

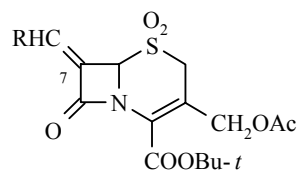
М. Ворона, И. Потгорчина, Г. Вейнберг, И. Шестакова, И. Канепе,  
Э. Лукевиц

**СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ  
*трет*-БУТИЛОВОГО ЭФИРА 7-АЛКИЛИДЕН-3-МЕТИЛЦЕФ-3-ЕМ-  
4-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ**

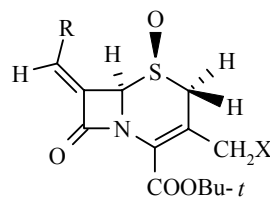
Сульфоны *трет*-бутилового эфира 7-арилметилден- и 7-(2-фурил)метилден-3-метилцеф-3-ем-4-карбонной кислоты получены конденсацией *трет*-бутилового эфира 3-метил-7-оксоцеф-3-ем-4-карбонной кислоты с арилметилден- и 2-фурилдицентрифенилфосфоранами и последующим окислением промежуточных продуктов *мета*-хлорпербензойной кислотой. Сочетанием *трет*-бутилового эфира 7*E*-бромметилден- и 7,7-дибромметилден-3-метил-1,1-диоксоцеф-3-ем-4-карбонной кислоты с триметилсилилацетиленом в условиях реакции Соногашира синтезированы *трет*-бутиловые эфиры 3-метил-1,1-диоксо-7*E*-(3-триметилсилилпропин-2-илиден)цеф-3-ем-4-карбонной и 3-метил-1,1-диоксо-7-[1,5-бис(триметилсилил)-1,4-пентадин-3-илиден]цеф-3-ем-4-карбонной кислот. С помощью реагента Вильсмайера реализовано включение диметиламинометиленовой группы в положение 2 7*Z*- и 7*E*-изомеров *трет*-бутилового эфира 3-метил-1,1-диоксо-7-(4-хлорфенил)метилденцеф-3-ем-4-карбонной кислоты. Установлено, что цитотоксические свойства производных *трет*-бутилового эфира 7-алкилиден-3-метилцеф-3-ем-4-карбонной кислоты в отношении раковых и нормальных клеток *in vitro* зависят от строения, 7*Z*- или 7*E*-изомерии заместителя в 7-алкилиденовой группе, а также и наличия диметиламинометиленовой группы в положении 2 цеф-3-емового ядра.

**Ключевые слова:** 7*Z*-ацетилметилден-3-метил-1,1-диоксоцеф-3-ем, *трет*-бутиловые эфиры 7-арилметилден-3-метил-1,1-диоксоцеф-3-ем-4-карбонной кислоты, *трет*-бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7-(2-фурил)метилденцеф-3-ем-4-карбонной кислоты, *трет*-бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7*E*-(3-триметилсилилпропин-2-илиден)цеф-3-ем-4-карбонной кислоты, *трет*-бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7-[1,5-бис(триметилсилил)-1,4-пентадин-3-илиден]цеф-3-ем-4-карбонной кислоты, *трет*-бутиловый эфир 2-(диметиламинометилден)-3-метил-1,1-диоксо-7*Z*-(4-хлорфенил)метилденцеф-3-ем-4-карбонной кислоты, *трет*-бутиловый эфир 2-диметиламинометилден-3-метил-1,1-диоксо-7*E*-(4-хлорфенил)метилденцеф-3-ем-4-карбонной кислоты, цитотоксическая активность.

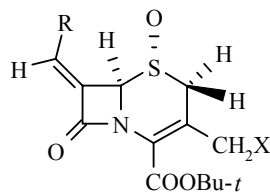
Ранее нами показано, что введение алкилиденовой группы в положение 7 *трет*-бутилового эфира 3-ацетоксиметилден-1,1-диоксоцеф-3-ем-4-карбонной кислоты **1a–g** способствует проявлению ими высокой цитотоксической активности в отношении раковых клеток *in vitro* [1]. В последующей работе были синтезированы и изучены физико-химические свойства 1*R*- и 1*S*-сульфоксидов, а также сульфона *трет*-бутилового эфира



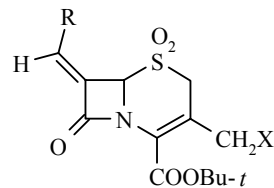
**1a-g**



**1S, 7Z-2a,b**



**1R,7Z-2a,b**



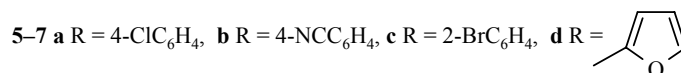
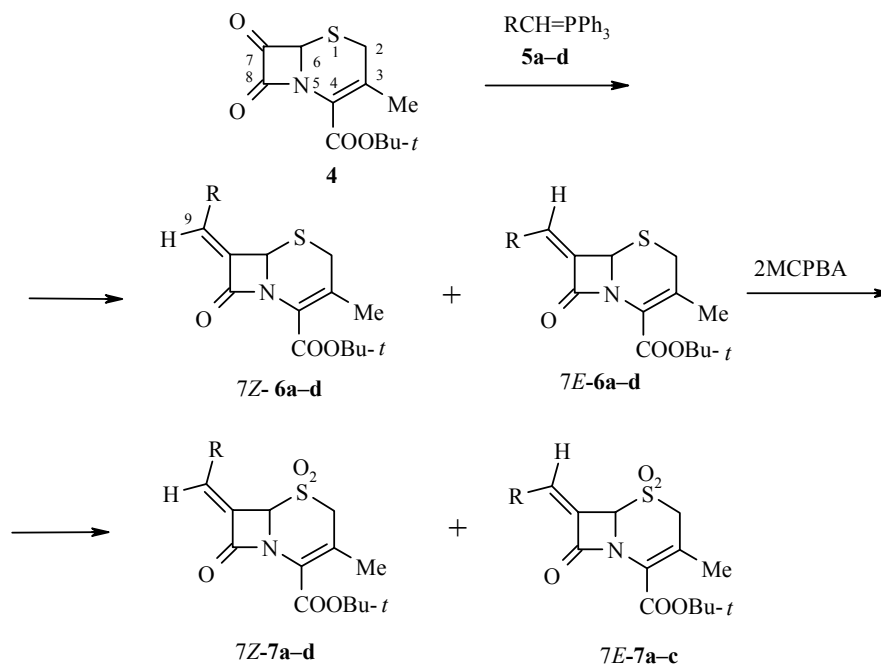
**7Z-3a,b**

**1 a** R = *t*-BuOCO, **b** R = MeOCO, **c** R = MeCO, **d** R = Ph, **e** R = 4-O<sub>2</sub>NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>,  
**f** R = 4-пиридил, **g** R = 2-фурил; **2, 3 a** R = Ac, X = H; **b** R = Me<sub>3</sub>SiC≡C, X = OAc

7Z-ацетилметилен-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **2a,b** и 3-ацетоксиметил-7Z-(3-триметилсилилпропин-2-илиден)цеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **3a,b** [2].

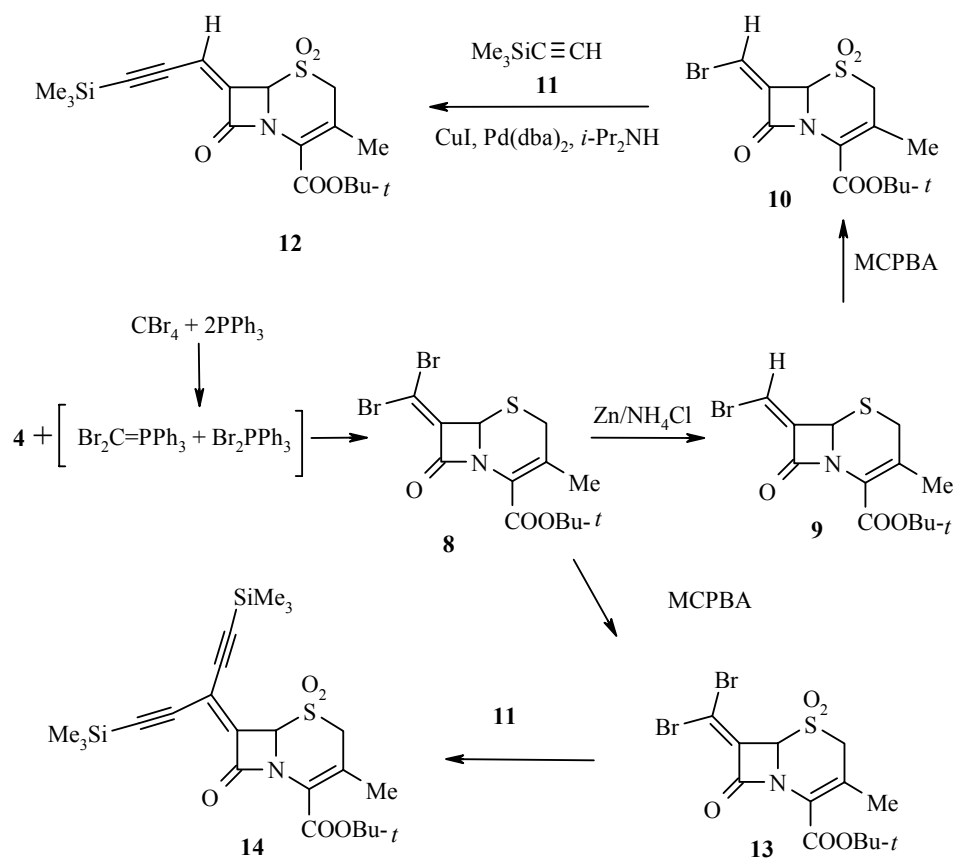
В продолжение этих исследований, нами предприняты синтез новых аналогов *трет*-бутилового эфира 7-алкилиден-1,1-диоксо-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты и их цитотоксический скрининг, включая соединения **2,3a,b**, в отношении раковых и нормальных клеток *in vitro* с целью установления зависимости между структурой и противораковыми свойствами.

7-Арилметилен- и 7-(2-фурил)метилзамещенные *трет*-бутиловые эфиры цеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **6a-d** в виде хроматографически неразделимой смеси 7Z- и 7E-изомеров были синтезированы согласно методам, приведенным в работах [1-3], конденсацией *трет*-бутилового эфира 7-оксо-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**4**) с фосфоранами **5a-d**. Окисление полученных цефемов **6a-d** в соответствующие сульфоны **7a-d** было реализовано с помощью *мета*-хлорпербензойной кислоты (MCPBA). Наличие в смесях сульфонов **7a-d** окисленного атома серы способствовало их разделению на индивидуальные 7Z- и 7E-изомеры с помощью колоночной хроматографии. Их структурная идентификация на основании анализа спектров ЯМР <sup>1</sup>H спектров проведена в соответствии с литературными данными [2, 3]. Так цеф-3-емы 7Z-**7a-d**, благодаря дезэкранирующему воздействию β-лактамного карбонила, характеризуются слабопольным сдвигом резонансного сигнала H-9 по сравнению с этим сигналом в изомерах 7E-**7a-c**.

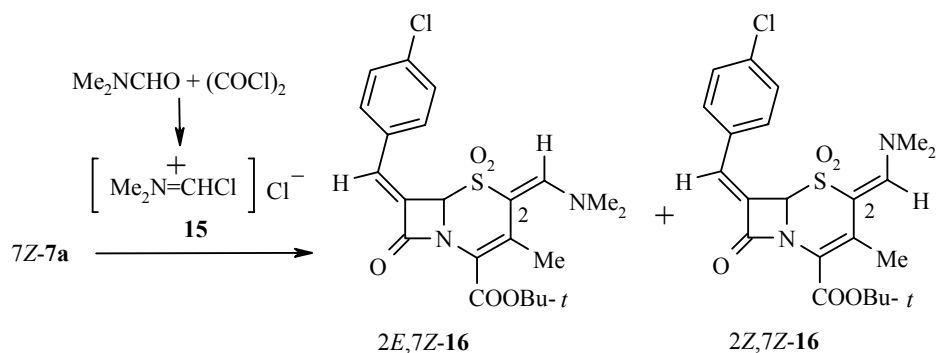


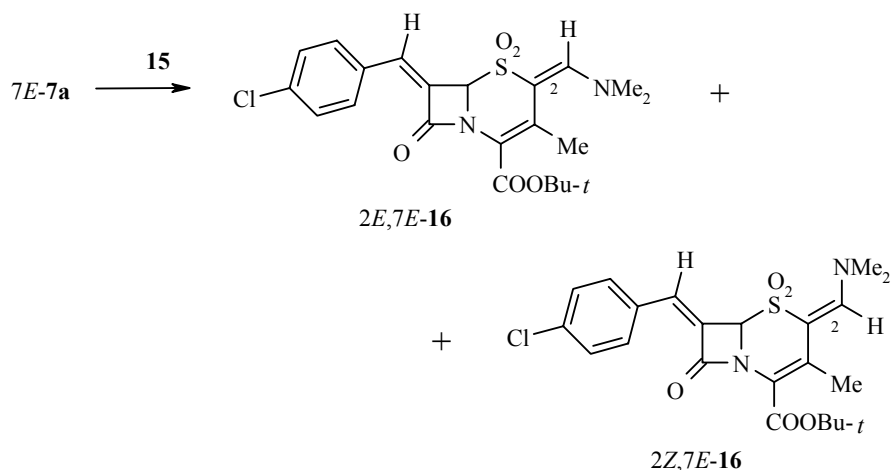
В нашей предыдущей работе установлено, что сульфоксиды и сульфон *трет*-бутилового эфира 3-ацетоксиметил-7*Z*-(3-триметилсилилпропин-2-илиден)цеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**2b**, **3b**), благодаря стереоспецифическим особенностям реакции Виттига, представлены преимущественно 7*Z*-изомерной формой [2]. Поэтому для получения другого изомера нами была адаптирована методика направленного синтеза 7*E*-алкилиденпроизводных цефалоспорина [3]. *трет*-Бутиловый эфир 3-метил-7-оксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**4**) действием дибромметилефосфорана был превращен в *трет*-бутиловый эфир 7-дибромметилеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**8**), который был стереоселективно восстановлен с помощью Zn/NH<sub>4</sub>Cl в 7*E*-монобромид **9**. Превращение последнего в *трет*-бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7*E*-(3-триметилсилилпропин-2-илиден)цеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7E-12**) состояло из окисления гетероатома серы и сочетания 7*E*-бромметилового промежуточного сульфена **10** с триметилсилилацетиленом (**11**) в условиях каталитической реакции Соногашира. Использование в этой реакции в качестве исходного вещества сульфена 7-дибромзамещенного цеф-3-ема **13** и 2 экв. триметилсилилацетилена (**11**) привело к получению *трет*-бутилового эфира 3-метил-1,1-диоксо-7-[1,5-бис(триметилсилил)-1,4-пентадин-3-илиден]цеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**14**).

Введение диметиламинометилового группы в положение 2 7*Z*- и 7*E*-изомеров *трет*-бутилового эфира 3-метил-1,1-диоксо-7-(4-хлорфенил)метилеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7Z-7a**, **7E-7a**) было реализовано с помощью реагента Вильсмайера, согласно методу, приведенному в работе [4].

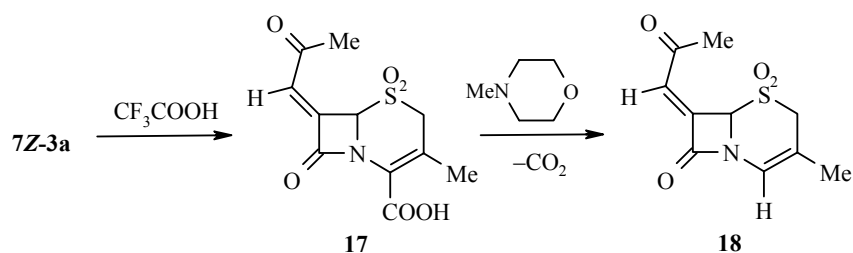


Анализ спектров ЯМР  $^1\text{H}$  соединений **16** показал, что диметиламино-метиленовая группа в них находится в  $2E$ - и  $2Z$ -изомерных состояниях. В цеф-3-емах  $2E,7Z$ -**16** и  $2E,7E$ -**16** дезэкранирующий эффект атомов кислорода сульфона приводит к слабопольному сдвигу резонансного сигнала протона  $=\text{CHNMe}_2$  по сравнению с аналогичным сигналом для изомеров  $2Z,7Z$ -**16** и  $2Z,7E$ -**16**. Аналогичный дезэкранирующий эффект наблюдается в отношении сигнала шести протонов  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$  группы в изомерах  $2Z,7Z$ -**16** и  $2Z,7E$ -**16**.





Превращение *tert*-бутилового эфира сульфона 7*Z*-ацетилметил-3-метил-1,1-диоксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7*Z*-**3a**) в 7*Z*-ацетилметил-3-метил-1,1-диоксоцеф-3-ем (7*Z*-**18**) включало отщепление *tert*-бутильной группы трифторуксусной кислотой и декарбоксилирование промежуточной карбоновой кислоты **17** в присутствии *N*-метилморфолина.



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 3T3 (эмбриональные фибробласты мыши). Окрашивание фибробластов 3T3 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 скрининга (таблица) свидетельствуют о том, что структурные вариации: *Z*- и *E*-изомерия 7-алкилиденовой группы, 1*S*- и 1*R*-изомерия сульфоксидного кислорода и включение *N,N*-диметиламинометиленовой группы в положение 2 цеф-3-евого цикла, оказывают существенное воздействие на перечисленные параметры.

Так, согласно сравнительному анализу биологических свойств стереоизомерных сульфоксидов *tert*-бутилового эфира 7*Z*-ацетилметил-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновых кислот 1*S*,7*Z*-**2a** и 1*R*,7*Z*-**2a** оба соединения характеризуются практически одинаковым цитотоксическим эффектом

**Биологические свойства структурных аналогов *трет*-бутилового эфира  
7-алкилиден-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты\***

Соединение	Цитотоксическая активность, LC <sub>50</sub> , мкг/мл							LD <sub>50</sub> , мг/кг
	HT-1080			MG-22A			3T3	
	CV	MTT	TG <sub>100</sub>	CV	MTT	TG <sub>100</sub>	NR	
1 <i>S</i> ,7 <i>Z</i> - <b>2a</b>	2.3	4.8	350	1.5	1.6	450	11	316
1 <i>R</i> ,7 <i>Z</i> - <b>2a</b>	2.3	3.3	450	2.8	2.8	450	33	521
7 <i>Z</i> - <b>3a</b>	2.5	5.3	500	2.4	2.7	400	14	358
7 <i>Z</i> - <b>3b</b>	0.05	0.07	1050	0.45	0.50	700	10**	–
7 <i>Z</i> - <b>18</b>	2.2	2.6	400	1.2	1	700	6	200
7 <i>E</i> - <b>7a</b>	6	5	100	1.7	2	56	294	1476
7 <i>Z</i> - <b>7a</b>	16	12	150	9	9	150	57	738
7 <i>E</i> - <b>7b</b>	2	2	450	2	3	425	0.08	42
7 <i>Z</i> - <b>7b</b>	2	1	175	2	3	433	14	392
7 <i>E</i> - <b>7c</b>	3	2.5	233	2.5	3.2	400	7.1	318
7 <i>Z</i> - <b>7c</b>	1.1	1.6	200	2.3	2.7	200	9.3	363
7 <i>Z</i> - <b>7d</b>	21	19	250	19	16	250	142	1023
7 <i>E</i> - <b>12</b>	19	9	550	23	26	300	3.2	206
<b>14</b>	2	2	350	4	0.3	550	4	256
7 <i>E</i> - <b>16</b>	9	8	400	3	2	200	250	1488
7 <i>Z</i> - <b>16</b>	10	17	150	8.0	10	150	84	930

\* LC<sub>50</sub> – концентрация, обеспечивающая гибель 50% клеток; CV – окрашивание кристаллическим фиолетовым; MTT – окрашивание бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия; TG<sub>100</sub> – специфическая NO генерирующая активность соединения; NR – окрашивание нейтральным красным; LD<sub>50</sub> – доза вещества, обеспечивающая гибель 50% клеток.

\*\* CV – окрашивание.

*in vitro* в отношении раковых клеток и существенно различаются таковым в отношении нормальных клеток, что получило отражение в 1.5-кратном увеличении значения LD<sub>50</sub> для *R*-изомера. Окисление атома серы в 1*S*,7*Z*-**2a** и 1*R*,7*Z*-**2a** до сульфона не изменило цитотоксический эффект цеф-3-ема 7*Z*-**3a**, но ослабило его избирательность в отношении раковых и нормальных клеток. Аналогичная тенденция выявлена для структурного аналога этого соединения 7*Z*-**18** с элиминированным из положения 4 *трет*-бутоксикарбонильным фрагментом.

Цеф-3-емы 7*Z*-**3b**, 7*E*-**12** и **14**, отличающиеся строением заместителя

в положении 3, 7Z- и 7E-изомерией триметилсилилацетиленовых фрагментов и их количеством в 7-алкилиденовой группе, характеризуются высокой токсичностью в отношении нормальных клеток. При этом соединение 7Z-3b подавляло рост раковых клеток в значительно более низких концентрациях, чем соединения 7E-12 и 14.

Биологические свойства соединений 7a–d, содержащих в положении 7 монозамещенную ароматическую или фурановую систему, зависят как от изомерии алкилиденовой группы, так и строения ароматического ядра. При сходном цитотоксическом эффекте в отношении раковых клеток 7Z- или 7E-изомеров цеф-3-ема 7a с *para*-хлорфенильным заместителем в алкилиденовой группе, изомер 7E-7a оказался в два раза менее токсичным, чем изомер 7Z-7a. В случае *para*-цианофенильного заместителя токсичность изомера 7E-7b оказалась в 9 раз больше токсичности изомера 7Z-7b. Цитотоксические свойства изомеров 7Z-7c и 7E-7c с *ortho*-бромфенильной группой в отношении раковых и нормальных клеток оказались практически идентичными. Введение в алкилиденовую группу соединения 7Z-7d фуранового гетероцикла привело к существенному снижению его цитотоксичности в отношении раковых и нормальных клеток.

Соединения 7E-16 и 7Z-16, содержащие в положении 2 N,N-диметиламинометиленовую группу, в сравнении с исходными цеф-3-емами 7E-7a и 7Z-7a, проявили сходную цитотоксическую активность в отношении раковых клеток и ослабленную в отношении нормальных клеток.

Цитотоксический эффект тестированных соединений, подобно ранее изученным *трет*-бутиловым эфирам 7-алкилидензамещенных цефалоспоринов [1], взаимосвязан с их способностью генерировать в клеточной среде радикалы оксида азота. Высокая цитотоксичность соединений сопровождается, как правило, повышенной генерацией NO радикалов и наоборот.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H зарегистрированы на приборах Bruker WH90/DS (90 МГц) и Varian Mercury-200 (200 МГц) в CDCl<sub>3</sub>, внутренний стандарт TMS. 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. Данные ВЭЖХ получены на приборе Du-Pont Model 8800, снабженном УФ детектором ( $\lambda = 254$  нм) и колонкой (4.6 × 250 мм), заполненной фазой  $\mu$ Porasil в системе этилацетат–гексан, 20:80, Alltima C18 в системе ацетонитрил–0.1M фосфатный буфер (pH 2.5), 50:50; Zorbax RxC<sub>18</sub> в системе ацетонитрил–вода, 60:40. 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 фирм Acros, Aldrich, Sigma. Оптическая плотность в биологических тестах, проводимых на 96-луночных панелях, определялась горизонтальным спектрофотометром Tetatek Multiscan MCC/340.

**3-ем-4-карбоновой кислоты (7Z-7a) и трет-бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7E-(4-хлорфенил)метиленцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7E-7a).** К раствору 694 мг (1.64 ммоль) хлорида *пара*-хлорбензилтрифенилфосфония в 15 мл абсолютного ТГФ при 0 °С добавляют при перемешивании 2.2 мл 1.6 М раствора бутиллития в гексане. Раствор перемешивают 30 мин при 10 °С, охлаждают до –78 °С и затем к нему добавляют 479 мг (1.64 ммоль) *трет*-бутилового эфира 3-метил-7-оксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты [5] в 10 мл дихлорметана. Полученную смесь перемешивают 30 мин при –78 °С и выливают в 100 мл насыщенного раствора NH<sub>4</sub>Cl со льдом. Смесь перемешивают до растворения льда и экстрагируют 2 × 50 мл дихлорметана. Органическую фазу промывают охлажденным раствором NH<sub>4</sub>Cl, сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:2.5). Фракции с R<sub>f</sub> 0.68 объединяют и упаривают. Выход 500 мг (80%) маслообразного продукта, согласно анализу ВЭЖХ, состоящего из смеси *трет*-бутилового эфира 3-метил-7Z-(4-хлорфенил)метиленцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7Z-6a) и *трет*-бутилового эфира 3-метил-7E-(4-хлорфенил)метиленцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7E-6a), 1:1.

К раствору 500 мг (1.32 ммоль) смеси изомеров 7Z-6a и 7E-6a в 20 мл дихлорметана при 0 °С и перемешивании добавляют 815 мг (3.31 ммоль) 70% 3-хлорпербензойной кислоты. Смесь перемешивают при комнатной температуре 4 ч, разбавляют 20 мл дихлорметана, промывают 50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 2 × 50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:2).

Из фракций с R<sub>f</sub> 0.28 выделяют соединение 7Z-7a. Выход 230 мг (42%). Т. пл. 40–41 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.06 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 3.63 и 3.98 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.51 (1H, уш. с, H-6); 7.34 (1H, уш. с, H-9); 7.38 и 7.76 (4H, два д, <sup>3</sup>J = 7, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Найдено, %: С 55.90; Н 5.08; N 3.53. C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 55.68; Н 4.92; N 3.42.

Из фракций с R<sub>f</sub> 0.11 выделяют соединение 7E-7a. Выход 187 мг (34%). Т. пл. 185–186 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.53 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.04 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 3.58 и 3.95 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.17 (1H, уш. с, H-6); 6.82 (1H, уш. с, H-9); 7.95 и 8.08 (4H, два д, <sup>3</sup>J = 7, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Найдено, %: С 55.87; Н 5.00; N 3.58. C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 55.68; Н 4.92; N 3.42.

***трет*-Бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7Z-(4-цианофенил)метиленцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7Z-7b) и трет-бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7E-(4-цианофенил)метиленцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7E-7b).** К раствору 559 мг (1.35 ммоль) хлорида *пара*-цианобензилтрифенилфосфония в 15 мл абсолютного ТГФ при 0 °С добавляют при перемешивании 2.2 мл 1.6 М раствора бутиллития в гексане. Раствор перемешивают 30 мин при 10 °С, охлаждают до –78 °С и затем к нему добавляют 479 мг (1.64 ммоль) *трет*-бутилового эфира 3-метил-7-оксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 10 мл дихлорметана. Полученную смесь перемешивают 30 мин при –78 °С и выливают в 100 мл насыщенного раствора NH<sub>4</sub>Cl со льдом. Смесь перемешивают до растворения льда и экстрагируют 2 × 50 мл дихлорметана. Органическую фазу промывают охлажденным раствором NH<sub>4</sub>Cl, сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:2.5). Фракции с R<sub>f</sub> 0.68 объединяют и упаривают. Выход 380 мг (76%) маслообразного продукта, согласно анализу ВЭЖХ, состоящего из смеси *трет*-бутилового эфира 3-метил-7Z-(4-цианофенил)метиленцеф-3-ем-4-карбоновой



кислоты (**7Z-6b**) и *трет*-бутилового эфира 3-метил-7*E*-(4-цианофенил)метилецеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7E-6b**).

К раствору 380 мг (1.03 ммоль) смеси изомеров **7Z-6b** и **7E-6b** в 20 мл дихлорметана при 0 °С и перемешивании добавляют 665 мг (2.70 ммоль) 70% 3-хлорпербензойной кислоты. Смесь перемешивают при комнатной температуре 4 ч, разбавляют 20 мл дихлорметана, промывают 50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 2 × 50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:4).

Из фракций с *R<sub>f</sub>* 0.42 выделяют соединение **7Z-7b**. Выход 91 мг (22%). Т. пл. 153–154 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (*J*, Гц): 1.55 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.16 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 3.68 и 3.95 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>*J* = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.53 (1H, уш. с, H-6); 7.39 (1H, уш. с, H-9); 7.74 и 8.00 (4H, два д, <sup>3</sup>*J* = 8, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Найдено, %: С 59.99; Н 5.03; N 7.00. C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 60.09; Н 5.08; N 7.11.

Из фракций с *R<sub>f</sub>* 0.24 выделяют соединение **7E-7b**. Выход 57 мг (14%). Т. пл. 118–120 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (200 МГц), δ, м. д. (*J*, Гц): 1.57 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.17 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 3.62 и 3.90 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>*J* = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.17 (1H, уш. с, H-6); 6.88 (1H, уш. с, H-9); 7.98 и 8.07 (4H, два д, <sup>3</sup>*J* = 7, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Найдено, %: С 60.13; Н 5.23; N 7.12. C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 59.99; Н 5.03; N 7.00.

**трет**-Бутиловый эфир **7Z**-(2-бромфенил)метилецеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7Z-7c**) и **трет**-бутиловый эфир **7E**-(2-бромфенил)метилецеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7E-7c**). К раствору 1140 мг (2.44 ммоль) хлорида 2-бромбензилтрифенилфосфония в 15 мл абсолютного ТГФ при 0 °С добавляют при перемешивании 234 мг (2.44 ммоль) *трет*-бутилата натрия. Раствор перемешивают 30 мин при 10 °С, охлаждают до –78 °С и затем к нему добавляют 479 мг (1.64 ммоль) *трет*-бутилового эфира 3-метил-7-оксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 10 мл дихлорметана. Полученную смесь перемешивают 30 мин при –78 °С и выливают в 100 мл насыщенного раствора NH<sub>4</sub>Cl со льдом. Смесь перемешивают до растворения льда и экстрагируют 2 × 50 мл дихлорметана. Органическую фазу промывают охлажденным раствором NH<sub>4</sub>Cl, сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:4). Фракции с *R<sub>f</sub>* 0.68 объединяют и упаривают. Выход 400 мг (39%) маслообразного продукта, согласно анализу ВЭЖХ, состоящего из смеси *трет*-бутилового эфира 3-метил-7*Z*-(2-бромфенил)метилецеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7Z-6c**) и *трет*-бутилового эфира 3-метил-7*E*-(2-бромфенил)метилецеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7E-6c**) в соотношении 1:1.

К раствору 400 мг (0.95 ммоль) смеси изомеров **7Z-6c** и **7E-6c** в 20 мл дихлорметана при 0 °С и перемешивании добавляют 566 мг (2.30 ммоль) 70% 3-хлорпербензойной кислоты. Смесь перемешивают при комнатной температуре 4 ч, разбавляют 20 мл дихлорметана, промывают 50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 2 × 50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:3).

Из фракций с *R<sub>f</sub>* 0.24 выделяют соединение **7Z-7c**. Выход 84 мг (19%). Т. пл. 118–119 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (200 МГц), δ, м. д. (*J*, Гц): 1.56 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.06 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 3.67 и 3.93 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>*J* = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.44 (1H, с, H-6); 7.21–7.44 (2H, м, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7.61–7.68 (1H, м, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7.81 (1H, с, H-9); 7.85–7.91 (1H, м, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). Найдено, %: С 50.31; Н 4.53; N 3.14. C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>BrNO<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 50.23; Н 4.44; N 3.08.

Из фракций с  $R_f$  0.14 выделяют соединение **7E-7c**. Выход 121 мг (28%). Т. пл. 140–141 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.55 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.07 (3H, с,  $\text{CH}_3$ ); 3.62 и 3.89 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 5.19 (1H, с, Н-6); 7.20–7.46 (2H, м,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 7.32 (1H, с, Н-9); 7.58–7.66 (1H, м,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 8.49–8.55 (1H, м,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ). Найдено, %: С 50.43; Н 4.49; N 3.28.  $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{BrNO}_5\text{S}$ . Вычислено, %: С 50.23; Н 4.44; N 3.08.

**трет-Бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7Z-(2-фурил)метиленцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7Z-7d)**. К раствору 604 мг (1.60 ммоль) хлорида 2-фурифурфурилтрифенилфосфония в 10 мл абсолютного ТГФ при 10 °С добавляют при перемешивании 1 мл 1.6 М раствор бутиллития в гексане. Смесь перемешивают 30 мин при 10 °С, охлаждают до  $-78$  °С – после чего к ней добавляют 523 мг (1.60 ммоль) трет-бутилового эфира 3-метил-7-оксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 5 мл абс. ТГФ. Смесь перемешивают 30 мин при  $-78$  °С и выливают в 100 мл насыщенного раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$  со льдом. Смесь перемешивают до растворения льда и экстрагируют  $2 \times 20$  мл дихлорметана. Органическую фазу промывают охлажденным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:3). Фракции с  $R_f$  0.50 объединяют и упаривают. Остаток в количестве 350 мг (39%) маслообразного продукта, согласно анализу ВЭЖХ, состоящего из смеси трет-бутилового эфира 3-метил-7Z-(2-фурил)метиленцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7Z-6d**) и трет-бутилового эфира 3-метил-1,1-диоксо-7E-(2-урил)метиленцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**7E-6d**) в соотношении 10:1.

К раствору 350 мг (1.04 ммоль) смеси изомеров **7Z-6d** и **7E-6d** в 20 мл дихлорметана при 0 °С и перемешивании добавляют 815 мг (3.31 ммоль) 70% 3-хлорпербензойной кислоты. Смесь перемешивают при комнатной температуре 4 ч, разбавляют 20 мл дихлорметана, промывают 50 мл 5% раствора  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ,  $2 \times 50$  мл 5% раствора  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:2). Из фракций с  $R_f$  0.14 выделяют соединение **7Z-7d**. Выход 87 мг (23%). Т. пл. 103–105 °С.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.54 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.13 (3H, с,  $\text{CH}_3$ ); 3.70 и 3.95 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 5.69 (1H, д,  $^4J = 0.25$ , Н-6); 6.64 (1H, два д,  $^3J = 2$ ,  $^3J = 4$ , С-4 фуран); 7.41 (1H, д,  $^3J = 4$ , С-3 фуран); 7.56 (1H, д,  $^3J = 2$ , С-5 фуран); 7.70 (1H, д,  $^4J = 0.25$ , Н-9). Найдено, %: С 56.01; Н 5.43; N 3.94.  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_6\text{S}$ . Вычислено, %: С 55.88; Н 5.24; N 3.83.

**трет-Бутиловый эфир 7,7-дибромметилен-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (8)**. К охлажденному до  $-10$  °С раствору 6.00 г (22.8 ммоль) трифенилфосфина в 40 мл дихлорметана в атмосфере аргона добавляют одной порцией 3.78 г (11.4 ммоль) тетрабромметана. Раствор перемешивают 10 мин при комнатной температуре, охлаждают до  $-70$  °С, после чего к нему приливают предварительно охлажденный до  $-40$  °С раствор 3.00 г (11.4 ммоль) трет-бутилового эфира 3-метил-7-оксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 40 мл дихлорметана. Смесь разогревается до  $-40$  °С, ее перемешивают 15 мин, нагревают до  $-10$  °С и выливают в 100 мл насыщенного раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$  со льдом. Смесь перемешивают до растворения льда и экстрагируют  $2 \times 50$  мл дихлорметана. Органическую фазу промывают охлажденным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:4). Фракции с  $R_f$  0.61 объединяют и упаривают. Выход 1.2 г (24%).

Т. пл. 133–135 °С. Продукт содержит 90% основного вещества, согласно анализу ВЭЖХ (Zorbax RxC<sub>18</sub>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.57 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.09 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.13 и 3.49 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SCH<sub>2</sub>); 5.17 (1H, с, Н-6).

**трет-Бутиловый эфир 7Е-бромметилен-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (9).** К охлажденному до 0 °С раствору 100 мг (23.5 ммоль) трет-бутилового эфира 7-дибромметилен-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 6 мл смеси метанола и тетрагидрофурана (2:1) добавляют 50 мг (0.94 ммоль) хлорида аммония и 31 мг (0.48 ммоль) цинкового порошка. Раствор перемешивают 30 мин при 0 °С и еще 30 мин при комнатной температуре, фильтруют и упаривают при пониженном давлении. Остаток обрабатывают 60 мл диэтилового эфира, промывают 30 мл 5% раствора NaCl, сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:3). Фракции с R<sub>f</sub> 0.17 объединяют и упаривают. Выход 20 мг (24%). Т. пл. 106–108 °С. Вещество содержит 97% основного вещества, согласно анализу ВЭЖХ (Zorbax RxC<sub>18</sub>). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.53 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.04 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.11 и 3.49 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SCH<sub>2</sub>); 5.13 (1H, уш. с, Н-6); 6.66 (1H, уш. с, Н-9).

**трет-Бутиловый эфир 7Е-бромметилен-1,1-диоксо-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (10).** К раствору 1.7 г (4.91 ммоль) трет-бутилового эфира 7Е-бромметилен-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 25 мл дихлорметана при 0 °С и перемешивании добавляют 4.84 г (19.65 ммоль) 70% 3-хлорпербензойной кислоты. Смесь перемешивают при комнатной температуре 4 ч, разбавляют 25 мл дихлорметана, промывают 50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 2×50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:1). Фракции с R<sub>f</sub> 0.52 объединяют и упаривают. Выход 1.30 г (70%). Т. пл. 88–90 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.04 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.55 и 3.77 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.09 (1H, д, <sup>4</sup>J = 0.5, Н-6); 6.93 (1H, д, <sup>4</sup>J = 0.5, Н-9). Найдено, %: С 41.37; Н 4.31; N 3.87. C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>BrNO<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 41.28; Н 4.26; N 3.70.

**трет-Бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7-(3-триметилсилилпропин-2-илиден)цеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (7Е-12).** К суспензии 70 мг (18.5 ммоль) трет-бутилового эфира 7Е-бромметилен-1,1-диоксо-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, 70 мг (0.37 ммоль) CuI и 17 мг аддукта трис(дибензилиден-ацетон)дипалладия(0) с хлороформом в 10 мл N-метилпирролидона в атмосфере аргона добавляют 31 мкл (0.22 ммоль) триметилсилилацетилена и 27 мкл (0.37 ммоль) *i*-Pr<sub>2</sub>NH. Раствор перемешивают 1 сут при комнатной температуре, разбавляют 80 мл диэтилового эфира и промывают 30 мл 5% раствора K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 30 мл 5% раствора NaCl, сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:10). Фракции с R<sub>f</sub> 0.11 объединяют и упаривают. Выход 29 мг (40%). Продукт содержит 97% основного вещества, согласно анализу ВЭЖХ. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 0.20 (9H, с, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Si); 1.55 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.04 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.55 и 3.91 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.11 (1H, с, Н-6); 6.09 (1H, с, Н-9).

**трет-Бутиловый эфир 7,7-дибромметилен-1,1-диоксо-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (13).** К раствору 1.12 г (2.64 ммоль) трет-бутилового эфира 7,7-дибромметилен-3-метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 25 мл дихлор-

метана при 0 °С и перемешивании добавляют 1.62 г (6.60 ммоль) 70% 3-хлорпербензойной кислоты. Смесь перемешивают при комнатной температуре 4 ч, разбавляют 25 мл дихлорметана, промывают 50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, 2×50 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> и сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении и остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:2). Фракции с R<sub>f</sub> 0.27 объединяют и упаривают. Выход 0.70 г (58%). Т. пл. 108–110 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.53 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.06 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.11 и 3.49 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.17 (1H, с, Н-6). Найдено, %: С 34.25; Н 3.46; N 3.15. C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 34.16; Н 3.31; N 3.06.

**трет-Бутиловый эфир 3-метил-1,1-диоксо-7-[1,5-бис(триметилсилил)-1,4-пентадин-3-илиден]цеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (14).** К суспензии 100 мг (22 ммоль) трет-бутилового эфира 7-дибромметилден-3-метил-1,1-диоксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, 130 мг (0.68 ммоль) CuI и 20 мг аддукта трис(добензил-иденацетон)дипалладия(0) с хлороформом в 10 мл N-метилпирролидона в атмосфере аргона добавляют 62 мкл (0.44 ммоль) триметилсилилацетилена и 27 мкл (0.37 ммоль) *i*-Pr<sub>2</sub>NH. Раствор перемешивают 1 сут при комнатной температуре, разбавляют 80 мл диэтилового эфира и промывают 30 мл 5% раствора K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 30 мл 5% раствора NaCl, сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–петролейный эфир, 1:10). Фракции с R<sub>f</sub> 0.36 объединяют и упаривают. Выход 31 мг (28%). Т. пл. 48–50 °С. Продукт содержит 97.5% основного вещества, согласно анализу ВЭЖХ. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 0.22 (18H, с, 2(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Si); 1.53 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.00 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.55 и 3.88 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.17 (1H, с, Н-6).

Смесь трет-бутилового эфира 2*E*-диметиламинометилден-3-метил-1,1-диоксо-7*Z*-(4-хлорфенил)метилденцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (2*E*,7*Z*-16) и трет-бутилового эфира 2*Z*-диметиламинометилден-3-метил-1,1-диоксо-7*Z*-(4-хлорфенил)метилденцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (2*Z*,7*Z*-16). К перемешиваемому раствору 76 мкл (0.97 ммоль) ДМФА и 85 мкл (0.97 ммоль) оксалилхлорида в 10 мл дихлорметана в среде аргона при 0 °С добавляют 100 мг (0.24 ммоль) трет-бутилового эфира 3-метил-1,1-диоксо-7*Z*-(4-хлорфенил)метилденцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты. Через 30 мин перемешивания при 0 °С к реакционной смеси добавляют 79 мкл (0.97 ммоль) пиридина и перемешивают при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь упаривают при пониженном давлении. Остаток растворяют в 20 мл дихлорметана. Полученный раствор промывают 40 мл насыщенного раствора NH<sub>4</sub>Cl и сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–гексан, 2:1). Фракции с R<sub>f</sub> 0.61 объединяют и упаривают. Выход 76 мг (68%). Согласно спектру ЯМР (200 МГц), вещество является смесью 2*E*- и 2*Z*-изомеров в соотношении 3:1. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (200 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 2*Z*,7*Z*-16 – 1.58 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.22 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.33 (6H, с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 5.17 (1H, д, <sup>4</sup>J = 0.2, Н-6); 7.18 (1H, с, =CHNMe<sub>2</sub>); 7.26 (1H, д, <sup>4</sup>J = 0.2, Н-9); 7.38 и 7.60 (4H, два д, <sup>3</sup>J = 8, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 2*E*,7*Z*-16 – 1.54 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.22 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 3.06 (6H, с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 5.17 (1H, д, <sup>4</sup>J = 0.2, Н-6); 7.26 (1H, д, <sup>4</sup>J = 0.2, Н-9); 7.28 (1H, с, =CHNMe<sub>2</sub>); 7.38 и 7.60 (4H, два д, <sup>3</sup>J = 8, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>). ESI-MS (MeCN): 487 [MNa<sup>+</sup>].

Смесь трет-бутилового эфира 2*E*-диметиламинометилден-3-метил-1,1-диоксо-7*E*-(4-хлорфенил)метилденцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (2*E*,7*E*-16) и трет-бутилового эфира 2*Z*-диметиламинометилден-3-метил-1,1-диоксо-7*E*-(4-хлорфенил)метилденцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (2*Z*,7*E*-16) получают по выше упомянутой методике с использованием трет-бутилового эфира 3-метил-

1,1-диоксо-7Z-(4-хлорфенил)метилцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты и выделяют

из фракций (элюент этилацетат–гексан, 2:1) с  $R_f$  0.48. Выход 57 мг (51%). Согласно спектру ЯМР (200 МГц), вещество является смесью 2E- и 2Z-изомеров в соотношении 4:1. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 2Z,7Z-16 – 1.55 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.26 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.32 (6H, с,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 5.12 (1H, с, H-6); 6.73 (1H, с, H-9); 7.17 (1H, с,  $=\text{CHNMe}_2$ ); 7.40 и 7.94 (4H, два д,  $^3J = 8$ ,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 2E,7Z-16 – 1.55 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.26 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.02 (6H, с,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 5.12 (1H, с, H-6); 6.73 (1H, с, H-9); 7.24 (1H, с,  $=\text{CHNMe}_2$ ); 7.40 и 7.94 (4H, два д,  $^3J = 8$ ,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ). ESI-MS ( $\text{MeCN}$ ): 487 [ $\text{MNa}^+$ ].

**7Z-Ацетилметилен-3-метил-1,1-диоксоцеф-3-ем (7Z-18).** К раствору 341 мг (1.00 ммоль) *трет*-бутилового эфира 7Z-ацетилметилен-3-метил-1,1-диоксоцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 30 мл дихлорметана при 0 °C добавляют 2 мл (38 ммоль) трифторуксусной кислоты. Смесь перемешивают 1 ч при комнатной температуре, разбавляют 100 мл дихлорметана и 100 мл воды. Органическую фазу отделяют и экстрагируют 40 мл 5% раствора  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Водный экстракт подкисляют конц.  $\text{HCl}$  до pH 2 и экстрагируют 100 мл этилацетата. Экстракт упаривают при пониженном давлении. Остаток растворяют в смеси 20 мл ацетона и 2 мл *N*-метилморфолина. Раствор перемешивают при комнатной температуре 1 ч и растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем (элюент этилацетат–гексан, 1:2). Фракции с  $R_f$  0.12 объединяют и упаривают. Т. пл. 135–137 °C, выход 181 мг (75%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.82 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 2.42 (3H, с,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ); 3.48 и 4.03 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 5.58 (1H, с, H-6); 6.57 (1H, с, H-9); 6.85 (1H, с, 4-H). Найдено, %: C 49.91; H 4.77; N 5.89.  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_4\text{S}$ . Вычислено, %: C 49.78; H 4.60; N 5.81.

**Определение цитотоксической активности *in vitro*.** Цитотоксические свойства синтезированных веществ в отношении культур монослойных раковых и нормальных клеток при  $c = (2-5) \cdot 10^4$  клеток/мл: HT-1080 (фибросаркома человека), MG-22A (мышинная гепатома), 3T3 (эмбриональные фибробласты мыши), определяли на 96 луночных пластиковых панелях с использованием красителей CV, MTT, NR в соответствии с методиками [6].

**Генерация клетками NO радикалов.** Определение концентрации радикалов оксида азота в клеточной среде по Грейсу [7] проводили на 96 луночных пластиковых панелях. Полученные концентрации (нмоль) NO радикалов в культуральной среде с выжившими клетками после инкубации в течение 72 ч в присутствии тестируемого вещества при  $c = 50$  мкг/мл в лунке объемом 200 мкл использовали для вычисления значений специфической NO генерирующей активности соединений ( $\text{TG}_{100}$ ):

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

где:  $G$  – концентрация NO (нмоль) в культуральной среде объемом 200 мкл с выжившими клетками;  $C$  – процент выживших клеток, определенный при их окрашивании CV.

*Работа выполнена при содействии Европейского социального фонда в рамках проекта "Поддержка развития докторантуры РТУ" Национальной программы "Содействие осуществлению программ докторантуры и исследований после нее".*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. G. Veinberg, M. Vorona, I. Shestakova, I. Kanepē, O. Zharkova, R. Mezapuke, I. Turovskis, I. Kalvinsh, E. Lukevics, *Bioorg. Med. Chem.*, **8**, 1033 (2000).
2. М. Ворона, Г. Вейнберг, С. Бемяков, М. Петрова, Э. Лиепиньш, Э. Лукевиц, *ХТС*, 618 (2008).
3. J. D. Buynak, K. Wu, B. Bachman, D. Khasnis, L. Hua, H. K. Nguyen, C. L. Carver, *J. Med. Chem.*, **38**, 1022 (1995).
4. М. Ворона, Г. Вейнберг, И. Шестакова, И. Канепе, И. Поторочина, К. Диковская, Р. Бокалдере, М. Петрова, Э. Лиепиньш, Э. Лукевиц, *ХТС*, 769 (2007). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **43**, 646 (2007)].
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. P. J. Freshney, in: *Culture of Animal Cells (A Manual of Basic Technique)*, Wiley-Liss, New York, 1994, p. 296.
7. D. J. Fast, R. C. Lynch, R. W. Leu, *J. Leukocyt. Biol.*, **52**, 255 (1992).

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

Поступило 10.04.2008