

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

### СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 3-МЕТИЛ-1,1-ДИОКСО- 7 $\alpha$ -ХЛОРЦЕФ-3-ЕМОВ, ЗАМЕЩЕННЫХ В ПОЛОЖЕНИИ 4 АМИДНОЙ ИЛИ КЕТОГРУППАМИ

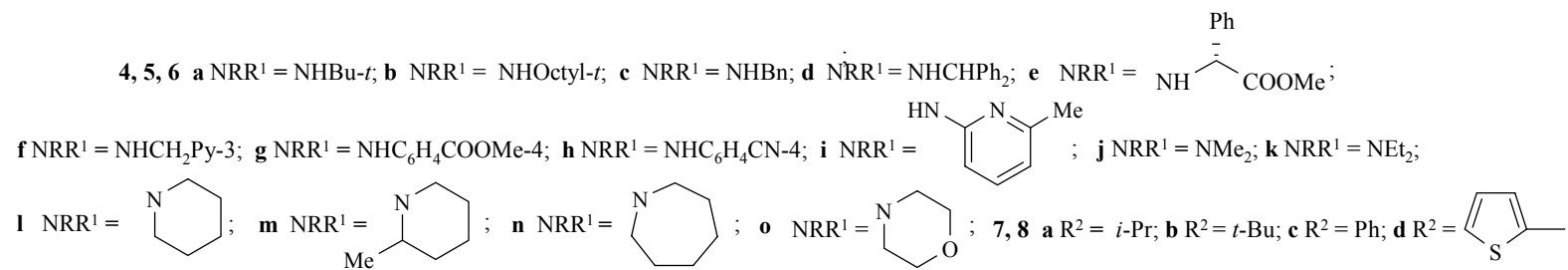
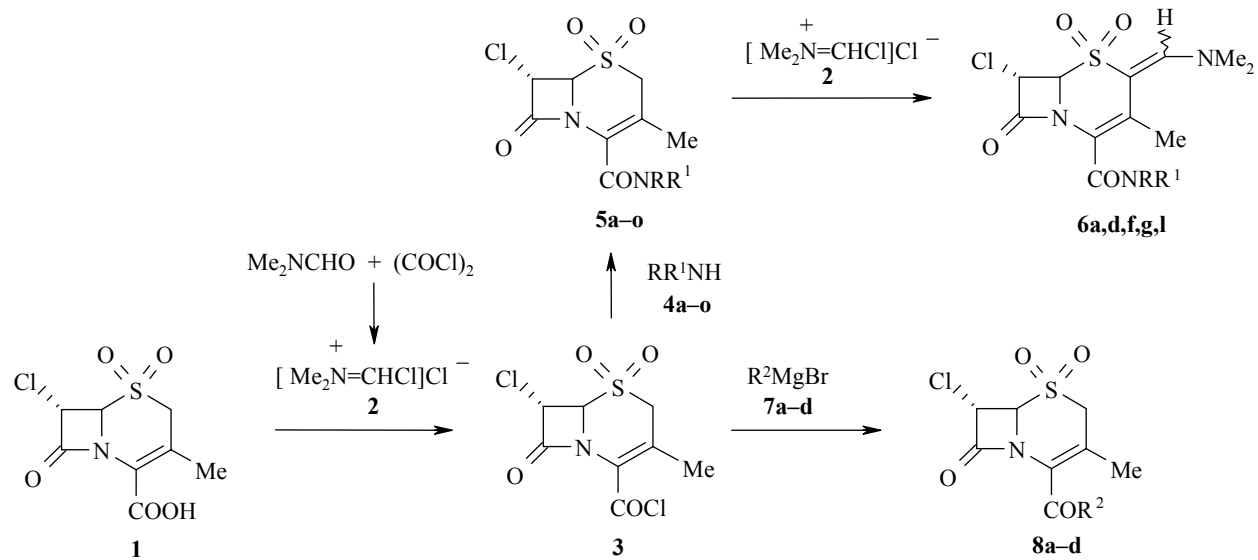
В результате структурной модификации 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты синтезированы 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-емы с амидной или кетогруппой в положении 4. Их скрининг на цитотоксическую активность выявил соединения, обладающие избирательной активностью в отношении раковых клеток *in vitro*, способные также эффективно тормозить рост саркомы S-180 *in vivo*.

**Ключевые слова:** амиды 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, амиды 2-(N,N-диметиламинометил)-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, 4-ацил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-емы, цитотоксическая активность.

Ранее нами показано, что интенсивность и селективность цитотоксических свойств *in vitro* сложных эфиров 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в отношении раковых и нормальных клеток зависят от строения заместителя в положении 4 [1]. В продолжение работы мы синтезировали и изучили цитотоксическую активность 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-емов с амидной и кетогруппой в положении 4, отдельные представители которых, согласно литературным данным, являются эффективными ингибиторами лейкоцитарной эластазы человека [2, 3].

Амиды 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **5a–o** были получены, исходя из 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**1**), превращением карбоксильной группы с помощью реагента Вильсмайера **2** в хлорангидрид **3**, который без выделения подвергался обработке соответствующими моно- или дизамещенными аминами **4a–o** (схема). При этом, наряду с амидами 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты **5a–o**, при использовании *трет*-бутиламина **4a**, бензгидриламина **4d**, 3-пиридилметиламина **4f**, *пара*-метоксикарбониланилина **4g** и пиперидина **4l**, из реакционной среды были выделены цефемы **6a,d,f,g,l**, содержащие N,N-диметиламинометиленовую группу в положении 2.

По аналогии с данными спектров ЯМР  $^1\text{H}$  эфиров 2-N,N-диметиламинометил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты [1], характерное смещение сдвигов резонансных сигналов протонов  $=\text{CN}(\text{CH}_3)_2$  в *E*-изомерах в район 3.00–3.10 м. д. и в *Z*-изомерах в район 3.30–3.35 м. д.



свидетельствует о том, что группа =CHN(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> в цефемах **6a,d,l** представлена смесью *E*- и *Z*-изомеров, а в цефемах **6f,g** находится преимущественно в *E*-изомерной форме.

Трансформация хлорангида 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (**3**) в 4-кетозамещенные цефемы **8a–d** с помощью реагентов Гриньяра **7a–d** была реализована согласно методике, приведенной в работе [3]. В дополнение к ресинтезированным соединениям **8b** и **8c** были получены новые цефемы **8a** и **8d** с изопропилкарбонильным и 2-тиенилкарбонильным заместителями в положении 4 (схема).

Биологическое изучение синтезированных амидов и кетонов **5**, **6** и **8** включало:

а) скрининг на цитотоксическую активность *in vitro* в отношении монослойных линий раковых клеток HT-1080 (фибросаркома человека) и MG-22A (мышинная гепатома), B16 (мышинная меланома) и Neuro 2A (мышинная нейробластома);

б) скрининг на цитотоксическую активность *in vitro* в отношении монослойных линий нормальных клеток 3Т3 (эмбриональные фибробласты мыши) и ВНК (Baby Hamster Kidney – фибробласты почек золотистого хомяка);

в) определение специфической способности соединений инициировать биосинтез радикалов оксида азота в клеточной среде;

г) вычисление значений ожидаемой токсичности тестируемых соединений LD<sub>50</sub> (мг/кг) [4];

д) изучение противораковой активности в экспериментах *in vivo* на мышях с привитой быстрорастущей опухолью В16 (меланома) и медленно-растущей опухолью S-180 (саркома).

На основании данных цитотоксического скрининга *in vitro* в отношении раковых и нормальных клеток, а также вычисленных значений ожидаемой токсичности, тестируемые соединения были разделены на три группы.

I группа – малоактивные соединения, цитотоксическая активность которых в отношении тестируемых раковых клеток (LC<sub>50</sub>) находится в интервале от 15 до 100 мкг/мл. К ним относятся 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-емы **5b** и **5i**, амидная группа которых содержит *трет*-октил- и 6-метилпиридильную группы, а также 2-N,N-диметиламинометил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-емы **6g** и **6l** с амидной группой, синтезированной с помощью 4-метоксикарбониланилина и пиперидина.

II группа (табл. 1) – цефемы **5a,c–e,k–n**, **6d**, синтезированные с использованием *трет*-бутиламина, бензиламина, бензгидриламина, метилового эфира *R*-фенилглицина, диэтиламина, пиперидина, 2-метилпиперидина и гексаметиленмина, проявившие высокую цитотоксичность как в отношении раковых HT-1080, MG-22A, так и нормальных клеток 3Т3 и, как следствие, характеризующихся низкими значениями LD<sub>50</sub> (344–597 мг/кг).

III группа (табл. 2) – 2-замещенные и незамещенные 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-емы **6a,f**, **5g,h,j,o**, амидная группа которых получена с использованием *трет*-бутиламина, 3-пиридилметиламина, *пара*-метокси-

**Цитотоксическая активность *in vitro* амидов  
3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты\***

Соединение	Цитотоксическая активность, LC <sub>50</sub> , мкг/мл							LD <sub>50</sub> , мг/кг
	HT-1080			MG-22A			3ТЗ	
	CV	МТТ	TG <sub>100</sub>	CV	МТТ	TG <sub>100</sub>	NR	
<b>5a</b>	1	2	200	2	3	250	49	597
<b>5c</b>	3	5	700	2	3	350	12	344
<b>5d</b>	0.4	0.6	500	2	2	650	21	487
<b>6d</b>	3	2	400	3	2	300	14	438
<b>5e</b>	2	2	50	2	7	100	29	537
<b>5k</b>	6	12	500	2	2	250	30	481
<b>5l</b>	3	3	15	0.4	0.2	100	40	559
<b>5m</b>	15	12	100	9	7	150	27	486
<b>5n</b>	6	7	650	2	1	500	15	373

\* Здесь и далее: LC<sub>50</sub> – концентрация, обеспечивающая гибель 50% клеток; CV – окрашивание кристаллическим фиолетовым; МТТ – 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.

карбониланилина, *para*-цианоанилина, диметиламина и морфолина. Их цитотоксичность в отношении всех или части тест-культур раковых клеток значительно превысила таковую в отношении нормальных клеток ВНК-21 и 3ТЗ. Проявленная селективность привела к снижению токсичности этих соединений до значений LD<sub>50</sub> 718–1376 мг/кг.

Цитотоксический эффект тестированных амидов **5** и **6**, подобно ранее изученным эфирам 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты [1], взаимосвязан с их способностью генерировать в клеточной среде радикалы оксида азота. Высокая цитотоксичность соединений сопровождается, как правило, повышенной генерацией NO радикалов и наоборот.

Для всех 3-метил-1,1-диоксо-4-изопропилкарбонил-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-емов, замещенных в положении 4 кетогруппой **8a–d**, характерны высокая селективность цитотоксического эффекта в отношении раковых и нормальных клеток и, как следствие, низкая токсичность LD<sub>50</sub>: 671–1313 мг/кг (табл. 2). Об этом свидетельствуют также данные противораковой активности 3-метил-1,1-диоксо-4-(2-тиенилкарбонил)-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ема (**8d**) *in vivo* в опытах на мышах с привитой опухолью. Из данных табл. 3 видно, что в случае медленно растущей саркомы S-180 ежедневное введение животным испытуемого вещества в дозах 5 и 10 мг/кг тормозило рост опухоли на 75–76%. Однако в случае быстро растущей меланомы В16 терапевтический эффект **8d** в этих же дозах оказался в 2–4 раза менее выраженным.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что превращение карбоксильной группы в положении 4 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ема в амидную или кетогруппу является перспективным направлением поиска новых противораковых веществ, механизм действия

Таблица 2

Цитотоксическая активность *in vitro* 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцефемов с амидной и кетогруппами в положении 4

Соединение	Цитотоксическая активность, LC <sub>50</sub> , (мкг/мл)															LD <sub>50</sub> , мг/кг
	HT-1080			MG-22A			B16			Neuro2A			BHK-21		3T3	
	CV	MTT	TG <sub>100</sub>	CV	MTT	TG <sub>100</sub>	CV	MTT	TG <sub>100</sub>	CV	MTT	TG <sub>100</sub>	CV	MTT	NR	
<b>6a</b>	6	6	200	3	7	250	26	18	640	5	5	64	33	32	179	1146
<b>6f</b>	17	18	450	9	19	700	110	124	124	13	1.1	36	–*	–*	157	1138
<b>5g</b>	7	15	250	2	1	100	10	25	100	57	100	7	21	33	69	786
<b>5h</b>	8	3	500	1	0.2	200	10	25	33	45	100	33	21	29	63	718
<b>5j</b>	2	2	250	11	7	300	6	1	56	10	10	15	10	10	105	790
<b>5o</b>	28	9	260	0.4	0.6	150	20	30	100	>100	>100	2	>100	>100	316	1376
<b>8a</b>	2	3	450	3	3	600	39	26	50	0.8	2	113	3	4	72	671
<b>8b</b>	3	5	200	3	3	200	19	6	350	1	9	100	34	28	277	1235
<b>8c</b>	14	35	300	4	9	250	18	12	100	13	35	69	–*	–*	65	854
<b>8d</b>	6	10	500	4	4	650	25	29	131	2	10	850	37	47	287	1313

\* Не тестировалось.

**Терапевтическая активность *in vivo***  
**3-метил-1,1-диоксо-4-(2-тиенилкарбонил)-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ема (8d)**

График введения по дням	Дневная доза, мг/кг	Общая доза, мг	Торможение роста опухоли, GI%			
			S-180		B-16	
			9 день	11 день	9 день	11 день
1, 2, 3, 4, 7, 8	10	60	83	76	51	32
1, 2, 3, 4, 7, 8	5	30	78	75	25	17

которых, вследствие их структурного подобия с ингибиторами лейкоцитарной эластазы человека, может быть отнесен к ингибированию специфических эластаз, способствующих росту и пролиферации раковых клеток [5–7].

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  зарегистрированы на спектрометре Bruker WH90/DS (90 МГц для  $^1\text{H}$ ), Varian-Mercury BB (200 МГц для  $^1\text{H}$ ), Varian-Mercury Plus (400 и 100 МГц для  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  соответственно) в  $\text{CDCl}_3$ , внутренний стандарт ТМС. Элементный анализ выполнен на анализаторе Carlo Erba 1108 и отличие экспериментальных от расчетных значений составляло  $\pm 0.4\%$ . Контроль за ходом реакции осуществлялся методом ТСХ на пластинках Merck Kieselgel с 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 мм), заполненной фазой Symmetry  $\text{C}_{18}$  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. Оптическая плотность в биологических тестах, проводимых на 96-луночных панелях, определялась горизонтальным спектрофотометром Tetretek Multiscan MCC/340.

**Получение амидов 3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты и 2E-(N,N-диметиламинометилена)-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты (5, 6)** (общая методика). К перемешиваемой суспензии 300 мг (1.13 ммоль) сульфона 3-метил-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 20 мл дихлорметана при комнатной температуре добавляют смесь, состоящую из 430 мкл (3.39 ммоль) оксалилхлорида и 4 мкл ДМФА. 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-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, растворяют в 15 мл дихлорметана. К полученному раствору, охлажденному до –5 °С, прибавляют 2.8 ммоль амина 4. Реакционную смесь перемешивают 30 мин при комнатной температуре и 30 мин при 40 °С, разбавляют 40 мл дихлорметана, промывают 2 $\times$ 20 мл 5% HCl и сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем и получают амиды 5, а также их производные 6, содержащие N,N-диметиламинометиленовую группу в положении 2.

**4-N-трет-Бутиламинокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (5a)** получают с использованием трет-бутиламина 4a по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с  $R_f$  0.33. Т. пл. 100–102 °С, выход 47 мг (13%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.40 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 1.95 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.62 и 4.00 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 4.88 (1H, уш с, H-6); 5.31 (1H, д,  $^3J = 0.5$ , H-7); 6.44 (1H, уш. с, NH). Найдено, %: С 44.98; Н 5.44; N 8.80.  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{S}$ . Вычислено, %: С 44.93; Н 5.34; N 8.73.

Смесь **2(E)-4-N-трет-бутиламинокарбонил-2-(N,N-диметиламинометил)-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ема (E-6a)** и **2(Z)-4-N-трет-бутиламинокарбонил-2-(N,N-диметиламинометил)-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ема (Z-6a)** (4:1) получают с использованием трет-бутиламина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с  $R_f$  0.18, выход 64 мг (15%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): **E-6a** – 1.41 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.08 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.05 (6H, с,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 4.77 (1H, д,  $^3J = 2$ , H-6); 5.08 (1H, д,  $^3J = 2$ , H-7); 6.15 (1H, уш. с, NH); 7.21 (1H, с,  $=\text{CHNMe}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м. д.: 21.40 ( $\text{CH}_3$ ); 28.46 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ); 43.32 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 52.01 ( $\underline{\text{C}}\text{Me}_3$ ); 55.63 (C-7); 75.39 (C-6); 98.51 (C-2); 126.42 (C-4); 131.11 (C-3); 148.46 ( $\underline{\text{C}}\text{HNMe}_2$ ); 160.91 (CONH); 162.75 (C-8). **Z-6a** – 1.41 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.22 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.29 (6H, с,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 4.55 (1H, уш. с, H-6); 5.25 (1H, уш. с, H-7); 6.88 (1H, уш. с, NH); 6.89 (1H, с,  $=\text{CHNMe}_2$ ). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м. д.: 17.86 ( $\text{CH}_3$ ); 28.46 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ); 46.67 ( $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 52.09 ( $\underline{\text{C}}\text{Me}_3$ ); 55.60 (C-7); 71.09 (C-6); 99.74 (C-2); 117.82 (C-4); 124.74 (C-3); 149.34 ( $\underline{\text{C}}\text{HNMe}_2$ ); 159.48 (C-8); 161.49 (CONH). Найдено, %: C 48.05; H 6.11; N 11.22.  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ . Вычислено, %: C 47.93; H 5.90; N 11.18.

**4-N-(1,1,3,3-Тетраметилбутил)аминокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (5b)** получают с использованием трет-октиламина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с  $R_f$  0.47. Т. пл. 102–104 °С, выход 255 мг (60%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.00 (9H, с, 3- $\text{CH}_3$  octyl); 1.46 (6H, с, 2 $\text{CH}_3$  octyl); 1.77 (2H, д,  $^2J = 6$ ,  $\text{CH}_2$  octyl); 2.02 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.57 и 3.86 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 4.71 (1H, уш. с, H-6); 5.26 (1H, д,  $^3J = 2$ , H-7); 6.42 (1H, уш. с, NH). Найдено, %: C 51.22; H 6.80; N 7.40.  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ . Вычислено, %: C 50.99; H 6.69; N 7.43.

**4-N-Бензиламинокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (5c)** получают с использованием бензиламина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с  $R_f$  0.08. Т. пл. 71–73 °С, выход 100 мг (25%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 2.00 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.63 и 3.89 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 4.51 (2H, д,  $^3J = 6$ ,  $\text{CH}_2$  бензил); 4.73 (1H, уш. с, H-6); 5.22 (1H, д,  $^3J = 2$ , H-7); 7.06 (1H, уш. с, NH); 7.33 (5H, с,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ). Найдено, %: C 50.89; H 4.31; N 7.95.  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ . Вычислено, %: C 50.78; H 4.26; N 7.90.

**4-N-Бензгидриламинокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (5d)** получают с использованием бензгидриламина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:3) с  $R_f$  0.43. Т. пл. 152–154 °С, выход 195 мг (40%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.93 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.33 и 3.88 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 4.73 (1H, уш. с, H-6); 5.28 (1H, д,  $^3J = 2$ , H-7); 6.28 (1H, д,  $^3J = 8$ ,  $\text{CHPh}_2$ ); 7.08–7.60 (11H, м, 2 $\text{C}_6\text{H}_5$ , NH). Найдено, %: C 58.72; H 4.63; N 6.57.  $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ . Вычислено, %: C 58.53; H 4.44; N 6.50.

Смесь **2(E)-4-N-бензгидриламинокарбонил-2-(N,N-диметиламинометил)-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ема (E-6d)** и **2(Z)-4-N-бензгидриламинокарбонил-3-метил-2-(N,N-диметиламинометил)-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ема (Z-6d)** (2:1) получают с использованием бензгидриламина **4d** по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с  $R_f$  0.18, выход 71 мг (13%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): **E-6d** – 2.26 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.04 (6H, с,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 4.77 (1H, д,  $^3J = 1$ , H-6); 5.12 (1H, д,  $^3J = 1$ , H-7); 6.26 (1H, д,  $^3J = 8$ ,  $\text{CHPh}_2$ ); 6.80–7.66 (12H, м, 2 $\text{C}_6\text{H}_5$ , NH,  $=\text{CHNMe}_2$ ); **Z-6d** – 2.31 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.33 (6H, с,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 4.55 (1H, уш. с, H-6); 5.26 (1H, уш. с, H-7); 6.26 (1H, д,  $^3J = 8$ ,  $\text{CHPh}_2$ ); 6.80–7.66 (12H, м, 2 $\text{C}_6\text{H}_5$ , NH,  $=\text{CHNMe}_2$ ). Найдено, %: C 59.55; H 5.09; N 8.71.  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$ . Вычислено, %: C 59.31; H 4.98; N 8.65.

**4-N-(1(R)-Метоксикарбонил)бензиламинокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (5e)** получают с использованием метилового эфира *R*-фенилглицина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с  $R_f$  0.34. Аморфное вещество, содержит 98% основного вещества, согласно анализу ВЭЖХ, выход 28 мг (6%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 2.04 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.63 и 3.90 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 3.75 (3H, с,  $\text{OCH}_3$ ); 4.77 (1H, уш. с, H-6); 5.29 (1H, д,  $^3J = 2$ , H-7); 5.63 (1H, д,  $^3J = 7$ ,  $\text{CHPh}$ ); 7.38 (5H, с,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 7.60 (1H, д,  $^3J = 7$ , NH).

**4-N-(3-Пиридилметил)аминокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (5f)** получают с использованием 3-пиридилметиламина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 3:1) с  $R_f$  0.32. Аморфное вещество, содержит 98% основного вещества, согласно анализу ВЭЖХ, выход 36 мг (9%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 2.02 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.60 и 3.95 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 19$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 4.55 (2H, д,  $^3J = 6$ ,  $\text{CH}_2\text{Py}$ ); 4.77 (1H, уш. с, H-6); 5.29 (1H, уш. с, H-7); 7.26–7.42 (1H, м, H-5 Py);

7.51–7.80 (2H, м, NH, H-4 Py); 8.37–8.66 (2H, м, H-2,6 Py). Найдено, %: С 47.39; Н 4.06; N 11.95. C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 47.26; Н 3.97; N 11.81.

**2(E)-(N,N-Диметиламинометил)-3-метил-4-N-(3-пиридилметил)аминокарбонил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем (E-6f)** получают с использованием 3-пиридилметиламина по общей методике и выделяют из фракций (элюент CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–EtOH, 1:1) с R<sub>f</sub> 0.55. Маслянистое вещество, содержит 98% основного вещества, согласно анализу ВЭЖХ, выход 32 мг (7%). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 2.24 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.08 (6H, с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4.48 (2H, д, <sup>3</sup>J = 8, CH<sub>2</sub>Py); 4.77 (1H, уш. с, H-6); 5.06 (1H, уш. с, H-7); 7.11–7.33 (2H, м, =CHNMe<sub>2</sub> и H-5 Py); 7.51–7.80 (2H, м, NH, H-4 Py); 8.35–8.64 (2H, м, H-2,6 Py). Найдено, %: С 49.78; Н 4.51; N 13.70. C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 49.69; Н 4.66; N 13.64.

**4-N-(4-Метоксикарбонилфенил)аминокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем (5g)** получают с использованием 4-метоксикарбониланилина **4g** по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R<sub>f</sub> 0.16. Т. пл. 226–228 °С, выход 63 мг (14%). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 2.11 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.68 и 4.00 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 3.88 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4.80 (1H, уш. с, H-6); 5.37 (1H, д, <sup>3</sup>J = 0.5, H-7); 7.64 и 8.04 (4H, два д, <sup>3</sup>J = 8, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 9.13 (1H, уш. с, NH). Найдено, %: С 48.23; Н 3.84; N 7.11. C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S. Вычислено, %: С 48.19; Н 3.79; N 7.02.

**2(E)-(N,N-Диметиламинометил)-4-N-(4-метоксикарбонилфенил)аминокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем (E-6g)** получают с использованием 4-метоксикарбониланилина **4g** по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R<sub>f</sub> 0.05. Т. пл. 207–210 °С, выход 31 мг (6%). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 2.60 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.08 (6H, с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3.88 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4.84 (1H, уш. с, H-6); 5.18 (1H, уш. с, H-7); 7.24 (1H, с, CHNMe<sub>2</sub>); 7.64 и 7.97 (4H, два д, <sup>3</sup>J = 8, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 8.84 (1H, уш. с, NH). Найдено, %: С 50.36; Н 4.52; N 9.11. C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S. Вычислено, %: С 50.28; Н 4.44; N 9.26.

**4-N-(4-Цианофенил)аминокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем (5h)** получают с использованием 4-цианоанилина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R<sub>f</sub> 0.18. Т. пл. 220 °С, выход 45 мг (11%). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м. д. (J, Гц): 1.86 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 4.26 (2H, с, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.53 (1H, уш. с, H-6); 5.88 (1H, д, <sup>3</sup>J = 0.5, H-7); 7.82 (4H, уш. с, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 11.02 (1H, уш. с, NH). Найдено, %: С 49.37; Н 3.40; N 11.55. C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 49.25; Н 3.31; N 11.49.

**4-N-(6-Метил-2-пиридил)аминокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем (5i)** получают с использованием 2-амино-6-метилпиридина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R<sub>f</sub> 0.24. Маслянистое вещество, содержит >97% основного вещества, согласно анализу ВЭЖХ, выход 28 мг (7%). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.98 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 2.37 (3H, с, CH<sub>3</sub> Py); 3.62 и 4.02 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.84 (1H, уш. с, H-6); 5.37 (1H, д, <sup>3</sup>J = 0.5, H-7); 6.95 (1H, д, <sup>3</sup>J = 8, H-5 Py); 7.62 (1H, т, <sup>3</sup>J = 8, H-4 Py); 8.04 (1H, д, <sup>3</sup>J = 8, H-3 Py); 9.70 (1H, уш. с, NH).

**4-N,N-Диметиламинокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем (5j)** получают с использованием диметиламина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 3:1) с R<sub>f</sub> 0.42. Т. пл. 133 °С (разл.), выход 46 мг (14%). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (200 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 2.16 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.02 и 3.07 (6H, два с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3.51 и 3.97 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.87 (1H, д, <sup>3</sup>J = 1.6, H-6); 5.31 (1H, д, <sup>3</sup>J = 1.6, H-7). Найдено, %: С 41.28; Н 4.61; N 9.65. C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 41.03; Н 4.48; N 9.57.

**4-N,N-Диэтиламинокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем (5k)** получают с использованием диэтиламина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R<sub>f</sub> 0.25. Т. пл. 198–201 °С (разл.), выход 94 мг (26 %). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.08 и 1.20 (6H, два т, <sup>3</sup>J = 7, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1.77 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.17–3.55 (4H, м, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3.48 и 4.02 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.86 (1H, уш. с, H-6); 5.28 (1H, д, <sup>3</sup>J = 1.5, H-7). Найдено, %: С 45.16; Н 5.48; N 8.80. C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 44.93; Н 5.34; N 8.73.

**4-N-Пиперидилкарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7α-хлорцеф-3-ем (5l)** получают с использованием пиперидина **4l** по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат) с R<sub>f</sub> 0.42. Т. пл. 187–189 °С, выход 45 мг (12%). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (90 МГц), δ, м. д. (J, Гц): 1.45–1.70 (6H, м, 3-CH<sub>2</sub>, 4-CH<sub>2</sub> и 5-CH<sub>2</sub> пиперидин); 1.75 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.26–3.77 (4H, м, 2-CH<sub>2</sub> и 6-CH<sub>2</sub> пиперидин); 3.57 и 4.05 (2H, два д, АВ-система, <sup>2</sup>J = 18, SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.94 (1H, уш. с, H-6); 5.33 (1H, д, <sup>3</sup>J = 1.5, H-7). Найдено, %: С 47.17; Н 5.25; N 8.49. C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 46.92; Н 5.15; N 8.42.



Смесь **2(E)-(N,N-диметиламинометил)-4-N-пиперидинилкарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ема (E-6I)** и **2(Z)-(N,N-диметиламинометил)-4-N-пиперидинилкарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ема (Z-6I)** (3:1) получают с использованием пиперидина **4I** по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат) с  $R_f$  0.14, выход 22 мг (5 %). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): **E-6I** – 1.34–1.70 (6H, м, 3-CH<sub>2</sub>, 4-CH<sub>2</sub> и 5-CH<sub>2</sub> пиперидин); 1.73 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.04 (6H, с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3.20–3.71 (4H, м, 2-CH<sub>2</sub> и 6-CH<sub>2</sub> пиперидин); 4.73 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , H-6); 5.06 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , H-7); 7.24 (1H, с, =CHNMe<sub>2</sub>); **Z-6I** – 1.34–1.70 (6H, м, 3-CH<sub>2</sub>, 4-CH<sub>2</sub> и 5-CH<sub>2</sub> пиперидин); 1.90 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.25 (6H, с, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3.20–3.71 (4H, м, 2-CH<sub>2</sub> и 6-CH<sub>2</sub> пиперидин); 4.73 (1H, уш. с, H-6); 5.23 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , H-7); 6.78 (1H, с, =CHNMe<sub>2</sub>). Найдено, %: С 49.66; Н 5.81; N 10.78. C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 49.54; Н 5.72; N 10.83.

**4-N-(2-Метилпиперидинил)карбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (5m)** получают с использованием 2-метилпиперидина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 2:1) с  $R_f$  0.22. Т. пл. 128–130 °С, выход 47 мг (12%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.04–1.33 (4H, м, 3-CH<sub>2</sub>, 4-CH<sub>2</sub> пиперидин); 1.33–1.68 (5H, м, 5-CH<sub>2</sub>, 2-CH<sub>3</sub> пиперидин); 1.71 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 2.62–3.26 (2H, м, 6-CH<sub>2</sub> пиперидин); 3.44 и 4.00 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ , SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.20–4.58 (1H, м, 2-CH пиперидин); 4.88 (1H, уш. с, H-6); 5.24 (1H, уш. с, H-7). Найдено, %: С 48.60; Н 5.71; N 8.15. C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 48.48; Н 5.52; N 8.08.

**4-N-Гексаметилениминокарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (5n)** получают с использованием гексаметиленимина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с  $R_f$  0.08. Т. пл. 179–181 °С, выход 153 мг (39%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.46–2.00 (8H, м, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>- гексаметиленимин); 1.75 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.33–3.73 (4H, м, -CH<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>- гексаметиленимин); 3.53 и 4.02 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ , SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.91 (1H, уш. с, H-6); 5.35 (1H, д,  $^3J = 1.0$ , H-7). Найдено, %: С 48.63; Н 5.59; N 8.21. C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 48.48; Н 5.52; N 8.08.

**4-N-Морфолинилкарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (5o)** получают с использованием морфолина по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат) с  $R_f$  0.08. Т. пл. 153–155 °С, выход 23 мг (6%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.75 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.31–4.00 (8H, м, 4CH<sub>2</sub> морфолин); 3.80, 4.00 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ , SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.88 (1H, уш. с, H-6); 5.31 (1H, д,  $^3J = 1.0$ , H-7). Найдено, %: С 43.28; Н 4.70; N 8.45. C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 43.05; Н 4.52; N 8.37.

**Получение 4-ацил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-емов (8)** (общая методика). К перемешиваемой суспензии 300 мг (1.13 ммоль) сульфона 3-метил-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты в 20 мл дихлорметана при комнатной температуре добавляют смесь, состоящую 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-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем-4-карбоновой кислоты, растворяют в 15 мл ТГФ. К полученному раствору добавляют 215 мг (1.13 ммоль) CuI. Суспензию охлаждают до –100 °С и в течение 30 мин в атмосфере аргона к ней добавляют 10 мл эфирного раствора реагента Гриньяра (приготовленного добавлением к магнию 0.376 ммоль соответствующего алкил-, фенил- или 2-тиенилбромид). Температуру реакционной смеси повышают до –40 °С, после чего ее выливают в 200 мл смеси льда, эфира и 30% водного раствора NH<sub>4</sub>Cl. Органическую фазу отделяют, промывают 2×20 мл 5% NaHCO<sub>3</sub> и NaCl и сушат над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем и получают 4-ацилзамещенные цефемы **8**.

**4-Изопропилкарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (8a)** получают с использованием изопропилбромид по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с  $R_f$  0.75. Т. пл. 160–162 °С, выход 20 мг (6 %). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (90 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.40 и 1.48 (6H, два д,  $^3J = 6$ , 2CH<sub>3</sub>); 2.11 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.64 и 3.95 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ , SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.73 (1H, уш. с, H-6); 5.01–5.32 (1H, м, CHMe<sub>2</sub>); 5.26 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , H-7). Найдено, %: С 45.36; Н 4.91; N 4.86. C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>ClNO<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 45.28; Н 4.84; N 4.80.

**4-трет-Бутилкарбонил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (8b)** получают с использованием трет-бутилбромид по методике, приведенной в работе [3]. Выход 45 мг (13 %). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.53 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 2.07 (3H, с, 3-CH<sub>3</sub>); 3.65 и 3.88 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ , SO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 4.71 (1H, уш. с, H-6); 5.26 (1H, уш. с, H-7).

**4-Бензил-3-метил-1,1-диоксо-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (8с)** получают с использованием бромбензола по методике, приведенной в работе [3]. Выход 26 мг (7%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.69 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.65 и 4.04 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 4.93 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , Н-6); 5.34 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , Н-7); 7.46–7.77 (3H, м, Н-3, Н-5, Ph); 7.87–8.05 (2H, м, Н-2, Н-6, Ph).

**3-Метил-1,1-диоксо-4-(2-тиенилкарбонил)-7 $\alpha$ -хлорцеф-3-ем (8d)** получают с использованием 2-бромтиофена по общей методике и выделяют из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:3) с  $R_f$  0.08. Т. пл. 183–185 °С, выход 64 мг (17%). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (200 МГц),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.80 (3H, с, 3- $\text{CH}_3$ ); 3.66 и 4.00 (2H, два д, АВ-система,  $^2J = 18$ ,  $\text{SO}_2\text{CH}_2$ ); 4.90 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , Н-6); 5.35 (1H, д,  $^3J = 1.5$ , Н-7); 7.15–7.22 (1H, м, Н-4, тиенил); 7.71–7.84 (2H, м, Н-3, Н-5, тиенил). Найдено, %: С 43.56; Н 3.21; N 4.18.  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClNO}_4\text{S}_2$ . Вычислено, %: С 43.44; Н 3.04; N 4.22.

**Определение цитотоксической активности *in vitro*.** 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: 3ТЗ (эмбриональные фибробласты мыши) и ВНК (фибробласты почек золотистого хомяка) определяли на 96 луночных пластиковых панелях, используя красители: CV, МТТ, NR в соответствии с методиками [8, 9].

**Вычисление ожидаемой токсичности** [4]. Значения ожидаемой токсичности  $\text{LD}_{50}$  (мг/кг) для тестируемых соединений вычисляли по уравнению:

$$\log \text{LD}_{50} (\text{мг/кг}) = 0.435 \times \log \text{LC}_{50} (\text{ммоль/л}) + 0.625,$$

где:  $\text{LC}_{50}$  – концентрация тестируемого вещества (ммоль/л), приводящая к гибели 50% фибробластов 3ТЗ при окрашивании клеток NR.

**Генерация клетками NO радикалов.** Определение концентрации радикалов оксида азота в клеточной среде по Грейсу [8] проводили на 96 луночных пластиковых панелях. Полученные таким образом концентрации (нмоль) NO радикалов в культуральной среде с выжившими клетками после инкубации в течение 72 ч в присутствии тестируемого вещества в концентрации 50 мкг/мл в лунке объемом 200 мкл использовали для вычисления значений специфической NO генерирующей активности соединений ( $\text{TG}_{100}$ ):

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

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

**Определение противоопухолевой активности *in vivo*.** Терапевтическую активность соединений проверяли на опухолях саркомы S-180 и меланомы B16. Раковые клетки в количестве  $10^6$  вводили подкожно самцам мышей (линия СВА/DBN 2F). Количество животных в экспериментальной группе составляло от 3 до 6. Тестируемое вещество группе экспериментальных животных вводили интраперитонеально в виде 2% раствора в ДМСО с 0.3% добавкой агарозы. Животным контрольной группы аналогично вводили 0.2 мл ДМСО с 0.3% добавкой агарозы без тестируемого вещества. Эффективность торможения (GI) определяли по разнице в объеме опухоли в контрольной и экспериментальной группах животных на 9 и 11 день после имплантации раковых клеток по формуле:

$$\text{GI, \%} = 100(1.00 - E/V),$$

где:  $E$  – объем опухоли в экспериментальной группе животных;  $V$  – объем опухоли в контрольной группе животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. М. Ворона, Г. Вейнберг, И. Шестакова, И. Канепе, И. Поторочина, К. Диковская, Р. Бокалдере, М. Петрова, Э. Липиньш, Э. Лукевиц, *XTC*, 259 (2007) [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **43**, 207 (2007)].
2. P. E. Finke, B. M. Ashe, W. B. Knight, A. L. Maycock, M. A. Navia, S. K. Shah, K. R. Thompson, D. J. Underwood, H. Weston, M. Zimmerman, J. B. Doherty, *J. Med. Chem.*, **33**, 2522 (1990).
3. M. Alpegiani, P. Bissolino, R. Corigli, S. Del Nero, E. Perrone, V. Rizzo, N. Sacchi, G. Cassinelli, G. Franceschi, *J. Med. Chem.*, **37**, 4003 (1994).

4. *Guidance Document on Using in vitro Data to Estimate in vivo Starting Doses for Acute Toxicity*, National Institute of Health, US Dept. of Health and Human Services, 2001, p. 12.
5. K. Taniguchi, P. Yang, J. Jett, E. Bass, R. Meyer, Y. Wang, C. Deschamps, W. Liu, *Clin. Cancer Res.*, **8**, 1115 (2002).
6. F. Nozawa, M. Hirota, A. Okabe, M. Shibata, T. Iwamura, Y. Haga, M. Ogawa, *J. Surg. Res.*, **94**, 153 (2000).
7. K. Iwatsuki, E. Kumara, T. Yoshimine, H. Nakagawa, M. Sato, T. Hayakawa, *Neurol. Res.*, **22**, 465 (2000)..
8. D. J. Fast, R. C. Lynch, R.W. Leu, *J. Leukocyt. Biol.*, **52**, 255 (1992).
9. P. J. Freshney, in: *Culture of Animal Cells (A Manual of Basic Technique)*, Wiley-Liss, New York, 1994, p. 296.

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

Поступило 18.10.2007