

Н. Григан, Г. Вейнберг, И. Шестакова,  
И. Канепа, Э. Лукевиц

### СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУЛЬФОНОВ 3-(ДИГИДРОКСИБЕНЗОИЛОКСИ)МЕТИЛ- И 3-(ДИАЦЕТОКСИ- БЕНЗОИЛОКСИ)МЕТИЛ-7 $\alpha$ -ХЛОРЦЕФАЛОСПОРАНАТОВ\*

Описан синтез сульфонов *трет*-бутиловых эфиров 3-(2-гидроксибензоилокси)метил-, 3-(дигидроксибензоилокси)метил- и 3-(диацетоксибензоилокси)метил-7 $\alpha$ -хлорцефалоспоровых кислот взаимодействием сульфона *трет*-бутилового эфира 3-бромметил-7 $\alpha$ -хлорцефалоспоровой кислоты с солями гидрокси- и ацетоксизамещенных бензойных кислот. Исследованы ингибирующие свойства полученных соединений в отношении эластазы, а также их цитотоксическая активность *in vitro*.

**Ключевые слова:** сульфоны *трет*-бутиловых эфиров 3-(дигидроксибензоилокси)метил-7 $\alpha$ -хлорцефалоспоровых кислот, сульфоны *трет*-бутиловых эфиров 3-(диацетоксибензоилокси)метил-7 $\alpha$ -хлорцефалоспоровых кислот, сульфон *трет*-бутилового эфира 3-(2-гидроксибензоилокси)метил-7 $\alpha$ -хлорцефалоспоровой кислоты, ингибиторы эластазы.

Открытие в конце 80-х годов ингибирующих свойств сложных эфиров 7 $\alpha$ -замещенных сульфонов цефалоспорина **1** в отношении лейкоцитарной эластазы (избыток которой вызывает циститный фиброз, хронический бронхит, ревматоидный артрит и другие заболевания), явилось причиной интенсивной разработки этого направления структурной модификации с целью поиска новых активных противовоспалительных препаратов [1–5].

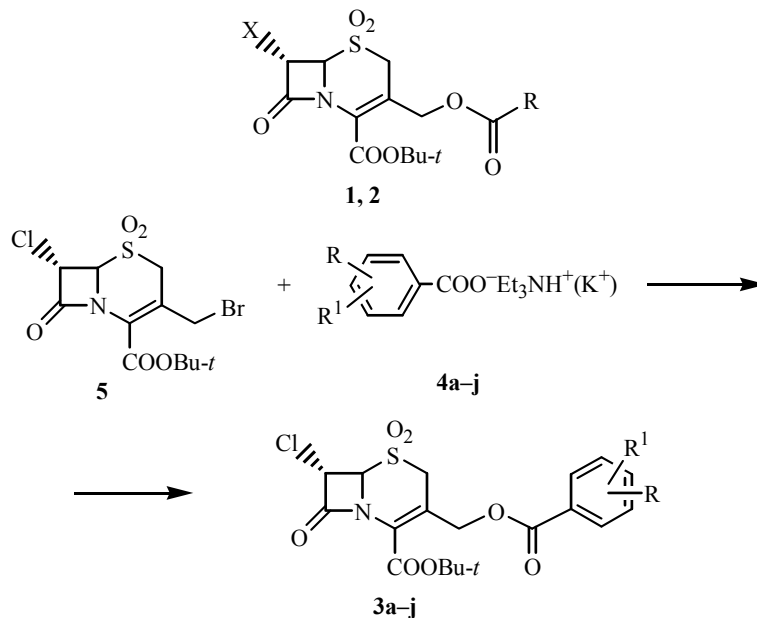
Ранее при изучении зависимости ингибирующей активности аналогов сульфонов **1** от строения ацильного остатка в 3-ацилоксиметильном заместителе нами с соавторами было обнаружено, что наиболее активным является соединение **2**, имеющее остаток салициловой кислоты [6].

В настоящей работе главным объектом аналогичного исследования стали 3-ароилоксиметил-7 $\alpha$ -хлорцефалоспоранаты **3a–j**, для синтеза которых были использованы соли соответствующих гидрокси- и ацилоксизамещенных бензойных кислот **4a–j**.

Реакция между бромидом **5** и солями **4a–j** проводилась в ацетонитриле при комнатной температуре. Целевые продукты **3a–j** были получены с низкими выходами (11–34%) из-за слабой электрофильности 3-бромметильной группы в соединении **5** по отношению к ацилоксианиону, что соответствует данным исследования [7]. В большинстве случаев триэтиламмониевые

\* Авторский коллектив посвящает статью памяти профессора А. Н. Коста — выдающегося специалиста в области химии гетероциклических соединений.

соли оказались несколько более реакционноспособными, чем аналогичные калиевые соли. Продукты **3a–j** были выделены из реакционной смеси с помощью колоночной хроматографии. Их индивидуальность и строение подтверждены соответственно результатами ВЭЖХ, данными ЯМР  $^1\text{H}$  и ИК спектрами (см. табл. 1).



**1, 2** X = MeO, Cl, **1** R = Me, **2** R = C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OAc-*o*. **3, 5 a** R = 2-OH, R<sup>1</sup> = H; **b** R = 2-OH, R<sup>1</sup> = 3-OH; **c** R = 2-OH, R<sup>1</sup> = 4-OH; **d** R = 2-OH, R<sup>1</sup> = 5-OH; **e** R = 2-OH, R<sup>1</sup> = 6-OH; **f** R = 2-OAc, R<sup>1</sup> = 3-OAc; **g** R = 2-OAc, R<sup>1</sup> = 4-OAc; **h** R = 2-OAc, R<sup>1</sup> = 5-OAc; **i** R = 3-OAc, R<sup>1</sup> = 4-OAc; **j** R = 3-OAc, R<sup>1</sup> = 5-OAc

Нами была изучена способность синтезированных эфиров **3a–j** ингибировать амидолитическую активность Pncine Pancreas Elastase (Type III) в отношении стандартного субстрата — *para*-нитроанилида N-метоксисукцинил-ала-ала-про-вал. Их воздействие на каталитическую активность эластазы (% ингибирования) определялось фотоколориметрически по методологии, адаптированной для 96-луночных панелей [8]. Приведенные в табл. 2 данные свидетельствуют о существенном снижении каталитической активности фермента в случае добавления в реакционную среду сульфонов 7 $\alpha$ -хлорцефалоспоранатов **3a**, **3b** и **3c**, содержащих в 3-ароилоксиметильном фрагменте остатки 1-гидрокси-2,3- и 2,4-дигидроксизамещенных бензойных кислот соответственно. Их ацетильные аналоги **3f,g**, а также эфир **2** (X = Cl) имеют на порядок менее выраженные ингибирующие свойства. Неперспективным в этом отношении оказалось также введение заместителей в 2 и 6-, 2 и 5-, 3 и 4-, 3 и 5-положения бензольного ядра.

Изучение цитотоксических свойств синтезированных соединений *in vitro* в отношении двух линий опухолевых клеток: HT-1080 (фибросаркома человека), MG-22A (мышьяная гепатома) (см. табл. 2) показало, что в большинстве случаев, за исключением сульфона **3a**, они вызывают 50% гибель клеток в концентрации 40 $\pm$ 10 мкг/мл.

Т а б л и ц а 1

**Характеристики *трет*-бутиловых эфиров сульфонов  
3-бензоилоксиметил-7 $\alpha$ -хлорцефалоспоранатов 3а–j**

Со- еди- не- ние	Чистота, %*	Т. пл., °С	ИК спектр, см <sup>-1</sup>	Спектры ЯМР <sup>1</sup> H, химические сдвиги ( $\delta$ , м. д.) и константы спин-спинового взаимодействия ( $J$ , Гц)	Вы- ход, %* <sup>3</sup>
1	2	3	4	5	6
<b>3а</b>	* <sup>2</sup>	181–183	3150, 1790, 1720 (плечо), 1680	1.55 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 3.85 и 4.15 (2H, АВ-q, $J$ = 19, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.84 (1H, д, $J$ = 2, 6-H); 4.95 и 5.49 (2H, АВ-q, $J$ = 13, CH <sub>2</sub> OCO); 5.33 (1H, д, $J$ = 2, 7-H); 6.82–7.86 (4H, м, H <sub>Ar</sub> ); 10.4 (1H, с, OH)	31
<b>3б</b>	95	159–160	3420, 1810, 1715, 1670	1.48 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 3.80 и 4.13 (2H, АВ-q, $J$ = 18, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.84 (1H, уш. с, 6-H); 4.93 и 5.46 (2H, АВ-q, $J$ = 14, CH <sub>2</sub> OCO); 5.33 (1H, д, $J$ = 1, 7-H); 7.33–7.66 (3H, м, H <sub>Ar</sub> ); 10.46 (2H, с, 2OH)	17
<b>3с</b>	92	138	3560, 3400, 3150, 1800, 1710, 1680	1.62 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 3.82 и 4.13 (2H, АВ-q, $J$ = 18, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.84 (1H, уш. с, 6-H); 4.97 и 5.51 (2H, АВ-q, $J$ = 14, CH <sub>2</sub> OCO); 5.33 (1H, д, $J$ = 1, 7-H); 6.75–7.40 (3H, м, H <sub>Ar</sub> ); 10.48 (2H, с, 2OH)	29
<b>3д</b>	91	151–153	3500, 3220, 1800, 1710, 1680	1.55 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 3.86 и 4.13 (2H, АВ-q, $J$ = 18, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.84 (1H, уш. с, 6-H); 4.95 и 5.46 (2H, АВ-q, $J$ = 14, CH <sub>2</sub> OCO); 5.33 (1H, д, $J$ = 1, 7-H); 6.93–7.48 (3H, м, H <sub>Ar</sub> ); 9.97 (2H, с, 2OH)	11
<b>3е</b>	92	155–156	1800, 1720, 1680	1.55 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 3.82 и 4.15 (2H, АВ-q, $J$ = 18, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.84 (1H, уш. с, 6-H); 4.93 и 5.46 (2H, АВ-q, $J$ = 14, CH <sub>2</sub> OCO); 5.31 (1H, д, $J$ = 1, 7-H); 6.82–7.37 (3H, м, H <sub>Ar</sub> ); 10.00 (2H, с, 2OH)	18
<b>3ф</b>	99	172–174	1810, 1770, 1720	1.55 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 2.33 (6H, с, 2CH <sub>3</sub> CO); 3.71 и 4.13 (2H, АВ-q, $J$ = 18, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.75 и 5.51 (2H, АВ-q, $J$ = 14, CH <sub>2</sub> OCO); 4.91 (1H, уш. с, 6-H); 5.28 (1H, д, $J$ = 1, 7-H); 7.28–7.81 (3H, м, H <sub>Ar</sub> )	34
<b>3г</b>	93	183–184	1800, 1770 (плечо) 1760, 1720, 1710	1.57 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 2.33 (6H, с, 2CH <sub>3</sub> CO); 3.71 и 4.13 (2H, АВ-q, $J$ = 19, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.91 (1H, уш. с, 6-H); 4.77 и 5.46 (2H, АВ-q, $J$ = 14, CH <sub>2</sub> OCO); 5.31 (1H, уш. с, 7-H); 6.91–8.04 (3H, м, H <sub>Ar</sub> )	11
<b>3h</b>	92	164–170	1800, 1760, 1750 (плечо), 1730, 1710	1.57 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 2.31 (6H, с, 2CH <sub>3</sub> CO); 3.71 и 4.11 (2H, АВ-q, $J$ = 19, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.91 (1H, уш. с, 6-H); 4.75 и 5.48 (2H, АВ-q, $J$ = 14, CH <sub>2</sub> OCO); 5.31 (1H, уш. с, 7-H); 7.02–7.86 (3H, м, H <sub>Ar</sub> )	18

Окончание таблицы 1

1	2	3	4	5	6
3i	99	142–144	1800, 1775, 1730, 1715, 1690	1.60 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 2.37 (6H, с, 2CH <sub>3</sub> CO); 3.80 и 4.11 (2H, АВ-q, J = 18, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.84 (1H, уш. с, 6-H); 4.93 и 5.44 (2H, АВ-q, J = 14, CH <sub>2</sub> OCO); 5.33 (1H, д, J = 1, 7-H); 7.37 (1H, с, o-H <sub>Ar</sub> ); 7.80–8.06 (2H, м, H <sub>Ar</sub> )	29
3j	92	160–161	1800, 1765, 1760, 1730, 1710	1.55 (9H, с, C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ); 2.33 (6H, с, 2CH <sub>3</sub> CO); 3.77 и 4.11 (2H, АВ-q, J = 18, SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ); 4.82 (1H, уш. с, 6-H); 4.88 и 5.42 (2H, АВ-q, J = 14, CH <sub>2</sub> OCO); 5.31 (1H, уш. с, 7-H); 7.15 (1H, с, p-H <sub>Ar</sub> ); 7.60 и 7.66 (2H, с, с, o-H <sub>Ar</sub> )	20

\* Соединения **3a–j** легко образуют сольваты с растворителями (гексан, этилацетат), поэтому в большинстве случаев для них не удается получить удовлетворительные данные элементного анализа. Анализ чистоты соединений **3b–d,f** проведен с использованием Symmetry C<sub>18</sub> (неподвижная фаза) и смеси ацетонитрила — 0.1 М фосфатного буфера с pH 2.5, 55 : 45 (подвижная фаза). Анализ чистоты соединений **3e,g–j** проведен с использованием μPorasil и этилацетат — гексан, 25:75 (подвижная фаза).

\*<sup>2</sup> Найдено, %: С 49.59; Н 4.66; N 2.89. C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>8</sub>S. Вычислено, %: С 49.84; Н 4.40; N 3.06.

\*<sup>3</sup> Не оптимизирован.

Таблица 2

Биологические свойства цефалоспорианатов **3a–j**

Соединение	Ингибирование Porcine Pancreas Elastase (Type III)*		Цитотоксический эффект в отношении опухолевых клеток TD <sub>50</sub> (мкг/мл)			
	концентрация, мкмоль	% ингибирования	MG-22A		HT-1080	
			(CV)* <sup>2</sup>	(МТТ)* <sup>3</sup>	(CV)	(МТТ)
<b>3a</b>	4.1	41.4	2,0	6,25	2,0	2,0
<b>3b</b>	1.7	23.5	54	52	55	45
<b>3c</b>	5.0	68.5	37	37	50	50
<b>3d</b>	5.0	4.2	36	40	56	56
<b>3e</b>	15	7.3	30	38	47	47
<b>2 X = Cl</b>	25	22.9* <sup>4</sup>	>50	>50	45	35
<b>3f</b>	15	17.3	57	66	58	46
<b>3g</b>	15	6.3	31	40	52	53
<b>3h</b>	15	4.9	30	57	43	50
<b>3i</b>	15	13.3	38	41	55	45
<b>3j</b>	15	16.6	—	—	—	—

\* Концентрация субстрата: 0.5 ммоль; количество фермента в спектрофотометрической кювете 6 мкг, время эксперимента 15 мин.

\*<sup>2</sup> Концентрация в мкг/мл, обеспечивающая 50% гибель клеток (окрашивание CV — кристаллический фиолетовый).

\*<sup>3</sup> Концентрация в мкг/мл, обеспечивающая 50% гибель клеток (окрашивание МТТ — бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия).

\*<sup>4</sup> Неопубликованные данные.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  сняты на спектрометре Bruker WH-90/DS (90 МГц) в  $\text{CDCl}_3$ , внутренний стандарт ТМС. ИК спектры получены на спектрометре Perkin-Elmer 580В в вазелиновом масле. Микроаналитические данные определены с помощью анализатора Carlo Erba 1108. Данные ВЭЖХ получены на приборе Du-Pont Model 8800. Изучение ингибирующих свойств синтезированных веществ в отношении Porcine Pancreas Elastase (Туре III) и их цитотоксических свойства в отношении монослойных опухолевых клеток *in vitro* осуществлено согласно методикам, приведенным в работе [8]. Оптическая плотность в биологических тестах, проводимых на 96-луночных панелях, определялась горизонтальным спектрофотометром Tetertek Multiscan MCC/340.

**Ацетилирование дигидроксизамещенных бензойных кислот** проводилось согласно известным методикам кипячением в уксусном ангидриде в присутствии основных или кислотных катализаторов. В случае 2,6-дигидроксibenзойной кислоты **4e** эти методики оказались неэффективными.

**Калиевые соли и триэтиламмониевые соли гидрокси- и ацетилзамещенных бензойных кислот 4a–j** получены нейтрализацией карбоновых кислот эквимолярным раствором гидроксида калия в кипящем этаноле или избытком триэтиламина в растворе дихлорметана. Образование соответствующих солей контролировалось с помощью ИК спектроскопии по исчезновению полосы поглощения неионизированной карбоксильной группы при  $1720\text{ см}^{-1}$  и появлению новой полосы при  $1600\text{ см}^{-1}$ . Растворитель упаривали и полученные соли высушивали в вакуум-эксикаторе над пятиокисью фосфора. Попытки получения таким образом солей 3,4-дигидрокси- и 3,5-дигидроксibenзойных кислот оказались безрезультатными.

**трет-Бутиловые эфиры сульфонов 3-(арилокси)метил-7 $\alpha$ -хлорцефалоспороанатов 3a–j.** Раствор трет-бутилового эфира сульфона 3-бромметил-7 $\alpha$ -хлорцефалоспороановой кислоты **5** (0.25 ммоль) и триэтиламмониевой соли моногидрокси-, дигидрокси- или диацетоксизамещенной бензойной кислоты **4a–j** (0.25 ммоль) в 3 мл сухого ацетонитрила перемешивают 3–5 ч, контролируя завершение реакции с помощью ТСХ в системе гексан-этилацетат, 2 : 1. Ацетонитрил упаривают при пониженном давлении. Остаток растворяют в дихлорметане, полученный раствор промывают водой, сушат безводным сульфатом натрия и упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют на колонке с силикагелем (элюент гексан—этилацетат, 2 : 1). Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют и упаривают. Выходы, спектроскопические и другие характеристики синтезированных соединений приведены в табл. 1.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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).
2. 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).
3. M. Alpegiani, P. Bissolino, E. Perrone, G. Cassinelli, G. Franceschi, *Tetrah. Lett.*, **32**, 6207 (1991).
4. J. D. Buynak, A. S. Rao, G. P. Ford, C. Carver, G. Adam, B. Geng, B. Bachmann, S. Shobassy, S. Lackey, *J. Med. Chem.*, **40**, 3423 (1997).
5. A. V. Narendar Reddy, C. Y. Fiaukupi, D. P. Czajkowski, J. Kaleta, R. G. Micetich, S. N. Maiti, *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 1510 (1998).
6. G. Veinberg, I. Shestakova, L. Petrunianis, N. Grigan, D. Musel, D. Zeile, I. Kanepe, I. Domrachova, I. Kalvinsh, A. Strakovs, E. Lukevics, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 843 (1997).
7. M. M. Botta, F. D. Angelis, I. Grigurina, M. Marzi, R. Micoletti, *J. Heterocyclic Chem.*, **22**, 1001 (1985).
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.*, **33**, 755 (1998).

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

Поступило в редакцию 11.12.99