1 ± 0,1	30,1 ± 0,2	1,06 ± 0,03
	1	2,3 ± 0,2	-8,1 ± 0,1	-0,58 ± 0,02
	0,1	3,4 ± 0,2	21,8 ± 0,2	-0,35 ± 0,02
21	10	2,1 ± 0,1	117,3 ± 0,6	0,01 ± 0,01
	1	1,2 ± 0,2	45,2 ± 0,2	0,01 ± 0,01
	0,1	7,3 ± 0,2	81,4 ± 0,3	0,32 ± 0,01
Картолин-2	10	Не активен	-33,3 ± 0,2	Не активен
	1		20,1 ± 0,2	
	0,1		-22,3 ± 0,2	

Соединения **18** и **19** проявили активность и в испытаниях на морозоустойчивость озимой пшеницы сорта Ильичевка, существенно превосходящую активность картолина-2. Так повышение активности соединений **18** и **19** над хлорхолинхлоридом при их концентрации 10 мг/л по уровню выхода электролитов

составило 39 и 57 % к контролю, соответственно. Для картолина-2 этот показатель в аналогичных условиях составил всего 12%. При этом в концентрациях 0,1 мг/л они приводят к снижению уровня выхода электролитов, проявляя тем самым искомые регуляторные свойства антистрессового действия.

Таким образом можно заключить, что полученные в результате биологических испытаний данные указывают на наличие у синтезированных нами по реакции N-алкоксикарбонилэтилендиамина с ароматическими изоцианатами бифункциональных соединений с разделенными этиленовым мостиком карбаматными и мочевинными функциональными группами рострегуляторной активности противострессового типа.

6. Антидотная активность N-арил-N'-алкилкарбамоиламиноэтилмочевин

Нами были также проведены испытания антидотной активности N-(n-толил)-N'-(2-изопропоксикарбониламиноэтил)мочевин (18) в отношении распространенных гербицидов с антиметаболитным и гормональным типом активности (Табл. 6). Испытания проводили в полевых условиях на вегетирующих растениях. Растения в фазе роста и цветения обрабатывали гербицидами после чего на пятый день обрабатывали раствором исследуемого соединения 18. В качестве контроля использовали необработанные растения и растения после обработки гербицидом без последующего действия антидота.

Таблица 6 - Результаты опытов по определению антидотной активности N-(4-толил)-N'-(2-изопропоксикарбониламиноэтил)мочевин (18)

Культура	Гербицид	Урожайность, ц/га			Антидотная активность. Прибавка к урожаю, ц/га (в %)
		Контроль	Гербицид	Гербицид+18	
Подсолнечник	2,4-Д	34,1	15,6	21,4	5,8 (37)
Соя	Пиклорам	16,7	9,0	11,8	2,8 (31)
Кукуруза	глифосат	62,7	34,3	44,0	9,7 (28)

Как видно N-(4-толил)-N'-(2-изопропоксикарбониламиноэтил)мочевина обладает антидотной активностью, увеличивая прибавку урожая в среднем на 30 %. Можно с уверенностью утверждать, что использование такого антидота в составе протравителей семян при предпосевной обработке приведет к существенно более высоким урожаям.

Таким образом синтезированные нами N-арил-N'-алкоксикарбониламиноэтилмочевин проявляют выраженную рострегуляторную активность в стрессовых условиях и, что особенно важно, защитное действие по отношению к гербицидам как

с гормональным, так и с антиметаболическим механизмом действия. Благодаря этому они могут применяться для повышения избирательности таких гербицидов, как 2,4-Д, пиклорам и глифосат, и для выращивания сельскохозяйственных культур на загрязненных этими гербицидами почвах.

7. Инкапсулирование N-арил-N'-алкилоксалиламиноэтилмочевин и карбаматов в мицеллах сополимера винилимидазола и винилкапролактама

Низкая растворимость синтезированных нами карбаматов и мочевины на основе щавелевой кислоты в воде и в органических растворителях осложняет их перевод в препаративные формы. Поэтому с целью получения водных коллоидных форм, пригодных для практического использования этих соединений в сельском хозяйстве, нами была рассмотрена возможность инкапсулирования в мицеллах сополимеров N-винил-капролактама и N-винилимидазола синтезированных нами β -оксалиламинозамещенных O-этилкарбамата (**48**) и N-этилмочевины (**39**).

Нами были использованы мицеллы сополимеров N-винилкапролактама (НВКЛ) и N-винилимидазола (НВИА) в воде. Контроль за солубилизацией в мицеллах проводили с помощью флуоресцентной спектроскопии (Рис. 4). Максимум флуоресценции исследуемых соединений в водном растворе соответствует длине волны около 305 нм. Инкапсулирование производных щавелевой кислоты приводит к смещению длины волны максимума флуоресценции в область 420-430 нм.

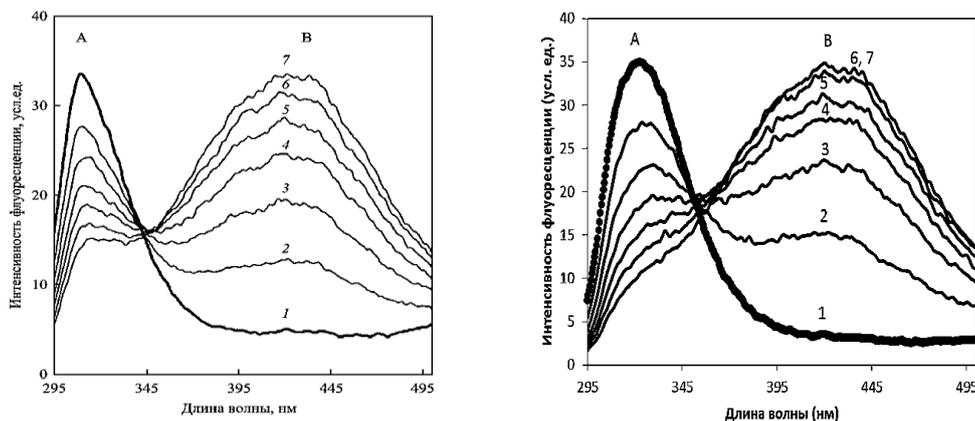


Рисунок 4 - Спектры флуоресценции O-алкилкарбамата **48** и мочевины **39** в отсутствие (кривая 1, $C=0,06$ мг/мл) и в присутствии (кривые 2–7) мицелл сополимера (НВКЛ/НВИА). Концентрация мицелл возрастала по мере добавления водного раствора (30 мг/мл) сополимера порциями по 10 мкл (от 2 до 7).

На основании полученной картины можно сделать вывод о том, что соединения **48** и **39** легко и полностью инкапсулируются в сополимер НВКЛ и НВИА. Такая солубилизация позволяет получить водную коллоидную форму данных веществ, пригодную для практического использования.

ВЫВОДЫ

1. Для щавелевой кислоты и ее эфиров характерна значительная взаимная активация реакционной способности карбоксильных атомов углерода в реакциях нуклеофильного замещения, что проявляется при этерификации и в реакциях аминолита ее эфиров. Показано, что природа алкильных групп в эфирах оказывает слабое влияние на их реакционную способность в реакциях аминолита одной из сложноэфирных групп симметричных эфиров щавелевой кислоты в реакции с моноэтаноломином.
2. Установлено, что полученные N-2-алкоксикарбониламиноэтил-N'-арилмочевины и O-β-оксалиламиноэтил-N-арилкарбаматы проявляют рострегуляторную активность антистрессового типа, что позволяет использовать их для выращивания сельского хозяйственных культур в условиях рискованного земледелия.
3. Показано, что замена одной из карбаматных групп в бискарбаматах с рострегуляторной активностью на мочевиновую приводит к значительному усилению антистрессовых свойств и к появлению антидотной активности в отношении гербицидов как гормонального, так и антиметаболического действия.
4. С целью получения потенциально более избирательных соединений с цитокининовой активностью разработан способ получения O-оксамоилалкилзамещенных карбаматов на основе хиральных аминок спиртов.
5. Установлено, что O-алкилкарбамоилэтилзамещенные мочевины легко инкапсулируются в мицеллы сополимеров N-винилкапролактама и N-винилимидазола. Этот способ солюбилизации регуляторов роста в мицеллах может быть использован в разработке препаративной формы регуляторов роста на основе полученных соединений.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Воробьев М.М., Коваленко Л.В., Калистратова А.В., Ощепков М.С., Филиппова В.С., Ходак А.А., Кочетков К.А. β-Оксалиламинозамещенные O-этил-N-арилкарбаматы и N-этил-N'-арилмочевины, инкапсулированные в мицеллах сополимера винилимидазола и винилкапролактама// Доклады академии наук. – 2017. – Т. 473, № 6. – С. 669–672
2. Коваленко Л.В., Калистратова А.В., Ощепков М.С., Глухоедова Е.А., Соловьева И.Н., Воробьев М.М., Кочетков К.А., Каракотов С.Д. Синтез новых N-алкоксикарбониламиноэтил-N'-арилмочевин, проявляющих рострегуляторную активность.// Бутлеровские сообщения. – 2017. – Т.50, №4. – С.146-152.

3. Vorobyev M.M., Kovalenko L.V., Kalistratova A.V., Oshchepkov M.S., Kochetkov K.A., Mammadbeyli E.H. Phytoactive compounds encapsulated in micelles of vinylimidazole–vinylcaprolactame copolymer// PPOR. – 2017. – Vol. 18, No. 1. – P.18-23
4. Пат. 2632466 РФ. N-Алкоксикарбониламиноэтил-N'-арилмочевины, проявляющие рострегулирующую активность. Кочетков К.А., Коваленко Л.В., Калистратова А.В., Ощепков М.С., Воробьев М.М., Протопопова П.С., дата публ. 5.10.2017
5. Пат. 2633358 РФ. Способ получения N-арил-О-алкилкарбаматов. Мантров С.Н., Гордеев Д.А., Дашкин Р.Р., Калистратова А.В., Нефёдов П.А., дата публ. 12.10.2017
6. Коваленко Л.В., Калистратова А.В., Ощепков М.С., Кочетков К.А., Никитина А.С. Получение новых соединений с цитокининовой активностью, в состав которых входят карбаматные и оксаматные функциональные группы, для создания комплексных препаратов для предпосевной обработки семян// Успехи в химии и хим. технологии. - 2015. - Т. 29. - Вып. 10. - С. 115 – 117
7. Суярембитова Д.З., Калистратова А.В., Ощепков М.С., Коваленко Л.В. Получение эфиров щавелевой кислоты// Успехи в химии и хим. технологии – 2016. – Т. 30. – Вып. 11. – С. 85 – 87
8. Суярембитова Д.З., Калистратова А.В., Ощепков М.С., Коваленко Л.В. Получение (N-2-гидроксиэтил)оксаматов// Успехи в химии и хим. технологии. - 2016. - Т. 30. - Вып. 11. - С. 83 – 84
9. Калистратова А.В., Коваленко Л.В., Ощепков М.С., Глухоедова Е.А., Кочетков К.А. Синтез и рострегуляторная активность N-алкоксикарбониламиноэтил-N'-арилмочевин// VII Молодежная конференция ИОХ РАН: 17–18 мая 2017 г., Москва: Сборник тезисов докладов. – М.: МАКС Пресс, 2017. –с. 97
10. Герасимова Т.С., Калистратова А.В., Ощепков М.С., Коваленко Л.В. Синтез эфиров 2-карбомоилоксиэтилоксиаминовых кислот с потенциальной рострегуляторной активностью// VII Молодежная конференция ИОХ РАН: 17–18 мая 2017 г., Москва: Сборник тезисов докладов. – М.: МАКС Пресс, 2017. –с. 73
11. Калистратова А.В., Глухоедова Е.А. Новые регуляторы роста растений антистрессового действия// "Инновации в химии: достижения и перспективы – 2017". – М.: Издательство «Перо», 2017. с. 536
12. Калистратова А. В., Коваленко Л. В., Ощепков М. С. Новые регуляторы роста растений антистрессового действия // Ресурсо- и энергосберегающие технологии в химической и нефтехимической промышленности. VIII Международная конференция РХО им. Д.И. Менделеева: тезисы докладов. / Под ред. Е. Г. Винокуров. — РХТУ им. Д. И. Менделеева, Москва, 2017. — С. 142–143.