

М. Ворона, Г. Вейнберг, И. Шестакова, И. Канепе, И. Поторочина,
К. Диковская, Р. Бокалдере, М. Петрова,
Э. Лиепиньш, Э. Лукевиц

СИНТЕЗ И ПРОТИВОРАКОВЫЕ СВОЙСТВА
СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ
3-МЕТИЛ-1,1-ДИОКСО-7 α -ХЛОРЦЕФ-3-ЕМ-4-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Синтезированы *трет*-бутиловые эфиры 3-азидометил-, 3-изотиоцианатометил-, 3-хлор-метил- и 3-*пара*-нитрофенилвинил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, а также сложные эфиры 3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты и 2-ди-метиламинометил-3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты. Обобщены и проанализированы результаты цитотоксического скрининга этих соединений в отношении раковых и нормальных клеток *in vitro*.

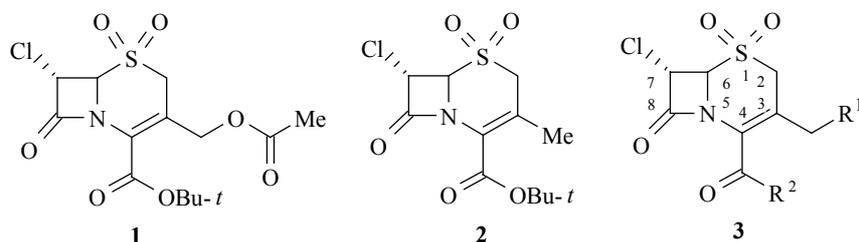
Ключевые слова: эфиры 2-диметиламинометил-3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, эфиры 3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, цитотоксическая активность.

Направленная структурная модификация заместителей в пенициллине, цефалоспорины и 2-азетидиноне, реализованная в течение последних 20 лет, привела к открытию соединений с "незапланированными природой" противовоспалительной, противовирусной, противораковой, антикоагулянтной и другими активностями. Их механизм действия на молекулярном уровне состоит в ингибировании специфических серин- или цистеинсодержащих протеаз в результате ацилирования β -лактамным циклом гидроксильной или меркаптогрупп, находящихся в их активном центре [1].

Литературные данные, относящиеся к этим исследованиям, свидетельствуют о том, что структурные вариации заместителей в β -лактамном фармакофоре, направленные на достижение эффективного ингибирования целевой протеазы, сопровождаются аналогичным, хотя и менее выраженным эффектом в отношении одного или нескольких родственных энзимов [2–5]. Негативная сторона этого феномена состоит в вероятности проявления нежелательной побочной активности, а позитивная – в возможности его использования для целенаправленной разработки веществ с новыми биологическими свойствами. Именно такая интерпретация побочной активности эфира клавулановой кислоты – специфического ингибитора бактериального энзима β -лактамазы – в отношении Human Leukocyte Elastase (HLE) способствовала созданию противовоспалительных аналогов цефалоспорины [6].

С аналогичным побочным эффектом мы столкнулись при изучении

биологических свойств структурных аналогов *трет*-бутилового эфира 1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **1** и **2** [7].



Согласно данным табл. 1, наличие ацетоксиметильной группы в положении 3 цефемового ядра (в соответствии с данными [6]) обеспечило высокий ингибирующий эффект соединения **1** в отношении Porcine Pancreas Elastase (PPE) и слабую цитотоксическую активность *in vitro* в отношении монослойных линий опухолевых клеток HT-1080 (фибросаркома человека) и MG-22A (мышинная гепатома) *in vitro*. Деацетоксицефалоспорин **2**, в структурном отношении отличающийся от цефалоспорина **1** отсутствием в положении 3 ацетоксигруппы, характеризовался прямо противоположной интенсивностью ингибирующего и цитотоксического эффектов.

Существенное структурное подобие обоих соединений позволило предположить для них сходный механизм действия на молекулярном уровне, состоящий в ингибировании сериновой протеазы из семейства эластаз. При этом, главной мишенью соединения **1** является HLE [6], а побочной – специфические эластазы, способствующие росту и пролиферации раковых клеток [8–10], а для соединения **2** – наоборот. Следовательно, бициклическая конденсированная система, окисленная в положении 1, а также замещенная в положениях 3, 4 и 7 α , соответственно, метильной, карбонильной группами и галогеном и представленная структурой **3**, является потенциальным фармакофором противораковой активности.

Т а б л и ц а 1

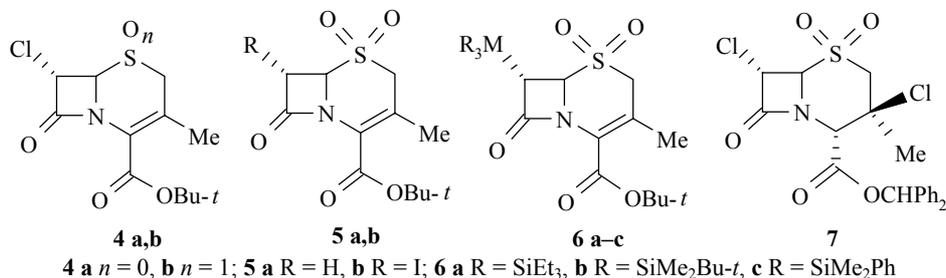
Биологические свойства *трет*-бутиловых эфиров сульфонов 7 α -хлорцефалоспороновых кислот

Соединение	Цитотоксическая активность <i>in vitro</i> , LC ₅₀ , мкг/мл*				IC ₅₀ , мкмоль
	HT-1080		MG-22A		
	CV	МТТ	CV	МТТ	
1	33	40	32	25	0.16±0.02
2	6	6	6	2	11±0,9

* LC₅₀ – концентрация, обеспечивающая 50% гибель клеток; CV – окрашивание кристаллическим фиолетовым; МТТ – окрашивание бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия; IC₅₀ – 50% ингибирование амидолитической активности Porcine Pancreas Elastase в отношении субстрата *пара*-нитроанилида N-метоксисуццинил-Ala-Ala-Pro-Val.

В пользу этой гипотезы свидетельствовали негативные результаты

тестирования цитотоксических свойств *in vitro* ресинтезированных соединений **4a,b**, а также полученных ранее структурных аналогов цефалоспорины **5–7** [7, 11, 12], с существенными различиями в фармакофорном фрагменте молекулы.

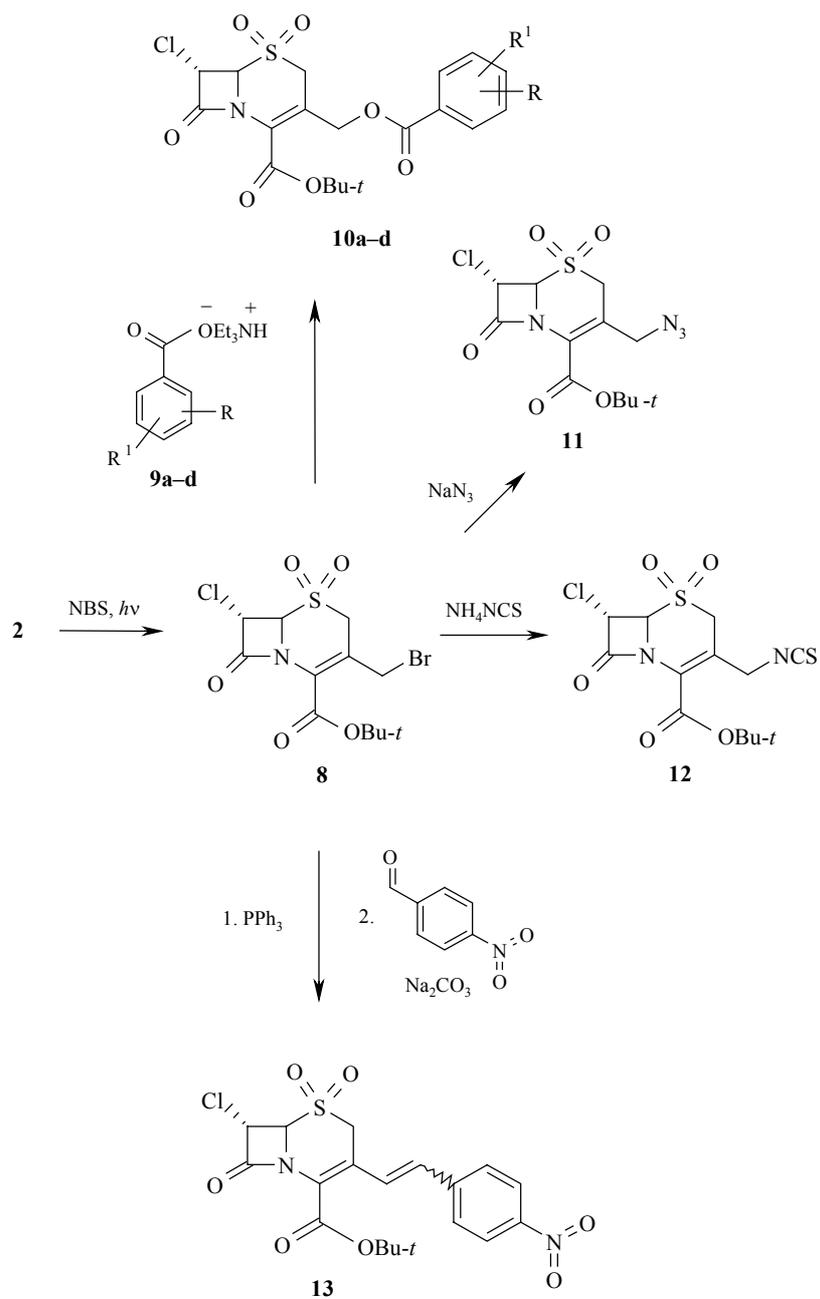


Так, понижение степени окисления гетероциклического атома серы в **4a,b**, замещение хлора на водород, йод или тризамещенные силильные группы в **5a,b**, **6a–c**, восстановление двойной связи в цефемовом ядре и введение атома хлора в положение 3 в соединении **7** сопровождалось существенным ухудшением или полным исчезновением цитотоксических свойств этих веществ в отношении раковых клеток HT-1080 и MG-22A по сравнению с соединением **2**.

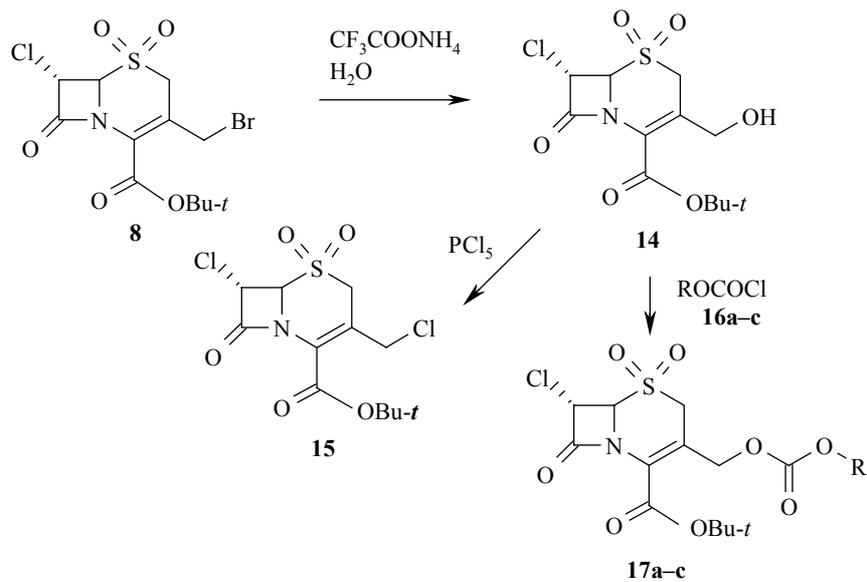
Более перспективным в этом отношении оказалось замещение метильной группы в положении 3 *трет*-бутилового эфира 1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**2**). Синтез соединений этого типа осуществлен из *трет*-бутилового эфира 3-бромметил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**8**), полученного аллильным бромированием метильной группы в соединении **2** [7]. Нуклеофильное замещение брома в **8** триэтиламмониевыми солями гидрокси- и ацетокси-замещенных бензойных кислот **9a–d** [13], азидом натрия или изотиоцианатом аммония привело к получению аналогов цефалоспорины **10a–d**, **11** и **12**. Использование реакции Виттига позволило ввести *пара*-нитробензилиденный заместитель в метильную группу соединения **13**.

Обмен брома в соединении **8** на гидроксильную группу трифтор-ацетатом аммония с последующим гидролизом промежуточной трифтор-ацетоксигруппы привел к получению 3-гидроксиметильного аналога цефалоспорины **14**, который с помощью пятихлористого фосфора или хлорформатов был трансформирован в соединения **15** и **17**, содержащие в положении 3 цефемового ядра метильную группу, замещенную, соответственно, хлором или карбонатной группой [14].

Данные биологического скрининга соединений **8**, **10–15** и **17**, приведенные в табл. 2, свидетельствуют о том, что, за исключением соединений **8** и **10a**, они характеризуются умеренной цитотоксичностью в отношении раковых тест-культур.



9,10 a R = 2-OH, R¹ = H; **b** R = 2-OH, R¹ = 4-OH; **c** R = 2-OAc, R¹ = H;
d R = 2-OAc, R¹ = 4-OAc



Т а б л и ц а 2

Биологическая активность *трет*-бутилового эфира 1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, модифицированного в положении 3

Соединение	Цитотоксическая активность <i>in vitro</i> , LC ₅₀ , мкг/мл				IC ₅₀ , мкмоль	Литература
	HT-1080		MG-22A			
	CV	MTT	CV	MTT		
8	12	5	6	1	–	[7]
10a	2	2	2	6	4.1 (41*)	[13]
10b	50	50	37	37	5.0 (68*)	[13]
10c	46	42	>50	>50	0.35	[13]
10d	52	53	31	40	15 (6.3*)	[13]
11	18	3	9	11	–	–
12	33	10	12	7	–	–
13	59	61	48	53	–	–
14	18	4	11	10	24	–
15	10	18	11	10	–	–
17a	39	52	46	58	13	[14]
17b	37	56	45	42	0.040	[14]
17c	53	72	45	62	0.047	[14]

* Ингибирование amidолитической активности Porcine Pancreas Elastase в отношении субстрата *пара*-нитроанилида N-метоксисукцинил-Ala-Ala-Pro-Val, %.

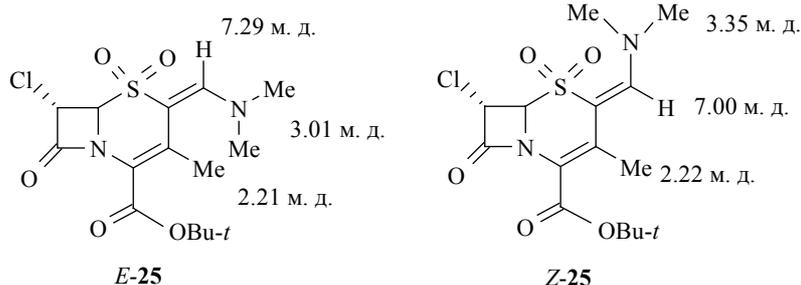
Однако высокий ингибирующий эффект в отношении PPE, проявленный отдельными представителями этого типа соединений (**10a**, **17b** и **17c**), указывает на то, что модифицирование метильной группы представляется малоперспективным так как, в принципе, способствует ухудшению селективности противоракового действия этого типа цефалоспоринов.

В этой связи в качестве очередного объекта исследования зависимости между строением и противораковыми свойствами аналогов 3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты была выбрана модификация сложноэфирной группы.

Сложные эфиры 3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **23a–m**, а также их аналоги **24** и **25**, содержащие в положении 2 диметиламинометиленовую группу, были синтезированы исходя из *трет*-бутилового эфира **2**. Его обработка трифторуксусной кислотой согласно методу, приведенному в статье [15], привела к получению 3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**18**). Соединение **18** устойчиво в кислой среде, а в нейтральной и в основной – подвергается быстрому декарбоксилированию с образованием 3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ема (**19**). Действие реагента Вильсмайера **20** на карбоксильную группу цефема **18** в среде хлористого метилена, согласно методу [15], привело к его превращению в хлорангидрид **21**, который без выделения подвергался обработке соответствующим спиртом. Целевые эфиры **23a–m** были выделены из реакционной смеси с помощью колоночной хроматографии на силикагеле. Использование для эстерификации **21** этилового эфира *пара*-гидроксизубойной кислоты (**22n**) привело к получению эфира **24** с диметиламинометиленовой группой в положении 2. Аналогичная реакция, базирующаяся на алкилирующих свойствах реагента Вильсмайера в отношении цефемового ядра, была отмечена в работе [16]. Обработка этим реагентом *трет*-бутилового эфира **2** привела к получению диметиламинометилензамещенного в положении 2 продукта в виде смеси изомеров *E*-**25** и *Z*-**25** в соотношении 3:1.

Строение изомеров *E*-**25** и *Z*-**25** определено методом двумерной спектроскопии 2D-NOESY. Наличие ЯЭО между диметиламино- и 3-метильной группами (свидетельствующее об их стерической близости) и отсутствие такового между 3-метильной группой и протоном =CH в преобладающем изомере подтверждает *E*-ориентацию последнего. В свою очередь, в минорном изомере ЯЭО наблюдается между 3-метильной группой и протоном =CH и отсутствует для диметиламино- и 3-метильной групп, тем самым доказывая *Z*-ориентацию минорного изомера.

Близкое расположение сульфоновой группы приводит к слабopольному сдвигу резонансных сигналов соседних с ней диметиламиногруппы в *Z*-**25** изомере и =CH протона в *E*-**25** изомере.



Биологический скрининг синтезированных таким образом эфиров 3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **23a–m**, **24** и **25**, а также декарбоксилированного продукта **19** *in vitro* включал определение их цитотоксических свойств в отношении монослойных линий раковых клеток HT-1080 и MG-22A. Оценивалась также их способность инициировать биосинтез радикалов оксида азота, высокая реакционная способность которых является одной из составляющих цитотоксического эффекта. Расчет специфической NO-генерирующей активности соединений состоял из определения концентрации NO ионов (нмоль) в клеточной среде лунки панели объемом 200 мкл после инкубации в течение 72 ч в присутствии тестируемого вещества в концентрации 50 мкг/мл по методу [18] и пересчете полученного значения на 100% количество клеток (содержащихся в среде в начале эксперимента):

$$TG_{100} = G \cdot 100 / C \text{ (нмоль/мкл)},$$

где: TG_{100} – специфическая NO генерирующая активность соединения; G – концентрация NO (нмоль), генерированная в культуральной среде объемом 200 мкл выжившими клетками; C – процент выживших клеток, определенный с помощью CV-окрашивания.

Т а б л и ц а 3

Биологическая активность эфиров 3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты

Соединение	Цитотоксическая активность <i>in vitro</i> , LC ₅₀ , мкг/мл					
	HT-1080			MG-22A		
	CV	MTT	TG ₁₀₀	CV	MTT	TG ₁₀₀
23d	28	16	135	18	22	350
23g	9	14	800	18	20	400
23h	17	23	1050	13	14	200
23i	32	15	450	28	24	250
23j	14	21	850	13	8	200
23k	25	20	340	12	16	350
23l	16	12	400	25	26	200
25a/25b	18	32	450	18	21	250

Согласно проявленному противораковому эффекту, тестируемые эфиры можно разделить на две группы. К первой относятся: *n*-бутиловый (**23d**), *n*-пентиловый (**23h**), *n*-гептиловый (**23i**), 2,2,2-трихлорэтиловый (**23g**) эфиры, фениловый (**23j**), бензиловый (**23k**), коричный (**23l**) эфиры, а также изомерная смесь замещенного в положении 2 *трет*-бутилового эфира *E*-**25/Z**-**25**, которые характеризовались значениями LC_{50} в интервале 10–30 мкг/мл и активным генерированием в клеточной среде радикалов оксида азота (табл. 3).

Вторая группа соединений, состоящая из *трет*-бутилового эфира **2**, метилового, этилового, изопропилового, аллилового, хлорэтилового и фурфурилового эфиров **23a–c**, **23e**, **23f**, **23m**, а также замещенного в положении 2 *пара*-этоксикарбонилфенилового эфира **24**, проявившая более высокую цитотоксическую активность в отношении обеих или одной из культур клеток HT-1080 и MG-22A, была дополнительно протестирована в отношении раковых клеток В16 (мышинная меланома) и Neuro 2A (мышинная нейробластома), а также нормальных клеток 3Т3 (эмбриональные фибробласты мыши) и ВНК (фибробласты почек золотистого хомяка) (табл. 4).

Окрашивание фибробластов 3Т3 нейтральным красным (NR) позволило, не прибегая к экспериментам *in vivo*, с помощью уравнения

$$\log LD_{50}(\text{мг/кг}) = 0.435 \times \log LC_{50} (\text{ммоль/л}) + 0.625$$

вычислить значения ожидаемой токсичности LD_{50} для тестируемых соединений [17].

Согласно данным табл. 4, метиловый эфир **23a** и декарбоксилированный цефем **19** характеризуются высоким цитотоксическим эффектом как в отношении раковых, так и нормальных клеток. Такое отсутствие селективности нашло отражение в низких значениях LD_{50} : 236 и 252 мг/кг для этих соединений. Увеличение углеродной цепочки в эфирной группе соединений **23b**, **23c** и **23e–g** до 2 или 3 атомов углерода способствовало усилению токсического эффекта в отношении раковых и его ослаблению в отношении нормальных клеток. Проявленная избирательность привела к более, чем двукратному снижению показателя токсичности (LD_{50} 490–626 мг/кг). Лидирующее положение по эффективности и селективности противоракового эффекта в этой группе принадлежит *трет*-бутилому эфиру **2** с LD_{50} 1162 мг/кг. Цитотоксический эффект соединений сочетался с интенсивным генерированием радикалов оксида азота раковыми клетками (см. табл. 4).

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что модификация сложноэфирной группы в 3-метил-1,1-диоксо-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоте является перспективным направлением поиска новых противораковых веществ, позволяющим воздействовать, как на цитотоксическую эффективность соединений, так и на их избирательность в отношении раковых и нормальных клеток.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ^1H зарегистрированы на спектрометре Bruker WH90/DS (90МГц) и Varian Mercury-400 (400 МГц) в CDCl_3 , внутренний стандарт ТМС. Элементный анализ выполнен на анализаторе Carlo Erba 1108 и отличие экспериментальных от расчетных значений составляло $\pm 0.4\%$. ИК спектры сняты на спектрометре Perkin-Elmer 580В в нуйоле. Контроль за ходом реакции осуществлялся методом ТСХ на пластинках Merck Kieselgel проявлением в УФ свете. Данные ВЭЖХ получены на приборе Du-Pont Model 8800, снабженном УФ детектором ($\lambda = 254 \text{ нм}$) и колонкой ($4.6 \times 250 \text{ мм}$), заполненной фазой Symmetry C_{18} или Ultrasphere octyl в системе ацетонитрил – вода или ацетонитрил – 0.1 н фосфатный буфер с pH 2.5 (60:40), скорость 0.8–1.5 мл/мин. Для препаративной колоночной хроматографии применялся силикагель марки Merck Kieselgel (0.063–0.230 мм). В экспериментах использовались реагенты и материалы фирм Acros, Aldrich, Sigma. Для соединений *E-25* и *Z-25* двумерный спектр 2D-NOESY регистрировался на спектрометре Varian Mercury-400 (400 МГц) в CDCl_3 при температуре $24 \text{ }^\circ\text{C}$ с привлечением техники импульсных градиентов. При регистрации 2D-спектра использовалась матрица данных размером 4096×1024 , что обеспечивало $\tau_{2\text{max}} = 250 \text{ мс}$ для ^1H при регистрации по оси *F2* и $\tau_{1\text{max}} = 100 \text{ мс}$ для ^1H по оси *F1*. Для улучшения отношения сигнал–шум матрица данных перед Фурье-преобразованием дополнялась нулями дважды и умножалась на косинус-функцию. Предположительность времени смешивания в 2D-NOESY составляло 1 с. Оптическая плотность в биологических тестах, проводимых на 96-луночных панелях, определялась горизонтальным спектрофотометром Tetra Tech Multiscan MCC/340.

трет-Бутиловый эфир сульфона 3-азидометил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (11). К раствору 100 мг (0.25 ммоль) трет-бутилового эфира сульфона 3-бромметил-7 α -хлор-цеф-3-ем-4-карбоновой кислоты [6] в 10 мл ДМФА добавляют 18 мг (0.25 ммоль) азид натрия. Смесь перемешивают 24 ч при комнатной температуре, разбавляют 50 мл воды и 50 мл диэтилового эфира. Органическую фазу отделяют, высушивают над безводным Na_2SO_4 . Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–гексан, 1:3). Фракции с R_f 0.33 объединяют и упаривают. Т. пл. $124\text{--}126 \text{ }^\circ\text{C}$, выход 7 мг (8%). ИК спектр: 2100 (N_3), 1810 (β -лактам), 1720 см^{-1} ($\text{C}=\text{O}$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): 1.55 (9H, с, C_4H_9); 3.77 и 4.06 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 19$, SO_2CH_2); 4.08 и 4.35 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 15$, CH_2N_3); 4.83 (1H, уш. с, H-6); 5.33 (1 H, д, $^3J = 1.5$, H-7). Найдено, %: C 40.05; H 4.26; N 15.39. $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{ClN}_4\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: C 39.73; H 4.17; N 15.44.

трет-Бутиловый эфир сульфона 3-изотиоцианатометил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (12). К раствору 100 мг (0.25 ммоль) трет-бутилового эфира сульфона 3-бромметил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 10 мл ДМФА добавляют 28 мг (0.30 ммоль) тиоцианата аммония. Смесь перемешивают 24 ч при комнатной температуре, разбавляют 50 мл воды и 50 мл диэтилового эфира. Органическую фазу отделяют, высушивают над безводным Na_2SO_4 . Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–гексан, 1:3). Фракции с R_f 0.22 объединяют и упаривают. Маслянистое вещество с $>95\%$ содержанием основного вещества, согласно анализу ВЭЖХ, выход 30 мг (32%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): 1.55 (9H, с, C_4H_9); 3.62 и 4.44 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 14$, CH_2NCS); 3.77 и 4.22 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 19$, SO_2CH_2); 4.84 (1H, м, H-6); 5.31 (1H, д, $^3J = 1.5$, H-7). Найдено, %: C 41.48; H 4.09; N 7.28. $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}_2$. Вычислено, %: C 41.21; H 3.99; N 7.39.

Смесь трет-бутиловых эфиров сульфона 3-(*цис*-4-нитрофенилвинил)-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты и 3-(*транс*-4-нитрофенилвинил)-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (13). К раствору 30 мг (0.045 ммоль) трет-бутилового эфира сульфона бромид 3-(трифенилфосфоний)метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты [6] в 10 мл дихлорметана добавляют 17 мг (0.11 ммоль) *пара*-нитробензальдегида и 5 мл 5% раствора Na_2CO_3 . Смесь перемешивают 2 ч при комнатной температуре, промывают 50 мл 5% раствора NaHSO_3 , сушат над безводным Na_2SO_4 . Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–гексан, 1:1). Фракции с R_f 0.51 объединяют и упаривают. Выход 10 мг (49%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): *цис*-изомер – 1.55 (9H, с, C_4H_9); 3.51 и 3.77 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 19$, SO_2CH_2); 4.80 (1H, уш. с, H-6); 5.31 (1H, д,

$^3J = 2$, H-7); 6.62 и 6.82 (2H, два д, $^3J = 10$, CH=CH); 7.48 (2H, д, $^3J = 9$, C₆H₄); 8.24 (2H, два д, $^3J = 9$, C₆H₄); *транс*-изомер – 1.64 (9H, s, C₄H₉); 4.06–4.26 и 3.77 (2H, м, АВ-система, $^2J = 17$, SO₂CH₂); 4.86 (1H, м, H-6); 5.37 (1H, д, $^3J = 2$, H-7); 6.53 и 7.86 (2H, два д, $^3J = 14$, CH=CH); 7.60 и 8.26 (4H, два д, $^3J = 9$, C₆H₄). Найдено, %: С 49.83; Н 4.34; N 5.77. C₁₉H₁₉ClN₂O₇S·0.25H₂O. Вычислено, %: С 49.67; Н 4.27; N 6.09.

трет-Бутиловый эфир сульфона 3-хлорметил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (15). К раствору 50 мг (0.15 ммоль) *трет*-бутилового эфира сульфона 3-гидроксиметил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты [14] в 20 мл дихлорметана добавляют 50 мг (0.19 ммоль) пятихлористого фосфора при температуре 0 °С. Смесь перемешивают 30 мин при комнатной температуре, разбавляют 20 мл дихлорметана, промывают 40 мл 5% раствора Na₂CO₃, сушат над безводным Na₂SO₄. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–гексан, 1:4). Фракции с R_f 0.31 объединяют и упаривают. Т. пл. 142–144 °С, выход 33 мг (62%). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 1.66 (9H, с, C₄H₉); 3.75 и 4.17 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO₂CH₂); 4.26 и 4.62 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 12$, CH₂Cl); 4.80 (1H, уш. с, H-6); 5.28 (1H, д, $^3J = 1.5$, H-7). Найдено, %: С 40.52; Н 4.30; N 3.81. C₁₂H₁₃Cl₂NO₅S. Вычислено, %: С 40.46; Н 4.24; N 3.93.

1,1-Диоксо-7α-хлор-3-хлорметилцеф-3-ем (19). К раствору 342 мг (1.11 ммоль) *трет*-бутилового эфира сульфона 3-метил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 30 мл дихлорметана при 0 °С добавляют 2 мл (38 ммоль) трифторуксусной кислоты. Смесь перемешивают 1 ч при комнатной температуре, разбавляют 100 мл дихлорметана 100 мл воды. Органическую фазу отделяют и экстрагируют 40 мл 5% раствором Na₂CO₃. Водный экстракт подкисляют конц. HCl до pH 2 и экстрагируют 100 мл этилацетата. Экстракт упаривают при пониженном давлении. Остаток кристаллизуют из диэтилового эфира. Получают 254 мг (90%) 3-метил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (18), которую растворяют в смеси 20 мл ацетона и 2 мл триэтиламина. Раствор перемешивают при комнатной температуре 1 ч и растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–гексан, 1:1). Фракции с R_f 0.48 объединяют и упаривают. Т. пл. 122–124 °С, выход 195 мг (90%). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 1.80 (3H, с, 3-CH₃); 3.48 и 3.96 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO₂CH₂); 4.73 (1H, м, H-6); 5.31 (1H, д, $^3J = 1.8$, H-7); 6.45 (1H, м, H-4). Найдено, %: С 38.03; Н 3.77; N 6.29. C₇H₈ClNO₃S. Вычислено, %: С 37.93; Н 3.64; N 6.32.

Получение эфиров сульфона 3-метил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты и 2-(диметиламиноэтилен)-3-метил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23, 24) (типовая методика). К суспензии 100 мг (0.375 ммоль) сульфона 3-гидроксиметил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 20 мл дихлорметана при перемешивании добавляют при комнатной температуре смесь из 98 мкл оксалилхлорида и 10 мкл ДМФА. Реакционную смесь греют при 40 °С в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры и концентрируют при пониженном давлении. Остаток, содержащий хлорангидрид 3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (21), растворяют в 15 мл дихлорметана. К полученному раствору, охлажденному до –5 °С, прибавляют смесь, состоящую из спирта 22 (0.75 ммоль) и 130 мкл (0.93 ммоль) триэтиламина. Реакционную смесь перемешивают 20 мин, разбавляют 20 мл дихлорметана, промывают 40 мл насыщенного раствора NH₄Cl, сушат над безводным Na₂SO₄. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем и получают эфиры 23, 24.

Метилловый эфир сульфона 3-метил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23a) получают с помощью метанола по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.42. Т. пл. 159–161 °С, выход 24 мг (23%). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 2.11 (3H, с, 3-CH₃); 3.54 и 3.97 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO₂CH₂); 3.88 (3H, с, OCH₃); 4.73 (1H, м, H-6); 5.28 (1H, д, $^3J = 1.5$, H-7). Найдено, %: С 38.81; Н 3.69; N 4.91. C₉H₁₀ClNO₅. Вычислено, %: С 38.65; Н 3.60; N 5.01.

Этиловый эфир сульфона 3-метил-7α-хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23b) получают с помощью этанола по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.52. Т. пл. 106–107 °С, выход 64 мг (58%). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 1.33 (3H, т, $^3J = 7$, CH₃); 2.09 (3H, с, 3-CH₃); 3.68 и 3.97 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO₂CH₂); 4.28 и 4.44 (2H, два к, $^3J = 7$, CH₂); 4.77 (1H, м, H-6); 5.29 (1H, д, $^3J = 1.5$, H-7). Найдено, %: С 41.01; Н 4.21; N 4.71. C₁₀H₁₂ClNO₅S. Вычислено, %: С 40.89; Н 4.12; N 4.77.

изо-Пропиловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23с) получают с помощью 2-пропанола по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.60. Т. пл. 161–163 °С, выход 57 мг (50%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.44 (6H, д, $^3J = 6$, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$); 2.08 (3H, с, 3- CH_3); 3.66 и 4.00 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 4.80 (1H, м, Н-6); 5.17 (1H, м, $^3J = 6$, Me_2CH); 5.26 (1H, д, $^3J = 1.5$, Н-7). Найдено, %: С 43.04; Н 4.67; N 4.41. $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{ClNO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 42.93; Н 4.59; N 4.55.

***n*-Бутиловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23d)** получают с помощью *n*-бутанола по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.70. Т. пл. 81–83 °С, выход 46 мг (38%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.93 (3H, т, $^3J = 6$, $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$); 1.55–1.88 (4H, м, 2 CH_2); 2.09 (3H, с, 3- CH_3); 3.69 и 4.00 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 4.31 (2H, т, $^3J = 6$, CH_2); 4.77 (1H, м, Н-6); 5.27 (1H, д, $^3J = 1.5$, Н-7). Найдено, %: С 44.90; Н 5.11; N 4.24. $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{ClNO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 44.79; Н 5.01; N 4.35.

Аллиловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23е) получают с помощью аллилового спирта по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.70. Т. пл. 128–130 °С, выход 55 мг (48%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.11 (3H, с, 3- CH_3); 3.66 и 4.00 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 4.80–4.83 (2H, м, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$); 4.88 (1H, м, Н-6); 5.27 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7); 5.27 (1H, д, $J = 11$, *cis*- $\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.44 (1H, д, $J = 18$, *trans*- $\text{CH}=\text{CH}_2$); 5.89 (1H, д.д.т, $J = 18$, $J = 11$, $J = 6$, $\text{CH}=\text{CH}_2$). Найдено, %: С 43.38; Н 4.11; N 4.42. $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{ClNO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 43.21; Н 3.96; N 4.58.

2-Хлорэтиловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23f) получают с помощью 2-хлорэтанола по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.75. Т. пл. 136–138 °С, выход 65 мг (53%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.11 (3H, с, 3- CH_3); 3.71 и 3.95 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 3.81 (2H, т, $^3J = 6$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$); 4.45 и 4.60 (2H, два т, $^3J = 6$, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$); 4.80 (1H, м, Н-6); 5.31 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7). Найдено, %: С 36.74; Н 3.45; N 4.21. $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{NO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 36.60; Н 3.38; N 4.27.

2,2,2-Трихлорэтиловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23g) получают с помощью 2,2,2-трихлорэтанола по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:3) с R_f 0.48. Т. пл. 168–170 °С, выход 74 мг (50%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.20 (3H, с, 3- CH_3); 3.73 и 4.00 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 4.80 (1H, м, Н-6); 4.82 и 5.29 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 12$, CH_2Cl_3); 5.20 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7). Найдено, %: С 30.39; Н 2.35; N 3.43. $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{Cl}_4\text{NO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 30.25; Н 2.28; N 3.53.

***n*-Пентиловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23h)** получают с помощью *n*-пентанола по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.58. Т. пл. 62–63 °С, выход 65 мг (52%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.91 (3H, т, $^3J = 6$, $(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$); 1.17–1.91 (6H, м, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$); 2.13 (3H, с, 3- CH_3); 3.68 и 3.97 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 4.28 (2H, т, $^3J = 6$, $\text{CH}_2\text{C}_4\text{H}_9$); 4.75 (1H, м, Н-6); 5.29 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7). Найдено, %: С 46.72; Н 5.56; N 4.11. $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{ClNO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 46.50; Н 5.40; N 4.17.

***n*-Гептиловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23i)** получают с помощью *n*-гептанола по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.58. Т. пл. 92 °С, выход 61 мг (45%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 0.84 (3H, т, $^3J = 6$, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$); 1.00–1.75 (10H, м, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$); 2.11 (3H, с, 3- CH_3); 3.69 и 3.98 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 4.26 (2H, т, $^3J = 6$, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$); 4.77 (1H, м, Н-6); 5.11 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7). Найдено, %: С 49.82; Н 6.29; N 3.71. $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{ClNO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 49.51; Н 6.09; N 3.85.

Фениловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23j) получают с помощью фенола, по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.33. Т. пл. 141–143 °С, выход 20 мг (15%). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.17 (3H, с, 3- CH_3); 3.73 и 4.04 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 4.84 (1H, м, Н-6); 5.37 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7); 7.15–7.57 (5H, м, C_6H_5). Найдено, %: С 49.31; Н 3.60; N 4.07. $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClNO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 49.20; Н 3.54; N 4.10.

Бензиловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23k) получают с помощью бензилового спирта по типовой методике и выделяют из фракций

(элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.80. Т. пл. 143–145 °С, выход 60 мг (42 %). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.06 (3H, с, 3- CH_3); 3.66 и 3.93 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 4.73 (1H, м, Н-6); 5.01 и 5.24 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 12$, CH_2Ph); 5.31 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7); 7.40 (5H, м, C_6H_5). Найдено, %: С 50.69; Н 4.02; N 3.8. $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{ClNO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 50.64; Н 3.97; N 3.94.

Коричный эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23l) получают с помощью коричневого спирта по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.66. Т. пл. 130–132 °С, выход 69 мг (48 %). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 2.08 (3H, с, 3- CH_3); 3.62 и 3.95 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 18$, SO_2CH_2); 4.75 (1H, м, Н-6); 4.93 (д, 2H, $^3J = 5$, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$); 5.23 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7); 6.31 (1H, д.т., $^3J = 16$, $^3J = 5$, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$); 6.75 (1H, д, $^3J = 16$, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$); 7.20–7.58 (5H, м, C_6H_5). Найдено, %: С 53.31; Н 4.82; N 3.60. $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{ClNO}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 53.19; Н 4.73; N 3.65.

2-Тетрагидрофурфуриловый эфир сульфона 3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (23m) получают с помощью тетрагидрофурфурилового спирта по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.37. Т. пл. 140–142 °С, выход 11 мг (3 %). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.71–2.04 (6H, м, 3CH_2 , $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}$); 2.15 (3H, с, 3- CH_3); 3.55–3.73 (2-Н, м, CH , $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}$); 3.71 и 4.01 (2H, два д, АВ-система, $^2J = 19$, SO_2CH_2); 4.15–4.31 (2H, м, COOCH_2); 4.84 (1H, м, Н-6); 5.26 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7). Найдено, %: С 43.07; Н 4.32; N 4.07. $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{ClNO}_6\text{S}$. Вычислено, %: С 42.93; Н 4.20; N 4.17.

4-Этоксикарбонилфениловый эфир сульфона 2E-(диметиламинотилден)-3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (24) получают с помощью 4-этоксикарбонил-фенола по типовой методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R_f 0.08. Т. пл. 173–175 °С, выход 30 мг (17 %). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): 1.33 (3H, т, $^3J = 7$, CH_3); 2.51 (3H, с, 3- CH_3); 3.21 (6H, с, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 4.37 (2H, к, $^3J = 7$, CH_2); 4.77 (1H, д, $^3J = 2$, Н-6); 5.24 (1H, д, $^3J = 2$, Н-7); 7.28 и 8.06 (4H, два д, $^3J = 9$, C_6H_4); 7.31 (1H, с, $=\text{CHNMe}_2$). Найдено, %: С 50.82; Н 4.53; N 5.65. $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_7\text{S}$. Вычислено, %: С 51.23; Н 4.51; N 5.97.

Смесь *трет*-бутилового эфира сульфона 2E-(диметиламинотилден)-3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты и *трет*-бутилового эфира сульфона 2Z-(диметиламинотилден)-3-метил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **25a** и **25b**. К перемешиваемой суспензии 200 мг (0.65 ммоль) сульфона *трет*-бутилового эфира 3-гидроксиметил-7 α -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 20 мл дихлорметана в среде аргона при комнатной температуре добавляют смесь, состоящую из 162 мкл (1.86 ммоль) оксалилхлорида и 48 мкл (0.62 ммоль) ДМФА. Реакционную смесь греют при 40 °С в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры и концентрируют при пониженном давлении. Остаток растворяют в 15 мл дихлорметана. К полученному раствору добавляют 130 мкл (0.93 ммоль) триэтиламина, смесь перемешивают 20 мин, разбавляют 20 мл дихлорметана, промывают 40 мл насыщенного раствора NH_4Cl и сушат над безводным Na_2SO_4 . Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–гексан, 2:1). Фракции с R_f 0.44 объединяют и упаривают. Выход 134 мг (58%). Согласно спектру ЯМР (400 МГц), вещество является смесью E- и Z-изомеров в соотношении 3:1. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (J , Гц): E-**25** – 1.53 (9H, с, C_4H_9); 2.22 (3H, с, 3- CH_3); 3.35 (6H, с, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 4.55 (1H, д, $^3J = 1.5$, Н-6); 5.24 (1H, д, $^3J = 1.5$, Н-7); 7.02 (1H, с, $=\text{CHNMe}_2$); Z-**25** – 1.53 (9H, с, C_4H_9); 2.21 (3H, с, 3- CH_3); 3.01 (6H, с, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 4.47 (1H, д, $^3J = 1.5$, Н-6); 5.06 (1H, д, $^3J = 1.5$, Н-7); 7.29 (1H, с, $=\text{CHNMe}_2$). Найдено, %: С 47.99; Н 5.75; N 7.40. $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 47.81; Н 5.62; N 7.43.

Биологический скрининг. Цитотоксические свойства синтезированных веществ *in vitro* в отношении монослойных раковых клеток: HT-1080 (фибросаркома человека), MG-22A (мышинная гепатома), B16 (мышинная меланома), Neuro 2A (мышинная нейробластома) и нормальных клеток: 3T3 (эмбриональные фибробласты мыши) и BHK (фибробласты почек золотистого хомяка), а также концентрация радикалов оксида азота в клеточной среде по Грейсу определялись на 96 луночных пластиковых панелях при использовании красителей CV, MTT, NR в соответствии с методиками [18, 19], апробированными нами ранее [7].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. G. Veinberg, M. Vorona, I. Shestakova, I. Kanepe, E. Lukevics, *Cur. Med. Chem.*, **10**, 1741 (2003).
2. J. B. Doherty, B. M. Ashe, L. W. Argenbright, P. L. Barker, R. J. Bonney, G. O. Chandler, M. E. Dahlgren, C. P. Dorn, Jr., P. E. Finke, R. A. Firestone, D. Fletcher, W. K. Hagmann, R. Mumford, L. O'Grady, A. L. Maycock, J. M. Pisano, S. K. Shah, K. R. Thompson, M. Zimmerman, *Nature*, **322**, 192 (1986).
3. W. T. Han, A. K. Trehan, J. J. K. Wright, M. E. Federici, S. M. Seller, N. A. Meanwell, *Bioorg. Med. Chem.*, **3**, 1123 (1995).
4. A. D. Borthwick, G. Weingarten, T. M. Haley, M. Tomaszewski, W. Wang, Z. Hu, J. Bedard, H. Jin, L. Yuen, T.S. Mansour, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 365 (1998).
5. N. E. Zhou, D. Guo, G. Thomas, A. V. N. Reddy, J. Kaleta, E. Prisima, R. Menard, R. G. Micetich, R. Singh, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 139 (2003).
6. J. B. Doherty, B. M. Ashe, P. L. Barker, T. J. Blacklock, J. W. Butcher, G. O. Chandler, M. E. Dahlgren, P. Davies, C. P. Dorn, Jr., P. E. Finke, R. A. Firestone, W. K. Hagmann, T. Halgren, W. B. Knight, A. L. Maycock, M. A. Navia, L. O'Grady, J. M. Pisano, S. K. Shah, K. R. Thompson, H. Weston, M. Zimmerman, *J. Med. Chem.*, **33**, 2513 (1990).
7. G. A. Veinberg, I. Shestakova, N. Grigan, D. Musel, I. Kanepe, I. Domrachova, V. Grigoryeva, O. Zharkova, I. Turovskis, I. Kalvinsh, A. Strakovs, E. Lukevics, *Eur. J. Med. Chem.*, **33**, 755 (1988).
8. K. Taniguchi, P. Yang, J. Jett, E. Bass, R. Meyer, Y. Wang, C. Deschamps, W. Liu, *Clin. Cancer Res.*, **8**, 1115 (2002).
9. F. Nozawa, M. Hirota, A. Okabe, M. Shibata, T. Iwamura, Y. Haga, M. Ogawa, *J. Surg. Res.*, **94**, 153 (2000).
10. K. Iwatsuki, E. Kumara, T. Yoshimine, H. Nakagawa, M. Sato, T. Hayakawa, *Neurol. Res.*, **22**, 465 (2000).
11. Г. Вейнберг, М. Ворона, Д. Мусель, Х. Кажока, И. Шестакова, И. Канепе, И. Домрачева, А. Страков, Э. Лукевиц, *ХГС*, 1504 (1998). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **34**, 1276 (1998)].
12. Г. Вейнберг, Р. Бокалдере, К. Диковская, М. Ворона, Д. Мусель, Х. Кажока, И. Туровский, И. Шестакова, И. Канепе, И. Домрачева, Э. Лукевиц, *ХГС*, 1494 (1998). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **34**, 1266 (1998)].
13. Н. Григан, Г. Вейнберг, И. Шестакова, И. Канепе, Э. Лукевиц, *ХГС*, 1424 (2000). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **36**, 1232 (2000)].
14. Г. Вейнберг, М. Ворона, Н. Григан, И. Канепе, И. Шестакова, А. Страков, Э. Лукевиц, *ХГС*, 847 (2000). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **36**, 744 (2000)].
15. M. Alpegiani, A. Baici, P. Bissolino, P. Carminati, G. Cassinelli, S. Del Nero, G. Franceschi, P. Orezzi, E. Perrone, V. Rizzo, N. Sacchi, *Eur. J. Med. Chem.*, **27**, 875 (1992).
16. W.H.W. Lunn, P.A. Hipskind, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 6291 (1992).
17. 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.
18. D. J. Fast, R. C. Lynch, R. W. J. Leu, *Leucocyt. Biol.*, **52**, 255 (1992).
19. P. J. Freshney, in: *Culture of Animal Cells (A Manual of Basic Technique)*, Wiley-Liss, New York, 1994, p. 296.

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

Поступило 04.12.2006