

Г. Вейнберг, М. Ворона, Н. Григан, И. Канепе, И. Шестакова,
А. Страков, Э. Лукевиц

ЦЕФАЛОСПОРИНЫ С КАРБОНАТНЫМИ ФУНКЦИЯМИ В ПОЛОЖЕНИЯХ 3 И 7

Сульфоны *трет*-бутиловых эфиров 7 β -алкоксикарбонилзамещенных цефалоспоровых кислот синтезированы восстановлением *трет*-бутилового эфира 7-оксоцефалоспоровой кислоты, ацилированием промежуточного 7 β -гидроксицефалоспорованата 2,2,2-трихлорэтилхлорформиадом или ди-*трет*-бутилпирокарбонатом и окислением атома серы. Сульфоны *трет*-бутиловых эфиров 7 α -хлор- и 7-алкилидензамещенных 3-алкоксикарбонилзамещенных цефалоспоровых кислот получены замещением брома в *трет*-бутиловых эфирах 3-бромметил-цефалоспорованатов на гидроксигруппу и ацилированием последней эфирами хлоругольной кислоты. Изучены цитотоксическая активность синтезированных веществ *in vitro*, а также их ингибирующие свойства в отношении эластазы.

Ключевые слова: сульфоны *трет*-бутиловых эфиров 7 β -алкоксикарбонилзамещенных цефалоспоровых кислот, сульфоны *трет*-бутиловых эфиров 7 α -хлор- и 7-алкилидензамещенных 3-алкоксикарбонилзамещенных цефалоспоровых кислот, ингибиторы эластазы.

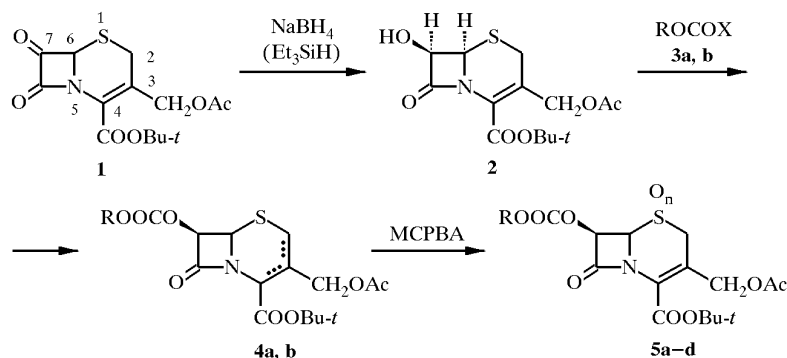
На протяжении многих лет синтез аналогов цефалоспорина, содержащих свободные гидроксигруппы в положениях 3 или 7, а также продуктов их алкилирования или ацилирования является одним из приоритетных направлений структурной модификации этого антибиотика. Анализ литературы показывает, что соединения данного типа являются ключевыми промежуточными веществами в реакционных схемах получения эффективных антибактериальных, противовоспалительных или цитотоксических веществ [1–6].

Целью настоящей работы являлось получение новых *трет*-бутиловых эфиров цефалоспоровых кислот, содержащих в положениях 7 или 3 цефемового ядра карбонатные функции (схемы 1 и 2), и изучение их ингибирующих свойств в отношении лейкоцитарной эластазы, а также цитотоксической активности *in vitro*.

Синтез сульфонов 7 β -алкоксикарбонилзамещенных цефалоспорованатов 5 приведен на схеме 1.

Обработка эфира 1 боргидридом натрия или триэтилсианом в присутствии палладиевого катализатора привела к получению 7 β -гидроксицефалоспорованата 2. Как и в случае бензгидрилового эфира 7-оксоцефалоспорина [1], восстановление оксогруппы протекает стереоспецифически. 7 β -Конфигурация гидроксигруппы в соединении 2, предполагающая *цис*-ориентацию протонов в положениях 6 и 7, подтверждена соответствующей константой спин-спинового взаимодействия $J = 4.5$ Гц.

Схема 1

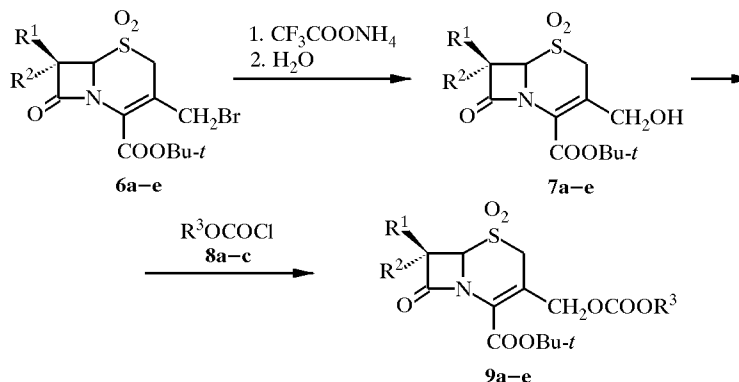


3 a R = Cl₃CCH₂, X = Cl; **b** R = *t*-Bu, X = OCOBu-*t*. **4 a** R = Cl₃CCH₂, **b** R = *t*-Bu.
5 a R = Cl₃CCH₂, n = 1; **b** R = Cl₃CCH₂, n = 2; **c** R = *t*-Bu, n = 1; **d** R = *t*-Bu, n = 2

Ацилирование гидроксигруппы в соединении **2** 2,2,2-трихлорэтилхлорформиадом (**3a**) или ди-*трет*-бутилпирокарбонатом (**3b**) в присутствии триэтиламина привело к образованию цефалоспоранатов **4a, b** с карбонатной функцией в положении 7, причем имела место также частичная изомеризация двойной связи $\Delta^3 \rightarrow \Delta^2$. Окисление 7-алкоксикарбонилзамещенных цефалоспоранатов **4a, b** *мета*-хлорпербензойной кислотой (MCPBA) при 0 °C дает сульфоксиды **5a** и **5c** (n = 1), а при 20 °C – соответствующие сульфоны **5b** и **5d** (n = 2). В обоих случаях реакция сопровождается миграцией двойной связи, так что образуется исключительно Δ^3 -цефалоспоранаты.

Синтез сульфонов 3-алкоксикарбонилзамещенных 7 α -хлорцефалоспоранатов **9** приведен на схеме 2.

Схема 2



6, 7 a R¹ = H, R² = Cl; **b** R¹ и R² = (*Z*)-*t*-BuOCOCH=; **c** R¹ и R² = (*Z*)-CH₃COCH=;
d R¹ и R² = (*Z*)-4-O₂NC₆H₄CH=; **e** R¹ и R² = (*E*)-4-O₂NC₆H₄CH= .
8 a R³ = Cl₃CCH₂, **b** R³ = BrCH₂CH₂, **c** R³ = 4-O₂NC₆H₄. **9 a** R¹ = H, R² = Cl, R³ = Cl₃CCH₂;
b R¹ = H, R² = Cl, R³ = BrCH₂CH₂; **c** R¹ = H, R² = Cl, R³ = 4-O₂NC₆H₄;
d R¹ и R² = (*Z*)-*t*-BuOCOCH=, R³ = 4-O₂NC₆H₄; **e** R¹ и R² = (*E*)-4-O₂NC₆H₄CH=, R³ = 4-O₂NC₆H₄

Замещение брома в 3-бромметилцефалоспоранатах **6a-e*** на гидроксигруппу проведено с помощью трифторацетата аммония по методике, описанной

*Методы получения и физико-химические характеристики *трет*-бутиловых эфиров 7-алкилен-3-бромметилцефалоспоранатов **6 b-e** будут опубликованы в отдельной статье в работе [7]. Установлено, что существенное влияние на эту реакцию

оказывает природа растворителя. Максимальные выходы 3-гидроксиметилцефалоспороанатов **7a–e**, достигающие 80%, получены при использовании смеси ацетон–диметилформамид (30:1).

Оптимизация ацилирования 3-гидроксиметильной группы в соединениях **7** эфирами хлоругольной кислоты также потребовала варьирования условий реакции в зависимости от природы радикала R³ в реагентах **8a–c**. В случае 2,2,2-трихлорэтилхлорформиата (**8a**) реакция проводилась в дихлорметане в присутствии триэтиламина при комнатной температуре и завершалась в течение получаса. Для 2-бромэтилхлорформиата (**8b**) аналогичный результат был достигнут кипячением в бензоле в течение 4 часов и заменой триэтиламина на 2,6-лутидин.

Ацилирование 3-гидроксиметилцефалоспороанатов **7a–c** *para*-нитрофениловым эфиром хлоругольной кислоты (**8c**) в диэтиловом эфире в присутствии 2,6-лутидина при комнатной температуре оказалось более эффективным, чем в случае рекомендованного для аналогичной цели пиридина [5] или комбинации 2,6-лутидина с 4-диметиламинопиридином в тетрагидрофуране [6]. Установлено, что в отличие от эфиров **9a, b** цефалоспороанаты **9c–e** с R³ = 4-O₂NC₆H₄ быстро разлагаются в присутствии воды, сильных оснований (триэтиламина, ДБУ) и при повышенной температуре.

Для части синтезированных веществ исследованы цитотоксические свойства *in vitro* в отношении двух линий опухолевых клеток: HT-1080 (фибросаркома человека), MG-22A (мышьяная гепатома), а также способность ингибировать амидолитическую активность эластазы в отношении стандартного субстрата *para*-нитроанилида N-метоксисукцинил-Ala-Ala-Pro-Val.

Биологические свойства структурных аналогов цефалоспориона

Соединение	Цитотоксическая активность <i>in vitro</i> , TD ₅₀ , мкг/мл *				IC ₅₀ , мкМ * ⁴
	HT-1080		MG-22A		
	CV * ²	МТГ * ³	CV	МТГ	
5b	>100	>100	>100	>100	–
5d	>100	>100	>100	>100	–
7a	9	25	18	33	24±2
9a	39	52	46	58	13±3
9b	37	56	45	42	0,040±0,006
9c	53	72	45	62	0,047±0,005
10 * ⁵					0,16± 0,02 [9]

* Концентрация, обеспечивающая 50% гибель клеток.

*²Окрашивание кристаллическим фиолетовым.

*³Окрашивание бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия.

*⁴50% ингибирование амидолитической активности Porcine Pancreas Elastase (Type III) в отношении субстрата *para*-нитроанилида N-метоксисукцинил-Ala-Ala-Pro-Val.

*⁵*трет*-Бутиловый эфир сульфона 7α-хлорцефалоспороановой кислоты [2].

Концентрации веществ, обеспечивающие 50% гибель клеток *in vitro* (TD₅₀) (см. таблицу), были определены с помощью стандартной методики по интенсивности окрашивания клеточных мембран кристаллическим фиолетовым и митохондриальных энзимов бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия.

Концентрации веществ, уменьшающих на 50% каталитическую активность (IC₅₀) панкреатической эластазы свиньи (Porcine Pancreas Elastase, Type III) в отношении субстрата, определяли фотоколориметрически по методике адаптированной для 96-луночных панелей (см. табл.).

Из тестируемых веществ только 7 α -хлор-3-гидроксицефалоспороанат **7a** обладает умеренным цитотоксическим эффектом в отношении раковых клеток. Весьма неожиданно высокую ингибирующую активность в отношении эластазы проявили 7 α -хлорцефалоспороанаты **9a–c**, модифицированные в положении 3 карбонатной группой. Соединения **9b** (R¹ = H, R² = Cl, R³ = BrCH₂CH₂) и **9c** (R¹ = H, R² = Cl, R³ = 4-O₂NC₆H₄) превосходят в четыре раза в этом отношении один из наиболее эффективных ингибиторов эластазы – *трет*-бутиловый эфир сульфона 7 α -хлорцефалоспороановой кислоты [2].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ¹H сняты на спектрометре Bruker WH-90/DS (90 МГц) в CDCl₃, внутренний стандарт ТМС (δ , м. д.; *J*, Гц), ИК спектры – на спектрометре Perkin-Elmer 580В в нуйоле. Элементные анализы выполнены с помощью анализатора Carlo Erba 1108. Данные ВЭЖХ получены на приборе Du-Pont Model 8800, снабженном УФ детектором (λ = 254 нм) и колонкой (4.6 \times 250 мм), заполненной фазой Symmetry C₁₈, в системе ацетонитрил – 0.1 н. фосфатный буфер с рН 2.5, 60:40, скорость 0.8–1.5 мл/мин. Оптическая плотность в биологических тестах, проводимых на 96-луночных панелях, определялась горизонтальным спектрофотометром Tetertek Multiscan MCC/340. Контроль за ходом реакции осуществлялся методом ТСХ на пластинках Merck Kieselgel с УФ проявлением. Для препаративной колоночной хроматографии применялся силикагель марки Merck Kieselgel (0.063–0.230 мм). В экспериментах использовались реагенты и материалы фирм Aldrich, Acros и Sigma.

***трет*-Бутиловый эфир 7 β -гидроксицефалоспороановой кислоты (2). А.** *трет*-Бутиловый эфир 7-оксоцефалоспороановой кислоты **1** восстановлен боргидридом натрия по известной методике [1]. Выход 46%, содержание основного вещества 96%, согласно данным ВЭЖХ, т. пл. 115–117 °С (диэтиловый эфир). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.53 (9H, с, *t*-C₄H₉); 2.08 (3H, с, CH₃); 3.13 (1H, м, OH); 3.33 и 3.60 (2H, АВ-система, *J* = 19, SCH₂); 4.80 и 5.08 (2H, АВ-система, *J* = 14, CH₂O); 4.93 (1H, д, *J* = 4.5, 6-H); 5.31 (1H, м, 7-H). ИК спектр (нуйол): 3350, 1740, 1720 см⁻¹.

Б. К раствору 200 мг (0.62 ммоль) кислоты **1** и 150 мг (0.94 ммоль) триэтилсилана в 10 мл ДМФА добавляют 8.8 мг (0.012 ммоль) хлорида бис(трифенилфосфин)палладия(II) и 4.8 мг (0.018 ммоль) трифенилфосфина. Смесь нагревают при 40–50 °С 2 ч, охлаждают, разбавляют 40 мл дихлорметана и выливают в разбавленный раствор соляной кислоты. Органическую фазу отделяют, промывают водой, сушат над безводным Na₂SO₄ и упаривают. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:2). Фракции с *R_f* 0.11 объединяют и упаривают. Получают 20 мг (40%) кристаллического вещества с физико-химическими характеристиками, аналогичными приведенным в методе А.

***трет*-Бутиловый эфир сульфоксида 7 β -(2,2,2-трихлорэтоксикарбонилокси)цефалоспороановой кислоты (5a).** К раствору 200 мг (0.61 ммоль) *трет*-бутилового эфира 7 β -гидрокси-цефалоспороановой кислоты в 10 мл дихлорметана добавляют 0.16 мл (1.22 ммоль) 2,2,2-три-хлорэтилового эфира хлоругольной кислоты и 0.17 мл (1.22 ммоль) триэтиламина, перемешивают 30 мин при комнатной температуре до исчезновения на ТСХ пятна исходного вещества **2** с *R_f* 0.21 и появления нового пятна с *R_f* 0.62 в системе гексан–этилацетат, 1:1. Реакционную смесь промывают раствором Na₂CO₃, водой и сушат над безводным Na₂SO₄. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент гексан–этилацетат, 1:1). Фракции с *R_f* 0.62 объединяют и упаривают. Получают 214 мг (70%) смеси *трет*-бутилового эфира 3-

ацетоксиметил-7β-(2,2,2-трихлорэтоксикарбонилокси)цеф-3-ем-4-карбоновой и *трет*-бутилового эфира 3-ацетоксиметил-7β-(2,2,2-трихлорэтоксикарбонилокси)цеф-2-ем-4-карбоновой кислот **4a** в соотношении 1:1 (по относительной интенсивности сигналов протонов в спектрах ЯМР ¹H). Спектр ЯМР ¹H Δ³-изомера (CDCl₃): 1.55 (9H, с, *t*-Bu); 2.09 (3H, с, CH₃); 3.33 и 3.60 (2H, АВ-система, *J*=19, SCH₂); 4.15 (2H, с, CCl₃CH₂); 5.11 и 5.28 (2H, АВ-система, *J* = 14, CH₂O); 4.93 (1H, д, *J* = 4.5, 6-Н); 6.06 (1H, д, *J* = 4.5, 7-Н). Спектр ЯМР ¹H Δ²-изомера (CDCl₃): 1.49 (9H, с, *t*-Bu); 2.09 (3H, с, CH₃); 4.15 (2H, с, CCl₃CH₂); 4.55 и 4.80 (2H, АВ-система, *J* = 13, CH₂O); 4.97 (1H, с, 4-Н); 5.44 (1H, д, *J* = 4.5, 6-Н); 5.77 (1H, д, *J* = 4.5, 7-Н); 6.44 (1H, с, 2-Н).

К раствору 100 мг (0.19 ммоль) смеси эфиров **4a** в 10 мл дихлорметана добавляют 147 мг (0.60 ммоль) *мета*-хлорпербензойной кислоты, перемешивают 1 ч при 0 °С, разбавляют 20 мл дихлорметана, промывают 50 мл 5% раствора Na₂SO₃, 5% раствором Na₂CO₃, сушат над безводным Na₂SO₄. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент – этилацетат). Фракции с *R_f* 0.20 (гексан–этилацетат, 1:1) объединяют и упаривают. Получают 82 мг (80%) аморфного порошка *трет*-бутилового эфира сульфоксида 7β-(2,2,2-трихлорэтоксикарбонилокси)цефалоспоровой кислоты **5a** с содержанием основного вещества >96%, согласно данным ВЭЖХ. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.51 (9H, с, *t*-Bu); 2.11 (3H, с, CH₃); 3.48 и 4.09 (2H, АВ-система, *J* = 18, SOCH₂); 4.75 и 5.13 (2H, АВ-система, *J* = 14, CH₂O); 4.77 (2H, с, CCl₃CH₂); 4.84 (1H, д, *J* = 5, 6-Н); 6.26 (1H, д, *J* = 5, 7-Н).

***трет*-Бутиловый эфир сульфона 7β-(2,2,2-трихлорэтоксикарбонилокси)цефалоспоровой кислоты (5b).** К раствору 82 мг (0.15 ммоль) смеси эфиров **5a** в 10 мл дихлорметана добавляют 147 мг (0.60 ммоль) *мета*-хлорпербензойной кислоты, перемешивают 3 ч при комнатной температуре, разбавляют 20 мл дихлорметана, промывают 50 мл 5% раствора Na₂SO₃, 5% раствором Na₂CO₃, сушат над безводным Na₂SO₄. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат). Фракции с *R_f* 0.43 (гексан–этилацетат, 1:1) объединяют и упаривают. Получают 75 мг (91%) *трет*-бутилового эфира сульфонида 7β-(2,2,2-трихлорэтоксикарбонилокси)цефалоспоровой кислоты **5b**. Содержание основного вещества 95%, согласно данным ВЭЖХ, т. пл. 84–87 °С. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.60 (9H, с, *t*-Bu); 2.13 (3H, с, CH₃); 3.71 и 4.02 (2H, АВ-система, *J* = 18, SO₂CH₂); 4.80 и 5.24 (2H, АВ-система, *J* = 14, CH₂O); 4.86 (2H, с, CCl₃CH₂); 4.91 (1H, д, *J* = 5, 6-Н); 6.11 (1H, д, *J* = 5, 7-Н).

***трет*-Бутиловый эфир сульфоксида 7β-(трет-бутоксикарбонилокси)цефалоспоровой кислоты (5c).** К раствору 500 мг (1.52 ммоль) *трет*-бутилового эфира 7β-гидроксицефалоспоровой кислоты в 10 мл дихлорметана добавляют 663 мг (3.04 ммоль) ди-*трет*-бутилпирокарбоната и 0.42 мл (3.04 ммоль) триэтиламина. Реакционную смесь кипятят до исчезновения на ТСХ пятна исходного вещества **2** с *R_f* 0.21 и появления нового пятна с *R_f* 0.57–0.65 в системе гексан–этилацетат, 1:1. Реакционную смесь промывают раствором Na₂CO₃, водой и сушат над безводным Na₂SO₄. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент гексан–этилацетат, 1:1). Фракции с *R_f* 0.60 объединяют и упаривают. Получают 500 мг (76%) смеси *трет*-бутилового эфира 7β-(трет-бутоксикарбонилокси)-3-ацетоксиметилцеф-3-ем-4-карбоновой и *трет*-бутилового эфира 7β-(трет-бутоксикарбонилокси)-3-ацетоксиметилцеф-2-ем-4-карбоновой кислот **4b** в соотношении 2:1 (по относительной интенсивности сигналов протонов в спектрах ЯМР ¹H). Спектр ЯМР ¹H Δ³-изомера (CDCl₃): 1.28–1.55 (18H, с, 2*t*-Bu); 2.00 (3H, с, CH₃); 3.24 и 3.51 (2H, АВ-система, *J* = 19, SCH₂); 4.68 и 5.00 (2H, АВ-система, *J* = 14, CH₂O); 4.95 (1H, д, *J* = 4.0, 6-Н); 5.84 (1H, д, *J* = 4.0, 7-Н). Спектр ЯМР ¹H Δ²-изомера (CDCl₃): 1.28–1.55 (18H, с, 2*t*-Bu); 2.00 (3H, с, CH₃); 4.44 и 4.69 (2H, АВ-система, *J* = 13, CH₂O); 4.82 (1H, с, 4-Н); 5.28 (1H, д, *J* = 4.0, 6-Н); 5.33 (1H, д, *J* = 4.0, 7-Н); 6.35 (1H, с, 2-Н).

Смесь эфиров **4b** окисляют *мета*-хлорпербензойной кислотой с выходом 84% аналогично синтезу сульфоксида **5a**. Получают *трет*-бутиловый эфир сульфоксида 7β-(трет-бутоксикарбонилокси)цефалоспоровой кислоты **5c** с *R_f* 0.31 (элюент гексан–этилацетат, 1 : 2), т. пл. 122–123 °С. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.55 (18H, с, 2 *t*-Bu); 2.11 (3H, с, CH₃); 3.51 и 4.04 (2H, АВ-система, *J* = 17, SOCH₂); 4.77 (1H, д, *J* = 5, 6-Н); 4.80 и 5.13 (2H, АВ-система, *J* = 14, CH₂O); 6.15 (1H, д, *J* = 5, 7-Н). Найдено, % : С 51.04; Н 6.14; N 3.09. С₁₉H₂₇NO₉S. Вычислено, % : С 51.23; Н 6.11; N 3.14.

***трет*-Бутиловый эфир сульфонида 7β-(трет-бутоксикарбонилокси)цефалоспоровой кислоты (5d)** получают окислением цефалоспоровой кислоты **5c** *мета*-хлорпербензойной кислотой с выходом 60% аналогично синтезу сульфонида **5b**. *R_f* 0.57 (элюент гексан–этилацетат, 1:2), т. пл. 114–116 °С. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.53 (9H, с, *t*-Bu); 1.57 (9H, с, *t*-Bu); 2.11 (3H, с, CH₃); 3.66 и 3.97 (2H, АВ-система, *J* = 17, SO₂CH₂); 4.80 и 5.22 (2H, АВ-система, *J* = 14, CH₂O); 4.86 (1H, д, *J* = 5, 6-Н); 6.04 (1H, д, *J* = 5, 7-Н). Найдено, % : С 49.50; Н 5.87; N 2.98. С₁₉H₂₇NO₁₀S. Вычислено, % : С 49.45; Н 5.90; N 3.04.

трет-Бутиловый эфир сульфона 7 α -хлор-3-гидроксиметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7а). К раствору 300 мг (0.75 ммоль) трет-бутилового эфира 7 α -хлор-3-бромметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **6а** в смеси 6.0 мл ацетона и 0.2 мл ДМФА добавляют 500 мг (3.80 ммоль) трифторацетата аммония. Смесь кипятят 3.5 ч, охлаждают, разбавляют 50 мл этилацетата и промывают 10 мл воды. Раствор сушат над безводным Na₂SO₄, растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силика-гелем (элюент гексан–этилацетат, 1:2). Фракции с R_f 0.35 объединяют и упаривают. Получают 200 мг (79%) трет-бутилового эфира сульфона **7а**, т. пл. 126–127 °С. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.57 (9H, с, *t*-Bu); 2.42 (1H, уш. с, OH); 4.02 (2H, с, CH₂O); 4.09 и 4.51 (2H, АВ-система, J = 14, SO₂CH₂); 4.77 (1H, д, J = 1, 6-H); 5.31 (1H, д, J = 1, 7-H). Найдено, % : С 42.53; Н 4.67; N 4.08. C₁₂H₁₆ClNO₆S. Вычислено, % : С 42.67; Н 4.77; N 4.15. ИК спектр (нуйол): 3500, 1810, 1720 см⁻¹.

трет-Бутиловый эфир сульфона 7(Z)-(трет-бутоксикарбонил)метилен-3-гидроксиметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7b) получают из трет-бутилового эфира 7(Z)-(трет-бутоксикарбонил)метилен-3-бромметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **6b** аналогично соединению **7а** с выходом 71%, R_f 0.14 (элюент гексан–этилацетат, 1:2). Содержание основного вещества 95%, согласно данным ВЭЖХ, т. пл. 48–50 °С. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.55 (18H, с, *2t*-Bu); 3.88 и 4.15 (2H, АВ-система, J = 14, SO₂CH₂); 4.00 (1H, уш. с, OH); 4.11 и 4.57 (2H, АВ-система, J = 14, CH₂O); 6.53 (1H, д, J = 1, 6-H); 6.57 (1H, д, J = 1, 7-H).

трет-Бутиловый эфир сульфона 7(Z)-ацетилметилен-3-гидроксиметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7с) получают из трет-бутилового эфира 7(Z)-ацетилметилен-3-бромметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **6с** аналогично соединению **7а** в виде масла с выходом 67%, R_f 0.14 (элюент гексан–этилацетат, 1:2). Содержание основного вещества 95%, согласно данным ВЭЖХ. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.60 (9H, с, *t*-Bu); 2.44 (3H, с, CH₃COС=); 4.02 и 4.57 (2H, АВ-система, J = 14, SO₂CH₂); 4.04 (2H, с, CH₂O); 4.22 (1H, уш. с, OH); 5.60 (1H, уш. с, 6-H); 6.91 (1H, д, J = 1, 7-H).

трет-Бутиловый эфир сульфона 7(Z)-4-нитробензилиден-3-гидроксиметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7d) получают из трет-бутилового эфира 7(Z)-4-нитробензилиден-3-бромметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **6d** в виде аморфного вещества аналогично соединению **7а** с выходом 40%, R_f 0.28 (элюент гексан–этилацетат, 1:1), содержание основного вещества 94%, согласно данным ВЭЖХ. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.60 (9H, с, *t*-Bu); 2.86 (1H, уш. с, OH); 4.11 (2H, с, CH₂O); 4.13 и 4.55 (2H, АВ-система, J = 14, SO₂CH₂); 5.62 (1H, уш. с, 6-H); 7.44 (1H, уш. с, –HC=); 7.86, 8.28 (4H, два д, J = 9, C₆H₄).

трет-Бутиловый эфир сульфона 7(E)-4-нитробензилиден-3-гидроксиметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7е) получают из трет-бутилового эфира 7(E)-4-нитробензилиден-3-бромметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **6е** в виде аморфного порошка аналогично соединению **7а** с выходом 60%, R_f 0.17 (элюент гексан–этилацетат, 1:1), содержание основного вещества 95%, согласно данным ВЭЖХ. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.63 (9H, с, *t*-Bu); 3.35 (1H, уш. с, OH); 4.04 (2H, с, CH₂O); 4.11 и 4.53 (2H, АВ-система, J = 14, SO₂CH₂); 5.28 (1H, уш. с, 6-H); 6.95 (1H, уш. с, –HC=); 8.13, 8.26 (4H, два д, J = 9, C₆H₄).

трет-Бутиловый эфир сульфона 7 α -хлор-3-(2,2,2-трихлорэтоксикарбонилокси)метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (9а). К раствору 120 мг (0.35 ммоль) сульфона трет-бутилового эфира 7 α -хлор-3-гидроксиметилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **7а** в 6 мл дихлорметана добавляют 48 мг (0.35 ммоль) 2,2,2-трихлорэтилового эфира хлоругольной кислоты и 0.1 мл (0.70 ммоль) триэтиламина. Смесь перемешивают 30 мин при комнатной температуре. Завершение реакции регистрируют по исчезновению пятна **7а** с R_f 0.28 и появлению нового пятна с R_f 0.50 (гексан–этилацетат, 2:1). Раствор разбавляют 50 мл дихлорметана, промывают разбавленным раствором HCl, сушат над безводным Na₂SO₄, растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент гексан–этилацетат, 2:1). Фракции с R_f 0.50 объединяют и упаривают. Получают 118 мг (65%) сульфона **9а** с содержанием основного вещества 98%, согласно данным ВЭЖХ, т. пл. 167–170 °С. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 1.57 (9H, с, *t*-Bu); 3.77 и 4.13 (2H, АВ-система, J = 18, SO₂CH₂); 4.71–4.88 (3H, м, CH₂Cl₃, 6-H); 4.86 и 5.33 (2H, АВ-система, J=14, CH₂OCO); 5.33 (1H, д, J=1, 7-H).

трет-Бутиловый эфир сульфона 7 α -хлор-3-(2-бромэтоксикарбонилокси)-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (9b). К раствору 100 мг (0.29 ммоль) сульфона **7а** в 6 мл бензола добавляют 0.063 мл (0.60 ммоль) 2-бромэтилового эфира хлоругольной кислоты и 0.063 мл (0.60 ммоль) 2,6-лутидина. Смесь кипятят 3.5 ч. Завершение реакции регистрируют по исчезновению пятна **7а** с R_f 0.28 и появлению нового пятна с R_f 0.53 (гексан–этилацетат, 2:1). Раствор разбавляют 50 мл дихлорметана, промывают разбавленным раствором HCl, сушат над безводным Na₂SO₄, растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент гексан–этилацетат,

2:1). Фракции с R_f 0.53 объединяют и упаривают. Получают 100 мг (70%) сульфона **9b** с содержанием основного вещества 97%, согласно данным ВЭЖХ, т. пл. 99–102 °С. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): 1.60 (9H, с, *t*-Bu); 3.57 (2H, т, $J = 8$, CH_2Br); 3.77 и 4.13 (2H, АВ-система, $J = 18$, SO_2CH_2); 4.48 (2H, т, $J = 8$, OSOCH_2); 4.77 и 5.28 (2H, АВ-система, $J = 14$, CH_2OCO); 4.84 (1H, уш. с, 6-H); 5.33 (1H, д, $J = 1$, 7-H).

трет-Бутиловый эфир сульфона 7 α -хлор-3-(4-нитрофеноксикарбонилокси)метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (9c). К раствору 40 мг (0.29 ммоль) сульфона **7a** в 5 мл сухого диэтилового эфира при комнатной температуре добавляют 0.026 мл (0.24 ммоль) 2,6-лутидина и через 5 мин 24 мг (0.24 ммоль) 4-нитрофенилового эфира хлоругольной кислоты **8c** в два приема с интервалом в 30 мин. Завершение реакции регистрируют по исчезновению пятна **7a** с R_f 0.28 и появлению нового пятна с R_f 0.45 (гексан–этилацетат, 2:1). Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток растворяют в 3 мл метанола, раствор упаривают и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем этилацетатом. Фракции с R_f 0.45 (гексан–этилацетат, 2:1) объединяют и упаривают. Получают 28 мг (47%) сульфона **9c** с содержанием основного вещества 97%, согласно данным ВЭЖХ, т. пл. 52–54 °С. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): 1.57 (9H, с, *t*-Bu); 3.82 и 4.17 (2H, АВ-система, $J = 17$, SO_2CH_2); 4.84 (1H, с, 6-H); 4.93 и 5.37 (2H, АВ-система, $J = 14$, CH_2OCO); 5.33 (1H, д, $J = 1$, 7-H) 7.38 и 8.28 (4H, два д, $J = 10$, C_6H_4).

трет-Бутиловый эфир сульфона 7(Z)-(трет-бутоксикарбонил)метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (9d) получают аналогично соединению **9c** с выходом 55%, R_f 0.40 (элюент гексан–этилацетат, 1:2), с содержанием основного вещества 95%, согласно данным ВЭЖХ, т. пл. 67–70 °С. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): 1.55 (18H, с, 2*t*-Bu); 3.87 и 4.20 (2H, АВ-система, $J = 18$, SO_2CH_2); 5.00 и 5.44 (2H, АВ-система, $J = 14$, CH_2O); 5.62 (1H, уш. с, 6-H); 6.62 (1H, д, $J = 0.5$, $-\text{CH}=\text{}$); 7.40 и 8.28 (4H, два д, $J = 9$, C_6H_4). ИК спектр (нуйол): 1790, 1770, 1720, 1700 (пл.), 1620, 1600 cm^{-1} .

трет-Бутиловый эфир сульфона 7(E)-4-нитробензилиден-3-(4-нитрофеноксикарбонил-окси)метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (9e) получают аналогично соединению **9c** с выходом 63%, R_f 0.51 (элюент гексан–этилацетат, 1:2). Содержание основного вещества 92%, согласно данным ВЭЖХ. Спектр ЯМР ^1H (CDCl_3): 1.64 (9H, с, *t*-Bu); 3.84 и 4.22 (2H, АВ-система, $J = 18$, SO_2CH_2); 4.95 и 5.42 (2H, АВ-система, $J = 13$, CH_2O); 5.42 (1H, уш. с, 6-H); 6.98 (1H, уш. с, $-\text{CH}=\text{}$); 7.40 и 8.31 (4H, два д, $J = 9$, $\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}$); 8.18 и 8.30 (4H, два д, $J = 9$, $\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}=\text{}$).

Биологические тесты. Цитотоксические свойства синтезированных веществ в отношении монослойных опухолевых клеток и их ингибирующая активность в отношении Porgsine Pargrease Elastase (Type III) определяли в соответствии с методиками, приведенными в статье [8].

Авторы выражают признательность компании Taiho Pharmaceutical Co. за безвозмездное предоставление 7-аминоцефалоспоровой и 7-аминодеацетоксицефалоспоровой кислот.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. J. C. Sheehan, Y. S. Lo, D. R. Ponzi, *J. Org. Chem.*, **42**, 1012 (1977).
2. 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, 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).
3. S. K. Shah, K. A. Brause, G. O. Chandler, P. E. Finke, B. M. Ashe, H. Weston, W. B. Knight, A. L. Maycock, J. B. Doherty, *J. Med. Chem.*, **33**, 2529 (1990).
4. Г. А. Вейнберг, Л. Н. Петрулянис, Н. Григан, И. В. Туровский, Д. И. Мусель, Э. Лукевиц, *XTC*, № 1, 110 (1996).
5. R. P. Alexander, N. R. A. Beeley, M. O'Driscoll, F. P. O'Neill, T. A. Millican, A. J. Pratt, F. W. Willenbrock, *Tetrah. Lett.*, **32**, 3269 (1991).
6. L. N. Jungheim, T. A. Shepherd, J. K. Kling, *Heterocycles*, **35**, 339 (1993).
7. S. Mobashery, M. Johnston, *Tetrah. Lett.*, **27**, 3333 (1986).
8. 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.*, **3**, 755 (1998).

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

Поступило в редакцию 13.11.99