

Э. Лукевиц, Д. Янсонс\*, Л. Лейте, Ю. Попелис, Г. Андреева,  
И. Шестакова, И. Домрачева, В. Бридане, И. Канепе

**СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ  
ФЕНИЛВИНИЛПРОИЗВОДНЫХ 4,6,6-ТРИМЕТИЛ-2-ОКСО-  
1,2,5,6-ТЕТРАГИДРОПИРИДИН-3-КАРБОНИТРИЛА**

Синтезирован ряд фенилвинилпроизводных 4,6,6-триметил-2-оксо-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-карбонитрила и изучено их цитотоксическое действие на опухолевые клетки HT-1080 (фибросаркома человека) и MG 22A (гепатома мыши). Установлено, что высокой цитотоксичностью к обеим линиям клеток обладают 2-нитро-, 2- и 3-хлор-, 2-фтор- и 2-бромфенилпроизводные. Их токсичность по отношению к нормальным фибробластам мышечных эмбрионов NIH 3T3 зависит от характера и положения заместителя в фенильном кольце. Наибольшей селективностью цитотоксического действия отличается 2-бромфенилпроизводное.

**Ключевые слова:** 4,6,6-триметил-2-оксо-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-карбонитрил, стирилпроизводные, конденсация, токсичность, цитотоксичность.

Для синтеза новых противоопухолевых соединений успешно используется метод введения в исходную молекулу  $\delta$ -лактаманной [1–4] или циановинильной группировки [5–9].  $\delta$ -Лактаманый цикл содержат противоопухолевые препараты камптотецинового ряда (ингибиторы топоизомеразы I) [10] – иринотекан [10, 11], рубитекан [12], топотекан [10, 13], эксатекан [14] и его метаболит 9-аминокамптотецин [15], силатеканы [16], а также ингибиторы дигидрофолатредуктазы (пеметрексид [17]), тимидилсинтазы (ралтитрексид [18]), фарнезилтрансферазы (типифарниб [19]).  $\delta$ -Лактаманый цикл имеется в структуре иммуномодулятора [20] и антиангиогенного агента рохинимекса [21].

Некоторые ингибиторы тирозинкиназ содержат в одной молекуле  $\delta$ -лактаманый цикл и экзоциклическую  $\beta$ -циановинильную группу [22].

Мы синтезировали  $\delta$ -лактаман – 4,6,6-триметил-2-оксо-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-карбонитрил (**1**), у которого двойная связь циановинильной группы находится в лактаманном кольце, но это соединение оказалось инертным к опухолевым клеткам HT-1080 (фибросаркома человека) и MG 22A (гепатома мыши).

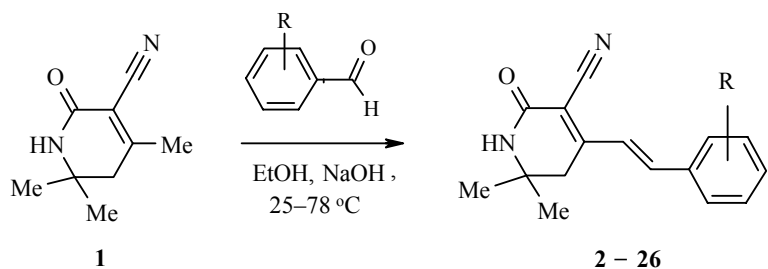
Введение в молекулу соединения  $\beta$ -стирильной группы нередко повышает его противоопухолевую активность [23], как это имеет место, например, в случае куркумина [24], ресвератрола [25], пайсатанола [7] и противоопухолевого препарата тамоксифена [26, 27]. Высокой цитотоксической активностью *in vitro* относительно нескольких видов опухолевых клеток человека характеризуются комбретастатин А-4

(природный *цис*-стильбен) и его аналоги [28–32]. Поэтому мы осуществили конденсацию лактама **1** с бензальдегидом и получили новый лактам 6,6-диметил-2-оксо-4-стирил-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-карбонитрил (**2**), который содержит в своей молекуле все три обсуждаемые группировки –  $\delta$ -лактамную, циановинильную и  $\beta$ -стирильную. Это соединение проявило заметное цитотоксическое действие на изученные опухолевые клетки ( $LC_{50}$  10 мкг/мл).

С целью увеличения цитотоксичности и селективности цитотоксического действия стирилцианолактамов нами синтезирована серия моно- (**3–20**) и дизамещенных (**21–26**) фенилпроизводных (табл. 1, 2) и изучена их цитотоксичность на двух линиях опухолевых клеток HT-1080 и MG 22A, а также на нормальных мышинных фибробластах NIH 3T3, которые служили и для оценки токсичности соединений (альтернативный метод определения  $LD_{50}$ ) [33].

Конденсация лактама **1** с бензальдегидами проводилась в этаноле в присутствии каталитических количеств NaOH (молярное отношение  $\delta$ -лактама–альдегид–NaOH, 1:(1÷2):(0.0625÷0.5) соответственно) при температуре 25–78 °С (табл. 1). Во всех случаях в качестве основного продукта реакции образовывался продукт кротоновой конденсации, имеющий, согласно данным спектроскопии ЯМР  $^1H$ , *транс*-конфигурацию относительно экзоциклической двойной связи (табл. 2): в спектрах сигналы обоих протонов образуют спиновую систему типа АВ с КССВ, типичными для *транс*-расположения протонов (15.7–16.4 Гц).

При проведении реакции  $\delta$ -лактама **1** с 2-хлорбензальдегидом при комнатной температуре и низком содержании катализатора в реакционной смеси (молярное отношение лактам–хлорбензальдегид–NaOH 2:1:0.05) был выделен продукт альдольной конденсации 6,6-диметил-2-оксо-4-[2-гидрокси-2-(2-хлорфенил)этил]-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-карбонитрил (**27**) с количественным выходом. Увеличение количества NaOH способствовало дегидратации альдоля и образованию лактама **4** с выходом 75%. Повышение температуры реакции до 78 °С приводило к снижению выхода этого соединения более чем в 2 раза (табл. 1).



Т а б л и ц а 1

Синтез 6,6 диметил-2-оксо-4-стирил-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-карбонитрилов

## 2-26

Стирил- лактамы	R	Молярное отношение δ-лактамы I: RC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CHO: :NaOH	Температура реакции, °C	Время реакции, ч	Выход 2-26, %
2	H	1 : 1.5 : 0.25	78	2	27
		1 : 1.5 : 0.25	78	4	27
3	2-F	1 : 1.5 : 0.25	78	6	38
4	2-Cl	1 : 1.5 : 0.25	25	2	75
		2 : 1 : 0.05	25	2	100*
		1 : 1.5 : 0.25	78	2	29
5	3-Cl	1 : 1.5 : 0.25	78	2	28
6	4-Cl	1 : 1.5 : 0.25	78	2	45
7	2-Br	1 : 1.5 : 0.25	25	2	70
		1 : 1.5 : 0.25	78	2	64
8	4-Br	1 : 1.5 : 0.0625	65	1	36
9	2-I	1 : 1.5 : 0.25	78	2	90
10	2-OH	1 : 1.5 : 0.125	78	5	98.5
11	4-OH	1 : 1.5 : 0.25	78	6	84
12	2-OMe	1 : 1.5 : 0.25	78	2	17
13	4-OMe	1 : 1.5 : 0.125	78	3	55.5
14	2-OCHF <sub>2</sub>	1 : 1.5 : 0.25	78	2	51
15	2-NO <sub>2</sub>	1 : 1 : 0.0625	65	1	36
16	3-NO <sub>2</sub>	1 : 1 : 0.0625	65	1	100
17	4-NO <sub>2</sub>	1 : 1 : 0.0625	25	4.5	11
		1 : 1 : 0.0625	65	1	33
		1 : 1 : 0.0625	78	1	69
18	4-NMe <sub>2</sub>	1 : 1 : 0.06	78	1	52
19	2-Me	1 : 1.5 : 0.25	78	3	55
20	2-CF <sub>3</sub>	1 : 1.3 : 0.25	78	2	66
21	2,4-Cl <sub>2</sub>	1 : 1 : 0.0625	65	1	88
		1 : 2 : 0.25	78	2	50
22	2,6-Cl <sub>2</sub>	1 : 1.5 : 0.25	78	2	47
23	3,4-(OH) <sub>2</sub>	1 : 1.5 : 0.25	78	4	0
		1 : 1.5 : 0.25	78	6	13.5
24	3-OMe, 4-OH	1 : 1.5 : 0.25	78	6	14
25	3,4-(OMe) <sub>2</sub>	1 : 1.5 : 0.25	25	2	68.0
26	3,4-OCH <sub>2</sub> O	1 : 1.5 : 0.25	25	2	76.5
		1 : 1.5 : 0.25	78	2	33

\* Продукт альдольной конденсации 27.

Т а б л и ц а 2

1531

**Характеристики δ-лактамов 1–27**

Соединение	Брутто-формула	Найдено, % Вычислено, %			Т. пл., °С
		С	Н	N	
1	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	<u>65.81</u>	<u>7.36</u>	<u>17.09</u>	196–199
		65.83	7.37	17.06	
2	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O	<u>76.12</u>	<u>6.36</u>	<u>11.14</u>	193–195
		76.16	6.39	11.10	
3	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> FN <sub>2</sub> O	<u>70.96</u>	<u>5.52</u>	<u>10.39</u>	198–200
		71.10	5.59	10.36	
4	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O	<u>66.62</u>	<u>5.15</u>	<u>9.71</u>	228–230
		67.02	5.27	9.77	
5	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O	<u>67.10</u>	<u>5.24</u>	<u>9.78</u>	221–224 (разл.)
		67.02	5.27	9.77	
6	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O	<u>66.95</u>	<u>5.25</u>	<u>9.72</u>	235–237 (разл.)
		67.02	5.27	9.77	
7	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> BrN <sub>2</sub> O	<u>58.24</u>	<u>4.37</u>	<u>8.49</u>	246–248
		58.02	4.56	8.46	
8	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> BrN <sub>2</sub> O	<u>58.00</u>	<u>4.53</u>	<u>8.39</u>	253–255 (разл.)
		58.02	4.56	8.46	
9	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> IN <sub>2</sub> O	<u>50.91</u>	<u>3.75</u>	<u>7.47</u>	260–262
		50.81	4.00	7.41	
10	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<u>71.48</u>	<u>6.02</u>	<u>10.56</u>	255–260 (разл.)
		71.62	6.01	10.44	
11	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<u>71.33</u>	<u>6.03</u>	<u>10.43</u>	288–291 (разл.)
		71.62	6.01	10.44	
12	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<u>72.36</u>	<u>6.39</u>	<u>9.85</u>	230–232
		72.32	6.43	9.92	
13	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<u>72.22</u>	<u>6.42</u>	<u>9.99</u>	199–200
		72.32	6.43	9.92	
14	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<u>64.16</u>	<u>5.03</u>	<u>8.82</u>	205–207
		64.14	5.07	8.80	
15	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	<u>64.47</u>	<u>5.03</u>	<u>14.16</u>	246–248 (разл.)
		64.64	5.09	14.13	
16	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	<u>64.59</u>	<u>5.03</u>	<u>14.12</u>	299–302
		64.64	5.09	14.13	
17	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	<u>64.51</u>	<u>5.11</u>	<u>14.11</u>	280–285 (разл.)
		64.64	5.09	14.13	
18	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O	<u>73.15</u>	<u>7.19</u>	<u>14.19</u>	268–270 (разл.)
		73.19	7.17	14.23	
19	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O	<u>76.62</u>	<u>6.81</u>	<u>10.55</u>	236–238
		76.66	6.81	10.52	
20	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	<u>63.99</u>	<u>4.64</u>	<u>8.76</u>	240–242 (разл.)
		63.75	4.72	8.75	
21	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	<u>59.96</u>	<u>4.35</u>	<u>8.70</u>	283–286 (разл.)
		59.83	4.39	8.72	
22	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	<u>59.80</u>	<u>4.27</u>	<u>8.69</u>	214–216
		59.83	4.39	8.72	
23	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> × × H <sub>2</sub> O	<u>63.50</u>	<u>5.97</u>	<u>9.20</u>	265–267 (разл.)
		63.57	6.00	9.27	
24	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> × × 0.5 C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH × H <sub>2</sub> O	<u>64.29</u>	<u>6.64</u>	<u>8.22</u>	213–215 (разл.)
		63.70	6.83	8.25	
25	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	<u>69.03</u>	<u>6.40</u>	<u>8.91</u>	205–207
		69.21	6.45	8.97	
26	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	<u>69.01</u>	<u>5.32</u>	<u>9.45</u>	248–250
		68.91	5.44	9.45	
27	C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	<u>63.05</u>	<u>5.53</u>	<u>9.18</u>	222–225
		63.05	5.55	9.19	

Т а б л и ц а 3

**Спектры ЯМР <sup>1</sup>H синтезированных соединений**

Соединение	Химические сдвиги, $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц)*
1	2
1	1.31 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.27 (3H, с, 4-CH <sub>3</sub> ); 2.46 (2H, с, H-5); 6.5 (1H, уш. с, NH)
2	1.38 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.74 (2H, с, H-5); 7.0 (1H, уш. с, NH); 7.20 и 7.45 (2H, два д, $J = 16.4$ , CH=CH); 7.41 (3H, м, H-3,4,5 Ph); 7.60 (2H, м, H-2,6 Ph)
3	1.38 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.76 (2H, с, H-5); 6.35 (1H, уш. с, NH); 7.39 и 7.50 (2H, два д, $J = 16.1$ , CH=CH); 7.2–7.8 (4H, м, H Ph)
4	1.30 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.68 (2H, с, H-5); 6.4 (1H, уш. с, NH); 7.33 и 7.53 (2H, два д, $J = 16.3$ , CH=CH); 7.1–7.3 (3H, м, H-3,5,6 Ph); 7.69 (1H, м, H-4 Ph)
5	1.37 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.73 (2H, с, H-5); 6.13 (1H, уш. с, NH); 7.11 и 7.51 (2H, два д, $J = 16.0$ , CH=CH); 7.37 (1H, м, H-2 Ph); 7.47 (3H, м, H-4,5,6 Ph)
6	1.37 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.73 (2H, с, H-5); 6.2 (1H, уш. с, NH); 7.13 и 7.41 (2H, два д, $J = 16.0$ , CH=CH); 7.39 и 7.52 (4H, A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> система, $J = 8.4$ , H-3,5 Ph и H-2,6 Ph)
7	1.40 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.77 (2H, с, H-5); 6.8 (1H, уш. с, NH); 7.37 и 7.58 (2H, два д, $J = 16.0$ , CH=CH); 7.2–7.4 (2H, м, H-4,5 Ph); 7.62 (1H, д. д, $J = 7.7$ и $J = 1.3$ , H-3 Ph); 7.77 (1H, д. д, $J = 7.8$ и $J = 1.5$ , H-6 Ph)
8	1.37 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.73 (2H, с, H-5); 6.1 (1H, уш. с, NH); 7.11 и 7.42 (2H, два д, $J = 16.0$ , CH=CH); 7.44 и 7.55 (4H, A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> система, $J = 8.8$ , H-3,5 Ph и H-2,6 Ph)
9	1.40 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.78 (2H, с, H-5); 6.0 (1H, уш. с, NH); 7.30 и 7.43 (2H, два д, $J = 15.8$ , CH=CH); 7.09 (1H, д. т, $J = 8.0$ и $J = 1.6$ , H-4 Ph); 7.41 (1H, д. т, $J = 7.8$ и $J = 1.4$ , H-5 Ph); 7.72 (1H, д. д, $J = 7.8$ и $J = 1.6$ , H-3 Ph); 7.91 (1H, д. д, $J = 8.0$ и $J = 1.4$ , H-6 Ph)
10	1.24 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.82 (2H, с, H-5); 6.8–7.6 (6H, м, H Ph, CH=CH); 8.1 (1H, уш. с, OH); 10.5 (1H, уш. с, NH);
11	1.34 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.71 (2H, с, H-5); 6.88 и 7.46 (2H и 2H, A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> система, $J = 8.6$ , H-3,5 Ph и H-2,6 Ph); 6.9 (1H, уш. с, OH); 7.14 и 7.25 (2H, два д, $J = 16.1$ , CH=CH); 7.4 (1H, уш. с, NH)
12	1.37 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.76 (2H, с, H-5); 3.92 (3H, с, OCH <sub>3</sub> ); 6.3 (1H, уш. с, NH); 6.93 (1H, д. д, $J = 8.4$ и $J = 0.8$ , H-5 Ph); 7.00 (1H, д. т, $J = 7.4$ и $J = 0.8$ , H-4 Ph); 7.38 (1H, д. д, $J = 7.4$ и $J = 1.7$ , H-3 Ph); 7.52 и 7.59 (2H, два д, $J = 16.4$ , CH=CH); 7.66 (1H, д. д, $J = 8.2$ и $J = 1.6$ , H-6 Ph)
13	1.36 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.73 (2H, с, H-5); 3.86 (3H, с, OCH <sub>3</sub> ); 6.0 (1H, уш. с, NH); 6.93 и 7.55 (2H и 2H, A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> система, $J = 8.8$ , H-3,5 Ph и H-2,6 Ph); 7.14 и 7.33 (2H, два д, $J = 16.4$ , CH=CH)
14	1.39 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.75 (2H, с, H-5); 6.3 (1H, уш. с, NH); 6.58 (1H, т, $J_{HF} = 73.2$ , OCHF <sub>2</sub> ); 7.16 (1H, д. д, $J = 7.8$ и $J = 0.9$ , H-3 Ph); 7.28 (1H, д. т, $J = 7.8$ и $J = 1.2$ , H-4 Ph); 7.43 (1H, д. т, $J = 7.8$ и $J = 1.7$ , H-5 Ph); 7.44 и 7.53 (2H, два д, $J = 16.2$ , CH=CH); 7.81 (1H, д. д, $J = 7.8$ и $J = 1.7$ , H-6 Ph)
15	1.25 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.82 (2H, с, H-5); 7.19 и 7.78 (2H, два д, $J = 16.0$ , CH=CH); 7.69 (1H, д. т, $J = 8.4$ и $J = 1.4$ , H-5 Ph); 7.83 (1H, д. т, $J = 7.6$ и $J = 1.2$ , H-4 Ph); 7.94 (1H, д. д, $J = 8.0$ и $J = 1.4$ , H-6 Ph); 8.10 (1H, д. д, $J = 9.0$ и $J = 1.2$ , H-3 Ph); 8.3 (1H, уш. с, NH)
16	1.25 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.87 (2H, с, H-5); 7.39 и 7.74 (2H, два д, $J = 16.1$ , CH=CH); 7.9–8.4 (4H, м, H-4,5,6 Ph и NH); 8.49 (1H, м, H-2 Ph)
17	1.25 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.87 (2H, с, H-5); 7.40 и 7.69 (2H, два д, $J = 16.0$ , CH=CH); 7.95 и 8.29 (2H и 2H, A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> система, $J = 8.8$ , H-3,5 Ph и H-2,6 Ph); 8.27 (1H, с, NH)

Окончание таблицы 3

1	2
18	1.34 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.71 (2H, с, Н-5); 3.05 (6H, с, N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ); 5.8 (1H, уш. с, NH); 6.67 и 7.48 (2H и 2H, A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> система, J = 8.9, Н-3,5 Ph и Н-2,6 Ph); 7.11 и 7.23 (2H, два д, J = 16.0, CH=CH)
19	1.39 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.45 (3H, с, CH <sub>3</sub> ); 2.75 (2H, с, Н-5); 6.3 (1H, уш. с, NH); 7.36 и 7.48 (2H, два д, J = 15.8, CH=CH); 7.25 (3H, м, Н-3,4,5 Ph); 7.68 (1H, м, Н-6 Ph)
20	1.40 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.73 (2H, с, Н-5); 6.4 (1H, уш. с, NH); 7.40 и 7.55 (2H, два д, J = 16.0, CH=CH); 7.51 и 7.63 (2H, т, J = 6.9, Н-4,5 Ph); 7.72 (2H, два уш. д, Н-3,6 Ph)
21	1.25 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.86 (2H, с, Н-5); 7.30 и 7.60 (2H, два д, J = 16.0, CH=CH); 7.54 (1H, д, д, J = 8.6 и J = 2.0, Н-5 Ph); 7.76 (1H, д, J = 2.0, Н-3 Ph); 7.93 (1H, д, J = 8.6, Н-6 Ph); 8.3 (1H, уш. с, NH)
22	1.40 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.78 (2H, с, Н-5); 6.15 (1H, уш. с, NH); 7.1–7.4 (3H, м, Н-3,4,5 Ph); 7.26 и 7.64 (2H, два д, J = 16.4, CH=CH)
23	1.22 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.80 (2H, с, Н-5); 6.80 (1H, д, J = 8.0, Н-5 Ph); 7.00 (1H, д, д, J = 8.2 и J = 1.9, Н-6 Ph); 7.00 и 7.40 (2H, два д, J = 15.7, CH=CH); 7.13 (1H, д, J = 1.9, Н-2 Ph); 8.05 (1H, уш. с, NH); 9.52 (2H, уш. с, 3'- и 4'-ОН)
24	1.36 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.73 (2H, с, Н-5); 3.96 (3H, с, OCH <sub>3</sub> ); 5.07 (1H, уш. с, NH); 5.98 (1H, с, ОН); 6.94 (1H, д, J = 7.0, Н-5 Ph); 7.0–7.2 (2H, м, Н-2,6 Ph); 7.13 и 7.28 (2H, два д, J = 16.3, CH=CH)
25	1.37 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.73 (2H, с, Н-5); 3.93 (6H, с, OCH <sub>3</sub> ); 6.4 (1H, уш. с, NH); 6.89 (1H, д, J = 8.4, Н-5 Ph); 7.10 (1H, д, J = 1.8, Н-2 Ph); 7.15 (1H, д, д, J = 8.5 и J = 1.8, Н-6 Ph); 7.14 и 7.31 (2H, два д, J = 15.8, CH=CH)
26	1.23 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.80 (2H, с, Н-5); 6.11 (2H, с, OCH <sub>2</sub> O); 7.01 (1H, д, д, J = 8.2 и J = 1.7, Н-6 Ph); 7.21 (1H, м, Н-5 Ph); 7.30 (1H, уш. с, Н-2 Ph); 7.10 и 7.48 (2H, два д, J = 15.8, CH=CH); 8.11 (1H, с, NH)
27	1.19 (6H, с, 6-CH <sub>3</sub> ); 2.61 (2H, с, Н-5); 5.20 (1H, м, CH); 5.84 (1H, д, ОН); 7.3–7.5 (3H, м, Ph); 7.65 (1H, д, J = 7.8, Н-6 Ph); 8.04 (1H, м, NH)

\* Спектры ЯМР <sup>1</sup>H снимали в CDCl<sub>3</sub> (соединения **1–9**, **12–14**, **18–20**, **22**, **24**, **25**), ДМСО-d<sub>6</sub> (соединения **10**, **15–17**, **21**, **23**, **26**, **27**) и в смеси ДМСО-d<sub>6</sub>/CDCl<sub>3</sub> в соотношении 5:1 (соединение **11**).

Результаты биологических испытаний (табл. 4) показывают, что цитотоксичность лактамов **2–27** существенно зависит от характера и положения заместителя в бензольном кольце, а также от количества заместителей в нем.

Цитотоксичность 2-замещенных фенилпроизводных по отношению к опухолевым клеткам HT-1080 и MG 22A уменьшается в ряду заместителей NO<sub>2</sub> > Cl > F, Br > MeO > OH > CHF<sub>2</sub>O > CF<sub>3</sub>, Me > Me<sub>2</sub>N. Наибольшей цитотоксичностью к обеим линиям клеток обладает 2-нитропроизводное **15** (LC<sub>50</sub> 0.8–3 мкг/мл). Высокую цитотоксичность проявили также 2- и 3-хлорпроизводные (соединения **4** и **5** соответственно) (LC<sub>50</sub> 2–4 мкг/мл), 2-фтор- (**3**) и 2-бромпроизводные (**7**) (LC<sub>50</sub> 2–6 мкг/мл). Несколько менее активным оказалось соединение с 2-метоксигруппой **12** (LC<sub>50</sub> 6–10 мкг/мл). Все эти соединения обладают большей цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам, чем незамещенное фенилпроизводное **2** (LC<sub>50</sub> 10 мкг/мл).

Т а б л и ц а 4

Цитотоксичность лактамов 1–27\*

Соединение	LC <sub>50</sub> , мкг/мл							LD <sub>50</sub> , мг/кг
	HT 1080			MG 22A			3T3	
	CV	MTT	NO	CV	MTT	NO	NR	
1	**	**	7	**	**	7	**	>2000
2	10	10	300	10	10	120	100	706
3	4	6	120	5	3	300	31	432
4	3	3	200	2	2	133	316	1233
5	4	4	140	2	2	71	32	454
6	21	12	33	10	10	83	100	774
7	5	5	22	5	2	17	1000	2252
8	**	14	6	**	100	6	1174	2418
9	**	10	15	100	12	17	**	>2000
10	30	18	200	15	9	150	37	483
11	70	21	11	88	50	7	**	>2000
12	10	6	15	7	10	23	477	1496
13	**	**	8	**	100	9	574	1609
14	40	10	450	10	30	15	**	>2000
15	3	1.8	200	1.5	0.8	100	31	476
16	**	100	5	92	73	9	1000	2111
17	**	17	11	103	10	18	206	1070
18	**	71	10	**	>100	10	**	>2000
19	100	90	8	100	100	5	**	>2000
20	100	75	12	100	100	10	5	221
21	20	10	20	4	2	80	1000	2252
22	12	10	23	6	6	18	**	>2000
23	20	10	250	10	20	100	202	1094
24	36	28	39	47	30	36	670	1760
25	20	10	250	10	20	100	202	1013
26	**	100	6	**	**	5	**	>2000
27	86	100	24	100	100	15	496	1585

\* LC<sub>50</sub> – концентрация лактамов **1–27**, вызывающая гибель 50% клеток; CV – кристаллический фиолетовый (действие на клеточные мембраны); MTT – бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия (влияние на активность митохондриальных ферментов в клетке); NR – нейтральный красный; NO – степень генерирования NO, определенная и вычисленная по методике [34].

\*\* Цитотоксический эффект отсутствует.

Наименьшей токсичностью (LD<sub>50</sub> 2252 мг/кг) с наибольшей селективностью цитотоксического действия из этой группы соединений обладает 2-бромпроизводное **7**. Токсичность 2-галогензамещенных уменьшается в ряду F>Cl>Br>I (соединения **3, 4, 7 и 9**).

Продукт альдольной конденсации **27** отличается низкой цитотоксической активностью. Морфологических изменений в клетках соединение не вызывает и может быть классифицировано как нетоксичное.

В рядах метокси- (соединения **12 и 13**), хлор- (соединения **4 и 6**), гидроксид- (соединения **10 и 11**) и нитропроизводных (соединения **15 и 17**) 4-изомеры являются менее токсичными, чем соответствующие

2-изомеры. По цитотоксическому действию на опухолевые клетки 4-изомеры также уступают 2-изомерам.

Введение в молекулу 2-хлорпроизводного второго атома хлора в положение 4 (соединение **21**) или 6 (соединение **22**) приводит к небольшому снижению цитотоксичности к клеткам MG 22A, по отношению к клеткам HT-1080 это снижение несколько больше. В то же время их токсичность относительно нормальных фибробластов существенно уменьшается (от 316 до 1174 мкг/мл).

Введение второго заместителя (гидрокси- или метокси-) в положение 3 малоактивных 4-замещенных гидрокси- (соединение **11**) и метокси-производных (соединение **13**) увеличивает их цитотоксичность (соединения **23–25**), но при этом увеличивается и токсичность относительно нормальных клеток.

Интересно отметить, что ряд соединений, обладающих высокой (**15, 3–5**) или умеренной (**2, 10, 23, 25**) цитотоксичностью по отношению к опухолевым клеткам, заметно индуцировали образование в них оксида азота (табл. 4).

Таким образом, установлено существенное влияние характера заместителя и его положения в фенильном кольце на противоопухолевую активность и токсичность стирилцианолактамов. Наибольшей селективностью цитотоксического действия отличается 2-бромфенилпроизводное **7**.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  регистрировали на приборе Mercury-400mg (400 МГц), внутренний стандарт ТМС. Анализ ВЭЖХ выполняли в условиях обращенно-фазовой хроматографии. Измерения проводили на хроматографе Varian ProStar, состоящем из градиентного насоса ProStar 240, детектора на диодной матрице ProStar 330 и автосамплера ProStar 240 на колонке (4.6 × 150) фирмы Alltech, заполненной сорбентом Apollo C18. Подвижная фаза: ацетонитрил – 0.1% раствор фосфорной кислоты в воде (рН 2.3). Линейный градиент (15 мин) от 40 до 100% ацетонитрила, затем 5 мин в изократическом режиме (100% ацетонитрил). Расход подвижной фазы 1 мл/мин. Методом ВЭЖХ установили, что чистота полученных соединений превышала 99%.

Исходный  $\delta$ -лактама **1** был синтезирован по разработанному нами методу [35] конденсацией 4-гидрокси-4-метил-2-пентанона с циануксусным эфиром в присутствии ацетата аммония.

**Конденсация 4,6,6-триметил-2-оксо-1,2,5,6-тетрагидропиридин-3-карбонитрила с бензальдегидами** (общая методика). Смесь  $\delta$ -лактама **1**, бензальдегида и NaOH в этаноле перемешивают и выдерживают при комнатной температуре или нагревают до температуры кипения и кипятят 1–6 ч. Выпавший продукт реакции отфильтровывают, промывают на фильтре небольшим количеством этанола и затем перекристаллизовывают из этанола.

**Цитотоксичность соединений 2–27** (табл. 3) *in vitro* в отношении монослойных опухолевых клеток HT-1080 (фибросаркома человека) и MG 22A (гепатома мыши) и нормальных клеток NIH 3T3 (эмбриональные фибробласты мыши) определена на 96 луночных панелях с использованием красителей CV,

MTT и NR по методике, описанной в [36]. Ожидаемую острую токсичность ( $\text{LD}_{50}$  мг/кг) вычисляли по методу [33], используя полученные на культуре клеток 3T3 данные.



Работа выполнена при финансовой поддержке Латвийского совета по науке (грант 06.0032).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. S. R. Klutchko, J. M. Hamby, D. H. Boschelli, Z. Wu, A. J. Kraker, A. M. Amar, B. G. Hartl, C. Shen, W. D. Klohs, R. W. Steinkampf, D. L. Driscoll, J. M. Nelson, W. L. Elliott, B. J. Roberts, C. L. Stoner, P. W. Vincent, D. J. Dykes, R. L. Panek, G. H. Lu, T. C. Major, T. K. Dahring, H. Hallak, L. A. Bradford, H. D. H. Showalter, A. M. Doherty, *J. Med. Chem.*, **41**, 3276 (1998).
2. D. H. Boschelli, Z. Wu, S. R. Klutchko, H. D. H. Showalter, J. M. Hamby, G. H. Lu, T. C. Major, T. K. Dahring, B. Batley, R. L. Panek, J. Keiser, B. G. Hartl, A. J. Kraker, W. D. Klohs, B. J. Roberts, S. Patmore, W. L. Elliott, R. Steinkampf, L. A. Bradford, H. Hallak, A. M. Doherty, *J. Med. Chem.*, **41**, 4365 (1998).
3. A. M. Thompson, G. W. Rewcastle, S. L. Boushelle, B. G. Hartl, A. J. Kraker, G. H. Lu, B. L. Batley, R. L. Panek, H. D. H. Showalter, W. A. Denny, *J. Med. Chem.*, **43**, 3134 (2000).
4. A. J. Kraker, B. G. Hartl, A. M. Amar, M. R. Barvian, H. D. H. Showalter, C. W. Moore, *Biochem. Pharmacol.*, **60**, 885 (2000).
5. A. Gazit, P. Yaish, C. Gilon, A. Levitzki, *J. Med. Chem.*, **32**, 2344 (1989).
6. A. Gazit, N. Osherov, I. Posner, P. Yaish, E. Poradosu, C. Gilon, A. Levitzki, *J. Med. Chem.*, **34**, 1896 (1991).
7. T. R. Burke, *Drugs Fut.*, **17**, 119 (1992).
8. V. G. Brunton, M. J. Lear, D. J. Robins, S. Williamson, P. Workman, *Anti-Cancer Drug Design*, **9**, 291 (1994).
9. M. A. Ortega, M. J. Morancho, F. J. Martínez-Crespo, Y. Sainz, M. E. Montoya, A. L. Ceráin, A. Monge, *Eur. J. Med.*, **35**, 21 (2000).
10. S. Sirikantaramas, T. Asano, H. Sudo, M. Yamazaki, K. Saito, *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **8**, 196 (2007).
11. S. O'Keilly, E. K. Rowinsky, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **24**, 47 (1996).
12. C. F. Verschraegen, *Curr. Opin. Oncol. Endocr. Metab. Invest. Drugs*, **1**, 184 (1999).
13. K. Seiter, *Expert Opin. Drug Safety*, **4**, 45 (2005).
14. J. A. Ajani, C. Takimoto, C. R. Becerra, A. Silva, L. Baez, A. Cohn, P. Major, M. Kamida, K. Feit, R. De Jager, *Invest. New Drugs*, **23**, 479 (2005).
15. C. H. Takimoto, R. Thomas, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **922**, 224 (2000).
16. E. Lukevics, L. Ignatovich, in: *Metallotherapeutic Drugs and Metal-based Diagnostic Agents*, M. Gielen, E. R. T. Tiekink (Eds.), John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, 2005, p.83.
17. M. Muhsin, C. Gricks, P. Kirkpatrick, *Nature Rev. Drug Discov.*, **3**, 825 (2004).
18. *Wiley Handbook of Current and Emerging Drug Therapies*, John Wiley and Sons, Ltd., Hoboken, NJ, USA, vol. 1, 2007, p. 478.
19. P. Norman, *Curr. Opin. Invest. Drugs*, **3**, 313 (2002).
20. J. C. S. Bergh, T. H. Tötterman, B. C. Termander, K.A.-M.P. Strandgården., P. O. G. Gunnarsson, B. I. Nilsson, *Cancer Invest.*, **3**, 204 (1997).
21. B. Hartley-Asap, J. Vukanovic, I. B.- J. K. Joseph, K. Strandgården, J. Polacek, J. T. Isaacs, *J. Urol.*, **158**, 902 (1997).
22. A. J. Bridges, *Emerging Drugs*, **3**, 279 (1998).
23. V. Nesterenko, K. S. Putt, P. J. Hergenrother, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 14672 (2003).
24. K. J. O'Byrne, W. P. Steward, *Emerging Drugs*, **6**, 155 (2001).

25. J. A. Baur, D. A. Sinclair, *Nature Rev. Drug Discov.*, **5**, 493 (2006).
26. C. K. Osborne, *N. Engl. J. Med.*, **339**, 1609 (1998).
27. *Wiley Handbook of Current and Emerging Drug Therapies*, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 2007, vol. 1, p. 250, 542.
28. S. Fortin, E. Moreau, J. Lacroix, J. C. Teulade, A. Patenaude, R. C. Gaudreault, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**, 2000 (2007).
29. D. J. Kerr, E. Hamel, M. K. Jung, B. L. Flynn, *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 3290 (2007).
30. J. E. Robinson, R. J. K. Taylor, *Chem. Commun.*, **16**, 1617 (2007).
31. N. J. Lawrence, R. P. Patterson, Li-Ling Ooi, D. Cook, S. Ducki, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 5844 (2006).
32. F. Bellina, S. Causeruccio, S. Monti, R. Ross, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 5757 (2006).
33. *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. 102; <http://www.epa.gov/hpv/pubs/general/nih2001b.pdf>
34. G. Veinberg, M. Vorona, I. Shestakova, I. Kanepe, O. Zharkova, R. Mezapuke, I. Turovskis, I. Kalvinsh, E. Lukevics, *Bioorg. Med. Chem.*, **8**, 1033 (2000).
35. Д. Янсоне, М. Флейшер, Г. Андреева, Л. Лейте, Э. Лукевиц, *ХТС*, 1863 (2005). [*Chem. Heterocycl. Comp.*, **41**, 1537 (2005)].
36. E. Lukevics, L. Ignatovich, I. Sleiksha, V. Muravenko, I. Shestakova, S. Belyakov, J. Popelis, *Appl. Organomet. Chem.*, **20**, 454 (2006).

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

Поступило 26.05.2009