

К 60-летию профессора И. Калвиньша

М. Ворона, И. Поторочина, Г. Вейнберг, И. Шестакова, И. Канепе,  
М. Петрова, Э. Лиепиньш, Э. Лукевиц

СИНТЕЗ И СТРУКТУРНАЯ МОДИФИКАЦИЯ  
*трет*-БУТИЛОВОГО ЭФИРА 2-(N,N-ДИМЕТИЛАМИНОМЕТИЛЕН)-  
3-МЕТИЛ-1,1-ДИОКСО-7 $\alpha$ -ХЛОРЦЕФ-3-ЕМ-4-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

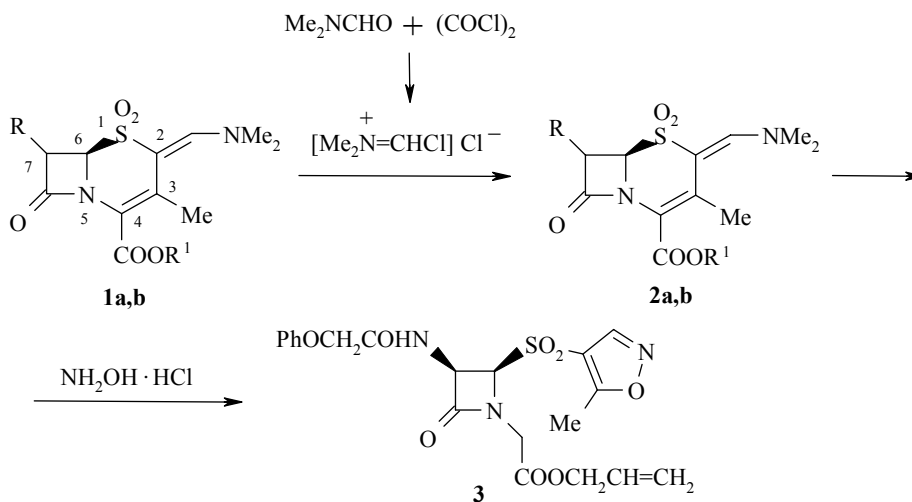
Действием реагента Вильсмайера на *трет*-бутиловые эфиры 7 $\alpha$ -хлорзамещенной и 7 $\alpha$ -изопропокси-7 $\beta$ -хлордизамещенной 3-метил-1,1-диоксо-цеф-3-ем-4-карбоновой кислоты реализовано введение в положение 2 N,N-диметиламинометиленовой группы в *E*- и *Z*-изомерной форме. Установлено, что при длительной обработке *трет*-бутилового эфира 3-метил-2-(N,N-диметиламинометилен)-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты солянокислым гидроксиламином в ацетонитриле при 40–50 °С образуется *трет*-бутиловый эфир 6-метил-1,1,9-триоксо-10(*S*)-хлор-5-окса-1-тиа-4,8-диазатрицикло[7,2,0,0<sup>2,6</sup>]ундекан-7(*R*)-карбоновой кислоты, который изомеризуется в 1-*трет*-бутоксикарбонилметил-4-(5-метилизоксазол-4-сульфонил)-3 $\alpha$ -хлоразетидин-2-он. В случае *трет*-бутилового эфира 7 $\alpha$ -изопропокси-3-метил-2-(N,N-диметиламинометилен)-1,1-диоксо-7 $\beta$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты аналогичная реакция дает *трет*-бутиловый эфир (2*S*,6*S*,7*S*,10*R*,11*R*)-10 $\alpha$ -изопропокси-6-метил-1,1,9-триоксо-10 $\beta$ -хлор-5-окса-1-тиа-4,8-диазатрицикло[7,2,0,0<sup>2,6</sup>]ундекан-7(*R*)-карбоновой кислоты, строение которого доказано методом двумерной спектроскопии 2D-NOESY. Синтезированные соединения проявили слабую цитотоксическую активность или ее отсутствие в отношении монослойных раковых клеток *in vitro*.

**Ключевые слова:** *трет*-бутиловый эфир 7 $\alpha$ -изопропокси-3-метил-2-(N,N-диметиламинометилен)-1,1-диоксо-7 $\beta$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, *трет*-бутиловый эфир 7 $\alpha$ -изопропокси-3-метил-1,1-диоксо-7 $\beta$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, *трет*-бутиловый эфир (2*S*,6*S*,7*S*,10*R*,11*R*)-10 $\alpha$ -изопропокси-6-метил-1,1,9-триоксо-10 $\beta$ -хлор-5-окса-1-тиа-4,8-диазатрицикло[7,2,0,0<sup>2,6</sup>]ундекан-7(*R*)-карбоновой кислоты, *трет*-бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, *трет*-бутиловый эфир 3-метил-2-(N,N-диметиламинометилен)-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, 1-*трет*-бутоксикарбонилметил-4-(5-метилизоксазол-4-сульфонил)-3 $\alpha$ -хлоразетидин-2-он.

Ранее нами показано, что цефемовая гетероциклическая система **1a**, окисленная в положении 1 до сульфона, а также замещенная в положениях 3, 4 и 7 $\alpha$ , соответственно, метильной, сложноэфирной группами и атомом хлора, является перспективным фармакофором противораковой активности [1].

В продолжение исследований по изучению зависимости между строением и противораковыми свойствами структурных аналогов цефалоспорины мы провели структурную модификацию упомянутой системы **1a**, основанную на введении N,N-диметиламинометиленовой группы в положение 2 и последующем химическом превращении соответствующего

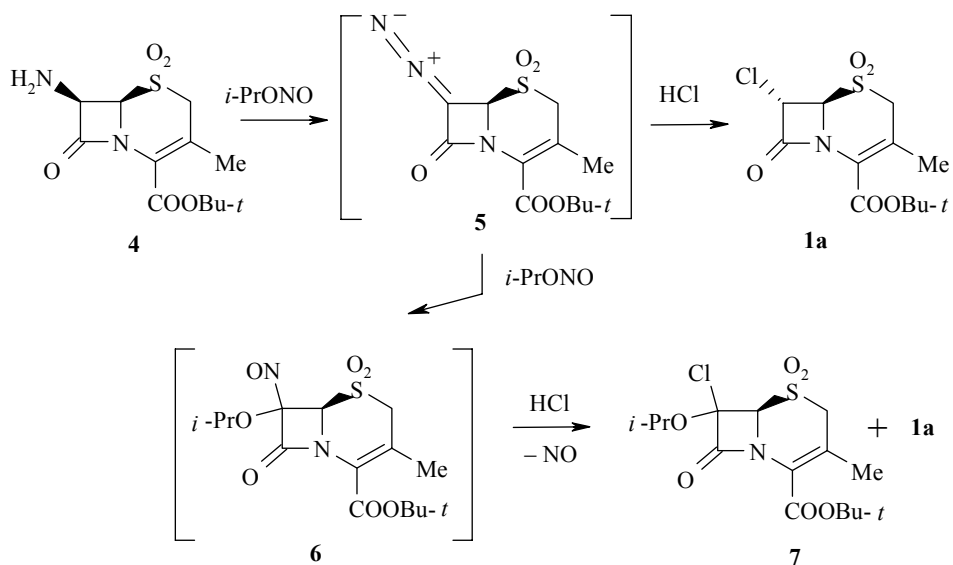
производного **2a**. При этом мы руководствовались данными работы [2] по получению аллилового эфира 3-метил-2-(N,N-диметиламинометил)-1,1-диоксо-7β-феноксиметилкарбониламиноцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**2b**) и его взаимодействию с гидроксиламином с образованием азетидин-2-она **3** с 5-метил-4-изоксазолсульфонильной группой в положении 4.



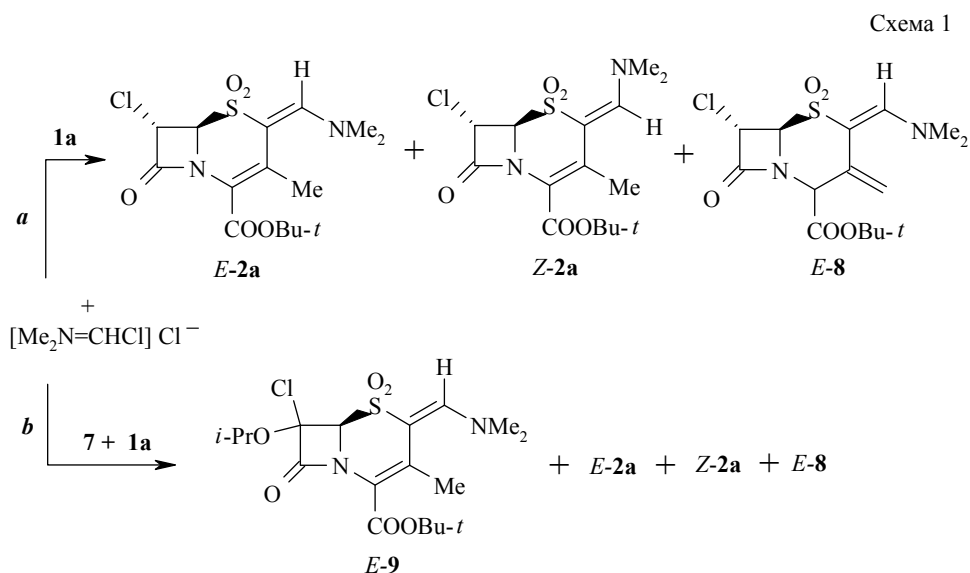
**1,2 a** R = (S)Cl, R<sup>1</sup> = *t*-Bu; **b** R = (R)PhOCH<sub>2</sub>CONH, R<sup>1</sup> = CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>

Эта реакция привлекла наше внимание оригинальным подходом к получению 4-гетарилсульфонилзамещенных β-лактамов, некоторые представители которых проявили высокую цитотоксичность *in vitro* в отношении раковых клеток [3].

Исходный *трет*-бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой (**1a**) был синтезирован, согласно методу [4], диазотированием 7β-амино-3-метил-1,1-диоксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**4**) изопропилнитритом с последующей отгонкой избытка этого реагента при пониженном давлении и замещением диазогруппы в промежуточном продукте на атом хлора хлористым водородом. Исключение из методики операции по отгонке избытка изопропилнитрита привело к образованию хроматографически неразделимой смеси 7α-хлорзамещенного цефема **1a** и нового вещества **7** в соотношении 1:1. Их спектры ЯМР <sup>1</sup>H характеризовались совпадающими значениями сигналов протонов у атома С-2 и заместителей в положениях 3, 4 и 6. Главное отличие в спектре соединения **7** – присутствие в нем сигналов двух метильных и одной метиновой групп, однозначно свидетельствующих о наличии изопропоксигруппы в положении 7. Механизм такого превращения предполагает частичное замещение диазогруппы в соединении **5** избытком изопропилнитрита с образованием 7-изопропокси-7-нитрозодизамещенного промежуточного продукта **6** с последующей заменой в нем группы NO на атом хлора.



Введение N,N-диметиламинометиленовой группы в положение 2 цефемового ядра соединения **1a** было реализовано по методу, приведенному в статьях [1, 2], с помощью реагента Вильсмайера (схема 1, реакция *a*). Реакция проводилась при 0 °С в среде ацетонитрила в течение 1.5 ч, после чего к реакционной смеси добавлялось основание. Установлено, что природа основания влияет на выход реакции: DBU способствовал суммарному 12, триэтиламин – 58, а пиридин – 63% выходу изомерных продуктов, состоящих из хроматографически неразделимой смеси 2(*E*)- и 2(*Z*)-N,N-диметиламинометилензамещенных цефемов *E*-**2a** и *Z*-**2a** в соотношении 3:1 и цефама *E*-**8**, образовавшегося в результате смещения двойной связи в соединении *E*-**2a**.

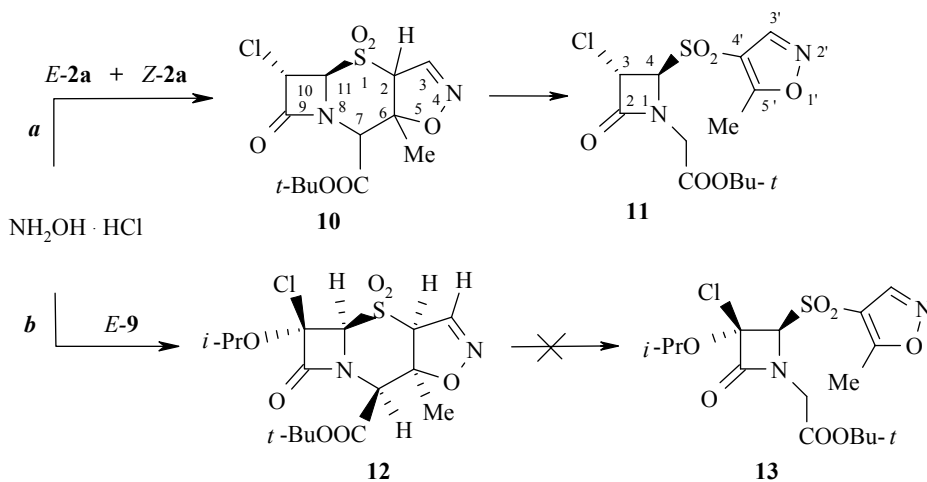


Строение изомеров *E-2a* и *Z-2a* определено методом двумерной спектроскопии 2D-NOESY [1]. Сравнительный анализ их спектроскопических данных показал, что, близкое расположение в изомере *Z-2a* сульфоновой группы и диметиламиногруппы приводит к слабому сдвигу резонансных сигналов N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> протонов (3.35 м. д.) по сравнению с изомером *E-2a* (3.01 м. д.). По этой же причине, наличие в спектре ЯМР <sup>1</sup>H соединения **8** сигналов протонов диметиламиногруппы в районе 2.96 м. д. свидетельствует о нахождении его N,N-диметиламинометиленовой группы в *E*-изомерной форме.

Обработка реагентом Вильсмайера в аналогичных условиях смеси, состоящей из 7-моно- и 7-дизамещенного цефемов **1a** и **7**, судя по данным ТСХ, приводит к получению нескольких продуктов (схема 1, реакция *b*). Их фракционирование с помощью колоночной хроматографии позволило выделить в индивидуальном виде и охарактеризовать с помощью ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C и масс-спектров 2(*E*)-N,N-диметиламинометилен-7-изопропокси-7-хлорзамещенный цефем *E-9*.

В продолжение исследования цефем **2a**, являющийся смесью *E*- и *Z*-изомеров, был обработан солянокислым гидроксиламином в среде ацетонитрила при 40–50 °С в течение 6 сут (схема 2, реакция *a*). С помощью колоночной хроматографии из реакционной смеси удалось выделить и охарактеризовать ЯМР <sup>1</sup>H и масс-спектрами конечный продукт **11**, а также его смесь с трициклическим β-лактамом **10**.

Схема 2



Полученные результаты хорошо согласуются с приведенным в статье [2] механизмом превращения цефема **2b** в азетидинон **3**, несмотря на существенные различия в природе и конфигурации заместителя в положении 7.

Обработка 2(*Z*)-(N,N-диметиламинометилен)-7-изопропокси-7-хлорзамещенного цефема *9-E* в аналогичных условиях солянокислым гидроксиламином привела к получению только трициклического продукта **12** (схема 2, реакция *b*). Попытки его изомеризации в азетидинон-2 **13** при повышенной температуре в растворе ацетонитрила, а также облучением УФ были безрезультатны. Метод двумерной спектроскопии 2D-NOESY, примененный для анализа пространственного расположения заместителей

трицикло[7,2,0,0<sup>2,6</sup>]ундекановой системы **12** выявил ЯЭО между протонами в положениях 2, 7, 11, а также между протонами метильной и изопропильной групп в положениях 6 и 10. Это позволило, в дополнение к известной *R*-конфигурации атома С-11, однозначно установить конфигурацию еще четырех хиральных центров: 2*S*, 6*S*, 7*S* и 10*R*. Полученная таким образом информация указывает на то, что в ранее синтезированных предшественниках этого соединения: **7** и **E-9** изопропокси группа находится также в α-, а атом хлора в β-положении по отношению к плоскости β-лактамного цикла.

Биологический скрининг синтезированных веществ *in vitro* включал определение их цитотоксических свойств в отношении монослойных линий раковых клеток HT-1080 (фибросаркома человека) и MG-22A (мышинная гепатома) в сравнении с таковыми для нормальных клеток 3Т3 (эмбриональные фибробласты мыши). Окрашивание фибробластов 3Т3 нейтральным красным позволило, не прибегая к экспериментам *in vivo*, с помощью специального уравнения вычислить значения ожидаемой токсичности LD<sub>50</sub> для тестируемых соединений [5].

Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют о том, что цефемы **E-2a/Z-2a** и **E-8**, образующиеся в результате введения N,N-диметил-аминометиленовой группы в положение 2 *трет*-бутилового эфира 1,1-диоксо-3-метил-7-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, характеризуются существенным понижением цитотоксичности в отношении раковых клеток, а также снижением показателей LD<sub>50</sub> по сравнению с таковыми исходного цефема **1a**. Аналогичная тенденция наблюдается для моноциклического β-лактама **11** с 5-метил-4-сульфонилзоксазольной системой в положении 4, а также его смеси с трициклическим β-лактамом **10/11** (1:1).

Т а б л и ц а 1

Биологические свойства структурных аналогов *трет*-бутилового эфира 3-метил-1,1-диоксо-7-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты

Соединение	Цитотоксическая активность <i>in vitro</i> , LC <sub>50</sub> , мкг/мл*					LD <sub>50</sub> , мг/кг
	HT-1080		MG-22A		3Т3	
	CV	МТГ	CV	МТГ	NR	
<b>1a</b>	6	6	6	2	226	1162 [1]
<b>E-2a/Z-2a</b> (3:1)	18	32	18	21	96	878
<b>E-8</b>	52	100	29	45	220	1244
<b>E-9</b>	**	**	**	**	803	2355
<b>11</b>	100	>100	36	32	501	1751
<b>10/11</b> (1:1)	30	33	23	24	107	912
<b>12</b>	**	**	**	**	740	2305

\* LC<sub>50</sub> – концентрация, обеспечивающая 50% гибель клеток; CV – кристаллический фиолетовый; МТГ – бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия; NR – нейтральный красный.

\*\* Стимуляция роста клеточной популяции.

Введение изопропокси группы в дополнение к атому хлора в положение 7 бицилических и трициклических β-лактамсодержащих соединений **E-9**

и **12** привело к получению практически нетоксичных веществ, которые в концентрациях 200 мкг/мл стимулировали рост не только раковых, но и нормальных клеток и, как следствие, характеризовались высокими значениями ожидаемой токсичности  $LD_{50} > 2300$  мг/кг.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  зарегистрированы на приборах Varian Mercury-200 (200 МГц для  $^1\text{H}$ ) и Varian Mercury-400 (400 и 100 МГц соответственно) в  $\text{CDCl}_3$ , внутренний стандарт TMC. Элементный анализ выполнен на анализаторе Carlo Erba 1108. Масс-спектры ESI-MS (масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой) выполнен на приборе Micromass Quattro micro<sup>TM</sup> API. Контроль за ходом реакции осуществлялся методом ТСХ на пластинках Merck Kieselgel проявлением в УФ свете. Для препаративной колоночной хроматографии применялся силикагель марки Merck Kieselgel (0.063–0.230 мм). В экспериментах использовались реагенты и материалы фирмы Acros, Aldrich.

При регистрации 2D-спектра использовалась матрица данных размером  $4096 \times 1024$ , что обеспечивало для  $^1\text{H}$   $\tau_{2\text{max}} = 250$  мс при регистрации по оси F2 и  $\tau_{1\text{max}} = 100$  мс по оси F1. Для улучшения отношения сигнал–шум матрица данных перед Фурье-преобразованием дополнялась нулями дважды и умножалась на косинус-функцию. Продолжительность времени смешивания в 2D-NOESY составляло 1 с.

Оптическая плотность в биологических тестах, проводимых на 96-луночных панелях, определялась горизонтальным спектрофотометром Tetretrek Multiscan MCC/340.

Смесь *трет*-бутилового эфира 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**1a**) и *трет*-бутилового эфира 7 $\alpha$ -изопропокси-3-метил-1,1-диоксо-7 $\beta$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7**) (1:1). К раствору 3.8 г (13 ммоль) *трет*-бутилового эфира 7-амино-1,1-диоксо-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 250 мл дихлорметана добавляют 1.7 г (20 ммоль) изопропилнитрита и 16 мкл трифторуксусной кислоты при 5 °С. Смесь перемешивают 1.5 ч при комнатной температуре, после чего к ней добавляют 3.4 мл этилацетата, насыщенного сухим HCl. Реакционную смесь перемешивают 2.5 ч при 5 °С и промывают насыщенным водным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$  до достижения pH ~ 7. Органическую фазу отделяют, высушивают над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем элюентом этилацетат–гексан, меняя их соотношение с 1:5 до 1:1. Фракции с  $R_f$  0.55 (этилацетат–гексан, 1:2) объединяют и упаривают. Получают 2.3 г (54%) смеси **1a** и **7**. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): **1a** – 1.54 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.07 (3H, с,  $\text{CH}_3$ ); 3.66 и 3.89 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18.4$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 4.71 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , H-6); 5.25 (1 H, д,  $^3J = 1.5$ , H-7). **7** – 1.28 и 1.31 (6H, два д,  $^3J = 6.4$ ,  $2\text{CH}_3$  *i*-Pr); 1.54 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.14 (3H, с,  $\text{CH}_3$ ); 3.61 и 3.79 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 17.5$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 4.48–4.65 (1H, септ,  $^3J = 6.4$ , CH *i*-Pr); 4.71 (1H, с, H-6). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м. д.: **1a** – 19.23 ( $\text{CH}_3$ ); 27.80 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ); 55.27 (C-7); 55.62 (C-2); 71.35 (C-6); 84.27 ( $\underline{\text{C}}\text{Me}_3$ ); 124.27 (C-4); 127.16 (C-3); 157.3 (C-8); 159.27 (COO).

Смесь *трет*-бутилового эфира 2(*E*)-2-(N,N-диметиламинометил)-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**E-2a**) и *трет*-бутилового эфира 2(*Z*)-2-(N,N-диметиламинометил)-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**Z-2a**) (3:1). К перемешиваемой суспензии 2.00 г (6.22 ммоль) сульфата *трет*-бутилового эфира 1,1-диоксо-3-метил-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 25 мл ацетонитрила в среде аргона при –5 °С добавляют смесь, состоящую из 2.16 мл (24.86 ммоль) оксалилхлорида и 1.93 мл (24.86 ммоль) ДМФА в 25 мл ацетонитрила. Реакционную смесь перемешивают 1.5 ч при 0 °С, нейтрализуют 2.01 мл (24.86 ммоль) сухого пиридина, разбавляют 100 мл 5% водного NaCl и экстрагируют 2×30 мл этилацетата. Органическую фазу высушивают над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем элюентом этилацетат–гексан, меняя их соотношение с 1:10 до 1:2. Фракции с  $R_f$  0.44 (этилацетат–гексан, 1:1) объединяют и упаривают. Получают 0.85 г (38%) смеси **E-2a** и **Z-2a**. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): **E-2a** – 1.53 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.21 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.01 (6H, с,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 4.77 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , H-6); 5.06 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , H-7); 7.29 (1H, с, =CHNMe<sub>2</sub>); **Z-2a** – 1.53 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.22 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.35 (6H, с,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 4.55 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , H-6); 5.24

(1H, д,  $^3J = 1.5$ , H-7); 7.02 (1H, с, =CHNMe<sub>2</sub>); Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: E-2a – 21.70 (CH<sub>3</sub>); 28.02 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 43.52 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 56.71 (C-7); 73.35 (C-6); 83.06 (CMe<sub>3</sub>); 99.57 (C-2); 123.44 (C-4); 134.67 (C-3); 148.78 (CH–NMe<sub>2</sub>); 160.39 (C-8); 160.70 (COO); Z-2a – 21.70 (CH<sub>3</sub>); 27.91 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 48.83 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 56.17 (C-7); 71.06 (C-6); 82.59 (CMe<sub>3</sub>); 101.58 (C-2); 123.44 (C-4); 134.67 (C-3); 149.82 (CH–NMe<sub>2</sub>); 160.39 (C-8); 160.70 (COO). Найдено, %: С 47.91; Н 5.67; N 7.07. C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 47.81; Н 5.62; N 7.43.

**трет-Бутиловый эфир 2(E)-2-(N,N-диметиламинометил)-3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцефам-4-карбоновой кислоты (E-8)** выделяют в процессе фракционирования реакционной смеси, описанной в предыдущем эксперименте, из фракции с R<sub>f</sub> 0.41 (этилацетат–гексан, 1:1) в виде желтых кристаллов с выходом 0.56 г (25%), т. пл. 43–46 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (J, Гц): 1.47 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.96 (6H, с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4.75 (1H, д,  $^3J = 1.2$ , H-6); 4.92 (1H, с, H-4); 5.14 (1H, д,  $^3J = 1.2$ , H-7); 5.33 (1H, с, =CH<sub>2</sub>); 5.66 (1H, с, =CH<sub>2</sub>); 7.12 (1H, с, =CHNMe<sub>2</sub>). ESI-MS (MeCN): 377 [MН<sup>+</sup>].

**трет-Бутиловый эфир 2(E)-7α-изопропокси-2-(N,N-диметиламинометил)-3-метил-1,1-диоксо-7β-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (E-9)** получают действием на смесь соединений **1a** и **7** (1:1) реагентом Вильсмайера аналогично методу, приведенному для **1a**, из фракции с R<sub>f</sub> 0.60 (этилацетат–гексан, 1:1) в виде желтых кристаллов с выходом 66%, т. пл. 59–63 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (J, Гц): 1.28 (6H, д,  $^3J = 6.5$ , 2CH<sub>3</sub> *i*-Pr); 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.31 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 3.04 (6H, с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4.41–4.63 (1H, септ,  $^3J = 6.5$ , CH *i*-Pr); 4.84 (1H, с, H-6); 7.19 (1H, с, =CHNMe<sub>2</sub>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 22.66 (CH<sub>3</sub>); 22.91 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 28.04 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 43.13 (NMe<sub>2</sub>); 73.04 (CHMe<sub>2</sub>); 79.98 (C-6); 82.65 (CMe<sub>3</sub>); 100.61 (C-2); 101.30 (C-7); 122.55 (C-4); 141.8 (C-3); 148.80 (CHNMe<sub>2</sub>); 160.66 (C-8); 160.67 (COO). ESI-MS (MeCN): 435 [MН<sup>+</sup>].

**1-трет-Бутоксикарбонилметил-4-(5-метилизоксазол-4-сульфонил)-3α-хлоразетидин-2-он (11)**. Раствор, состоящий из 75 мл ацетонитрила, 600 мг (1.59 ммоль) трет-бутилового эфира 2-(N,N-диметиламинометил)-1,1-диоксо-3-метил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты и 221 мг (3.18 ммоль) солянокислого гидросиламина перемешивают 144 ч при 40–50 °С. Реакционную смесь упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем элюентом этилацетат–гексан, меняя их соотношение с 1:5 до 1:2. Фракции с R<sub>f</sub> 0.60 (этилацетат–гексан, 1:2) объединяют и упаривают. Получают 81 мг (14%) белых кристаллов с т. пл. 119–120 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (J, Гц): 1.47 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.76 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 3.79 и 4.38 (2H, два д,  $^2J = 18.5$ , NCH<sub>2</sub>COO); 4.92 (1H, д,  $^3J = 1.8$ , H-4); 5.15 (1H, д,  $^3J = 1.8$ , H-3); 8.46 (1H, с, H-3' изоксазол). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 12.13 (CH<sub>3</sub>); 27.39 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 43.54 (NCH<sub>2</sub>); 57.77 (C-4); 77.32 (C-3); 84.22 (CMe<sub>3</sub>); 113.61 (C-5'); 148.71 (C-3'); 161.30 (C-2); 165.77 (C=O); 175.46 (C-4'). ESI-MS (MeCN): 387 [MNa<sup>+</sup>].

Смесь **1-трет-бутоксикарбонилметил-4-(5-метилизоксазол-4-сульфонил)-3α-хлоразетидин-2-он (11)** и трет-бутилового эфира 6-метил-1,1,9-триоксо-10(S)-хлор-5-окса-1-тиа-4,8-дiazатрицикло[7,2,0,0<sup>2,6</sup>]ундекан-7(R)-карбоновой кислоты (**10**) выделяют в процессе фракционирования реакционной смеси, описанной в предыдущем эксперименте, из фракции с R<sub>f</sub> 0.34 (этилацетат–гексан, 1:2), с выходом 272 мг (47%). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (после исключения из него сигналов, относящихся к изомеру **11**), δ, м. д. (J, Гц): 1.34 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.56 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 4.45 (1H, д,  $^3J = 1.9$ , H-2); 4.78 (1H, м, H-7); 5.05 (1H, д,  $^3J = 1.4$ , H-11); 5.25 (1H, д,  $^3J = 1.4$ , H-10); 7.51 (1H, д,  $^3J = 1.9$ , H-3). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 22.80 (CH<sub>3</sub>); 27.85 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 54.22 (C-7); 58.53 (C-10); 72.94 (C-11); 75.93 (C-2), 86.38 (CMe<sub>3</sub>); 90.10 (C-6); 141.81(C-3); 159.33 (C-9).

**трет-Бутиловый эфир (2S,6S,7S,10R,11R)-10α-изопропокси-6-метил-1,1,9-триоксо-10β-хлор-5-окса-1-тиа-4,8-дiazатрицикло[7,2,0,0<sup>2,6</sup>]ундекан-7(R)-карбоновой кислоты (12)** получают действием на смесь соединения **E-9** солянокислым гидросиламином аналогично методу, приведенному для соединения **11**, из фракции с R<sub>f</sub> 0.60 (этилацетат–гексан, 1:1) в виде белых кристаллов с выходом 20 мг (20%), т. пл. 131–133 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (J, Гц): 1.23 (6H, д,  $^3J = 6.1$ , 2CH<sub>3</sub> *i*-Pr); 1.48 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.56 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 4.36 (1H, уш. с, H-2); 4.51 (1H, септ,  $^3J = 6.1$ , CH *i*-Pr); 4.71 (1H, с, H-7); 4.96 (1H, с, H-11); 7.53

(1H, уш. с, H-3). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C, δ, м. д.: 22.71 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 24.99 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 27.85 (CH<sub>3</sub>); 55.56 (C-7); 71.19 (C-11); 73.92 (CHMe<sub>2</sub>); 76.93 (C-2); 85.43 (CMe<sub>3</sub>); 89.25 (C-6); 101.18 (C-10); 139.8 (C-3); 160.38 (C-9); 163.27 (COO). ESI-MS (MeCN): 445 [MNa<sup>+</sup>].

**Биологический скрининг.** Цитотоксические свойства синтезированных веществ *in vitro* в отношении монослойных раковых клеток НТ-1080 (фибросаркома человека), МG-22А (мышинная гепатома) и нормальных клеток ЗТЗ (эмбриональные фибробласты мыши) определялись на 96 луночных пластиковых панелях при использовании красителей CV, МТТ, NR в соответствии с методиками [6, 7], апробированными нами ранее [4].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. М. Ворона, Г. Вейнберг, И. Шестакова, И. Канепе, И. Потгорочина, К. Диковская, Р. Бокалдере, М. Петрова, Э. Лиепиньш, Э. Лукевиц, *ХТС*, 259 (2007) [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **43**, 207 (2007)].
2. W. H. W. Lunn, P. A. Hipskind, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 6291 (1992).
3. Г. Вейнберг, М. Ворона, М. Мусел, Р. Бокалдере, И. Шестакова, И. Канепе, Э. Лукевиц, *ХТС*, 949 (2004). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **40**, 816 (2004)].
4. G. A. Veinberg, I. Shestakova, N. Grigan, D. Musel, I. Kanepes, I. Domrachova, V. Grigoryeva, O. Zharkova, I. Turovskis, I. Kalvinsh, A. Strakovs, E. Lukevics, *Eur. J. Med. Chem.*, **33**, 755 (1998).
5. US Dept. of Health and Human Services, in: *Guidance Document on Using in vitro Data to Estimate in vivo Starting Doses for Acute Toxicity*, National Institute of Health, 2001.
6. D. J. Fast, R. C. Lynch, R. W. Leu, *J. Leukocyt. Biol.*, **52**, 255 (1992).
7. P. J. Freshney, in: *Culture of Animal Cells (A Manual of Basic Technique)*, Wiley-Liss, New York, 1994, p. 296.

Латвийский институт органического синтеза,  
Рига, LV-1006  
e-mail: veinberg@osi.lv  
e-mail: max@osi.lv

Поступило 13.04.2007