

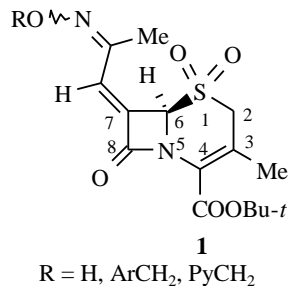
М. Ворона, И. Поторочина, Г. Вейнберг, С. Беляков,  
И. Шестакова, И. Канепа, Э. Лукевиц

**СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ  
ПРОИЗВОДНЫХ *трет*-БУТИЛОВОГО ЭФИРА  
6Z-АЦЕТИЛМЕТИЛЕНПЕНИЦИЛЛАНОВОЙ КИСЛОТЫ**

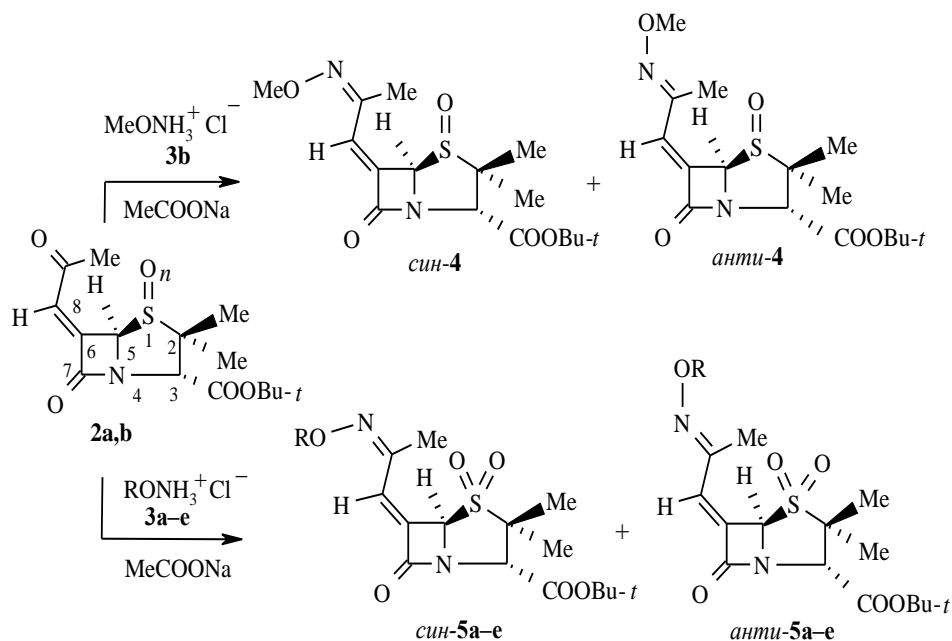
Конденсацией сульфоксида и сульфона *трет*-бутилового эфира 6Z-ацетилметиленилпенициллановой кислоты с гидроксиламином, метоксиамином, бензилоксиамином, 2-бром- и 4-бромбензилоксиаминами синтезированы сульфоксид *трет*-бутилового эфира 6Z-[2-(метоксиимино)пропилиден]пенициллановой кислоты и сульфоны 6Z-[2-(гидроксиимино-, метоксиимино-, бензилоксиимино-, 2-бром- и 4-бромбензилоксиимино)пропилиден]пенициллановой кислоты в *син*- и *анти*-изомерной форме. Расщеплением тиазолидинового цикла в *трет*-бутиловом эфире 6Z-[2-(метоксиимино)пропилиден]-1-оксопенициллановой кислоты 2-меркаптобензотиазолом получены *син*- и *анти*-изомеры *трет*-бутилового эфира 3Z-(2-метоксииминопропилиден)-4R-(бензотиазол-2-дитио)-2-оксоазетидинил-1R-(2-пропенил)уксусной кислоты. Взаимодействием 1,8-дiazобикарбодиазепина и метилиодида с *трет*-бутиловым эфиром 6Z-[2-(метоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты синтезирован *трет*-бутиловый эфир 3Z-(2-метоксииминопропилиден)-4R-(метилсульфонил)-2-оксоазетидинил-1-(2-пропилиден)уксусной кислоты. Установлена зависимость цитотоксического эффекта в отношении раковых и нормальных клеток *in vitro* для синтезированных соединений от строения заместителя в положении 6 и *син*-, *анти*-изомерии оксииминогруппы.

**Ключевые слова:** *трет*-бутиловые эфиры 4R-(бензотиазол-2-дитио)-3Z-(2-метоксииминопропилиден)-2-оксоазетидинил-1R-(2-пропенил)уксусной, 6Z-[2-(метоксиимино)пропилиден]-1-оксопенициллановой, 4R-(метилсульфонил)-3Z-(2-метоксииминопропилиден)-2-оксоазетидинил-1-(2-пропилиден)уксусной, 6Z-[2-(гидроксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой, 6Z-[2-(метоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой, 6Z-[2-(бензилоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой, 6Z-[2-(2-бромбензилоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой, 6Z-[2-(4-бромбензилоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислот, противораковая активность.

Ранее нами установлено, что конденсация ацетилметиленовой группы в *трет*-бутиловом эфире 7Z-ацетилметилен-3-метил-1,1-диоксо-3-цефем-4-карбоновой кислоты с гидроксиламином или арилметоксиаминами приводит к получению гидрокси- и арилметоксииминопроизводных цефема 1 в *син*- и *анти*-изомерной форме, характеризующихся наличием селективных цитотоксических свойств в отношении раковых клеток [1]. В продолжение этого исследования представлялось целесообразным синтезировать и подвергнуть цитотоксическому скринингу аналогично модифицированные пенамы, а также их производные с расщепленной связью S(1)–C(2).



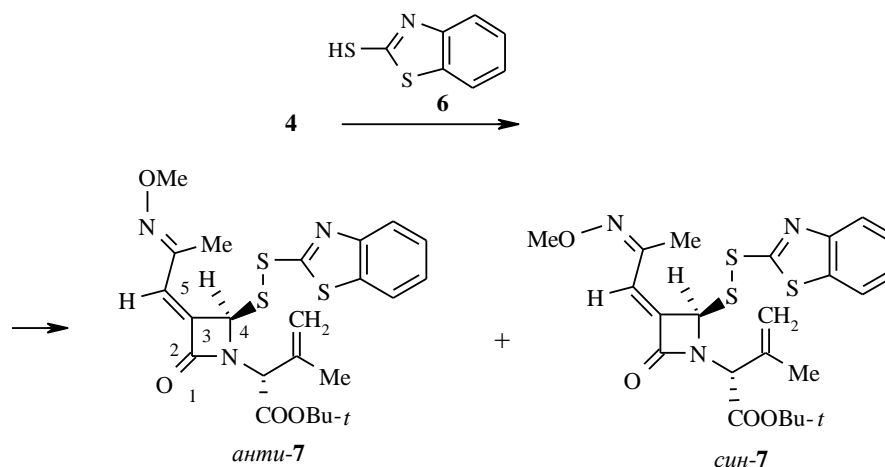
С этой целью ранее синтезированные нами сульфоксид и сульфон трет-бутилового эфира 6Z-ацетилметиленипенициллановой кислоты **2a,b** [2] были обработаны солянокислыми гидросиламином **3a**, метоксиамином **3b** и бензилоксиаминами **3c–e**. Упомянутые реакции были реализованы при комнатной температуре в метаноле в присутствии ацетата натрия. Продукты конденсации **4** и **5a–e** образуются в виде смесей *син*- и *анти*-изомеров, в случае **4** и **5a** – разделенных на индивидуальные изомеры с помощью колоночной хроматографии.



**3,5 a** R = H, **b** R = Me, **c** R = PhCH<sub>2</sub>, **d** R = 2-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>, **e** R = 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>;  
**2 a** n = 1, **b** n = 2

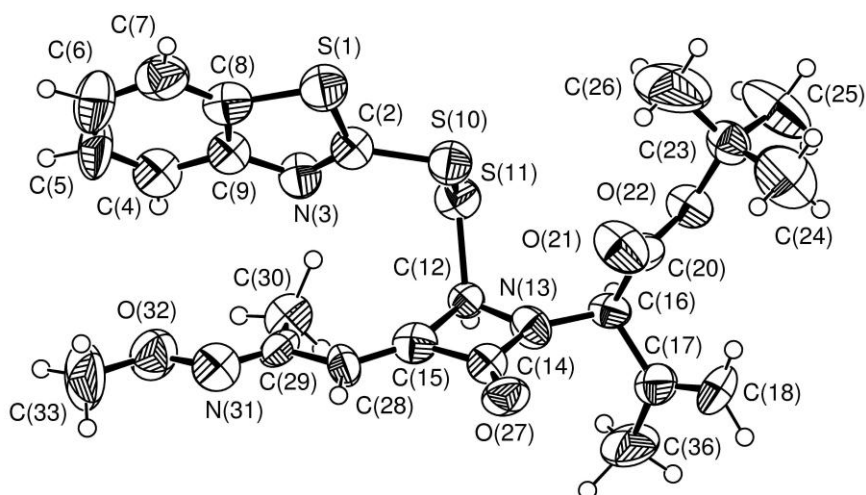
*син*- и *анти*-Конфигурацию оксииминофрагментов в соединениях **4** и **5a–e** идентифицировали с помощью спектроскопии ЯМР <sup>1</sup>H на основании результатов анализа эффекта Оверхаузера для аналогично модифицированных цефалоспоринов [1]. Согласно этим данным спектры *син*-изомеров **4**, **5a–e** характеризуются слабopольным сдвигом сигнала протона Н-8 по сравнению с аналогичным сдвигом в *анти*-изомерах **4**, **5a–e**.

Оксииминопропилиденовая структура заместителя в положении 6 полученных соединений не препятствует проведению реакций, направленных на расщепление в них пенамового ядра по связи S(1)–C(2). Так сульфоксид *трет*-бутилового эфира 6*Z*-[2-(метоксиимино)пропилиден]-пенициллановой кислоты (**4**) с помощью 2-меркаптобензотиазола (**6**) был превращен в *трет*-бутиловый эфир 3*Z*-(2-метоксииминопропилиден)-4*R*-(бензотиазоллил-2-дитио)-2-оксоазетидинил-1*R*-(2-пропенил)уксусной кислоты (**7**) в виде *син*- и *анти*-изомеров.



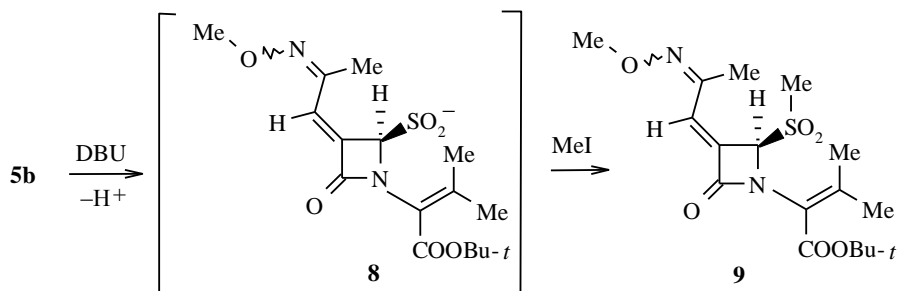
Сигналы протонов Н-5 в спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  *анти*- и *син*-**7**, в отличие от ранее упомянутых соединений **4**, **5a–e**, характеризуются близкими значениями химических сдвигов. В этом случае по аналогии с пенамами *анти*-**4** и *анти*-**5**, *анти*-конфигурация метоксииминогруппы была предложена для менее полярного стереоизомера *анти*-**7**.

Структурная идентификация вещества *анти*-**7** с помощью РСА (рисунок) подтвердила корректность этого предположения. По данным РСА, обе гетероциклические системы молекулы плоские в пределах ошибки. Валентные углы C(2)–S(10)–S(11) и S(10)–S(11)–C(12) при дисульфидном мостике равны, соответственно, 101.8(6) и 103.3(5)°. Торсионный угол C(2)–S(10)–S(11)–C(12) составляет –100.6(5)°. Длина связи C(15)–C(28) (1.33(2) Å) соответствует длине изолированной двойной связи. Все межмолекулярные контакты в кристалле осуществляются на расстояниях, не меньших, чем суммы ван-дер-ваальсовых радиусов контактирующих атомов.



Пространственная модель молекулы *анти-7* с обозначениями атомов и эллипсоидами тепловых колебаний

Депротонирование атома C(3) в сульфоне *трет*-бутилового эфира 6*Z*-(2-метоксииминопропилиден)пенициллановой кислоты (**5b**) с помощью 1,8-дiazобисцикло[5.4.0]ундек-7-ена приводит к разрыву связи S(1)–C(2) и образованию промежуточного сульфинат-аниона **8**, алкилированием которого метилиодидом синтезирована смесь *син*- и *анти*-изомеров *трет*-бутилового эфира 3*Z*-(2-метоксииминопропилиден)-4*R*-(метилсульфонил)-2-оксазетидинил-1-(2-пропилиден)уксусной кислоты (**9**).



DBU – 1,8-дiazобисцикло[5.4.0]ундек-7-ен

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 [3].

**Биологические свойства производных *трет*-бутилового эфира  
6*Z*-ацетилметиленпенициллановой кислоты\***

Соединение	LC <sub>50</sub> , мкг/мл							LD <sub>50</sub> , мг/кг
	HT-1080			MG-22A			ЗТЗ	
	CV	МТТ	TG <sub>100</sub>	CV	МТТ	TG <sub>100</sub>	NR	
<i>анти-4</i>	2.3	3	350	1	1.5	350	10	321
<i>син-4</i>	2.7	3	300	2.6	2.5	950	10	321
<i>анти-5a</i>	3	3	450	3	2	200	817	2151
<i>син-5a</i>	3	2	140	2	2	140	17	394
<i>анти/син-5b</i>	0.8	0.1	100	0.8	0.4	75	2.5	186
<i>анти/син-5c</i>	2	2	300	2	2	300	5	269
<i>анти/син-5d</i>	3	3	300	2	2	250	4	264
<i>анти/син-5e</i>	2	2	300	2	2	350	6	316
<i>анти/син-9</i>	4.1	8.6	167	10.2	18.2	300	77	812

\* 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<sup>•</sup> генерирующая активность соединения; NR – окрашивание нейтральным красным; LD<sub>50</sub> – вычисленные значения ожидаемой токсичности.

Данные таблицы свидетельствуют об избирательной цитотоксичности в отношении раковых клеток *анти*-изомера **5a** *трет*-бутилового эфира 6*Z*-[2-(гидроксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты по сравнению с *син*-изомером **5a**. Об этом свидетельствует более чем 6-кратное отличие их показателей от ожидаемой токсичности LD<sub>50</sub>. О-Алкилирование гидроксиминогруппы, сопровождаемое снижением значений LD<sub>50</sub> для соединений **5b–e**, характеризовалось ослаблением селективности их цитотоксического эффекта. И, наоборот, расщепление тиазолидинового цикла в сульфоне **5b**, приводящее к получению моноциклического β-лактама **9**, способствовало усилению этого фактора.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H зарегистрированы на приборе Varian Mercury-200 (200 МГц) в CDCl<sub>3</sub> (соединения **4**, **5a–e** и **9**) и в DMSO-d<sub>6</sub> (соединение **7**), внутренний стандарт ГМДС (δ 0.055 м. д.). Элементный анализ выполнен на анализаторе Carlo Erba 1108. Контроль за ходом реакции осуществлялся методом ТСХ на пластинках Merck Kieselgel с проявлением в УФ свете. Для препаративной колоночной хроматографии применялся силикагель марки Merck Kieselgel (0.060–0.200 мм). В экспериментах использовались реагенты и материалы фирмы Acros, Aldrich.

Оптическая плотность в биологических тестах, проводимых на 96-луночных панелях, определялась горизонтальным спектрофотометром Tetretek Multiscan MCC/340.

**трет-Бутиловый эфир 6Z-[2-анти-(метоксиимино)пропилиден]-1-оксопенициллановой кислоты (анти-4) и трет-бутиловый эфир 6Z-[2-син-(метоксиимино)пропилиден]-1-оксопенициллановой кислоты (син-4).** К раствору 100 мг (0.31 ммоль) трет-бутилового эфира 6Z-ацетилметилен-1-оксопенициллановой кислоты (**2a**) в 5 мл метанола добавляют 37 мг (0.44 ммоль) солянокислого метоксиамиона и 36 мг (0.44 ммоль) ацетата натрия. Реакционную смесь перемешивают 24 ч при комнатной температуре и упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем. Выход 76 мг (69%). Найдено, %: С 54.10; Н 6.86; N 7.91. C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S. Вычислено, %: С 53.92; Н 6.79; N 7.86

Из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R<sub>f</sub> 0.29 получают **анти-4**. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д.: 1.29 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.67 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.00 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.00 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4.53 (1H, с, H-3); 5.56 (1H, уш. с, H-5); 6.73 (1H, уш. с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N).

Из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:1) с R<sub>f</sub> 0.17 получают **син-4**. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д.: 1.30 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.52 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.70 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.12 (3H, с, CH<sub>3</sub>C=N); 3.93 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4.57 (1H, с, H-3); 5.58 (1H, уш. с, H-5); 7.39 (1H, уш. с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N).

**Получение трет-бутиловых эфиров 6Z-[2-(гидроксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой, 6Z-[2-(метоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой и 6Z-[2-(арилметоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислот **5a–e** (типовой метод).** К раствору 344 мг (1.00 ммоль) трет-бутилового эфира 6Z-ацетилметилен-1,1-диоксопенициллановой кислоты (**2b**) в 10 мл метанола добавляют 1.92 ммоль солянокислого оксиамиона **3a–e** и 157 мг (1.92 ммоль) ацетата натрия. Реакционную смесь перемешивают 24 ч при комнатной температуре и упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем и получают пены **5a–e**.

**трет-Бутиловый эфир 6Z-[2-анти-(гидроксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (анти-5a) и трет-бутиловый эфир 6Z-[2-син-(гидроксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (син-5a)** получают типовым методом с помощью солянокислого гидроксиламина. Выход 73%. Найдено, %: С 50.41; Н 6.22; N 7.78. C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S. Вычислено, %: С 50.27; Н 6.19; N 7.82.

Из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:2) с R<sub>f</sub> 0.40 получают **анти-5a**. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д.: 1.45 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.52 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.58 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.06 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.32 (1H, с, H-3); 5.32 (1H, с, H-5); 6.88 (1H, с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N); 9.42 (1H, уш. с, OH).

Из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:2) с R<sub>f</sub> 0.31 получают **син-5a**. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д.: 1.46 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.52 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.59 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.12 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.37 (1H, с, H-3); 5.30 (1H, с, H-5); 7.47 (1H, с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N); 8.59 (1H, уш. с, OH).

**Смесь трет-бутилового эфира 6Z-[2-анти-(метоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (анти-5b) и трет-бутилового эфира 6Z-[2-син-(метоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (син-5b) (3:2)** получают типовым методом с помощью солянокислого метоксиамиона. Выход 79%. Найдено, %: С 51.81; Н 6.66; N 7.57. C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S. Вычислено, %: С 51.60; Н 6.50; N 7.52. Из фракций с R<sub>f</sub> 0.49 (элюент этилацетат–гексан, 1:2) получают смесь **анти-** и **син-**изомеров **5b**.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д.: **анти-5b** – 1.46 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.52 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.58 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.00 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.04 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4.32 (1H, с, H-3); 5.28 (1H, уш. с, H-5); 6.84 (1H, уш. с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N); **син-5b** – 1.46 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.52 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.58 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.11 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 3.95 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4.36 (1H, с, H-3); 5.28 (1H, уш. с, H-5); 7.48 (1H, уш. с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N).

Смесь *трет*-бутилового эфира 6*Z*-[2-*анти*-(бензилоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (*анти*-5с) и *трет*-бутилового эфира 6*Z*-[2-*син*-(бензилоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (*син*-5с) (1:1) получают типовым методом с помощью солянокислого бензилоксиамина. Выход 56%. Найдено, %: С 59.11; Н 6.36; N 6.29. C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S. Вычислено, %: С 58.91; Н 6.29; N 6.25. Из фракций с R<sub>f</sub> 0.46 (элюент этилацетат–гексан, 1:3) получают смесь *анти*- и *син*-изомеров 5с. Из фракций с R<sub>f</sub> 0.46 (этилацетат–гексан, 1:3) получают смесь изомеров.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д.: *анти*-5с – 1.44 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.58 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.04 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.31 (1H, с, Н-3); 5.24 (1H, уш. с, Н-5); 5.30 (2H, с, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 6.82 (1H, уш. с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N); 7.31–7.40 (5H, м, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); *син*-5с – 1.44 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.58 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.11 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.35 (1H, с, Н-3); 5.19 (2H, с, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 5.24 (1H, уш. с, Н-5); 7.31–7.40 (5H, м, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7.55 (1H, уш. с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N).

Смесь *трет*-бутилового эфира 6*Z*-[2-*анти*-(2-бромбензилоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (*анти*-5d) и *трет*-бутилового эфира 6*Z*-[2-*син*-(2-бромбензилоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (*син*-5d) (2:3) получают типовым методом с помощью солянокислого 2-бромбензилоксиамина. Выход 65%. Найдено, %: С 50.26; Н 5.21; N 5.37. C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S. Вычислено, %: С 50.10; Н 5.16; N 5.31. Из фракций с R<sub>f</sub> 0.51 (элюент этилацетат–гексан, 1:3) получают смесь *анти*- и *син*-изомеров 5d.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д.: *анти*-5d – 1.46 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.59 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.07 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.32 (1H, с, Н-3); 5.28 (1H, уш. с, Н-5); 5.39 (2H, с, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 6.83 (1H, уш. с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N); 7.11–7.45 (3H, м, Н-4,5,6 C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7.52–7.59 (1H, м, Н-3 C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); *син*-5d – 1.46 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.59 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.12 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.36 (1H, с, Н-3); 5.28 (3H, уш. с, Н-5, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7.11–7.45 (3H, м, Н-4,5,6 C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7.52–7.59 (1H, м, Н-3 C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7.60 (1H, уш. с, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N).

Смесь *трет*-бутилового эфира 6*Z*-[2-*анти*-(4-бромбензилоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (*анти*-5е) и *трет*-бутилового эфира 6*Z*-[2-*син*-(4-бромбензилоксиимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (*син*-5е) (3:2) получают типовым методом с помощью солянокислого 4-бромбензилоксиамина. Выход 62%. Найдено, %: С 50.28; Н 5.25; N 5.33. C<sub>22</sub>H<sub>27</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S. Вычислено, %: С 50.10; Н 5.16; N 5.31. Из фракций с R<sub>f</sub> 0.46 (элюент этилацетат–гексан, 1:3) получают смесь *анти*- и *син*-изомеров 5е.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. д. (J, Гц): *анти*-5е – 1.45 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.58 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.03 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.31 (1H, с, Н-3); 5.20–5.27 (3H, м, Н-5, CH<sub>2</sub>Ph); 6.80 (1H, д, <sup>4</sup>J = 1.5, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N); 7.23 (2H, д, <sup>3</sup>J = 8.8, Н-2,6 C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7.48 (2H, д, <sup>3</sup>J = 8.8, Н-3,5 C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); *син*-5е – 1.45 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 1.51 (9H, с, C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>); 1.58 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 2.10 (3H, с, C(CH<sub>3</sub>)=N); 4.35 (1H, с, Н-3); 5.12 (1H, с, Н-5); 5.23 (2H, уш. с, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7.23 (2H, д, <sup>3</sup>J = 8.8, Н-2,6 C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 7.42–7.53 (3H, м, Н-3,5 C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, =CHC(CH<sub>3</sub>)=N).

*трет*-Бутиловый эфир 3*Z*-(2-*анти*-метоксииминопропилиден)-4*R*-(бензотиазоллил-2-дитио)-2-оксоазетидинил-1*R*-(2-пропенил)уксусной кислоты (*анти*-7) и *трет*-бутиловый эфир 3*Z*-(2-*син*-метоксииминопропилиден)-4*R*-(бензотиазоллил-2-дитио)-2-оксоазетидинил-1*R*-(2-пропенил)уксусной кислоты (*син*-7). К раствору 800 мг (2.25 ммоль) *трет*-бутилового эфира 6*Z*-[2-(метоксиимино)пропилиден]-1-оксопенициллановой кислоты (4) в 30 мл толуола добавляют 430 мг (2.57 ммоль) 2-меркаптобензотиазола и 3 г молекулярных сит 3 Å. Реакционную смесь кипятят 3 ч, охлаждают, фильтруют и упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем.

Из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:5) с  $R_f$  0.37 при упаривании выпадают кристаллы *анти-7*. Выход 182 мг (16%). Т. пл. 127 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.56 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 1.92 (3H, с,  $\text{CH}_3$ ); 1.97 (3H, с,  $\text{C}(\text{CH}_3)=\text{N}$ ); 3.80 (3H, с,  $\text{OCH}_3$ ); 4.86 (1H, с,  $\text{CHCOO}$ ); 5.11 (2H, д,  $^2J = 13.5$ ,  $\text{C}=\text{CH}_2$ ); 5.94 (1H, д,  $^4J = 1.4$ , Н-4); 6.37 (1H, д,  $^4J = 1.4$ ,  $=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{N}$ ); 7.26–7.52 (2H, м, Н-5,6  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 7.70–7.97 (2H, м, Н-4,7  $\text{C}_6\text{H}_4$ ). Найдено, %: С 54.41; Н 5.33; N 8.16.  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_3$ . Вычислено, %: С 54.63; Н 5.38; N 8.31.

Из фракций (элюент этилацетат–гексан, 1:5) с  $R_f$  0.24 при упаривании выпадают кристаллы *син-7*. Выход 80 мг (7%), Т. пл. 131 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 1.45 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 1.93 (3H, с,  $\text{CH}_3$ ); 2.22 (3H, с,  $\text{C}(\text{CH}_3)=\text{N}$ ); 3.77 (3H, с,  $\text{OCH}_3$ ); 4.86 (1H, с,  $\text{CHCOO}$ ); 5.14 (2H, д,  $^2J = 17$ ,  $\text{C}=\text{CH}_2$ ); 5.82 (1H, с, Н-4); 6.34 (1H, с,  $=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{N}$ ); 7.24–7.52 (2H, м, Н-5,6  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 7.73–7.97 (2H, м, Н-4,7  $\text{C}_6\text{H}_4$ ). Найдено, %: С 54.58; Н 5.45; N 8.33.  $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_3$ . Вычислено, %: С 54.63; Н 5.38; N 8.31.

Смесь *трет-бутилового эфира 3Z-(2-анти-метоксиминопропилиден)-4R-(метилсульфонил)-2-оксоазетидинил-1-(2-пропилиден)уксусной кислоты (анти-9)* и *трет-бутилового эфира 3Z-(2-син-метоксиминопропилиден)-4R-(метилсульфонил)-2-оксоазетидинил-1-(2-пропилиден)уксусной кислоты (син-9)*. К раствору 100 мг (0.27 ммоль) *трет-бутилового эфира 6Z-[2-(метоксимино)пропилиден]-1,1-диоксопенициллановой кислоты (5b)* в 7 мл метиленхлорида при 0 °С добавляют 45 мкл (0.30 ммоль) 1,8-дiazобизцикло[5.4.0]ундек-7-ена и через 5 мин 19 мкл (0.30 ммоль) метилиодида. Смесь перемешивают 1 ч при комнатной температуре, разбавляют 15 мл дихлорметана, промывают 10 мл 0.5 н.  $\text{HCl}$ ,  $2 \times 10$  мл 5% раствора  $\text{NaCl}$  и сушат над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и фильтруют. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток фракционируют на хроматографической колонке с силикагелем. Из фракций с  $R_f$  0.43 (этилацетат–гексан, 1:1) получают смесь *анти-* и *син-*изомеров **9**. Выход 31 мг (34%). Найдено, %: С 52.97; Н 6.81; N 7.26.  $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ . Вычислено, %: С 52.83; Н 6.78; N 7.25.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): *анти-9* – 1.51 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.07 (3H, с,  $=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$ ); 2.19 (3H, с,  $\text{C}(\text{CH}_3)=\text{N}$ ); 2.23 (3H, с,  $=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$ ); 2.85 (3H, с,  $\text{SO}_2\text{CH}_3$ ); 4.00 (3H, с,  $\text{OCH}_3$ ); 5.65 (1H, д,  $^4J = 1.4$ , Н-4); 7.24 (1H, д,  $^4J = 1.4$ ,  $=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{N}$ ); *син-9* – 1.51 (9H, с,  $\text{C}_4\text{H}_9$ ); 2.06 (3H, с,  $=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$ ); 2.23 (6H, с,  $\text{C}(\text{CH}_3)=\text{N}$ ,  $=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_3$ ); 2.85 (3H, с,  $\text{SO}_2\text{CH}_3$ ); 3.93 (3H, с,  $\text{OCH}_3$ ); 5.81 (1H, д,  $^4J = 1.4$ , Н-4); 6.82 (1H, д,  $^4J = 1.4$ ,  $=\text{CHC}(\text{CH}_3)=\text{N}$ ).

**Рентгеноструктурный анализ.** Дифракционная картина с монокристалла соединения *анти-7*, размером  $0.03 \times 0.04 \times 0.21$  мм, получена на автоматическом дифрактометре "Nonius КаппаCCD" до  $2\theta_{\text{max}} = 45^\circ$  ( $l_{\text{Mo}} = 0.71073 \text{ \AA}$ ). Монокристаллы *анти-7* были выращены из этилацетата–гексана:  $a = 5.612(3)$ ,  $b = 12.451(5)$ ,  $c = 18.672(9) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 96.66(2)^\circ$ ;  $V = 1295.9(9) \text{ \AA}^3$ ,  $F(000) = 532$ ,  $\mu = 0.319 \text{ мм}^{-1}$ ,  $d_{\text{выч}} = 1.296 \text{ г}\cdot\text{см}^{-3}$ ,  $Z = 2$ , пространственная группа –  $P2_1$ . Из 2214 независимых отражений в процессе расчетов использованы 1509 с  $I > 2\sigma(I)$ . Структура расшифрована по методике [4]. Уточнение проведено МНК в полноматричном анизотропном приближении по комплексу программ SHELXL97 [5]. Окончательное значение фактора расходимости  $R = 0.0964$ . Полная кристаллографическая информация для *анти-7* депонирована в Кембриджском банке структурных данных (CCDC 746815).

**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, MG-22A, 3T3, определяли на 96 луночных пластиковых панелях с использованием красителей CV, МТТ, NR в соответствии с методиками [6].



**Генерация клетками NO<sup>•</sup> радикалов.** Определение концентрации радикалов оксида азота в клеточной среде по Грейсу [7] проводили на 96 луночных пластиковых панелях. Полученные концентрации (нмоль) NO<sup>•</sup> 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<sup>•</sup> генерирующей активности соединений ( $TG_{100}$ ):

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

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. И. Поторочина, М. Ворона, Г. Вейнберг, И. Шестакова, И. Канепе, М. Петрова, Э. Лиепиньш, Э. Лукевиц, *XГС*, 284 (2009). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **45**, 228 (2009)].
2. G. Veinberg, I. Shestakova, M. Vorona, I. Kanepes, E. Lukevics, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 1007 (2004).
3. *Guidance Document on Using in vitro Data to Estimate in vivo Starting Doses for Acute Toxicity*, National Institute of Health, 2001. US Dept. of Health and Human Services.
4. A. Altomare, M. Burla, M. Camalli, G. Cascarano, C. Giacobozzo, A. Guagliardi, A. Moliterni, R. Spagna, *J. Appl. Crystallogr.*, **32**, 115 (1999).
5. G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr.*, **A64**, 112 (2008).
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, Латвия  
e-mail: max@osi.lv  
e-mail: veinberg@osi.lv

Поступило 18.09.2009