

ЕНАМИНОКЕТОНЫ – ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ НА ОСНОВЕ 7-ГИДРОКСИ-3',3'-ДИМЕТИЛ-3'*H*-СПИРО[ХРОМЕН-2,1'-ИЗОБЕНЗОФУРАН]-8-КАРБАЛЬДЕГИДА И ЗАМЕЩЕННЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОВ. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

© 2023 г. С. Т. Нгуен^{1,2}, А. А. Зантман¹, А. О. Буланов^{1,*}, Ч. Т. Т. Нгуен³, Л. Д. Чан³, Х. Д. Ву⁴, Б. Н. Зыонг^{3,5}, В. А. Лазаренко⁶, И. Н. Щербаков¹

¹ Южный федеральный университет, ул. Зорге 7, Ростов-на-Дону, 344019 Россия

² Химический институт Вьетнамской академии наук и технологий, Ханой, 100000, Вьетнам

³ Институт тропических технологий Вьетнамской академии наук и технологий, Ханой, 100000, Вьетнам

⁴ Ханойский университет науки и технологий, Ханой, 100000, Вьетнам

⁵ Управление Государственного совета по профессорско-преподавательскому составу, Министерство образования и профессиональной подготовки, Ханой, 100000, Вьетнам

⁶ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, 123182 Россия

*e-mail: aobulanov@srfedu.ru

Поступило в редакцию 10 марта 2023 г.

После доработки 10 марта 2023 г.

Принято к печати 17 апреля 2023 г.

Синтезированы производные спиропирана 2-оксаинданового ряда (7-гидрокси-3',3'-диметил-3'*H*-спиро[хром-2,1'-изобензофуран]-8-карбальдегида) путем его конденсации с ароматическими аминами. Полученные соединения как в растворе, так и в твердом виде представляют собой енаминокетоны. В растворе ДМСО для полученных производных наблюдается динамическое равновесие *E,Z*-изомерных форм. Строение енаминокетона на основе 3,4-диметиланилина доказано на основании рентгеноструктурного анализа. Изучена цитотоксическая активность синтезированных соединений *in vitro*. Обнаружена умеренная активность в отношении клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека (HepG2), карциномы молочной железы (MCF-7), рака легких (A549), и карциномы (KB). Используя метод молекулярного докинга, дана оценка противораковой активности полученных енаминокетонов.

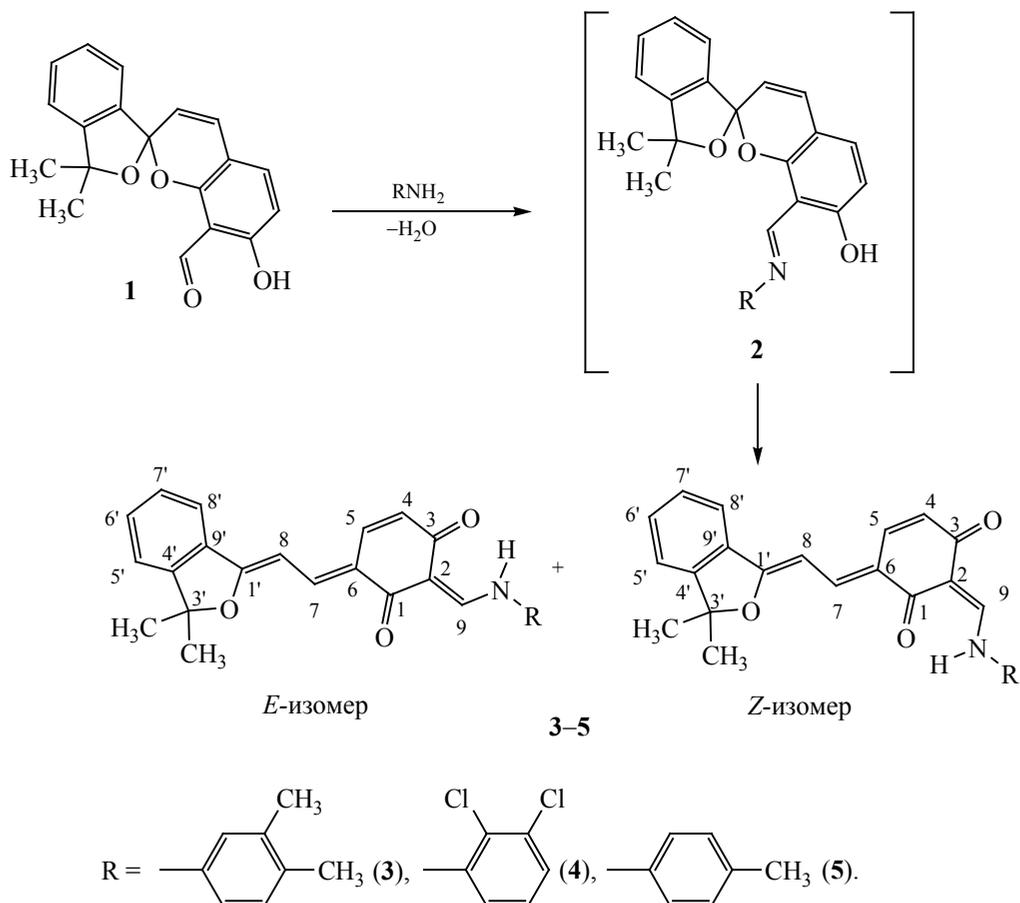
Ключевые слова: енаминокетоны, спиропираны, квантово-химические расчеты, противораковая активность

DOI: 10.31857/S0044460X23050037, **EDN:** DBMYIR

Поиск возможностей практического использования явления фотохромизма развивается сегодня в самых разных направлениях. Фотохромные превращения, как процессы обратимой трансформации молекулы между двумя формами с различны-

ми оптическими характеристиками [1, 2] лежат в основе разработки новых материалов, способных найти применение в создании покрытий различного назначения, молекулярной электронике, а также фотонике [3]. Молекулярные перегруппировки,

Схема 1.



инициируемые электромагнитным излучением, могут протекать в разных направлениях. И здесь спиропираны, как органические фотохромные системы, выделяются благодаря возможности варьирования их спектральных и фотохимических характеристик в широких пределах [4–6], а поиск новых производных спиропиранов является основой многочисленных исследований. Вместе с тем, большое количество работ сосредоточено на исследовании положительного фотохромизма спиропиранов, в то время как их производные способны проявлять и обратный фотохромизм [7–11], который на сегодня является малоизученным.

Аналогичный пример молекул, имеющих практическое значение – производные замещенного анилина, которые имеют относительно низкую

стоимость и находят широкое применение в производстве лекарственных препаратов и красителей. В то же время, взаимодействуя с карбонильными соединениями анилин и его производные легко образуют азометины (основания Шиффа), возможности использования которых могут варьироваться, от моделирования механизмов различных биологических процессов, до получения большого спектра полифункциональных координационных соединений [12].

Один из методов структурной модификации спиропиранов основан на трансформации функциональных групп, уже имеющихся в молекуле, что позволяет получать производные спиропиранов синтез которых напрямую невозможен. Используя такой способ на основе спиропиранов можно по-

Таблица 1. Химические сдвиги (δ , м. д.) в спектрах ЯМР ^1H Z- (основного) и E- (минорного) конформеров соединений **3–5** в растворе ДМСО и разница между ними Δ

Протон	3			4 ^б			5		
	основной	минорный	Δ	основной	минорный	Δ	основной	минорный	Δ
NH	13.63	13.26	0.37	14.08	13.79	0.29	13.62	13.24	0.38
C ⁹ H–N	8.66	8.69	–0.03	8.77	8.79	–0.02	8.66	8.68	–0.02
CH ₃	1.66	1.66	–	1.67	1.67	–	1.66	1.66	–
H ⁴	6.08	6.07	0.01	6.12	6.12	–	6.08	6.09	–0.01
H ⁵		7.97–7.86			7.99–7.88		7.92	7.92	–
H ⁷		8.19–8.06			8.26–8.07		8.12	8.12	–
H ⁸	6.85	6.82	0.03	6.89	6.99–6.80	–	6.86	6.83	0.03
H ^{5'6'7'}		7.72–7.39			7.71–7.42			7.70–7.48	
H ^{8'}		8.06–7.97		8.04	8.04	–	8.02	8.02	–

^а Нумерация атомов приведена на схеме 1.

^б Для соединения **4** приведены сигналы только двух основных конформеров, присутствующих в растворе ДМСО.

лучать жидкокристаллические структуры [13, 14], модифицированные полимеры [15–18], наноматериалы [19, 20].

Опираясь на подобный общий подход и развивая выполненные ранее исследования [21], нами была проведена модификация 7-гидрокси-3',3'-диметил-3'*H*-спиро[хромен-2,1'-изобензофуран]-8-карбальдегида путем конденсации его с замещенными производными анилина. Ожидалось, что таким путем будут получены новые азометины, способные вступать в реакцию комплексообразования с ионами металлов и обладающие при этом фотохромными свойствами и биологической активностью.

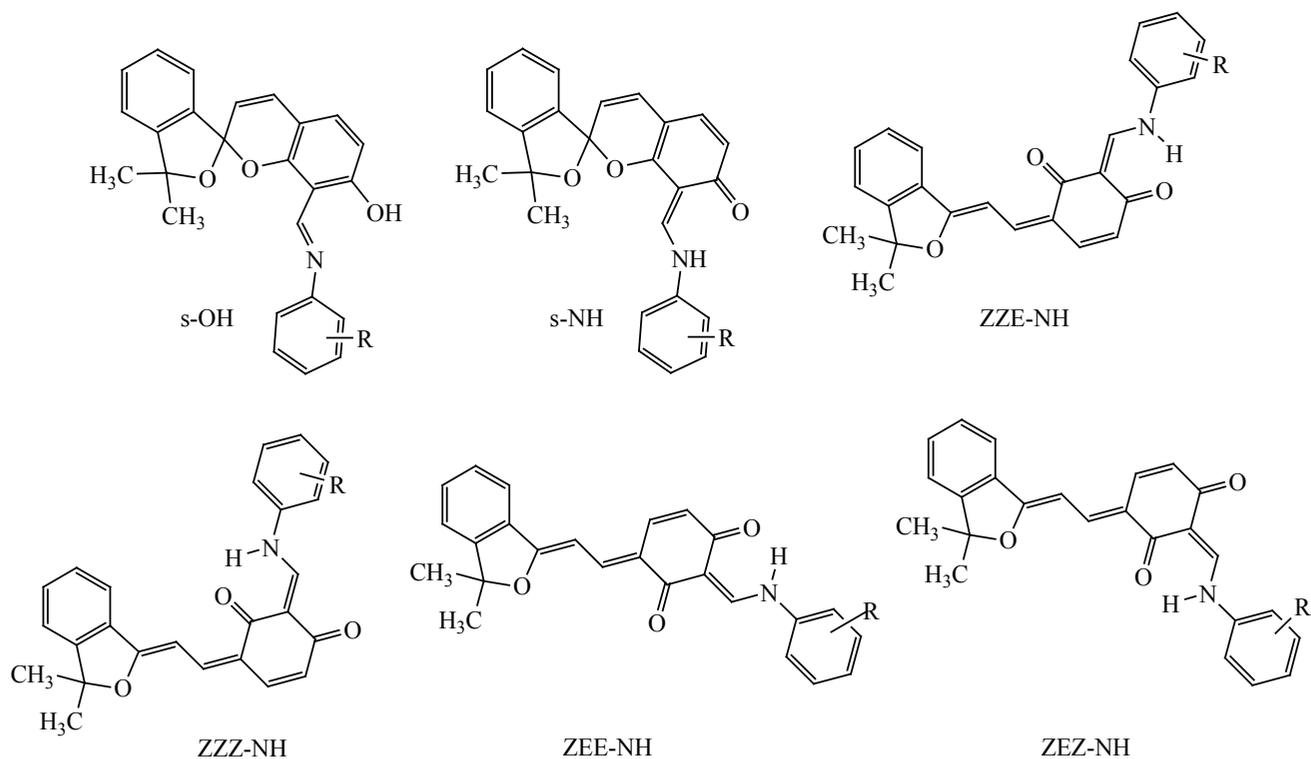
Опираясь на результаты предыдущих исследований [21–25], для получения оснований Шиффа была проведена конденсация 8-формилфункционализированного спиропирана **1** с ароматическими аминами NH₂R [R = 3,4-CH₃Ph (**3**), 2,3-ClPh (**4**), 4-CH₃Ph (**5**)]. Синтез соединений проводили в этаноле согласно схеме 1. Строение полученных соединений было установлено на основании методов ЯМР, ИК, УФ спектроскопии, рентгеноструктурного анализа (для соединения **3**). Для оценки возможного механизма биологической активности соединений использовались методы квантово-химического моделирования и молекулярного докинга.

Результаты исследования полученных соединений показали, что в процессе реакции образуются енаминокетоны **3–5**, представляющие собой открытую форму, стабилизированную 1,5-сигма-тропным сдвигом гидроксильного атома водорода в бензопирановом фрагменте. На это указывают данные спектроскопии ЯМР растворов соединений **3–5** в ДМСО-*d*₆ при комнатной температуре. В табл. 1 приведены химические сдвиги сигналов протонов для преобладающих в растворе изомеров соединений **3–5**.

Спектры ЯМР ^1H соединений **3–5** представляют собой суперпозицию нескольких перекрывающихся наборов сигналов с разной интенсивностью. Это указывает на то, что в растворе енаминокетоны находятся в нескольких изомерных формах, между которыми реализуется динамическое равновесие. Два набора сигналов в спектрах соединений являются наиболее интенсивными, другие имеют относительно низкую интенсивность. Для соединения **3** зарегистрировано соотношение изомеров 60:40, для соединений **4** и **5** – 60:30, при этом наблюдаются сигналы как минимум от четырех изомерных форм (в суммарном количестве около 10%).

Необходимо отметить, что в спектрах соединений **3–5** протоны двух метильных групп изобензофуранового фрагмента проявляются в виде одного синглета с интенсивностью 6H в области 1.66–

Схема 1.



R = 3,4-CH₃Ph (3), 2,3-ClPh (4), 4-CH₃Ph (5).

1.67 м. д., что свидетельствует о том, что исследуемые соединения в растворе присутствуют в виде плоских изомеров в енаминкетонной форме типа **3–5**. Ранее, в работах [26–28] сообщали, что спиропиран **1** и гидразоны на его основе существуют в циклической форме. В ЯМР спектрах этих соединений, в отличие от спектров **3–5**, метильные группы не являются магнитно эквивалентными и дают два синглетных сигнала интенсивностью 3Н каждый в диапазоне 1.40–1.50 и 1.60–1.65 м. д. Кроме того, наличие и форма дублетных сигналов от протонов группы =C⁹H–NH с *J* 13.2–13.7 Гц подтверждает существование изомеров **3–5** в енамино-кетонной форме. При этом, наибольшие изменения химических сдвигов среди изомеров наблюдаются для NH-протона ($\Delta = 0.02–0.03$ м. д.) и протона азометиновой CH=N группы (-0.05 м. д.). Это также указывает на наличие в растворе *Z*- и *E*-конформерных форм вокруг экзоциклической связи C²=C⁹, которые стабилизированы внутримо-

лекулярной водородной связью между NH-группой и одной из двух оксогрупп (схема 1).

В спектрах ЯМР ¹H енаминокетонов **Z-3–5** NH-протоны зарегистрированы в области 11.8–11.9 м. д. с константой спин-спинового взаимодействия *J*_{NH,C⁹H} 13.3–14.0 Гц. Сигналы NH-протонов изомеров *E-3–5* немного сдвинуты в область сильного поля и проявляются при 11.4–11.5 м. д. с тем же значением константы.

Протоны C⁹H-группы енаминного фрагмента в изомерах **Z-3–5** зарегистрированы в виде дублетов в области 8.72–8.78 м. д. с константой спин-спинового взаимодействия *J*_{NH,C⁹H} 13.2–13.8 Гц. Соответствующие сигналы изомеров *E-3–5* сдвинуты в сторону слабого поля и проявляются при 8.75–8.81 м. д. В то же время сигнал протона H⁷ во фрагменте =C⁸H–C⁷H= наблюдается для обоих изомерных енаминов *E-3–5* и **Z-3–5**. Сигналы протонов H⁷ представляют собой дублеты дублетов (при

8.1 м. д. со значениями константы $J_{\text{H}^7\text{H}^8}$ 13.3–13.4 Гц; дальнейшее спин-спиновое взаимодействие с ядрами H^4 характеризуется значениями $J_{\text{H}^7\text{H}^4}$ 1.3–1.5 Гц). Протоны H^8 зарегистрированы в виде дублетов в диапазоне 6.83–6.88 м. д. за счет изомерии. Протоны H^5 циклогексадионного фрагмента наблюдаются в виде отдельных дублетов в диапазоне 7.90–7.98 м. д. Тогда как H^4 -протоны обнаружены в диапазоне 6.05–6.11 м. д. ($J_{\text{H}^5\text{H}^4}$ 9.9–10.2 Гц). Последний сигнал наблюдается в виде дублета дублетов из-за спин-спинового взаимодействия с ядром H^7 . Сигналы от ароматических протонов изобензофуранового фрагмента зарегистрированы в области 7.42–8.03 м. д. с небольшой разницей между соответствующими *Z*- и *E*-изомерами.

Для получения более точного представления об относительной стабильности возможных изомерных форм исследуемых соединений мы провели детальное исследование электронной структуры изомеров соединений **3–5** методом квантово-химического моделирования (DFT). Моделирование проводили в газовой фазе и в растворе ДМСО в рамках приближения непрерывно поляризуемой среды (PCM). Исследуемые соединения способны образовывать различные изомерные структуры, наиболее устойчивые из них представлены на схеме 2.

Для спироциклических форм (обозначенных как *s*-xH, где *x* = O или N) рассмотрен таутомерный 1,5-сигматропный сдвиг протона (*s*-ОН–бензойный и *s*-NH–хиноноидный изомер). В случае енаминокетонных помимо 1,5-сигматропного сдвига необходимо учитывать стереоконфигурации двойных связей C=C. Эти изомеры обозначаются как ууу-хН (*y* = *Z* или *E*), три первые буквы обозначают тип изомера по каждой из двойных связей, начиная с изобензофуранового фрагмента (в порядке $\text{C}^8=\text{C}^{1'}$, $\text{C}^6=\text{C}^7$ и $\text{C}^2=\text{C}^9$ соответственно), прототропный таутомер определяется после знака «←». В случае бензоидных таутомеров связь $\text{C}^2=\text{C}^9$ становится одинарной, но водород ОН-группы смещен к соответствующему экзоциклическому атому кислорода ($\text{C}^1=\text{O}$ в *Z*- или $\text{C}^3=\text{O}$ в *E*-конформации), чтобы сохранить стабилизирующую внутримолекулярную водородную связь $\text{OH}\cdots\text{N}$. В описанных ранее обозначениях *Z*- и *E*-компонен-

ты раствора ДМСО относятся к типам ZEZ-NH и ZEE-NH соответственно.

Рассчитанные для газовой фазы (с поправкой на энергию нулевых колебаний, ZPE) и раствора ДМСО значения относительной стабильности изомерных форм соединений **3–5** приведены в табл. 2. Как с учетом, так и без учета эффектов сольватации предпочтительной оказывается енаминокетонная форма. Рассчитанная энергия дестабилизации спироизомеров значительно выше в растворе, чем в газовой фазе, за счет стабилизации более полярных енаминокетонных в полярном растворителе. Для спироизомеров в газовой фазе бензоидный таутомер (*s*-ОН) более стабилен, чем хиноноидный (*s*-NH), но в растворе ДМСО относительная стабильность обратная. В случае ароматических аминов как в газе, так и в ДМСО изомеры типа *s*-ОН более стабильны, чем *s*-NH [29].

Спироформы *s*-ОН и *s*-NH связаны 1,5-сигматропным сдвигом подвижного протона в бензопирановой части и представляют собой бензоидный и хиноидный таутомер бензопиранового фрагмента. В конформерах енамин-кетонных, в дополнение к миграции протона, возможна стереоизомерия (*Z,E*-типа) относительно трех двойных связей $\text{C}^8=\text{C}^{1'}$, $\text{C}^6=\text{C}^7$ и $\text{C}^2=\text{C}^9$. Поэтому обозначения имеют следующий вид: ууу-хН, где *y* = *Z* или *E*, что указывает на конформацию вокруг двойных связей в представленном выше порядке, после тире указано положение атома Н в бензопирановой части (*x* = N или O). Например, обозначение ZEZ-NH–показывает, что относительно связи $\text{C}^8=\text{C}^{1'}$ реализуется *Z*-конформация, относительно связи $\text{C}^6=\text{C}^7$ – *E*-конформация, а относительно связи $\text{C}^2=\text{C}^9$ – *Z*-конформация, протон связан с атомом азота аминогруппы.

В ИК спектрах твердых порошков соединений **3–5** отмечены полосы в области 3047–3065 cm^{-1} , соответствующие валентным колебаниям N–H связи, смещенные в сторону более низких частот. Также зарегистрированы валентные колебания C=O в области 1640–1645 cm^{-1} .

Строение соединения **3** было доказано методом РСА. Монокристаллические образцы соединения **3** были получены путем медленного упаривания метанольного раствора и использованы для рентгеноструктурного исследования. Енамин-кетонная

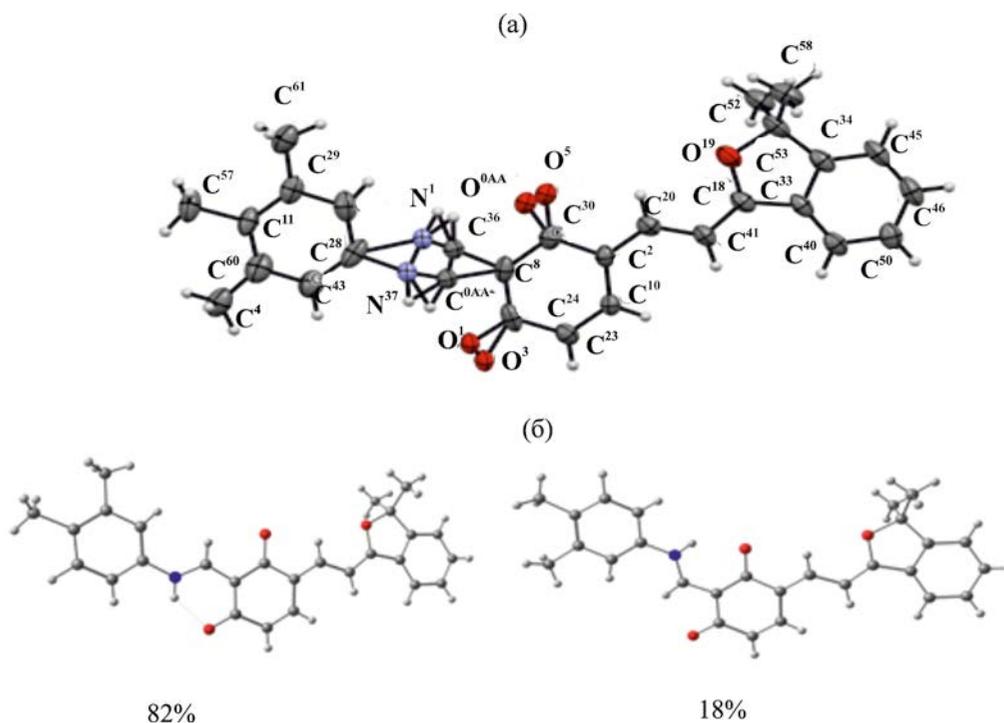


Рис. 1. Общий вид молекулы соединения **3** в кристалле (а) и строение молекул с заселенностями 82 и 18% (б).

изомерная форма наблюдается и в случае кристаллов соединения **3**, однако кристаллическое строение этого соединения оказалось необычным. Молекулярная структура показана на рис. 1. Детали дифракционного эксперимента и определения структуры показаны в табл. S1 (см. Дополнительные материалы).

По полученным данным, в кристалле наблюдается структурная разупорядоченность с соотношением заселенностей 82:18, связанная с сосу-

ществованием в кристаллической решетке двух конформеров енамин-кетонной формы – ZEE-NH (заселенность 82%) и ZEZ-NH (заселенность 18%). Необычным является как характер разупорядоченности, определяемый сосуществованием двух различных конформеров в кристаллической решетке, так и большая стабилизация конформера типа ZEE-NH относительно ZEZ-NH.

В электронных спектрах соединений **3–5** в растворе ацетонитрила (рис. 2) присутствуют интен-

Таблица 2. Значение рассчитанной относительной стабильности (ккал/моль) изомерных форм соединений **3–5** (E+ZPE и PCM – относительные стабильности, рассчитанные из полной энергии)

Изомер	3		4		5	
	газ	ДМСО	газ	ДМСО	газ	ДМСО
s-NH	7.66	9.67	10.47	12.67	7.74	9.74
s-OH	5.08	9.80	4.14	8.32	4.93	9.70
ZEZ	0.88	0.00	0.61	0.00	0.83	0.00
ZEE	0.94	0.30	0.87	0.27	0.95	0.32
ZZE	0.00	0.68	0.03	0.62	0.00	0.68
ZZZ	0.49	0.50	0.00	0.36	0.44	0.51

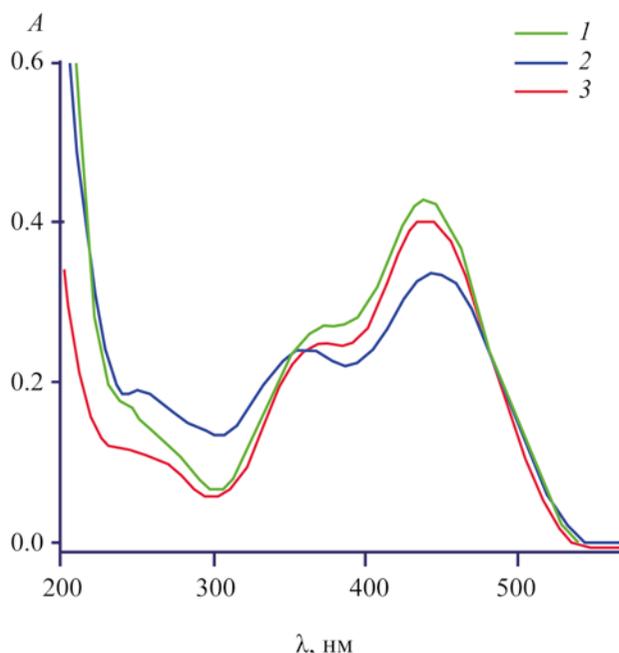


Рис. 2. Электронные спектры поглощения соединений 3–5 (1–3) в ацетонитриле ($c 1.0 \times 10^{-5}$ М.).

сивные широкие несимметричные полосы поглощения в области 350–550 нм, что характерно для электронных $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходов в изомерных формах енаминокетона. Растворы соединений имеют темно-красный цвет. Влияние заместителя R на положение максимумов полос поглощения незначительно и обнаруживается при 430 нм для соединений 3–5.

Активность соединений 3 и 4 оценивали *in vitro* в отношении четырех типичных клеточных линий человека, гепатоцеллюлярную карциному (Hep-G2), карциному молочной железы (MCF-7) рака легких (A549), и карциномы (KB). Результаты представлены в табл. 3. В качестве эталона использовали эллиптицин.

Представленные в табл. 3 начения IC_{50} свидетельствуют о том, что протестированные соединения показали умеренную активность в отношении всех протестированных линий раковых клеток. При этом соединение 3 обладало наибольшей активностью со значениями IC_{50} 20.46 (Hep-G2), 61.39 (MCF-7), 20.29 (A549), и 13.38 мкМ. (KB). Соединение 4 было менее активным, чем производное 3.

Антиоксидантную активность оценивали с использованием 1,1-дифенил-2-пикрилгидразида (DPPH). Результаты представлены в табл. S2 (см. Дополнительные материалы). Согласно полученным данным, антиоксидантная активность у соединений 3–4 отсутствует.

Основываясь на данных *in vitro* исследований для детального изучения и прогнозирования цитотоксической активности енаминокетонов 3–5 на основе 7-гидрокси-3',3'-диметил-3'-H-спиро[хромен-2,1'-изобензофуран]-8-карбальдегида, проведено молекулярное моделирование их противораковой активности методами докинга и ADMET (адсорбция, распределение, метаболизм, экскре-

Таблица 3. Цитотоксическая активность соединений 3 и 4

Соединение	c, мкг/мл	Ингибирование клеток, %			
		Hep-G2	MCF-7	A549	KB
3	128	95	84	89	100
	32	88	35	70	95
	8	9	0	29	37
	2	0	0	20	28
	IC_{50}	20.46±0.64	61.39±2.03	20.29±0.67	13.38±0.43
4	128	51	0	70	73
	32	0	0	46	57
	8	0	0	32	28
	2	0	0	27	10
	IC_{50}	126.11±0.50	>128	48.0±1.65	26.21±0.81
Эллиптицин	IC_{50}	0.45±0.04	0.46±0.03	0.41±0.02	0.21±0.01

Таблица 4. Результаты молекулярного докинга между биологической мишенью 4G0V и лигандами **3–5**

Лиганд	R	GlideScore, ккал/моль
3	3,4-CH ₃ Ph	-4.592
4	2,3-ClPh	-3.666
5	4-CH ₃ Ph	-3.263
Эллиптицин	–	-7.904

ция, токсичность). В качестве стандарта в *in vitro* исследованиях был использован противораковый препарат эллиптицин проявляющий высокую цитотоксичность к раковым клеткам типов Нер-Г2 и КВ. Активность эллиптицина проявляется в отношении топоизомеразы II бета связанной с ДНК раковой клетки, что влечет за собой изменение топологических форм спиралей. Молекулярное моделирование было проведено для оценки комплементарности лигандов **3–5** с активным центром белка TOP2В топоизомеразы II в комплексе с ее ингибитором митоксантроном (PDB: код 4G0V).

Результаты молекулярного докинга представлены в табл. 4.

Обнаружено, что наилучшим средством к месту связывания обладает лиганд **3** со значением оценочной функции Glide Score -4.592 ккал/моль. Взаимодействия лиганд–белок показаны на рис. 3. Исходный эллиптицин связывается с аминокислотными остатками ARG 503 (π-катионное взаимодействие, цепь A), DG 13, DC 8 и DT 9 (π-π-взаимодействия цепи F, C и D). Лиганд **3** имеет аналогичные взаимодействия с ключевыми остатками ARG 503, DG 13 и DT 9. В то же время соединения **4, 5** образуют связи с остатками DC 8 и DT 9 (рис. S4, S5, см. Дополнительные материалы).

Для оценки лекарственного подобия синтезированных соединений **3–5** было проведено исследование *in silico* ADMET (абсорбция, распределение, метаболизм, экскреция, токсичность). Прогнозы были выполнены с использованием онлайн-программного обеспечения PreADMET (для Caco2, HIA) и SwissADME (для TPSA, n-ROTB, LogP, нарушений правил Липински и Вебера). Как

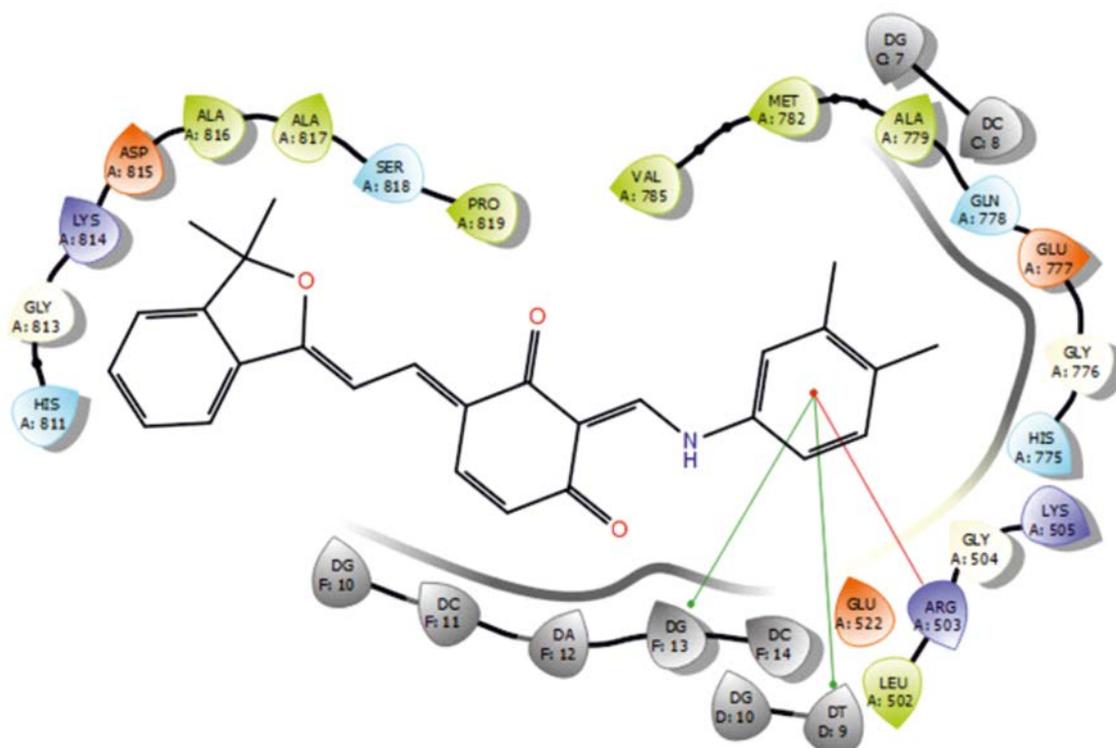


Рис. 3. Межмолекулярные взаимодействия аминокислотных остатков с лигандом **3** в активном кармане топоизомеразы II бета в комплексе с ДНК (4G0V).

Таблица 5. Физико-химические свойства, липофильность и лекарственное подобие соединений **3–5**

Лиганд	MW ^a	TPSA ^b	LogP ^b	Caco2 ^c	% HIA ^d
3	411.49	55.40	4.80	54.75	96.78
4	452.33	55.40	5.20	37.62	97.20
5	397.47	55.40	4.39	55.17	96.70

^a MW – молекулярная масса, Да (<500).

^b TPSA – площадь топологической полярной поверхности, Å².

^c LogP – логарифм коэффициента разделения соединения между *n*-октанолом и водой.

^d Caco-2 – проницаемость клеток, нм/с: <4 – низкий, 4–70 – средний, >70 – высокий.

^e HIA – всасывание в кишечнике человека: 0–20 – плохое, 20–70 – умеренное, 70–100 – хорошее).

видно из табл. 5 нарушения правила Липински отсутствуют, поскольку для соединений **3–5** молекулярная масса не превышает пороговой отметки 500. Противоречия с правилами Вебера также отсутствовали, так как количество подвижных связей не превышало порогового значения $n\text{-ROTb} \leq 10$. Площадь топологической полярной поверхности, обеспечивающая хорошую биодоступность синтезируемых соединений, составила 55.40 Å². Кроме того, лиганды **3–5** обладали умеренной проницаемостью клеток при значениях Caco2 в диапазоне 37.62–55.17 нм/с и показали хороший процент всасывания в кишечнике (HIA 96.70–97.20%).

Таким образом, полученные производные спиропирана с ароматическими аминами существуют в форме термодинамически стабильных енамикетоннов как в твердом состоянии, так и в растворе ДМСО. Стабилизация происходит за счет таутомерного 1,5-сигнатурного переноса атома водорода 7-гидроксильной группы на азометиновый азот. Согласно результатам, DFT-расчета, спироциклические изомеры значительно дестабилизированы (на 10–12 ккал/моль). В растворе ДМСО при температуре окружающей среды наблюдаются *E*- и *Z*-изомеры по отношению к экзоциклической двойной связи C=C–N (для которых *Z*-изомер является основным компонентом для всех производных).

Для ряда синтезированных соединений оценивали цитотоксическую активность *in vitro* в отношении четырех типичных клеточных линий человека, включая гепатоцеллюлярную карциному (Hep-G2), карциному молочной железы (MCF-7), рака легких (A549), и карциномы (KB). Соединения проявляли умеренную активность

в отношении этих клеточных линий. Однако для исследованных соединений не наблюдалось антиоксидантной активности. Молекулярное моделирование полученных соединений показывает, что биологическая активность и проникающая способность определяются наличием плоского енаминокетонного фрагмента и алифатическими заместителями. Таким образом, чтобы добиться усиления противораковой активности полученных соединений необходима функционализация исходного спиропирана длинноцепочечными алифатическими аминами, что приведет к увеличению числа связывающих аминокислотных остатков с лигандами и снижению численных значений оценочной функции Glide Score.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

7-Гидрокси-3',3'-диметил-3'*H*-спиро[хромен-2,1'-изобензофуран]-8-карбальдегид **1** синтезировали по известной методике [21]. 3,4-Диметиланилин, 2,3-дихлоранилин, *n*-толуидин (Merck) были использованы без дополнительной очистки.

Спектры ЯМР ¹H, ¹³C регистрировали на спектрометре Varian UNITY-300 300 МГц в растворе ДМСO-*d*₆ при температуре окружающей среды. Инфракрасные спектры твердых образцов регистрировали на приборе Varian 3100-FTIR Excalibur в диапазоне 4000–400 см⁻¹ в режиме НПВО. Электронные спектры регистрировали в растворе ацетонитрила на спектрофотометре Varian Cary 5000 в диапазоне 200–800 нм. Микроанализ на C, H и N проводили с помощью прибора PerkinElmer 240C Analyzer.

Общая методика синтеза соединений 3–5. Горячий раствор 1.2 ммоль соответствующего ами-

на в 5 мл этанола добавляли к горячему раствору спиропирана **1** (1.2 ммоль) в 5 мл этанола. Сразу после добавления раствор приобретал темно-красный цвет. Реакционную смесь кипятили в течение 3 мин. После охлаждения образовывался красный осадок, который отфильтровывали и перекристаллизовывали из хлористого метилена. Полученные соединения представляют собой ярко-красные аморфные твердые вещества, хорошо растворимые в большинстве органических растворителей.

6-{2-[3,3-Диметилизобензофуран-1(3H)-илиден]этилиден}-2-[(3,4-диметилфенил)амино]метилен}циклогекс-4-ен-1,3-дион (3). Выход 55%, красный порошок, т. пл. 170°C. ИК спектр, ν , см⁻¹: 463, 652, 763, 994, 1092, 1199, 1294, 1439, 1566, 1646 (C=O), 2857, 2920, 2974 (CH), 3045 (NH). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ , м. д. (*J*, Гц): основной компонент (60%), 1.66 с (6H, CH₃), 2.21 с (3H, CH₃Ph), 2.26 с (3H, CH₃Ph), 6.08 д. д (1H, H⁴, ³*J*_{HH} 10.1, 1.5 Гц), 6.85 д (1H, H⁸, ³*J*_{HH} 13.2 Гц), 7.21 т (2H, H^{2''}, H^{6''}, ³*J*_{HH} 1.7 Гц), 7.27–7.41 м (1H, H^{5''}), 7.39–7.72 м (3H, H^{6'}, H^{7'}, H^{5'}), 7.86–7.97 м (1H, H⁵), 7.97–8.06 м (1H, H^{8'}), 8.06–8.19 м (1H, H⁷), 8.66 д (1H, H⁹, ³*J*_{HH} 13.3 Гц), 13.63 д (1H, NH, ³*J*_{HH} 13.3 Гц); минорный компонент (40%), 1.66 с (6H, CH₃), 2.21 с (3H, CH₃Ph), 2.26 с (3H, CH₃Ph), 6.07 д. д (1H, H⁴, ³*J*_{HH} 10.1, 1.6 Гц), 6.82 д (1H, H⁸, ³*J*_{HH} 13.2 Гц), 7.21 т (2H, H^{2''}, H^{6''}, ³*J*_{HH} 1.7 Гц), 7.27–7.41 м (1H, H^{5''}), 7.39–7.72 м (3H, H^{6'}, H^{7'}, H^{5'}), 7.86–7.97 м (1H, H⁵), 7.97–8.06 м (1H, H^{8'}), 8.06–8.19 м (1H, H⁷), 8.69 д (1H, H⁹, ³*J*_{HH} 13.5 Гц), 13.26 д (1H, NH, ³*J*_{HH} 13.4 Гц). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆), δ _C, м. д.: основной компонент, 19.32 (3-CH₃Ph), 19.86 (4-CH₃Ph), 27.81 (2CH₃), 92.32 (C^{3'}), 93.87 (C⁸), 110.10 (C²), 116.17 (C^{6''}), 119.53 (C^{5''}), 121.80 (C^{5'}), 122.88 (C^{8'}), 123.26 (C⁴), 123.61 (C⁶), 129.33 (C^{7'}), 131.19 (C^{2''}), 131.51 (C^{9'}), 132.33 (C^{6'}), 135.02 (C^{1''}), 136.28 (C⁵), 136.66 (C^{4''}), 137.73 (C⁷), 138.66 (C^{3''}), 150.69 (C^{4'}), 151.18 (C⁹), 166.09 (C^{1'}), 184.65 (C³), 184.67 (C¹); минорный компонент, 19.32 (3-CH₃Ph), 19.83 (4-CH₃Ph), 27.81 (2CH₃), 92.44 (C^{3'}), 93.87 (C⁸), 109.82 (C²), 116.09 (C^{6''}), 119.71 (C^{5''}), 121.80 (C^{5'}), 122.88 (C^{8'}), 123.26 (C⁴), 123.91 (C⁶), 129.33 (C^{7'}), 131.19 (C^{2''}), 131.51 (C^{9'}), 132.33 (C^{6'}), 134.94 (C^{1''}), 136.28 (C⁵), 136.71 (C^{4''}), 138.13 (C⁷), 138.61 (C^{3''}), 150.62 (C^{4'}), 151.27 (C⁹), 165.98 (C^{1'}), 182.06 (C³), 188.10 (C¹). Найдено, %: C 78.75; H 6.02; N 3.22; O 11.55. C₂₇H₂₅NO₃. Вычислено, %: C 78.81; H 6.12; N 3.40; O 11.66.

2-[(2,3-Дихлорфенил)амино]метилен}-6-{2-[3,3-диметилизобензофуран-1(3H)-илиден]этилиден}циклогекс-4-ен-1,3-дион (4). Выход 40.5%, красный порошок, т. пл. 168.5°C. ИК спектр, ν , см⁻¹: 443, 629, 939, 997, 1092, 1262, 1325, 1398, 1441, 1556, 862 (CCl), 1640 (C=O), 2866, 2926, 2979 (CH), 3074 (NH). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ , м. д. (*J*, Гц): основной компонент (60%), 1.67 с (6H, CH₃), 6.12 д (1H, H⁴, ³*J*_{HH} 10.1 Гц), 6.89 д (1H, H⁸, ³*J*_{HH} 13.3 Гц), 7.42–7.71 м (6H, H^{4''}, H^{5''}, H^{6''}, H^{5'}, H^{6'}, H^{7'}), 7.88–7.99 м (1H, H⁵), 8.04 д (1H, H^{8'}, ³*J*_{HH} 7.6 Гц), 8.07–8.26 м (1H, H⁷), 8.77 д (1H, H⁹, ³*J*_{HH} 12.2 Гц), 14.08 д (1H, NH, ³*J*_{HH} 12.4 Гц); минорный компонент (30%), 1.67 с (6H, CH₃), 6.12 д (1H, H⁴, ³*J*_{HH} 10.1 Гц), 6.80–6.99 м (1H, H⁸), 7.71–7.42 м (6H, H^{4''}, H^{5''}, H^{6''}, H^{5'}, H^{6'}, H^{7'}), 7.88–7.99 м (1H, H⁵), 8.04 д (1H, H^{8'}, ³*J*_{HH} 7.6 Гц), 8.07–8.26 м (1H, H⁷), 8.79 д (1H, H⁹, ³*J*_{HH} 12.4 Гц), 13.79 д (1H, NH, ³*J*_{HH} 12.5 Гц). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆), δ _C, м. д.: основной компонент, 27.76 (2CH₃), 92.71 (C^{3'}), 93.97 (C⁸), 111.34 (C²), 111.91 (C^{6''}), 121.83 (C^{8'}), 122.08 (C⁶), 123.06 (C^{2''}), 123.46 (C^{4''}), 123.73 (C⁴), 129.75 (C^{7'}), 131.42 (C^{5''}), 133.00 (C^{3''}), 137.15 (C⁵), 138.11 (C^{1''}), 138.51 (C⁷), 150.88 (C^{4'}), 151.21 (C⁹), 166.82 (C^{1'}), 184.70 (C¹), 185.42 (C³); минорный компонент, 27.76 (2CH₃), 92.71 (C^{3'}), 93.97 (C⁸), 111.34 (C²), 111.91 (C^{6''}), 122.08 (C⁶), 123.31 (C^{5'}), 121.83 (C^{8'}), 123.06 (C^{2''}), 123.46 (C^{4''}), 123.73 (C⁴), 129.39 (C^{7'}), 132.56 (C^{9'}), 131.42 (C^{5''}), 132.56 (C^{6'}), 133.00 (C^{3''}), 137.15 (C⁵), 138.11 (C^{1''}), 139.04 (C⁷), 150.78 (C^{4'}), 151.21 (C⁹), 166.82 (C^{1'}), 182.19 (C¹), 188.75 (C³). Найдено, %: C 66.18; H 4.15; Cl 15.10 N 3.21; O 10.49. C₂₅H₁₉Cl₂NO₃. Вычислено, %: C 66.38; H 4.23; Cl 15.68; N 3.10; O 10.61.

6-{2-[3,3-Диметилизобензофуран-1(3H)-илиден]этилиден}-2-[(*n*-толиламино)метилен]циклогекс-4-ен-1,3-дион (5). Выход 51.0 %, красный порошок, т. пл. 190°C. ИК спектр, ν , см⁻¹: 430, 638, 928, 951, 1093, 1178, 1249, 1324, 1404, 1536, 1649 (C=O), 2919, 2971 (CH), 3047 (NH). Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ , м. д. (*J*, Гц): основной компонент (60%), 1.66 с (6H, CH₃), 2.31 с (3H, CH₃Ph), 6.08 д (1H, H⁴, ³*J*_{HH} 10.1 Гц), 6.86 д (1H, H⁸, ³*J*_{HH} 13.2 Гц), 7.20–7.32 м (2H, H^{2''}, H^{5''}), 7.3–7.47 м (2H, H^{2''}, H^{6''}), 7.48–7.70 м (3H, H^{5'}, H^{6'}, H^{7'}), 7.92 д (1H, H⁵, ³*J*_{HH} 10.1 Гц), 8.02 д (1H, H^{8'}, ³*J*_{HH} 6.6 Гц), 8.12 д (1H, H⁷, ³*J*_{HH} 13.2 Гц), 8.66 д (1H, H⁹, ³*J*_{HH} 13.3 Гц), 13.62 д (1H, NH, ³*J*_{HH} 13.3 Гц); ми-

норный компонент (30%), 1.66 с (6H, CH₃), 2.31 с (3H, CH₃Ph), 6.08 д (1H, H⁴, ³J_{HH} 10.1 Гц), 6.86 д (1H, H⁸, ³J_{HH} 13.2 Гц), 7.20–7.32 м (2H, H^{3''}, H^{5''}), 7.31–7.47 м (2H, H^{2''}, H^{6''}), 7.48–7.70 м (3H, H^{5'}, H^{6'}, H^{7'}), 7.92 д (1H, H⁵, ³J_{HH} 10.1 Гц), 8.02 д (1H, H⁸, ³J_{HH} 6.6 Гц), 8.12 д (1H, H⁷, ³J_{HH} 13.2 Гц), 8.68 д (1H, H⁹, ³J_{HH} 13.4 Гц), 13.24 д (1H, NH, ³J_{HH} 13.4 Гц). Спектр ЯМР ¹³C (DMCO-d₆), δ_C, м. д.: основной компонент, 20.95 (2CH₃), 27.81 (CH₃Ph), 92.34 (C³), 93.88 (C⁸), 109.86 (C²), 118.75 (C^{2''} C^{6''}), 121.81 (C⁵), 122.89 (C⁸), 123.55 (C⁴), 123.87 (C⁴), 129.34 (C⁷), 130.82 (C^{3''}, C^{5''}), 131.51 (C⁶), 132.34 (C^{6'}), 136.04 (C^{4''}), 136.14 (C^{1''}), 136.97 (C⁵), 137.75 (C⁷), 150.69 (C⁹), 151.32 (C⁹), 166.12 (C¹), 184.66 (C³), 184.67 (C¹); минорный компонент, 20.95 (2CH₃), 27.81 (CH₃Ph), 92.44 (C³), 93.88 (C⁸), 110.14 (C²), 118.83 (C^{2''} C^{6''}), 121.81 (C⁵), 122.89 (C⁸), 123.55 (C⁴), 123.87 (C⁴), 129.34 (C⁷), 130.77 (C^{3''}, C^{5''}), 131.56 (C⁶), 132.34 (C^{6'}), 136.56 (C^{4''}), 136.63 (C^{1''}), 136.97 (C⁵), 137.35 (C⁷), 150.63 (C⁹), 151.42 (C⁹), 166.01 (C¹), 182.08 (C³), 188.08 (C¹). Найдено, %: C 78.43; H 5.72; N 3.14; O 12.45. C₂₆H₂₃NO₃. Вычислено, %: C 78.43; H 5.72; N 3.14; O 12.45.

Рентгеноструктурный анализ. Результаты монокристаллической рентгеновской дифракции получены на дифрактометре Belok/XSA [30, 31] (Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт») с использованием детектора Rayonix SX165 CCD. Два набора данных для двух разных ориентаций кристалла были собраны с использованием диапазона колебаний 1.0° и φ-режима сканирования. Полученные данные были проиндексированы и интегрированы с использованием программного обеспечения XDS, а затем масштабированы и скорректированы для поглощения с помощью программы XSCALE [32] (табл. S3, см. Дополнительные материалы). Структура определена прямыми методами и уточнена полноматричным методом наименьших квадратов по F² в анизотропном приближении для неводородных атомов. Кристаллическая структура была решена и уточнена с помощью программного пакета GUI Olex2, основанного на оригинальном алгоритме Дж.М. Шелдрика [33, 34]. Анализ кристаллографических данных выполнен с помощью программы PLATON [35].

Квантово-химические расчеты. Квантово-химическое моделирование исследуемых соедине-

ний было выполнено в рамках теории функционала плотности (DFT). Для всех расчетов использовалась программа Gaussian'09 [36]. Использовали гибридный обменно-корреляционный функционал B3LYP [37] и валентно-расщепленный базис, дополненный поляризационными и диффузными функциями на всех атомах 6-311++G(d,p). Атомные координаты всех изомеров были оптимизированы без каких-либо ограничений по симметрии. Стационарные точки на поверхности потенциальной энергии характеризовали расчетом частот нормальных колебаний. Влияние растворителя учитывалось в рамках приближения непрерывно поляризуемой среды (PCM) со стандартными параметрами растворителя [38].

Анализ цитотоксичности. Цитотоксическую активность определяли на основе метода МТТ [39–41]. Четыре линии раковых клеток высевали с плотностью 1×10⁴ клеток на мл в 96-луночные планшеты и инкубировали в течение 72 ч. Пробы с концентрациями 128, 32, 8 и 2 мкг/мл добавляли и инкубировали в течение 72 ч. После в каждую лунку добавляли по 10 мкл раствора МТТ (5 мг/мл). Планшеты инкубировали в течение 4 ч, после чего образовавшиеся пурпурные кристаллы формазана растворяли в ДМСО 100%. Оптическую плотность (OD) рассчитывали с помощью спектрофотометрическим микропланшет BioTek при тестовой длине волны 540 нм. Процент ингибирования раковых клеток (%) определяли по формуле (1).

$$\text{Клеточное ингибирование} = \frac{OD_0 - OD_{\text{образец}}}{OD_0 - OD_{\text{ДМСО}}} \times 100, \quad (1)$$

где OD₀ – поглощение клеток без образца, OD_{ДМСО} – поглощение отрицательного контроля ДМСО, OD_{образец} – поглощение образца после реакции.

Эксперименты были проведен в трех повторностях, значения IC₅₀ были получены с помощью нелинейной регрессии с использованием программного обеспечения Rawdata.

In vitro DPPH анализ. Анализ DPPH является одним из наиболее популярных методов измерения антиоксидантной активности [42–44]. Антиоксидантная активность была продемонстрирована

снижением интенсивности поглощения свободных радикалов DPPH, что определялось фотометрически при λ 517 нм. Процентное содержание свободных радикалов (SC%) в исследуемом образце рассчитывали по формуле (2).

$$SC = \frac{OD_{DPPH \text{ раствор}} - OD_{\text{образец}}}{OD_{DPPH \text{ раствор}}} \times 100, \quad (2)$$

где OD – оптическая плотность.

Значение EC_{50} рассчитывали в соответствии с корреляцией между значением SC и различными концентрациями образца. В качестве контрольного образца для сравнения использовали кверцетин.

Молекулярное моделирование. Кристаллическая структура белка топоизомеразы II бета в комплексе с митоксантроном (код: 4G0V) была взята из открытой электронной библиотеки Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/experimental/4G0V>). Полученная структура была оптимизирована с помощью мастера приготовления белка Maestro 11.5 (Maestro, v. 11.5: Schrödinger, LLC, США). Порядки связей, координаты комплекса белок-лиганд были восстановлены, молекулы воды и ионы магния были удалены. В ходе оптимизации использовалось силовое поле OPLS_2005. Структуры лигандов были получены с использованием 2D Sketcher и сохранены в 3D формате. Далее соединения были подготовлены с помощью LigPrep 3.6 с использованием силового поля OPLS_2005. При приготовлении использовалась методика Epik v.4.3. Затем, используя модуль MacroModel 12.2 лиганды были оптимизированы в силовом поле MMFFs. В качестве растворителя была выбрана вода. Остальные настройки выбраны по умолчанию. После чего, модулем Generate Grid Generation в Glide был сгенерирован размер ячейки $10 \times 10 \times 10 \text{ \AA}$ в месте связывания митоксантрона с активным центром белка и осуществлен процесс стыковки протоколом дополнительной точности (XP).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Нгуен Тхи Суен, <https://orcid.org/0000-0003-3195-7561>

Буланов Антоний Олегович, <https://orcid.org/0000-0002-5499-7454>

Чан Дай Лам, <https://orcid.org/0000-0003-1364-8001>

Бу Хоанг Динь, <https://orcid.org/0000-0002-2112-6732>

Зыонг Банг Нгиа, <https://orcid.org/0000-0003-3385-3125>

Лазаренко Владимир Александрович, <https://orcid.org/0000-0002-3613-9763>

Щербаков Игорь Николаевич, <https://orcid.org/0000-0001-7799-5075>

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Вьетнамской академии наук и технологий (проект № 21-53-54007, код темы QTRU01.08/21-22) с использованием оборудования Объединенного ресурсного центра «Молекулярная спектроскопия» и Центра коллективного пользования «Высокопроизводительные вычисления» Южного федерального университета.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Дополнительные материалы для этой статьи доступны по doi 10.31857/S0044460X23050037 для авторизованных пользователей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Guglielmetti R.* Photochromism: molecules and systems. Amsterdam: Elsevier, 1990. doi 10.1016/B978-0-444-51322-9.X5000-3
2. *Bouas-Laurent H., Durr H.* // Pure Appl. Chem. 2001. Vol. 73. N 4. P. 639. doi 10.1351/pac200173040639
3. *Tian H., Zhang J.* Photochromic Materials: Preparation, Properties and Applications. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2016.
4. *Bertelson R.C.* In: Organic Photochromic and Thermochromic Compounds. Topics in Applied Chemistry / Eds J.C. Crano, R.J. Guglielmetti. Boston: Springer, 2002. P. 11. https://doi.org/10.1007/0-306-46911-1_2
5. *Minkin V.I.* // Chem. Rev. 2004. Vol. 104. P. 2751. doi 10.1021/cr020088u

6. Klajn R. // Chem. Soc. Rev. 2014. Vol. 43. P. 148. doi 10.1039/c3cs60181a
7. Barachevsky V.A. // Rev. J. Chem. 2017. Vol. 7. P. 334. doi 10.1134/S2079978017030013
8. Aiken S., Edgar R.J.L., Gabbutt C.D., Heron B.M., Hobson P.A. // Dyes and Pigments. 2018. Vol. 149. P. 92. doi 10.1016/j.dyepig.2017. 09.057
9. Барачевский В.А., Валова Т.М., Атабекян Л.С., Любимов А.В. // Химия высоких энергий. 2017. Т. 51. № 6. С. 436; Barachevsky V.A., Valova T.M., Atabekyan L.S., Lubimov A.-V. // High Energy Chem. 2017. Vol. 51. N 6. P. 415. doi 10.7868/S0023119717060023
10. Барачевский В.А., Валова Т.М. // Оптика и спектр. 2017. Т. 123. № 3. С. 377; Barachevsky V.A., Valova T.M. // Opt. Spectr. 2017. Vol. 123. N 3. P. 404. doi 10.1134/S0030400X17090065
11. Барачевский В.-А. // Рос. хим. ж. 2021. Т. 65. № 3. С. 6.
12. Vigato P.A., Tamburini S. // Coord. Chem. Rev. 2004. Vol. 248. P.1717. doi 10.1016/j.cct.2003.09.003
13. Keum S.R., Ahn S.M., Lee S.H. // Dyes and Pigm. 2004. Vol. 60. N 1. P. 55. doi 10.1016/S0143-7208(03)00138-4
14. Keum S.R. // Dyes and Pigm. 2004. Vol. 60. N 2. P. 147. doi 10.1016/j.dyepig.2003.07.006
15. Nakao R., Horii T., Kushino Y., Shimaoka K., Abe Y. // Dyes and Pigm. 2002. Vol. 52. N 2. P. 95. doi 10.1016/S0143-7208(01)00093-6
16. Keum S.R., Ahn S.M., Roh S.J., Ma S.Y. // Dyes and Pigm. 2010. Vol. 86. N 1. P. 74. doi 10.1016/j.dyepig.2009.12.002
17. O'Bryan G., Wong B.M., McElhanon J.R. // Appl. Mater. Interfaces. 2010. Vol. 2. N 6. P. 1594. https://doi.org/10.1021/am100050v
18. Sennett K.A., Lindner B.K., Kaur N., Fetner S.M., Stitzel S.E. // Dyes and Pigm. 2013. Vol. 98. N 3. P. 437. doi 10.1016/j.dyepig.2013.03.010
19. Del Canto, E., Flavin K., Natali M., Perova T., Giordani S. // Carbon. 2010. Vol. 48. N 10. P. 2815. doi 10.1016/j.carbon.2010.04.012
20. Liao B., Long P., He B., Yi S., Ou B., Shen S., Chen J. // J. Mater. Chem. (C). 2013. Vol. 1. N 23. P. 3716. doi 10.1039/C3TC00906H
21. Bulanov A.O., Shcherbakov I.N., Tupolova Y.P., Popov L.D., Lukov V.V., Kogan V.A., Belikov P.A. // Acta Crystallogr. (C). 2009. Vol. 65. P. o618. doi 10.1107/S0108270109044771
22. Bulanov A.O., Shcherbakov I.N., Popov L.D., Shasheva E.Y., Belikov P.A., Starikova Z.A. // Acta Crystallogr. (C). 2011. Vol. 67. P. o85. doi 10.1107/S0108270111002836
23. Попов Л.Д., Щербakov И.А., Буланов А.О., Шашева Е.Ю., Ткаченко Ю.Н., Кобелева О.И., Валова Т.М., Барачевский В.А. // ЖОХ. 2012. Т. 82. № 8. С.1362; Popov L.D., Shcherbakov I.A., Bulanov A.O., Shasheva E.Y., Tkachenko, Y.N., Kobleva O.I., Vyalova T.M., Barachevskii V.A. // Russ. J. Gen. Chem. 2012 Vol. 82. P. 1432. doi 10.1134/S1070363212080166
24. Попов Л.Д., Буланов А.О., Распопова Е.А., Морозов А.Н., Щербakov И.Н., Кобелева О.И., Валова Т.М., Барачевский В.А. // ЖОХ. 2013. Т. 83. № 6. С. 980; Popov L.D., Bulanov A.O., Raspopova E.A., Morozov A.N., Scherbakov I.N., Kobleva O.I., Valova T.M., Barachevskii V.A. // Russ. J. Gen. Chem. 2013. Vol. 83. P. 1111. doi 10.1134/S1070363213060182
25. Shcherbakov I.N., Bulanov A.O., Revinskii Y.V., Popov L.D. // Struct. Chem. 2019. Vol. 30. P. 1381. doi 10.1007/s11224-019-01295-z
26. Lazarenko V.A., Dorovatovskii P.V., Zubavichus Y.V., Burlov A.S., Koshchienko Y.V., Vlasenko V.G., Khrustalev V.N. // Crystals. 2017. Vol. 7. P. 325. doi 10.3390/cryst7110325
27. Svetogorov R.D., Dorovatovskii P.V., Lazarenko V.A. // Cryst. Res. Technol. 2020. Vol. 55. P. 1900184. doi 10.1002/crat.201900184
28. Kabsch W. // Acta Crystallogr. (D). 2010. Vol. 66. P. 125. doi 10.1107/S0907444909047337
29. Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J., Howard J.A.K., Puschmann H. // J. Appl. Crystallogr. 2009. Vol. 42. P. 339. doi 10.1107/S0021889808042726
30. Sheldrick, G. // Acta Crystallogr. (A). 2008. Vol. 64. P. 112. doi 10.1107/S0108767307043930
31. Sheldrick, G. // Acta Crystallogr. (C). 2015. Vol. 71. P. 3. doi 10.1107/S2053229614024218
32. Spek A. // J. Appl. Crystallogr. 2003. Vol. 36. P. 7. doi 10.1107/S0021889802022112
33. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Scalmani V.B.G., Mennucci B., Petersson G.A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H.P., Izmaylov A.F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J.L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda O.K.Y., Nakai H., Vreven T., Montgomery J.A., Peralta J.E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J.J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S.S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J.M., Klene M., Knox J.E., Cross J.B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Zakrzewski V.G., Voth G.A., Salvador P., Dannenberg J.J., Dapprich S., Daniels A.D., Farkas O., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cioslowski J., Fox D.J. Gaussian 09, Revision A.02, 2009.
34. Becke A.D. // J. Chem. Phys. 1993. Vol. 98. P. 5648. doi 10.1063/1.464913

35. Tomasi J., Mennucci B., Cammi R. // Chem. Rev. 2005. Vol. 105. P. 2999. doi 10.1021/cr9904009
36. Andersson M.P., Uvdal P. // J. Phys. Chem. (A). 2005. Vol. 109. P. 2937. doi 10.1021/jp045733a
37. Bauernschmitt R., Ahlrichs R. // Chem. Phys. Lett. 1996. Vol. 256. P. 454. doi 10.1016/0009-2614(96)00440-X
38. Casida M.E., Jamorski C., Casida K.C., Salahub D.R. // J. Chem. Phys. 1998. Vol. 108. P. 4439. doi 10.1063/1.475855
39. Mosmann T. // J. Immunolog. Methods. 1983. Vol. 65. P. 55. doi 10.1016/0022-1759(83)90303-4
40. Scudiero D.A., Shoemaker R.H., Kenneth D.P., Monks A., Tierney S., Nofziger T.H., Currens M.J., Seniff D., Boyd M.R. // Cancer Res. 1988. Vol. 48. P. 4827.
41. Malacrida A., Cavalloro V., Martino E., Cassetti A., Nicolini G., Rigolio R., Miloso M. // Molecules. 2019. Vol. 24. doi 10.3390/molecules24132500
42. Burits M., Bucar F. // Phytother. Res. 2000. Vol. 14. P. 323. doi 10.1002/1099-1573(200008)14:5<323:aid-ptr621>3.0.co;2-q
43. Chen Z., Bertin R., Froidi G. // Food Chem. 2013. Vol. 138. P. 414. doi 10.1016/j.foodchem.2012.11.001
44. Cuendet M., Hostettmann K., Potterat O., Dyatmiko W. // Helv. Chim. Acta. 1997. Vol. 80. P. 1144. doi 10.1002/HLCA.19970800411

Enaminoketones – Functional Derivatives Based on 7-Hydroxy-3',3'-dimethyl-3'H-spiro[chromen-2,1'-isobenzofuran]-8-carbaldehyde with Aromatic Amines. Physicochemical Studies and Biological Activity

X. T. Nguyen^{a,b}, A. A. Zantman^a, A. O. Bulanov^{a,*}, T. T. T. Nguyen^c, L. D. Tran^c, H. D. Vu^d, B. N. Duong^{c,e}, V. A. Lazarenko^f, and I. N. Shcherbakov^a

^a Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344019 Russia

^b Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, 100000 Vietnam

^c Institute for Tropical Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, Hanoi, 100000 Vietnam

^d Hanoi University of Science and Technology, Hanoi, 100000 Vietnam

^e Office of the State Council for Professorship, Ministry of Education and Training, Hanoi, 100000 Vietnam

^f National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, 123182 Russia

*e-mail: aobulanov@srfedu.ru

Received March 10, 2023; revised March 10, 2023; accepted April 17, 2023

This research focuses on studying derivatives of 2-oxaindane spiropyran by its condensation with aromatic amines. The results showed that all the synthesized compounds are enaminoketones form in both solution and solid state. This is explained by the fact that during the formation of Schiff bases, the proton of the 7-hydroxyl group of the benzopyran part migrates to the azomethine nitrogen, which leads to the transition of the cyclic form of spiropyran into the corresponding enaminoketone. In the DMSO solution, the enaminoketones dynamic equilibrium of the *E,Z*-isomeric forms were observed. The structure of enaminoketone based on 3,4-dimethyl-aniline was proved by the X-ray diffraction method. The synthesized compounds were studied for their *in vitro* anticancer activity against human hepatocellular carcinoma (HepG2), breast carcinoma (MCF-7), lung cancer (A549), and carcinoma cells (KB). Enaminoketone with R = 3,4-CH₃Ph is characterized by the highest activity, with IC₅₀ values of 13.38 μM (KB). The results in vitro antioxidant activity test using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) indicated that enaminoketones were inactive.

Keywords: enaminoketones, spiropyran, DFT calculations, anticancer activity