

7-(2-АРИЛ-1-ЦИАНОВИНИЛ)- 1,2,3,4-ТЕТРАГИДРОПИРАЗОЛО[1,5-*a*][1,3,5]ТРИАЗИН- 8-КАРБОНИТРИЛЫ: СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

© 2023 г. С. Ф. Степанова¹, А. М. Семенова¹, В. В. Доценко^{1,2,*}, В. Д. Стрелков^{1,2},
А. З. Темердашев¹, О. А. Гасюк¹, Н. Н. Волченко¹, Н. А. Аксенов², И. В. Аксенова²

¹ Кубанский государственный университет, ул. Ставропольская 149, Краснодар, 350040 Россия

² Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, 355009 Россия

*e-mail: victor_dotsenko_@mail.ru

Поступило в редакцию 19 апреля 2023 г.

После доработки 22 мая 2023 г.

Принято к печати 23 мая 2023 г.

Предложен новый способ получения 5-амино-3-(цианометил)-1*H*-пиразол-4-карбонитрила взаимодействием калиевой соли димера малононитрила с сульфатом гидразиния. Реакция 5-амино-3-(цианометил)-1*H*-пиразол-4-карбонитрила с ароматическими альдегидами в присутствии каталитических количеств морфолина приводит к образованию продуктов конденсации Кнёвенагеля. Аминометилирование полученных (Z)-5-амино-3-(2-арил-1-циановинил)-1*H*-пиразол-4-карбонитрилов под действием первичных ароматических аминов и избытка водного НСНО в кипящем ДМФА приводит к образованию 7-(2-арил-1-циановинил)-1,2,3,4-тетрагидропиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин-8-карбонитрилов. Проведено исследование параметров биодоступности *in silico*, методом протеин-лигандного докинга спрогнозированы возможные белковые мишени. В эксперименте *in vitro* на культурах *E. coli*, *S. aureus* и *B. pumilis* 5-амино-3-(цианометил)-1*H*-пиразол-4-карбонитрил не показывает сколь-либо заметный антибактериальный эффект. В то же время, три соединения ряда пиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазина обнаружили выраженный антидотный эффект в отношении гербицида 2,4-Д на проростках подсолнечника в лабораторном эксперименте, для одного соединения отмечено заметное ростостимулирующее действие.

Ключевые слова: 5-амино-3-цианометил-1*H*-пиразол-4-карбонитрил, реакция Манниха, пиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины, антидотная активность, ростостимулирующее действие

DOI: 10.31857/S0044460X23060069, **EDN:** FLBMRX

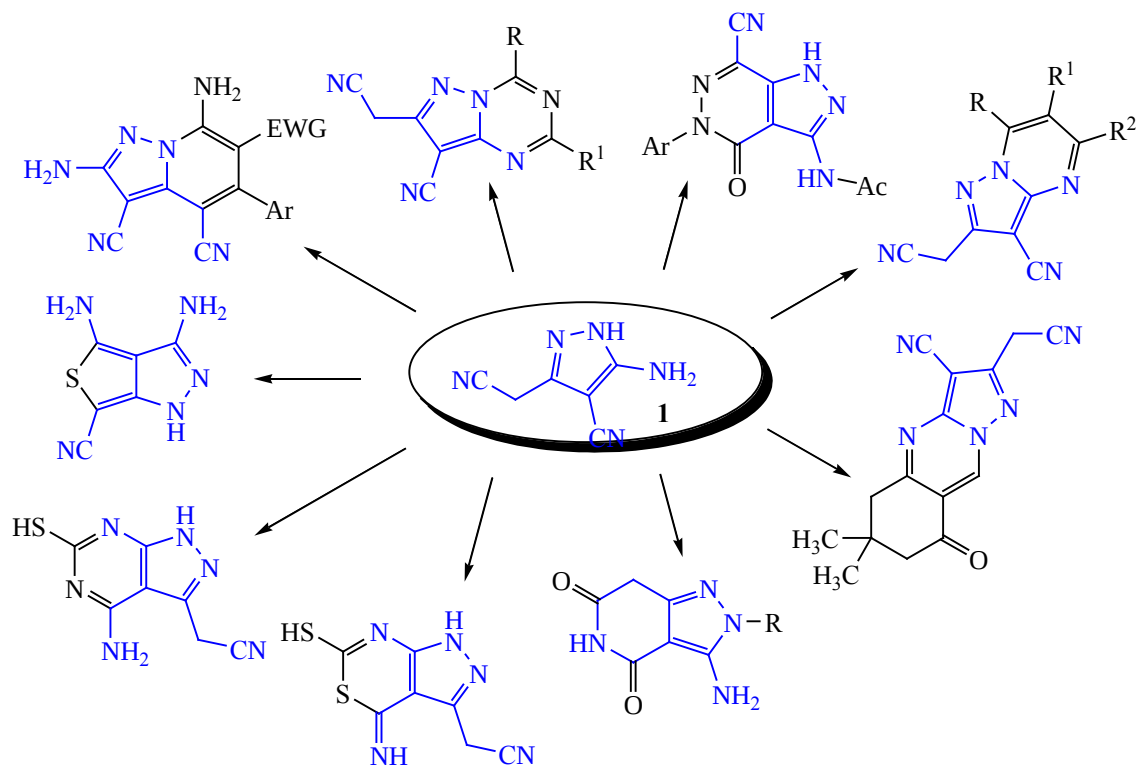
Будучи биоизостерами пуриновых нуклеотидов, пиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины (5-аза-9-деазапурины) представляют интерес для поиска новых биологически активных молекул [1–5]. В работах последних лет сообщалось, что представители этого класса соединений проявляют свойства ингибиторов тимидинфосфорилазы [6–8], ингибиторов киназ с выраженными противоопухолевыми свойствами [9–15], ингибиторов фосфодиэстеразы [16, 17]. Пиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины также представляют интерес как препараты для антиги-

перурикемической терапии – ингибиторы ксантиноксидазы в биосинтезе мочевой кислоты [18–22], потенциальные анксиолитики и антидепрессанты – селективные антагонисты рецептора кортикотропин-рилизинг-фактора-1 (CRF1) [23–28], ингибиторы полимеризации тубулина со специфической антипролиферативной активностью в отношении клеток колоректального рака [29], антагонисты каннабиноидных рецепторов, пригодные для лечения ожирения [30, 31], как антивирусные агенты [32] и др.

Схема 1.



Схема 2.

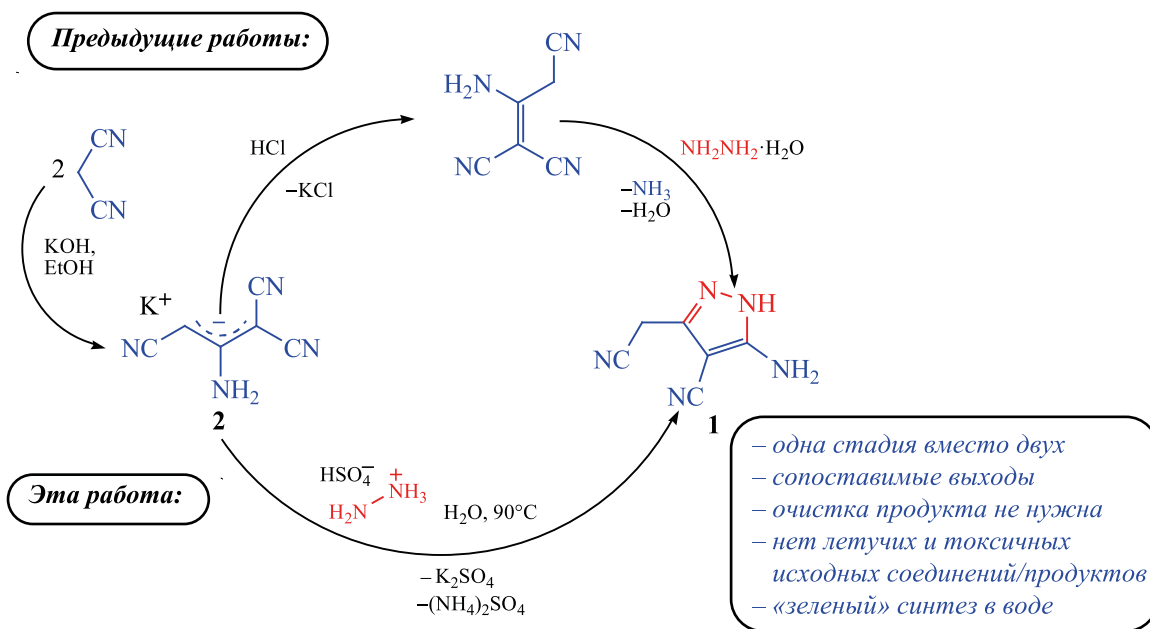


Среди большого числа публикаций по методам получения производных пиразоло[1,5-*a*][1,3,5]-триазина (обзорные работы см. [3–5]) обнаруживаются всего две статьи [33, 34], описывающие получение пиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинов из 3(5)-аминопиразолов в условиях двойного аминотетрагидропиразоло... метилирования по Манниху. 5-Амино-3-(цианометил)-1*H*-пиразол-4-карбонитрил **1**, который доступен реакцией малононитрила [35] или димера малононитрила [35, 36] с гидразингидратом (схема 1), широко используется в синтезе различных конденсированных гетероциклических продуктов с выраженной биологической активностью. Так, пиразол **1** выступил в качестве ис-

ходного реагента для получения замещенных пиразоло[1,5-*a*]пиридинов [37–39], пиразоло[1,5-*a*]пиримидинов [40–45], пиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазинов [44, 46, 47], пиразоло[3,4-*d*]пиридазинов [48], пиразоло[4,3-*c*]пиридинов [49, 50], пиразоло[1,5-*a*]хиназолинов [51], пиразоло-1,3-тиазинов [52], пиразоло[3,4-*d*]пиримидинов [53], 3,4-диамино-1*H*-тиено[3,4-*c*]пиразол-6-карбонитрила [54] (схема 2). Следует отметить, что в литературе отсутствуют данные о поведении производных 5-амино-3-(цианометил)-1*H*-пиразол-4-карбонитрила **1** в условиях аминотетрагидропиразоло... метилирования.

В продолжение исследований в области реакций циклизации 3(5)-аминопиразолов [55–57] мы

Схема 3.



решили изучить поведение арилметиленовых производных 5-амино-3-(цианометил)-1*H*-пирозол-4-карбонитрила в условиях реакции Манниха, а также исследовать некоторые свойства продуктов реакции.

В ходе выполнения исследований нами был модернизирован способ получения исходного соединения **1**. Для получения 5-амино-3-цианометил-1*H*-пирозол-4-карбонитрила **1** обычно используется реакция малононитрила либо его димера с гидразингидратом в этаноле или метаноле при кипячении [35, 36, 58, 59] (схема 3). Для получения димера малононитрила обычно используется двустадийный способ Миттельбаха [60], основанный на обработке малононитрила раствором КОН в этаноле с количественным образованием калиевой соли димера малононитрила **2** и ее последующим подкислением HCl до pH 4 в минимальном объеме воды (схема 3). Установлено, что вместо гидразингидрата и димера малононитрила в реакцию могут быть с успехом введены сульфат гидразиния и калиевая соль димера малононитрила **2**. При этом сокращается число стадий и потери, так как отсутствует необходимость выделения димера малононитрила в индивидуальном виде.

Оптимальным растворителем для реакции является вода, поскольку сульфат гидразиния и калиевая соль димера малононитрила **2** легко в ней растворимы, тогда как цианометилпирозол **1** в холодной воде растворим плохо. Проведение реакции в этаноле дает неудовлетворительный результат из-за низкой растворимости исходных реагентов. Калиевая соль димера малононитрила **2** и сульфат гидразиния образуют исходные реагенты (димер малононитрила и гидразин) в условиях синтеза. В отличие от летучего и токсичного гидразингидрата, сульфат гидразиния нелетуч и существенно менее токсичен, является действующим веществом противоопухолевого препарата Сигразин (Сегидрин). Выделяющийся в ходе реакции аммиак по новому способу связывается высвобождающейся серной кислотой и остается в растворе в виде соли аммония. Таким образом, в ходе реакции не образуется летучих и токсичных побочных продуктов (схема 3). Эмпирически найдено, что оптимальными условиями для синтеза является использование минимальных объемов воды и нагревание при 90°C в течение 2 ч (табл. 1).

Строение 5-амино-3-(цианометил)-1*H*-пирозол-4-карбонитрила **1** подтверждено спектральными

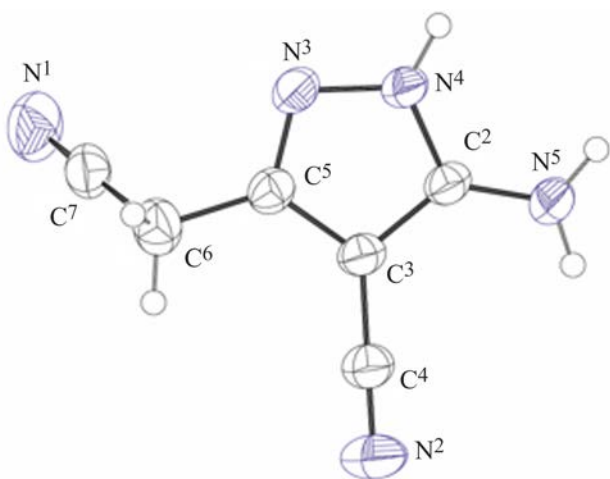
Таблица 1. Зависимость выходов 5-амино-3-цианометил-1*H*-пиразол-4-карбонитрила **1** от времени реакции^a

№ опыта	Время реакции, ч	Выход соединения 1 , %
1	0.5	44
2	1.0	62
3	1.5	65
4	2.0	77
5	3.0	70
6	4.0	62
7	5.0	67
8	6.0	64

^a Условия реакции: 1.90 г (1.462 ммоль) сульфата гидразиния и 2.50 г (1.462 ммоль) калиевой соли **2**, объем растворителя (дистиллированная вода) – 15 мл, температура реакционной смеси 90°C.

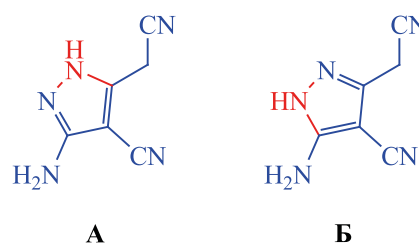
ми методами, а также впервые исследовано методом РСА (рис. 1, табл. S1–S7, см. Дополнительные материалы).

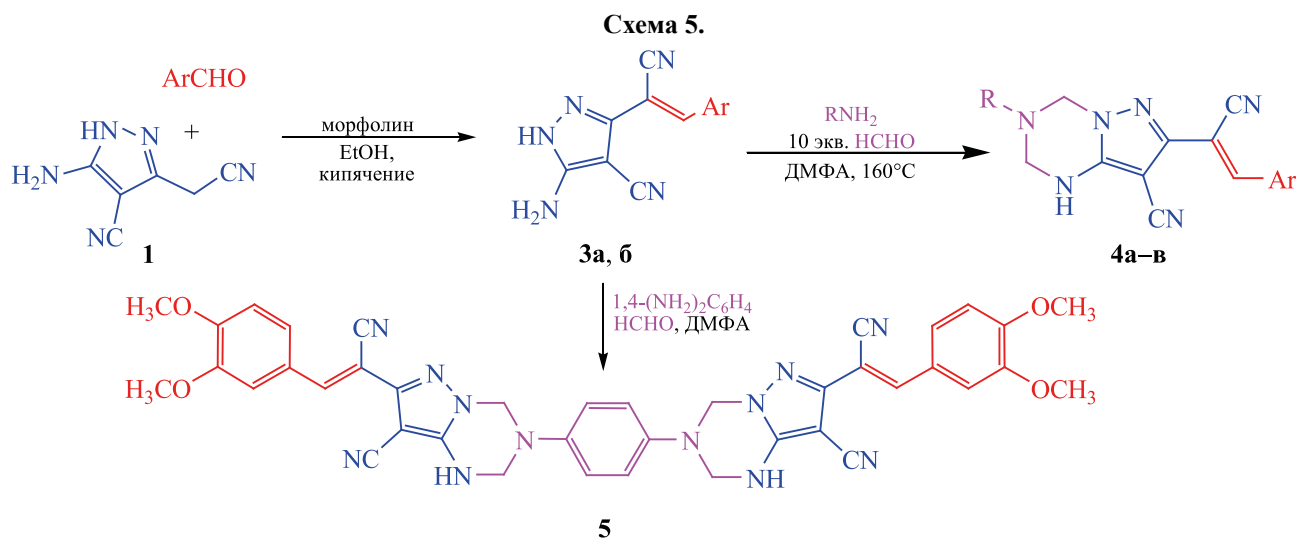
Обычно соединение **1** представляют в виде таутомерных форм **A** и **B** (схема 4). Ранее [44] нами были проведены квантово-химические расчеты с использованием гибридного функционала B3LYP с дисперсионной поправкой D3BJ в базисном наборе def2-TZVPP, которые показали, что сопоставимую вероятность существования обеих тауто-

**Рис. 1.** Общий вид молекулы 5-амино-3-(цианометил)-1*H*-пиразол-4-карбонитрила **1** в кристалле.

мерных форм. Так, расчет без учета сольватации показал предпочтительность таутомерной формы **A** (разница в энергии с таутомером **B** составила 5.1 кДж/моль). В то же время, расчет с учетом неспецифической сольватации (растворитель – АсОН) в рамках континуумной модели СРСМ указывает на большую устойчивость 5-амино-1*H*-пиразольного таутомера **B** (разница в энергии с 3-амино-1*H*-пиразольным таутомером **A** оставляет 8.9 кДж/моль) [44]. По данным РСА, в кристалле соединение **1** представлено в таутомерной форме **B**.

Наиболее рациональным путем получения исходных арилметиленовых производных 5-амино-3-(цианометил)-1*H*-пиразол-4-карбонитрила **3** является взаимодействие цианометилпиразола с ароматическими альдегидами [37]. Ранее не описанные соединения **3a**, **б** получены по аналогии с методикой, представленной в работе [37]. Так, цианометилпиразол **1** реагирует с ArCHO в присутствии морфолина в кипящем EtOH с образованием 5-амино-3-(2-арил-1-циановинил)-1*H*-пиразол-4-карбонитрилов **3a**, **б** (схема 5). Аминометилирование исходных соединений **3a**, **б** под действием первичных ароматических аминов и избытка HCHO в кипящем ДМФА ведет к образованию ранее не описанных 7-(2-арил-1-циановинил)-1,2,3,4-тетрагидропиразоло[1,5-*a*][1,3,5]-триазин-8-карбонитрилов **4a–в** и **5**. ДМФА оказался предпочтительным растворителем, поскольку в спиртовой среде реакция Манниха с участием соединения **3** сопровождается заметным осмолением. Строение полученных соединений подтверждено данными ИК, ЯМР ¹H и ¹³C DEPTQ спектроскопии, а также данными масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS) (см. Дополнительные материалы).

Схема 4.



Ar = 3,4-(CH₃O)₂C₆H₃ (**3a**), 4-(CH₃)₂NC₆H₄ (**3b**); R = Ph, Ar = 3,4-(CH₃O)₂C₆H₃ (**4a**), 4-(CH₃)₂NC₆H₄ (**4b**); R = 4-ClC₆H₄, Ar = 3,4-(CH₃O)₂C₆H₃ (**4v**).

Принимая во внимание широкий спектр биологического действия производных пиразоло[1,5-*a*]-[1,3,5]триазина [3–5], мы решили провести первичный предикторный анализ и расчет *in silico* возможных мишеней, параметров ADMET и соответствия критериям биодоступности для соединений **1**, **3a, б**, **4a–в**, **5**. Анализ структур на соответствие «правилу пяти» К. Липински [молекулярная масса (MW) ≤ 500, *cLogP* ≤ 5.0, TPSA ≤ 140 Å², число акцепторов водородных связей ≤ 10, доноров ≤ 5] [61–63] проведен с использованием программного сервиса OSIRIS Property Explorer [64]. Полученные расчетные данные представлены в табл. S8 (см. Дополнительные материалы). Согласно полученным данным, значение *cLogP* для соединений **1**, **3a, б**, **4a–в**, **5** находится в диапазоне –0.88–4.61, что указывает на вероятную хорошую абсорбцию [61–63]. В то же время, значение *logS* < –5.0 для соединений **4** и **5** указывает на весьма низкую их растворимость (менее 1×10^{–5} моль/л), что ограничивает биодоступность. Молекулярные массы и показатели параметра TPSA всех соединений (кроме **5**) соответствуют критериям пероральной биодоступности. Прогноз демонстрирует отсутствие риска возможных токсических эффектов только для исходного соединения **1**, для него же отмечено наивысшее значение показателя фар-

макологического потенциала соединения (drug score). Для прогнозирования параметров ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity) также использовался программный пакет admetSAR [65]. Согласно критериям US EPA, по острой пероральной токсичности все соединения можно отнести к III категории (500 мг/кг < LD₅₀ < 5000 мг/кг). Для всех соединений прогнозируется высокая гастроэнтеральная абсорбция и вероятная возможность проникновения через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Для всех соединений прогнозируется полное отсутствие ингибирующего действия в отношении изофермента CYP2D6 цитохрома P450, а также неоднозначные эффекты в отношении ингибирования других изоформ P450 и возможных мутагенных эффектов в тесте Эймса. Результаты суммированы в табл. S9 (см. Дополнительные материалы).

Возможные протеиновые мишени для соединений **1**, **3a, б**, **4a–в**, **5** соединений были спрогнозированы с использованием протокола протеин-лигандного докинга GalaxySagittarius [66] на базе веб-сервера GalaxyWeb [67, 68]. В табл. S10 (см. Дополнительные материалы) представлены результаты докинга для соединений **1**, **3a, б**, **4a–в**, **5** для 20 комплексов мишень-лиганд с наилучшей оценкой протеин-лигандного взаимодействия и

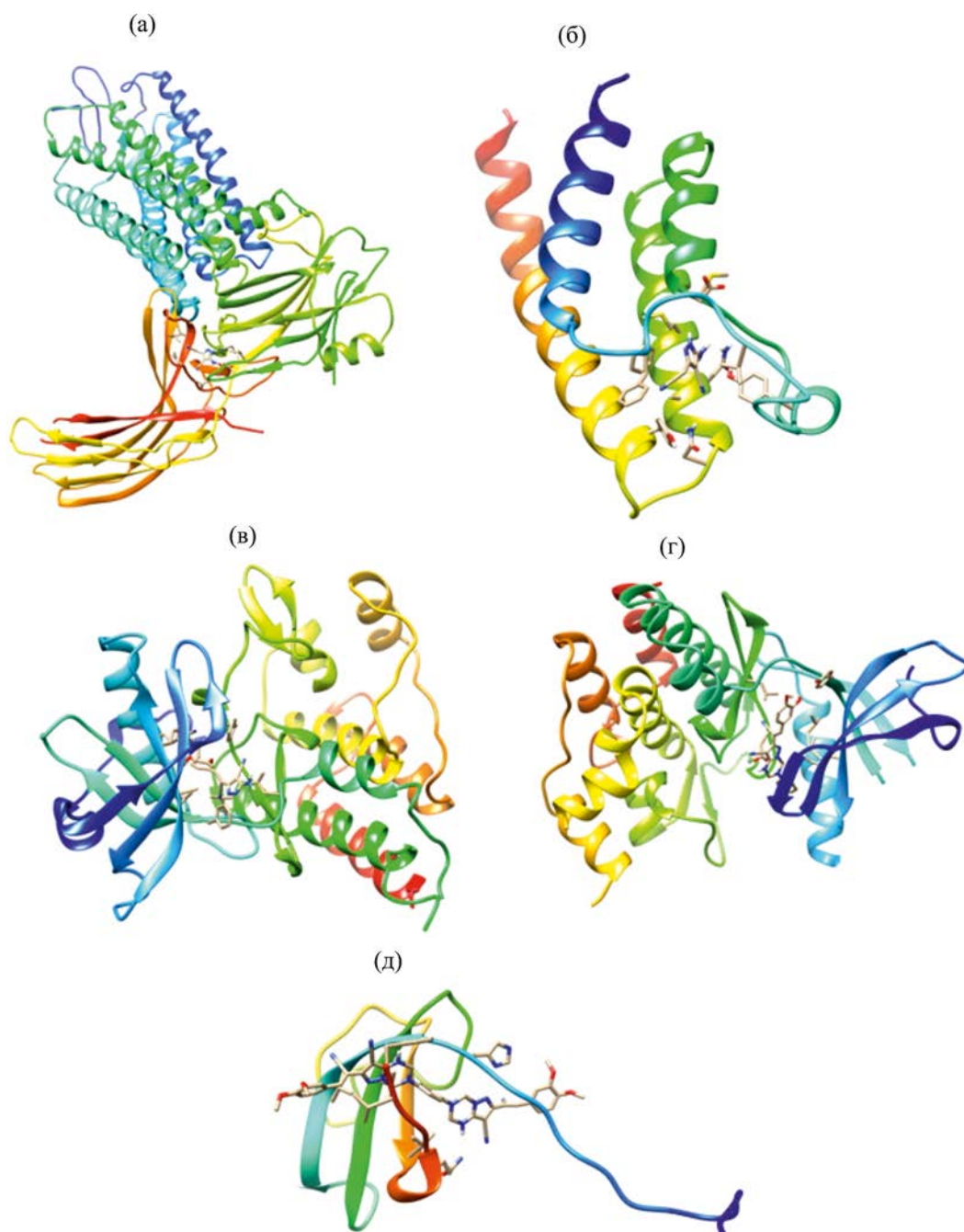


Рис. 2. Прогнозируемая структура некоторых протеин-лигандных комплексов пиразола **1** с сигнальным белком (PDB ID 4zwj_B) (а) и бромодомен-содержащим белком BRD9 (PDB ID 6v1b_B) (б), соединения **3a** с киназой VEGFR2 (PDB ID 3vo3_A) (в), соединения **4a** с Янус-киназой JAK3 (PDB ID 5tts_A) (г), соединения **5** с динактином-1 (PDB ID 2hl3_B) (д).

минимальной свободной энергией связывания ΔG_{bind} . Как можно заметить из табл. S10, полученные соединения обнаруживают сродство к широкой группе белков-киназ и трансфераз. Минимальные значения свободной энергии связывания ΔG_{bind} для соединения **1** прогнозируется для химерного белка – активной формы человеческого родопсина, связанной с преактивированной формой мышинового зрительного арестина (PDB ID 4zwj_B, $\Delta G_{\text{bind}} = -12.618$ ккал/моль) (рис. 2а) и для цепи В бромодомен-содержащего белка BRD9 (PDB ID 6v1b_B, $\Delta G_{\text{bind}} = -11.600$ ккал/моль) (рис. 2б). Для арилметилиденовых производных **3а, б** предикторный анализ дает набор близких мишеней – Янус-киназа JAK2 (PDB ID 3fur_A), киназа VEGFR2 (PDB ID 3vo3_A), тирозинкиназа Брутона BTK (PDB ID 5p9m_A), тирозиновая протеинкиназа ITK/TSK (PDB ID 4rfm_A), Янус-киназа JAK1 (PDB ID 4k6z_A), митоген-активируемая протеинкиназа MAPK13 (PDB ID 4yno_A). На рис. 2в показан комплекс соединения **3а** с цепью А киназы VEGFR2 (PDB ID 3vo3_A, $\Delta G_{\text{bind}} = -20.308$ ккал/моль). Общей мишенью для пиразоло[1,5-а][1,3,5]триазинов **4а–в** является Янус-киназа JAK3 (PDB ID 5tts_A, $\Delta G_{\text{bind}} = -19.307$ до -22.206 ккал/моль). На рис. 2г представлен комплекс соединения **4а** с Янус-киназой JAK3. Наконец, 3,3'-(1,4-фенилен)бис(пиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-8-карбонитрил) **5** имеет наиболее заметное сродство к субъединице I цитохром с-оксидазы (PDB ID 5z62, $\Delta G_{\text{bind}} = -30.816$ ккал/моль) и структурному белку динактину-1 (PDB ID 2hl3_B, $\Delta G_{\text{bind}} = -30.565$ ккал/моль) (рис. 2д). В целом, полученные результаты указывают на перспективность исследования активности полученных соединений в отношении аутоиммунных и онкологических заболеваний. Представленная на рис. 2 трехмерная визуализация результатов молекулярного докинга реализована средствами программного комплекса UCSF Chimera [69, 70].

Для наиболее перспективного соединения **1** было проведено исследование антибактериального действия в отношении грамотрицательной палочки *Escherichia coli*, грамположительных кокков *Staphylococcus aureus* и грамположительной спорообразующей палочки *Bacillus pumilis*. В результате на всех чашках наблюдался сплошной рост исследуемых микроорганизмов, какая-либо задержка роста отсутствовала. Соединение **1** ни в

одной из концентраций не оказывает сколь-либо заметного действия на указанные микроорганизмы.

На базе Федерального научного центра биологической защиты растений (Краснодар) для полученных соединений была изучена антидотная активность в отношении гербицида 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) на культуре подсолнечника, а также росторегулирующее действие. Известно, что 2,4-Д обладает довольно высокой токсичностью для подсолнечника: доза 15–18 г/га по действующему веществу приводит к 40–60%-ному снижению урожая [71]. Для нейтрализации негативного действия пестицидов на сельхозкультуры используют антидоты гербицидов. С момента открытия антидотов гербицидов в начале 1960-х [72] и по текущий момент (обзорные работы см. [73–75]) антидоты гербицидов широко используются в агрохимической практике. Установлено, что в условиях лабораторного эксперимента соединения **4а, б** и **5** обнаруживают антидотный эффект в отношении гербицида 2,4-Д на проростках подсолнечника сорта Мастер. Результаты суммированы в табл. S11 (см. Дополнительные материалы). Как можно заметить из табл. S11, пиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин **4а** снижал отрицательное действие 2,4-Д на гипокотили проростков подсолнечника на 48–63% и на корни проростков – на 52–62%, пиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин **4б** – на 31–58 и 39–54%, и соединение **5** – на 31–53 и 47–52% соответственно.

Исследование росторегулирующего действия проводили на проростках подсолнечника сорта Мастер по известной методике [76]. Обнаружено, что только соединение **4а** обнаруживает заметный ростостимулирующий эффект (прирост 25% относительно контроля для гипокотиле и корня в концентрации 10^{-5} мас%), тогда как соединения **4б** и **5** обладают слабо выраженным росторегулирующим действием (табл. S12, см. Дополнительные материалы).

Таким образом, в настоящей работе нами предложен основанный на реакции калиевой соли димера малонитрила с сульфатом гидразиния усовершенствованный метод синтеза 5-амино-3-(цианометил)-1H-пиразол-4-карбонитрила, изучено строение последнего с привлечением метода РСА. Также предложен способ получения ранее не описанных производных пиразоло[1,5-а][1,3,5]-

триазины через аминометилирование по Манниху продуктов конденсации синтеза 5-амино-3-(цианометил)-1H-пиразол-4-карбонитрила с ароматическими альдегидами. Оптимизация условий и выяснение возможностей и ограничений реакции составят предмет дальнейших исследований. Методами *in silico* рассчитан ряд параметров ADMET для новых соединений, для производных пиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины отмечено частичное несоответствие критериям биодоступности и риски возможных токсических эффектов. С другой стороны, результаты молекулярного докинга показывают, что полученные соединения перспективны для дальнейшего скрининга с целью поиска новых препаратов для лечения аутоиммунных и онкозаболеваний. Установлено, что в *in vitro* эксперименте на культурах *E. coli*, *S. aureus* и *B. pumilis* 5-амино-3-(цианометил)-1H-пиразол-4-карбонитрил не обнаруживает противомикробного действия. Исследования агрохимического потенциала показали, что только одно соединение – 2-[3,4-диметоксифенил]-1-циановинил)-3-фенил-1,2,3,4-тетрагидропиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазин-8-карбонитрил – обладает заметным ростостимулирующим эффектом на проростках подсолнечника, тогда как три продукта ряда пиразоло[1,5-*a*][1,3,5]триазины обладают выраженным антидотным действием по отношению к гербициду 2,4-Д в условиях лабораторного эксперимента на проростках подсолнечника.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК спектры получали на спектрофотометре Bruker Vertex 70 с приставкой НРВО методом нарушенного полного внутреннего отражения на кристалле алмаза, погрешность ± 4 см⁻¹. Спектры ЯМР записывали на приборе Bruker Avance III HD 400MHz (400.17 МГц на ядрах ¹H, 100.63 МГц – ¹³C) в растворе ДМСО-*d*₆, в качестве стандарта использовали остаточные сигналы ДМСО. Масс-спектры (HRMS) регистрировали с использованием квадруполь-времяпролетного масс-спектрометра Bruker MaXis Impact, оснащенного источником электрораспылительной ионизации в режиме регистрации положительных ионов. Напряжение на источнике ионизации – 3.5 кВ, скорость потока газа-осушителя – 8 л/мин, давление газа-распылителя – 2 бара, температура источника

ионизации – 250 градусов, диапазон сканирования масс (*m/z*) – 50–1000 Да, скорость сканирования – 3 Гц. Обработку данных производили с использованием программного обеспечения Bruker Data Analysis 4.1. Индивидуальность полученных образцов контролировали методом ТСХ на пластинках Сорбфил-А («ООО Имид», Краснодар), элюент – ацетон–петролейный эфир (1:1) или этилацетат–гексан (1:1), проявитель – пары иода, УФ детектор. Температуры плавления измеряли в капилляре на приборе ПТП и не корректировали.

Калиевая соль димера малононитрила получена по методу Миттельбаха [60] димеризацией малононитрила в присутствии КОН.

5-Амино-3-(цианометил)-1H-пиразол-4-карбонитрил (1). Смесь 2.50 г (1.462 ммоль) калиевой соли димера малононитрила **2** [60], 1.90 г (1.462 ммоль) сульфата гидразиния и 15 мл дистиллированной воды выдерживают при 90°C в течение 2 ч при постоянном перемешивании, затем смесь охлаждали при –12°C в течение 24 ч. Кристаллы соединения **1** отфильтровывали, промывали ледяной дистиллированной водой (25 мл), и сушили при 60°C. Получали 5-амино-3-цианометил-1H-пиразол-4-карбонитрил в виде светло-коричневого мелкокристаллического порошка в аналитически чистом виде (ТСХ). Выход 77%, т. пл. 199–201°C (т. пл. 197–198°C [35, 59], 197°C [58]). ИК спектр, ν , см⁻¹: 3389 с, 3352 с, 3315 сл, 3238 ср, 3165 уш (N–H), 2266 сл (C≡N), 2214 с (C≡N), 1652 (C=N). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ , м. д.: 3.93 с (2H, CH₂), 6.50 уш. с (2H, NH₂), 12.00 уш. с (1H, NH). Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, ДМСО-*d*₆), δ _C, м. д.: 16.4 (CH₂), 71.3 (C⁴-пиразол), 114.4 (C≡N), 117.0 (C≡N), 143.4 (C³-пиразол), 154.1 (C⁵-пиразол). Найдено, %: С 48.90; Н 3.57; N 47.53. С₆H₅N₅. Вычислено, %: С 48.98; Н 3.43; N 47.60. *M* 147.14.

5-Амино-3-[2-(3,4-диметоксифенил)-1-циановинил]-1H-пиразол-4-карбонитрил (3a). К смеси 1.00 г (0.007 моль) 5-амино-3-цианометил-1H-пиразол-4-карбонитрила, 1.10 г (0.007 моль) 3,4-диметоксибензальдегида, 20 мл EtOH добавляли морфолин в каталитическом количестве (0.3 мл). Реакционную смесь кипятили в течение 4 ч, затем охлаждали и выдерживали при 25°C в течение 24 ч. Осадок отфильтровывали, промывали этанолом (25 мл) и сушили при комнат-

ной температуре. Выход 64%, ярко-желтый порошок, т. пл. 215–217°C. ИК спектр, ν , см^{-1} : 3362 сл, 3327 ср, 3201 уш, ср (N–H), 2220 ср ($\text{C}\equiv\text{N}$), 2202 ср ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1686 ср ($\text{C}=\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. д.: 3.80 с (3H, MeO), 3.84 с (3H, MeO), 6.67 уш. с (2H, NH_2), 7.12 д. д (1H, $\text{H}^6\text{-Ar}$) 3J 8.4, 4J 3.2 Гц), 7.42 уш. д (1H, $\text{H}^5\text{-Ar}$) 3J 8.4 Гц), 7.59 уш. с (1H, CH=), 7.78 д (1H, $\text{H}^3\text{-Ar}$) 4J 3.2 Гц), 12.37 уш. с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C DEPTQ (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ_{C} , м. д.: 55.5* (OCH_3), 55.7* (OCH_3), 100.7 ($=\text{C}-\text{CN}$), 111.3* (CH-Ar), 111.8* (CH-Ar), 115.2 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 116.7 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 124.1* (CH-Ar), 125.5 ($\text{C}^1\text{-Ar}$), 142.9* (CH=), 145.9 ($\text{C}^3\text{-пиразол}$), 148.7 ($\text{C}-\text{OMe}$), 151.4 ($\text{C}-\text{OMe}$), 154.9 ($\text{C}^5\text{-пиразол}$). Сигнал C^4 пиразола не наблюдается ввиду низкой интенсивности. Здесь и далее звездочкой обозначены сигналы в противофазе. Масс-спектр (HRMS ESI-TOF), m/z : 281.1042 [$M - \text{N}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_2$: 281.1039, $\Delta = -1.07$ м. д.).

5-Амино-3-{2-[4-(диметиламино)фенил]-1-циановинил}-1H-пиразол-4-карбонитрил (3б) получали аналогично из 1.00 г (0,007 моль) 5-амино-3-цианометил-1H-пиразол-4-карбонитрила **1** и 1.10 г (0.007 моль) 4-(диметиламино)бензальдегида. Выход 78%, оранжевый порошок, т. пл. 243–244°C. ИК спектр, ν , см^{-1} : 3416 ср, 3325 ср, 3230 уш, с (N–H), 2212 с ($\text{C}\equiv\text{N}$), 2199 ср ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. д.: 3.02 с (6H, Me_2N), 6.59 уш. с (2H, NH_2), 6.80 д (2H, $\text{H}^3, \text{H}^5\text{-Ar}$, 3J 8.9 Гц), 7.67 с (1H, CH=), 7.75 д (2H, $\text{H}^2, \text{H}^6\text{-Ar}$, 3J 8.9 Гц), 12.25 уш. с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C DEPTQ (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ_{C} , м. д.: 39.6* (Me_2N), 96.0 ($=\text{C}-\text{CN}$), 111.7* (2CH-Ar), 115.4 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 117.5 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 119.9 ($\text{C}^1\text{-Ar}$), 131.2* (2CH-Ar), 143.0* (CH=), 146.6 ($\text{C}^3\text{-пиразол}$), 152.0 ($\text{C}-\text{NMe}_2$), 154.8 (C^5 пиразол). Сигнал C^4 пиразола не наблюдается ввиду низкой интенсивности. Масс-спектр (HRMS ESI-TOF), m/z : 527.2416 [$2M - \text{N}_2\text{H}_2 + \text{H}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{N}_{10}$: 527.2420, $\Delta = 0.76$ м. д.).

7-[2-(3,4-Диметоксифенил)-1-циановинил]-3-фенил-1,2,3,4-тетрагидропиразоло[1,5-а]-[1,3,5]триазин-8-карбонитрил (4а). Смесь 0.40 г (0.0014 моль) 5-амино-3-(2-[3,4-диметоксифенил]-1-циановинил)-1H-пиразол-4-карбонитрила **3а**, 0.50 мл (0.014 моль) 37%-ного водного формалина, 0.14 мл (0.0015 моль) анилина (ρ 1.022 г/ см^3) и 7 мл ДМФА выдерживали при 160°C в течение

25 мин при постоянном перемешивании (контроль по ТСХ), затем охлаждали и выдерживали 24 ч до завершения кристаллизации. Осадок отфильтровывали и сушили при 60°C. Выход 69%, светло-желтые кристаллы. Кристаллизация из ДМФА приводит к выделению сольвата состава **4а**·ДМФА, т. пл. 202°C. ИК спектр, ν , см^{-1} : 3203 сл, 3161 сл, 3105 сл (N–H), 2972 сл, 2941 сл, 2915 сл (C–H), 2220 ср, 2204 с ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1657 с ($\text{C}=\text{O}$, ДМФА). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. д.: 2.72 с [3H, N(CH_3) $_2$, ДМФА], 2.83 с [3H, N(CH_3) $_2$, ДМФА], 3.79 с (3H, OCH_3), 3.83 с (3H, OCH_3), 4.87 уш. с (2H, NCH_2NH), 5.69 уш. с (2H, NCH_2N), 6.95–6.98 м (1H, $\text{H}^4\text{-NPh}$), 7.10–7.13 м [3H, $\text{H}^2, \text{H}^6\text{-NPh}$, H^5 , 3,4-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$], 7.27–7.30 м (2H, $\text{H}^3, \text{H}^5\text{-NPh}$), 7.42 д [1H, $\text{H}^6\text{-3,4-(MeO)}_2\text{C}_6\text{H}_3$, 3J 8.6 Гц], 7.60 с [1H, H^2 3,4-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$], 7.80 с (1H, Ar-CH=), 7.94 с [1H, HC(O), ДМФА], 8.15 уш. с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C DEPTQ (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ_{C} , м. д.: 30.8* (CH_3 , ДМФА), 35.8* (CH_3 , ДМФА), 55.4* (OCH_3), 55.7* (OCH_3), 58.2 ($\text{NC}^2\text{H}_2\text{N}$), 64.9 ($\text{NC}^4\text{H}_2\text{N}$), 68.8 ($=\text{C}-\text{CN}$), 99.7 (C^8), 111.4* [C^2H 3,4-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$], 111.7* [C^5H , 3,4-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$], 114.2 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 116.6 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 118.5* (C^2H , C^6H NPh), 122.2* (C^4H -NPh), 124.3* [C^6H , 3,4-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$], 125.3 [C^1 , 3,4-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$], 129.4* (C^3H , C^5H , NPh), 143.8* (ArCH=), 144.9 (C^7), 146.6 ($\text{C}^1\text{-NPh}$), 148.7 [$\text{C}^3\text{-OMe}$, 3,4-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$], 150.2 [$\text{C}^4\text{-OMe}$, 3,4-(MeO) $_2\text{C}_6\text{H}_3$], 151.6 (C^{8a}), 162.3* [HC(O), ДМФА]. Масс-спектр (HRMS ESI-TOF), m/z : 413.1721 [$M + \text{H}$] $^+$ (вычислено для $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_2$: 413.1726, $\Delta = 1.21$ м. д.).

7-{2-[(4-Диметиламино)фенил]-1-циановинил}-3-фенил-1,2,3,4-тетрагидропиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-8-карбонитрил (4б) получали аналогично. Выход 71%, желтый порошок, т. пл. 224°C. ИК спектр, ν , см^{-1} : 3273 (N–H), 2901 сл (C–H), 2208 ср, уш ($\text{C}\equiv\text{N}$). Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м. д.: 3.01 с [6H, N(CH_3) $_2$], 4.86 уш. с (2H, NCH_2NH), 5.66 уш. с (2H, NCH_2N), 6.79 д (2H, $\text{H}^3, \text{H}^5\text{-4-Me}_2\text{NC}_6\text{H}_4$, 3J 8.5 Гц), 6.94–6.98 м (1H, $\text{H}^4\text{-NPh}$), 7.11 д (2H, $\text{H}^2, \text{H}^6\text{-NPh}$, 3J 8.6 Гц), 7.26–7.30 м (2H, $\text{H}^3, \text{H}^5\text{-NPh}$), 7.67 с (1H, Ar-CH=), 7.75 д (2H, $\text{H}^2, \text{H}^6\text{-4-Me}_2\text{NC}_6\text{H}_4$, 3J 8.5 Гц), 8.08 уш. с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C DEPTQ (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ_{C} , м. д.: 39.6* [N(CH_3) $_2$], 58.2 ($\text{NC}^2\text{H}_2\text{N}$), 64.7 ($\text{NC}^4\text{H}_2\text{N}$), 68.5 ($=\text{C}-\text{CN}$), 94.7 (C^8), 111.7* (C^3H , C^5H , 4- $\text{Me}_2\text{NC}_6\text{H}_4$), 114.5 ($\text{C}\equiv\text{N}$),

117.4 (C≡N), 118.5* (C²H, C⁶H, NPh), 119.7 (C¹, 4-Me₂NC₆H₄), 122.1* (C⁴H, NPh), 129.4* (C³H, C⁵H, NPh), 131.4* (C²H, C⁶H, 4-Me₂NC₆H₄), 143.9* (ArCH=), 145.6 (C⁷), 146.7 (C¹-NPh), 150.1 (C⁴, 4-Me₂NC₆H₄), 152.1 (C^{8a}). Масс-спектр (HRMS ESI-TOF), m/z : 396.1935 [M + H]⁺ (вычислено для C₂₃H₂₂N₇: 396.1937, Δ = 0.5 м. д.).

7-[2-(3,4-Диметоксифенил)-1-циановинил]-3-(4-хлорфенил)-1,2,3,4-тетрагидропиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-8-карбонитрил (4в) получали аналогично. Выделен сольват состава **4в**·ДМФА. Выход 32%, желтый порошок, т. пл. 261°C. ИК спектр, ν , см⁻¹: 3203 сл, 3149 сл, 3103 сл (N–H), 2947 сл, 2930 сл, 2901 сл, 2883 сл (C–H), 2224 ср, 2204 с (C≡N), 1659 с (C=O ДМФА). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м. д.: 2.72 с [3H, N(CH₃)₂, ДМФА], 2.87 с (3H, N(CH₃)₂, ДМФА), 3.79 с (3H, OCH₃), 3.83 с (3H, OCH₃), 4.87 д (2H, NCH₂NH, ³J_{CH–NH} 2.9 Гц), 5.69 уш. с (2H, NCH₂N), 7.10 д [1H, H⁵, 3,4-(MeO)₂C₆H₃, ³J 8.6 Гц], 7.15 д (2H, H², H⁶, 4-ClC₆H₄, ³J 9.1 Гц), 7.33 д (2H, H³, H⁵, 4-ClC₆H₄, ³J 9.1 Гц), 7.42 д. д [1H, H⁶, 3,4-(MeO)₂C₆H₃, ³J 8.6, ⁴J 2.0 Гц], 7.60 д [1H, H⁵, 3,4-(MeO)₂C₆H₃, ²J 2.0 Гц], 7.79 с (1H, ArCH=), 7.94 с [1H, HC(O), ДМФА], 8.16 уш. т (1H, NH, ³J_{CH–NH} 2.9 Гц). Спектр ЯМР ¹³C DEPTQ (101 МГц, ДМСО-*d*₆), δ_C, м. д.: 30.8* (CH₃, ДМФА), 35.8* (CH₃, ДМФА), 55.5* (OCH₃), 55.8* (OCH₃), 58.2 (NC²H₂N), 64.9 (NC⁴H₂N), 69.0 (=C–CN), 99.7 (C⁸), 111.4* [C²H, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 111.8* [C⁵H, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 114.2 (C≡N), 116.6 (C≡N), 120.2* (C²H, C⁶H, NAr), 124.4* [C⁶H, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 125.3 [C¹, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 126.1 (C–Cl), 129.2* (C³H, C⁵H, NAr), 143.9* (ArCH=), 145.0 (C⁷), 145.5 (C¹, NAr), 148.7 [C³–OMe, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 150.2 [C⁴–OMe, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 151.6 (C^{8a}), 162.4* [HC(O), ДМФА]. Масс-спектр (HRMS ESI-TOF), m/z : 447.1337 [M + H]⁺ (вычислено для C₂₃H₂₀ClN₆O₂: 447.1336, Δ = –0.22 м. д.).

3,3'-(1,4-Фенилен)бис{7-[2-(3,4-диметоксифенил)-1-циановинил]-1,2,3,4-тетрагидропиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-8-карбонитрил} (5). Смесь 0.80 г (0.0028 моль) соединения **3а**, 0.80 мл (0.022 моль) 37%-ного водного HCHO, 0.16 г (0.0015 моль) *пара*-фенилендиамин и 11 мл ДМФА выдерживали при 160°C в течение 35 мин при постоянном перемешивании (контроль по ТСХ), затем охлаждали до 25°C. Через 24 ч оса-

док отфильтровывали и сушили при 60°C. Выход 47%, светло-зеленый порошок, т. пл. 232°C. ИК спектр, ν , см⁻¹: 3333 уш, сл (N–H), 2937 сл, 2839 сл (C–H), 2214 уш, с (4 C≡N). Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м. д.: 3.80 с (6H, OCH₃), 3.84 с (6H, OCH₃), 4.92 уш. с (4H, NCH₂NH), 5.69 уш. с (4H, NCH₂N), 7.11–7.18 м (3H, H–Ar), 7.45–7.52 м (2H, H–Ar), 7.60–7.63 м (3H, H–Ar), 7.79–7.88 м (4H, наложение сигналов 2H_{Ar} и 2H_{Ar–CH=}), 8.31 уш. с (2H, NH). Спектр ЯМР ¹³C DEPTQ (101 МГц, ДМСО-*d*₆), δ_C, м. д.: 55.5* (OCH₃), 55.8* (OCH₃), 57.6 (NC²H₂N), 63.2 (NC⁴H₂N), 69.3 (=C–CN), 99.6 (C⁸), 111.4* [C²H, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 111.8* [C⁵H, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 111.9* (CH, NC₆H₄N), 114.0 (C≡N), 116.6 (C≡N), 124.4* [C⁶H, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 125.3 [C¹, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 144.0* (ArCH=), 144.9 (C⁷), 148.68 [C³–OMe, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 148.74 (C¹, NC₆H₄N), 149.7 [C⁴–OMe, 3,4-(MeO)₂C₆H₃], 151.6 (C^{8a}). Масс-спектр (HRMS ESI-TOF), m/z : 747.2910 [M + H]⁺ (вычислено для C₄₀H₃₅N₁₂O₄: 747.2904, Δ = –0.8 м. д.).

Рентгеноструктурный анализ. Экспериментальный материал для кристалла соединения **1** (C₆H₅N₅) получен на автоматическом четырех-кружном дифрактометре Agilent Super Nova, Dual, Cu at zero, Atlas S2 при 566.15 К. Структура расшифрована прямым методом в комплексе программ Olex2 [77] и ShelXD [78], и уточнена с помощью пакета SHELXL [79]. Структура уточнена полноматричным МНК в анизотропном приближении для неводородных атомов по F^2 . Основные характеристики эксперимента и параметры элементарной ячейки кристалла соединения **1**: размер, мм: 0.421 × 0.288 × 0.13; кристаллическая система моноклинная, пространственная группа $P2_1/n$ (14), M 147.15 г/моль; параметры ячейки: a 4.1443(2) Å, b 14.0147(7) Å, c 12.1263(6) Å, β 98.463(5)°, V 696.64(6) Å³, Z 4, T 566.15 К, μ (CuK α) 0.808 мм⁻¹, $d_{\text{выч}}$ 1.403 г/см³, $F(000)$ 304.0; область углов съемки θ 9.706–152.686°; интервалы индексов отражений: $-5 \leq h \leq 5$, $-17 \leq k \leq 13$, $-15 \leq l \leq 15$; число измеренных отражений – 10339, число независимых отражений – 1466 [R_{int} 0.0254, R_{sigma} 0.0108], число уточняемых параметров – 113; R -фактор [$I \geq 2\sigma(I)$]: R_1 0.0462, wR_2 0.1275; R -факторы по всем отражениям: R_1 0.0469, wR_2 0.1284; $GOOF$ по F^2 1.089; $\Delta\rho_{\text{max}}$ и $\Delta\rho_{\text{min}}$ 0.23 и –0.16 е/Å³. Результаты PCA соединения **1** депонированы в

Кембриджский банк структурных данных (CCDC 2255572).

Антибактериальная активность. Для наиболее перспективного соединения **1** было проведено исследование антибактериального действия в отношении грамотрицательной палочки *Escherichia coli*, грамположительных кокков *Staphylococcus aureus* и грамположительной спорообразующей палочки *Bacillus pumilis*. Чистая культура каждого микроорганизма высевалась на скошенный агар и инкубировалась сутки в термостате при температуре 28–32°C в течение 24 ч. В качестве субстрата использовали плотную питательную среду (МПА). Среду разливали на стерильные чашки Петри объемом 25 мл. Для посева на чашки производился смыв культур со скошенного агара стерильной водой объемом 5 мл. На чашки Петри засеивали 0.1 мл бактериальной суспензии, затем при помощи штампа-пробойника в МПА делали лунки на расстоянии 1.5 см от стенок чашки Петри. В каждую лунку заливали по 0.1 мл водного раствора пиразола **1** в концентрациях 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} и 1×10^{-5} моль/л. После этого чашки инкубировали в термостате 20–24 ч при 28–32°C. Эксперимент производился в трехкратной повторности. В результате на всех чашках наблюдался сплошной рост исследуемых микроорганизмов, какая-либо задержка роста отсутствовала.

Оценка антидотной активности соединений 4а, б и 5. Проросшие семена подсолнечника сорта Мастер с длиной зародышевого корешка 2–4 мм помещали на 1 ч в раствор 2,4-Д в концентрации $10^{-3}\%$ в расчете на 40–60%-ное ингибирование роста гипокотиле. После гербицидного воздействия проростки промывали водой и помещали в раствор/тонкую суспензию исследуемых соединений **4а, б и 5** в концентрациях 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , $10^{-5}\%$ (вариант «гербицид+антидот»). Спустя 1 ч семена промывали водой и раскладывали на полосы фильтровальной бумаги (размер 10×75 см) по 20 штук, которые сворачивали в рулоны и помещали в стаканы с 50 мл воды. Дальнейшее проращивание семян проводили в термостате в течение 3 сут при 28°C. Температура растворов и промывной воды – 28°C. Семена варианта «гербицид» (эталон сравнения) выдерживали 1 ч в растворе 2,4-Д в концентрации $10^{-3}\%$ и затем 1 ч в воде. Семена контрольного варианта выдержи-

вали 2 ч в воде. Повторность опыта трехкратная. В каждой повторности использовали по 20 штук семян. Антидотный эффект (%) определяли по увеличению длины гипокотиле и корня в варианте «гербицид+антидот» относительно длины гипокотиле и корня в варианте «гербицид». Статистическая обработка экспериментальных данных проведена с использованием *t*-критерия Стьюдента при *P* 0.95.

Определение росторегулирующей активности соединений 4а, б и 5. Семена подсолнечника сорта Мастер замачивали в течение 1 ч в суспензии соответствующего соединения **4а, б и 5** в четырех концентрациях (10^{-2} – 10^{-5} мас%). Семена контрольного варианта замачивали в дистиллированной воде. Через 1 ч семена равномерно раскладывали на полосы фильтровальной бумаги, сворачивали в рулоны и ставили в стаканы с водой, затем в термостат при 28°C. Через 3 сут измеряли длину стебля и корня. Ростостимулирующую активность определяли по увеличению длины стебля и корня семян, обработанных раствором исследуемого вещества в сравнении с контролем. Повторность опыта трехкратная. В каждой повторности использовали по 50 штук семян. Результаты измерений подвергали статистической обработке с использованием *t*-критерия Стьюдента при *P* 0.95.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Доценко Виктор Викторович, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7163-0497>

Стрелков Владимир Денисович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0682-4815>

Темердашев Азамат Зауалевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8048-4740>

Аксенов Николай Александрович, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7125-9066>

Аксенова Инна Валерьевна, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8083-1407>

БЛАГОДАРНОСТЬ

Исследования проведены с использованием оборудования научно-образовательного центра «Диагностика структуры и свойств наноматериалов» и оборудования центра коллективного пользования «Эколого-аналитический центр» Кубан-

ского государственного университета.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Кубанского научного фонда (проект № МФИ-20.1-26/20, заявка № МФИ-20.1/45), а также Северо-Кавказского федерального университета в рамках программы стратегического академического лидерства ПРИОРИТЕТ-2030 (проект «Синтез и антидотная активность в отношении гербицида 2,4-Д гетероциклических производных метиленактивных нитрилов», В.Д. Стрелков, И.В. Аксенова).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Дополнительные материалы для этой статьи доступны по doi 10.31857/S0044460X23060069 для авторизованных пользователей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kobe J., Robins R. K., O'Brien D.E. // J. Heterocycl. Chem. 1974. Vol. 11. N 2. P. 199. doi 10.1002/jhet.5570110217
2. Kobe J., O'Brien D.E., Robins R.K., Novinson T. // J. Heterocycl. Chem. 1974. Vol. 11. N 6. P. 991. doi 10.1002/jhet.5570110625
3. Dolzhenko A., Dolzhenko A., Chui W.-K. // Heterocycles. 2008. Vol. 75. N 7. P. 1575. doi 10.3987/REV-08-629
4. Cascioferro S., Parrino B., Spanò V., Carbone A., Montalbano A., Barraja P., Diana P., Cirrincione G. // Eur. J. Med. Chem. 2017. Vol. 142. P. 523. doi 10.1016/j.ejmech.2017.09.035
5. Alizadeh S.R., Ebrahimzadeh M.A. // Eur. J. Med. Chem. 2021. Vol. 223. Paper N 113537. doi 10.1016/j.ejmech.2021.113537
6. Sun L., Bera H., Chui W.-K. // Eur. J. Med. Chem. 2013. Vol. 65. P. 1. doi 10.1016/j.ejmech.2013.03.063
7. Sun L., Li J., Bera H., Dolzhenko A.V., Chiu G.N.C., Chui W.-K. // Eur. J. Med. Chem. 2013. Vol. 70. P. 400. doi 10.1016/j.ejmech.2013.10.022
8. Bera H., Lee M.H., Sun L., Dolzhenko A.V., Chui W.-K. // Bioorg. Chem. 2013. Vol. 50. P. 34. doi 10.1016/j.bioorg.2013.07.004
9. Nie Z., Perretta C., Erickson P., Margosiak S., Almasy R., Lu J., Averill A., Yager K.M., Chu S. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2007. Vol. 17. N 15. P. 4191. doi 10.1016/j.bmcl.2007.05.041
10. Nie Z., Perretta C., Erickson P., Margosiak S., Lu J., Averill A., Almasy R., Chu, S. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008. Vol. 18. N 2. P. 619. doi 10.1016/j.bmcl.2007.11.074
11. El Hage K., Piquemal J.-P., Oumata N., Meijer L., Galons H., Gresh N. // ACS Omega. 2017. Vol. 2. N 7. P. 3467. doi 10.1021/acsomega.7b00471
12. Laufer R., Li S.-W., Liu Y., Ng G., Lang Y., Feher M., Brox R., Beletskaya I., Hodgson R., Mao G., Plotnikova O., Awrey D.E., Mason J.M., Wei X., Chi-Chia Lin D., Che Y., Kiarash R., Madeira B., Fletcher G.C., Mak T.W., Bray M.R., Pauls H.W. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2016. Vol. 26. N 15. P. 3562. doi 10.1016/j.bmcl.2016.06.021
13. Smolnikov S.A., Gorgopina E.V., Lezhnyova V.R., Ong G.E.-T., Chui W.-K., Dolzhenko A.V. // Molbank. 2017. Vol. 2017. N 4. Paper M970. doi 10.3390/M970
14. Popowycz F., Fournet G., Schneider C., Bettayeb K., Ferandin Y., Lamigeon C., Tirado O.M., Mateo-Lozano S., Notario V., Colas P., Bernard P., Meijer L., Joseph B. // J. Med. Chem. 2009. Vol. 52. N 3. P. 655. doi 10.1021/jm801340z
15. Oudah K.H., Najm M.A.A., Samir N., Serya R.A.T., Abouzid K.A.M. // Bioorg. Chem. 2019. Vol. 92. Paper N 103239. doi 10.1016/j.bioorg.2019.103239
16. Kawanishi E., Tanaka Y., Matsumura T., Kado Y., Taniuchi H. Pat. WO 2013027794 (2013); Chem. Abstr. 2013. Vol. 158. N 349780.
17. Raboisson P., Schultz D., Muller C., Reimund J.M., Pinna G., Mathieu R., Bernard P., Do Q.T., Desjarlais R.L., Justiano H., Lugnier C., Bourguignon J.J. // Eur. J. Med. Chem. 2008. Vol. 43. N 4. P. 816. doi 10.1016/j.ejmech.2007.05.016
18. Nishimura M., Yamaoka K., Naito S., Nakagawa T. // Biol. Pharm. Bull. 1997. Vol. 20. N 12. P. 1285. doi 10.1248/bpb.20.1285
19. Naito S., Nishimura M., Jin Y. // Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 1999. Vol. 24. N 3. P. 279. doi 10.1007/BF03190032
20. Naito S., Nishimura M., Nogawa H. // J. Pharm. Pharmacol. 1999. Vol. 51. N 3. P. 347. doi 10.1211/0022357991772358
21. Naito S., Nishimura M. // Xenobiotica. 2000. Vol. 30. N 1. P. 103. doi 10.1080/0049825000237866
22. Naito S., Nishimura M., Tamao Y. // J. Pharm. Pharmacol. 2000. Vol. 52. N 2. P. 173. doi 10.1211/0022357001773823
23. He L., Gilligan P.J., Zaczek R., Fitzgerald L.W., McElroy J., Shen H.S., Saye J.A., Kalin N.H., Shelton S., Christ D., Trainor G., Hartig P. // J. Med. Chem. 2000. Vol. 43. N 3. P. 449. doi 10.1021/jm9904351
24. Gilligan P.J., Folmer B.K., Hartz R.A., Koch S., Nanda K.K., Andreuski S., Fitzgerald L., Miller K.,

- Marshall W.J. // *Bioorg. Med. Chem.* 2003. Vol. 11. N 18. P. 4093. doi 10.1016/s0968-0896(03)00398-5
25. Nielsen D.M., Carey G.J., Gold L.H. // *Eur. J. Pharmacol.* 2004. Vol. 499. N 1-2. P. 135. doi 10.1016/j.ejphar.2004.07.091
26. Gilligan P.J., He L., Clarke T., Tivitmahaisoon P., Lelas S., Li Y.W., Heman K., Fitzgerald L., Miller K., Zhang G., Marshall A., Krause C., McElroy J., Ward K., Shen H., Wong H., Grossman S., Nemeth G., Zaczek R., Arneric S.P., Hartig P., Robertson D., Trainor G. // *J. Med. Chem.* 2009. Vol. 52. N 9. P. 3073. doi 10.1021/jm9000242
27. Gilligan P.J., Clarke T., He L., Lelas S., Li Y.W., Heman K., Fitzgerald L., Miller K., Zhang G., Marshall A., Krause C., McElroy J.F., Ward K., Zeller K., Wong H., Bai S., Saye J., Grossman S., Zaczek R., Arneric S.P., Hartig P., Robertson D., Trainor G. // *J. Med. Chem.* 2009. Vol. 52. N 9. P. 3084. doi 10.1021/jm900025h
28. Saito T., Obitsu T., Minamoto C., Sugiura T., Matsu-mura N., Ueno S., Kishi A., Katsumata S., Nakai H., Toda M. // *Bioorg. Med. Chem.* 2011. Vol. 19. N 20. P. 5955. doi 10.1016/j.bmc.2011.08.055
29. Popowycz F., Schneider C., Debonis S., Skoufias D.A., Kozielski F., Galmarini C.M., Joseph B. // *Bioorg. Med. Chem.* 2009. Vol. 17. N 9. P. 3471. doi 10.1016/j.bmc.2009.03.007
30. Wagner J.D., Zhang L., Kavanagh K., Ward G.M., Chin J.E., Hadcock J.R., Auerbach B.J., Harwood H.J., Jr. // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 2010. Vol. 335. N 1. P. 103. doi 10.1124/jpet.110.168187
31. Hadcock J.R., Carpino P.A., Iredale P.A., Dow R.L., Gautreau D., Thiede L., Kelly-Sullivan D., Lizano J.S., Liu X., Van Deusen J., Ward K.M., O'Connor R.E., Black S.C., Griffith D.A., Scott D.O. // *BMC Pharmacol.* 2010. Vol. 10. P. 9. doi 10.1186/1471-2210-10-9
32. Hutterer C., Eickhoff J., Milbradt J., Korn K., Zeitträger I., Bahsi H., Wagner S., Zischinsky G., Wolf A., Degenhart C., Unger A., Baumann M., Klebl B., Marschall M. // *Antimicrob Agents Chemother.* 2015. Vol. 59. N 4. P. 2062. doi 10.1128/AAC.04534-14
33. Vishwakarma J.N., Mofizuddin M., Ila H., Junjappa H. // *J. Heterocycl. Chem.* 1988. Vol. 25. N 5. P. 1387. doi 10.1002/jhet.5570250523
34. Dutta M.C., Chanda K., Helissey P., Vishwakarma J.N. // *J. Heterocycl. Chem.* 2005. Vol. 42. N 5. P. 975. doi 10.1002/jhet.5570420535
35. Taylor E.C., Hartke K.S. // *J. Am. Chem. Soc.* 1959. Vol. 81. N 10. P. 2452. doi 10.1021/ja01519a044
36. Доценко В.В., Кривокольско С.Г., Семенова А.М. // *XTC.* 2018. Т. 54. № 11. С. 989; Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G., Semenova A.M. // *Chem. Heterocycl. Compd.* 2018. Vol. 54. N. 11. P. 989. doi 10.1007/s10593-018-2383-y
37. Elghandour A.H.H., Elmoghayar M.R.H., Ramiz M.M.M. // *J. Prakt. Chem.* 1988. Vol. 330. N 4. P. 657. doi 10.1002/prac.19883300424
38. Naik N.S., Shastri L.A., Shastri S.L., Chougala B.M., Shaikh F., Madar J.M., Kulkarni R.C., Dodamani S., Jalalpure S., Joshi S.D., Sunagar V. // *ChemistrySelect.* 2019. Vol. 4. N 1. P. 285. doi 10.1002/slct.201802927
39. Abdelmoniem A.M., Ghozlan S.A., Abdelmoniem D.M., Elwahy A.H., Abdelhamid I.A. // *J. Heterocycl. Chem.* 2018. Vol. 55. N 12. P. 2792. doi 10.1002/jhet.3346
40. Metwally N.H., Abdallah M.A., Almagbrook S.A. // *J. Heterocycl. Chem.* 2017. Vol. 54. N 1. P. 347. doi 10.1002/jhet.2590
41. Hassan M.I., Hassane A.M.A. // *Egypt. J. Chem.* 2019. Vol. 62. Pt 1. P. 103. doi 10.21608/EJCHEM.2019.14725.1907
42. Golubev P., Karpova E.A., Pankova A.S., Sorokina M., Kuznetsov M.A. // *J. Org. Chem.* 2016. Vol. 81. N 22. P. 11268. doi 10.1021/acs.joc.6b02217
43. Metwally N.H., Mohamed M.S., Deeb E.A. // *Res. Chem. Intermed.* 2021. Vol. 47. N 12. P. 5027. doi 10.1007/s11164-021-04564-x
44. Семенова А.М., Гаджихахмедова Я.Р., Беспалов А.В., Доценко В.В., Аксенов Н.А., Аксенова И.В. // *ЖОХ.* 2022. Т. 92. № 3. С. 415; Semenova A.M., Gadziakhmedova Y.R., Bepalov A.V., Dotsenko V.V., Aksenov N.A., Aksenova I.V. // *Russ. J. Gen. Chem.* 2022. Vol. 92. N 3. P. 367. doi 10.1134/S1070363222030057
45. El-Qalie M.I., Mousa S.A., Nasr H.M., Ishak E.A. // *Egypt. J. Chem.* 2022. Vol. 65. N 11. P. 331. doi 10.21608/EJCHEM.2022.124950.5560
46. Wichmann J., Woltering T.J. Pat. WO 2005040171 (2005).
47. Cohen C. Pat. DE 2900288 (1979). Germany // C. A. 1979. Vol. 91. 157770.
48. Elkholy A., Al-Qalaf F., Elnagdi M.H. // *Arkivoc.* 2008. Vol. xiv. P. 124. doi 10.3998/ark.5550190.0009.e14
49. Kankanala J., Marchand C., Abdelmalak M., Aihara H., Pommier Y., Wang Z. // *J. Med. Chem.* 2016. Vol. 59. N 6. P. 2734. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01973
50. Metwally N.H., Deeb E.A. // *Synth. Commun.* 2018. Vol. 48. N 13. P. 1614. doi 10.1080/00397911.2018.1457162
51. Ragab E.A., Metwally N.H., Mohamed M.S. // *Synth. Commun.* 2017. Vol. 47. N 2. P. 148. doi 10.1080/00397911.2016.1257722
52. Bulychev Y.N., Korbukh I.A., Preobrazhenskaya M.N. // *Chem. Heterocycl. Compd.* 1981. Vol. 17. N 4. P. 392. doi 10.1007/BF00503346

53. Elnagdi M.H., El-Moghayar M.R., Fleita D.H., Hafez E.A., Fahmy S.M. // *J. Org. Chem.* 1976. Vol. 41. N 24. P. 3781. doi 10.1021/jo00886a002
54. Elnagdi M.H., Erian A.W. // *Lieb. Ann. Chem.* 1990. Vol. 1990. N 12. P. 1215. doi 10.1002/jlac.1990199001219
55. Kolosov M.A., Beloborodov D.A., Orlov V.D., Dotsenko V.V. // *New J. Chem.* 2016. Vol. 40. N 9. P. 7573. doi 10.1039/c6nj00336b
56. Семенова А.М., Оганесян Р.В., Доценко В.В., Чигорина Е.А., Аксенов Н.А., Аксенова И.В., Нетреба Е.Е. // *ЖОХ.* 2019. Т. 89. № 1. С. 25; Semenova A.M., Oganessian R.V., Dotsenko V.V., Chigorina E.A., Aksenov N.A., Aksenova I.V., Netreba E.E. // *Russ. J. Gen. Chem.* 2019. Vol. 89. N 1. P. 19. doi 10.1134/S1070363219010043
57. Ledenyova I.V., Didenko V.V., Dotsenko V.V., Shikhaliyev K.S. // *Tetrahedron Lett.* 2014. Vol. 55. N 6. P. 1239. doi 10.1016/j.tetlet.2014.01.010
58. Sato T. // *J. Org. Chem.* 1959. Vol. 24. N 7. P. 963. doi 10.1021/jo01089a019
59. Carboni R.A., Coffman D.D., Howard E.G. // *J. Am. Chem. Soc.* 1958. Vol. 80. N 11. P. 2838. doi 10.1021/ja01544a061
60. Mittelbach M. // *Monatsh. Chem.* 1985. Vol. 116. N 5. P. 689. doi 10.1007/BF00798796
61. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. // *Adv. Drug. Delivery Rev.* 1997. Vol. 23. N 1–3. P. 4. doi 10.1016/S0169-409X(96)00423-1
62. Lipinski C.A. // *Drug Discov. Today: Technologies.* 2004. Vol. 1. N 4. P. 337. doi 10.1016/j.ddtec.2004.11.007
63. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. // *Adv. Drug. Delivery Rev.* 2012. Vol. 64. Suppl. P. 4. doi 10.1016/j.addr.2012.09.019
64. Sander T. OSIRIS Property Explorer. Idorsia Pharmaceuticals Ltd, Switzerland. <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>
65. Cheng F., Li W., Zhou Y., Shen J., Wu Z., Liu G., Lee P.W., Tang Y. // *J. Chem. Inf. Model.* 2012. Vol. 52. N 11. P. 3099. doi 10.1021/ci300367a
66. Yang J., Kwon S., Bae S.H., Park K.M., Yoon C., Lee J.H., Seok C. // *J. Chem. Inf. Model.* 2020. Vol. 60. N 6. P. 3246. doi 10.1021/acs.jcim.0c00104
67. GalaxyWEB. A web server for protein structure prediction, refinement, and related methods. Computational Biology Lab, Department of Chemistry, Seoul National University, S. Korea. <http://galaxy.seoklab.org/index.html>
68. Ko J., Park H., Heo L., Seok C. // *Nucleic Acids Res.* 2012. Vol. 40. N W1. P. W294. doi 10.1093/nar/gks493
69. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. // *J. Comput. Chem.* 2004. Vol. 25. N 13. P. 1605. doi 10.1002/jcc.20084
70. UCSF Chimera. Visualization system for exploratory research and analysis developed by the Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics at the University of California, San Francisco, US. <https://www.rbvi.ucsf.edu/chimera/>
71. Стрелков В.Д., Дядюченко Л.В., Дмитриева И.Г. Синтез новых гербицидных антидотов для подсолнечника. Краснодар: Просвещение-Юг, 2014. С. 6.
72. Hoffmann O.L. // *Weeds.* 1962. Vol. 10. N 4. P. 322. doi 10.2307/4040837
73. Davies J., Caseley J.C. // *Pesticide Sci.* 1999. Vol. 55. N 11. P. 1043. doi 10.1002/(SICI)1096-9063(199911)55:11<1043::AID-PS60>3.0.CO;2-L
74. Abu-Qare A.W., Duncan H.J. // *Chemosphere.* 2002. Vol. 48. N 9. P. 965. doi 10.1016/S0045-6535(02)00185-6
75. Jia L., Jin X.Y., Zhao L.X., Fu Y., Ye F. // *J. Agric. Food Chem.* 2022. Vol. 70. N 18. P. 5499. doi 10.1021/acs.jafc.2c01565
76. Шаповалов А.А., Жирмунская Н.М., Зубкова Н.Ф., Овсянникова Т.В., Грузинская Н.А. Методические рекомендации по проведению лабораторных испытаний синтетических регуляторов роста растений. Черкассы: НИИТЭХИМ, 1990.
77. Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J., Howard J.A.K., Puschmann H. // *J. Appl. Cryst.* 2009. Vol. 42. P. 339. doi 10.1107/S0021889808042726
78. Sheldrick G.M. // *Acta Crystallogr. (A).* 2008. Vol. 64. P. 112. doi 10.1107/S0108767307043930
79. Sheldrick G.M. // *Acta Crystallogr. (C).* 2015. Vol. 71. P. 3. doi 10.1107/S2053229614024218

7-(2-Aryl-1-cyanovinyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrazolo- [1,5-*a*][1,3,5]triazine-8-carbonitriles: Synthesis and Biological Activity

S. F. Stepanova^a, A. M. Semenova^a, V. V. Dotsenko^{a,b,*}, V. D. Strelkov^{a,b}, A. Z. Temerdashev^a,
O. A. Gasyuk^a, N. N. Volchenko^a, N. A. Aksenov^b, and I. V. Aksenova^b

^a *Kuban State University, Krasnodar, 350040 Russia*

^b *North Caucasus Federal University, Stavropol, 355009 Russia*

**e-mail: victor_dotsenko_@mail.ru*

Received April 19, 2023; revised May 22, 2023; accepted May 23, 2023

A new method was proposed for the preparation of 5-amino-3-(cyanomethyl)-1*H*-pyrazole-4-carbonitrile by reacting the potassium salt of malononitrile dimer with hydrazinium sulfate. The reaction of 5-amino-3-(cyanomethyl)-1*H*-pyrazole-4-carbonitrile with aromatic aldehydes in the presence of catalytic amounts of morpholine leads to the formation of Knoevenagel condensation products. Aminomethylation of the resulting (*Z*)-5-amino-3-(2-aryl-1-cyanovinyl)-1*H*-pyrazole-4-carbonitriles with primary aromatic amines and excess aqueous HCHO in refluxing DMF leads to the formation of 7-(2-aryl-1-cyanovinyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrazolo[1,5-*a*]-[1,3,5]triazine-8-carbonitriles. Bioavailability parameters were studied *in silico*, and possible protein targets were predicted by protein-ligand docking. In an *in vitro* experiment on cultures of *E. coli*, *S. aureus* and *B. pumilis*, 5-amino-3-(cyanomethyl)-1*H*-pyrazole-4-carbonitrile does not show any noticeable antibacterial effect. At the same time, three compounds of the pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazine series showed a pronounced antidote effect against the herbicide 2,4-D on sunflower seedlings in a laboratory experiment, for one compound a noticeable growth-stimulating effect was noted.

Keywords: 5-amino-3-cyanomethyl-1*H*-pyrazole-4-carbonitrile, Mannich reaction, pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]-triazines, antidote activity, growth-promoting effect