

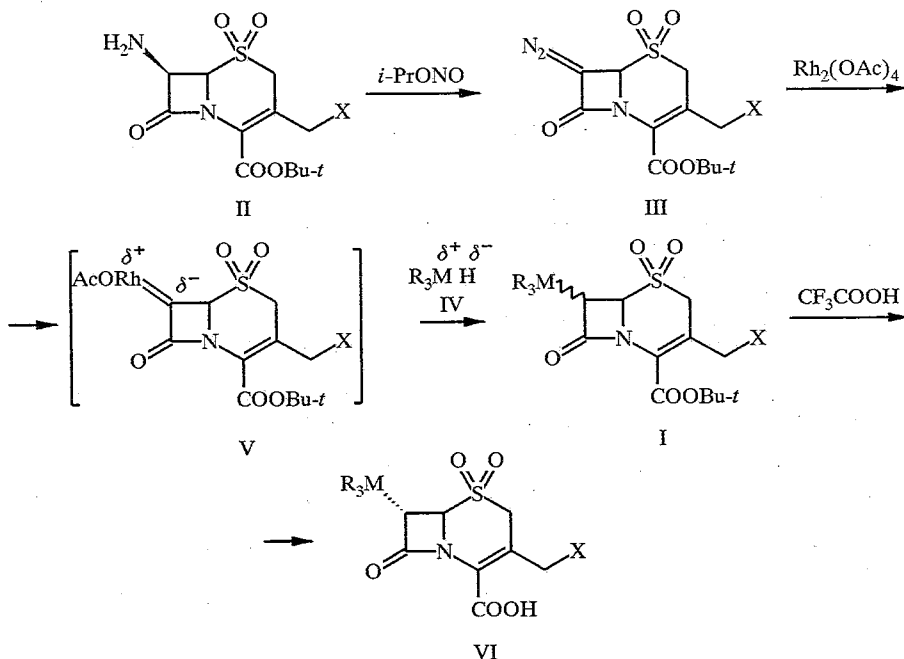
Г. Вейнберг, М. Ворона, Д. Мусель, Х. Кажока,  
И. Шестакова, И. Канепа, И. Домрачева,  
А. Страков, Э. Лукевиц

### СУЛЬФОНЫ 7-СИЛИЛ- И 7-ГЕРМИЛЦЕФАЛОСПОРАНАТОВ

7-Силил- и 7-гермилцефалоспоранаты в виде смеси 7 $\alpha$ - и 7 $\beta$ -стереоизомеров получены взаимодействием гидросиланов и гидрогермана с сульфонами *трет*-бутиловых эфиров 7-диазоцефалоспоровой и 7-диазодезацетоксицефалоспоровой кислот в присутствии диацетата родия. Некоторые синтезированные вещества проявляют цитотоксический эффект в отношении опухолевых клеток *in vitro* и ингибируют каталитическую активность фермента эластазы.

Структурная модификация боковой цепи цефалоспоринов широко используется для получения новых структурных аналогов антибиотика с улучшенными фармакологическими свойствами. С этой целью было предпринято исследование по введению триорганилсилильных и триорганилгермилльной групп в положение 7 сульфонов *трет*-бутиловых эфиров цефалоспорина и деацетоксицефалоспорина для изучения влияния элементов IVA группы на биологические свойства синтезированных веществ.

Запланированную трансформацию реализовали, основываясь на методологии внедрения родийсодержащих карбеноидов в связь Si—H [1—3]. Ее применение для получения целевых соединений Ia—ж включало диазотирование сульфонов *трет*-бутиловых эфиров 7-аминоцефалоспоровых кислот (IIa,б) с помощью изопропилнитрита и последующее



I a X = H, R<sub>3</sub>M = Et<sub>3</sub>Si; б X = OAc, R<sub>3</sub>M = Et<sub>3</sub>Si; в X = H, R<sub>3</sub>M = *t*-BuMe<sub>2</sub>Si; г X = OAc, R<sub>3</sub>M = *t*-BuMe<sub>2</sub>Si; д X = H, R<sub>3</sub>M = PhMe<sub>2</sub>Si; е X = OAc, R<sub>3</sub>M = PhMe<sub>2</sub>Si; ж X = OAc, R<sub>3</sub>M = Et<sub>3</sub>Ge.  
II, III, V a X = H, б X = OAc. IV a R<sub>3</sub>M = Et<sub>3</sub>Si, б R<sub>3</sub>M = *t*-BuMe<sub>2</sub>Si, в R<sub>3</sub>M = PhMe<sub>2</sub>Si, г R<sub>3</sub>M = Et<sub>3</sub>Ge.  
VI a X = OAc, R<sub>3</sub>M = Et<sub>3</sub>Si; б X = OAc, R<sub>3</sub>M = PhMe<sub>2</sub>Si

Характеристика 7-силлил- и 7-гермилзамещенных цефалоспоринов

Соединение	R <sub>3</sub> M	X	Соотношение 7α- и 7β-изомеров*	Брутто- формула	Найдено, % Вычислено, %			T <sub>пл.</sub> °C	ИК спектр, см <sup>-1</sup> , ν <sub>C=O</sub> (β-лактам)	R <sub>f</sub> <sup>3</sup>
					C	H	N			
Ia	Et <sub>3</sub> Si	H	79 : 21	C <sub>18</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>5</sub> SSi	<u>53,47</u> 53,83	<u>7,62</u> 7,78	<u>3,53</u> 3,49	96...97	1800	0,60
Iб	Et <sub>3</sub> Si	OAc	65 : 35	C <sub>20</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>7</sub> SSI	<u>52,09</u> 52,27	<u>7,24</u> 7,23	<u>3,31</u> 3,05	58...60	1780	0,71
Iв	<i>t</i> -BuMe <sub>2</sub> Si	H	70 : 30	C <sub>18</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>5</sub> SSi · 0,9C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	<u>58,68</u> 58,66	<u>8,87</u> 9,16	<u>2,98</u> 2,92	148...151	1770	0,48
Iг	<i>t</i> -BuMe <sub>2</sub> Si	OAc	75 : 25	C <sub>20</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>7</sub> SSI · 0,1C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	<u>52,94</u> 52,84	<u>7,44</u> 7,35	<u>3,04</u> 2,99	95...98	1790	0,34
Id	PhMe <sub>2</sub> Si	H	70 : 30	C <sub>20</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>5</sub> SSi	<u>56,70</u> 56,98	<u>6,61</u> 6,45	<u>3,20</u> 3,32	55...56	1780	0,57
Ie	PhMe <sub>2</sub> Si	OAc	77 : 23	C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>7</sub> SSI	<u>54,83</u> 55,10	<u>6,20</u> 6,09	<u>3,08</u> 2,92	100...103	1770	0,57
Iж	Et <sub>3</sub> Ge	OAc	62 : 38	C <sub>20</sub> H <sub>33</sub> NO <sub>7</sub> SGe · 0,25C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	<u>48,52</u> 48,86	<u>6,68</u> 6,99	<u>2,99</u> 2,66	Масло	1780	0,43
VIa	Et <sub>3</sub> Si	OAc	100 : 0	C <sub>16</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>7</sub> SSI	*2			85...87	1780	0,50*4
VIб	PhMe <sub>2</sub> Si	OAc	100 : 0	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>7</sub> SSI	*2			45...47	1780	0,50*4

\* Данные анализа ВЭЖХ.

\*2 По данным ВЭЖХ, содержание основного вещества &gt;93%.

\*3 ТСХ, элюент гексан--этилацетат, 2 : 1.

\*4 ТСХ, элюент гексан--этилацетат, 1 : 1.

## Спектры ПМР синтезированных соединений

Соединение (стерео- изомер)	Химические сдвиги ( $\delta$ ) и константы спин-спинового взаимодействия ( $J$ ) протонов (м. д., Гц)							
	C <sub>6</sub> -H	C <sub>7</sub> -H	SO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	3-CH <sub>3</sub>	3-OCOCH <sub>3</sub>	COOC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	COOH	R <sub>3</sub> M
Ia ( $\alpha$ )	4,53, уш. с	3,48, д, $J = 2$	3,60, 3,86 АБ-к, $J = 19$	2,02				0,57...1,22 (15H, м, 3C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )
Ia ( $\beta$ )	4,80, д, $J = 4$	3,62, д, $J = 4$	3,40...3,7	1,94				0,57...1,22 (15H, м, 3C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )
Iб ( $\alpha$ )	4,62, уш. с	3,60, с	3,62, 4,02 АБ-к, $J = 20$		2,11	1,62		0,64...1,17 (15H, м, 3C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )
Iб ( $\beta$ )	4,82, д, $J = 4$	3,57, д, $J = 4$	3,75, 4,00 АБ-к, $J = 18$		2,11	1,62		0,64...1,17 (15H, м, 3C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )
Iв ( $\alpha$ )	4,48, д, $J = 1$	3,35, д, $J = 1$	3,51, 3,86 АБ-к, $J = 18$	1,97		1,46		0,15 (6H, д, $J = 4$ Гц, 2CH <sub>3</sub> ); 0,95 (9H, с, (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )
Iв ( $\beta$ )	4,77, д, $J = 4$	3,42, д, $J = 4$	3,42, 3,62 АБ-к, $J = 15$	1,86		1,48		0,22 (6H, д, $J = 1$ Гц, 2CH <sub>3</sub> ); 0,91 (9H, с, (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )
Iг ( $\alpha$ )	4,48, д, $J = 1$	3,51, д, $J = 1$	3,68, 3,97 АБ-к, $J = 18$		2,11	1,55		0,22 (6H, д, $J = 3$ Гц, 2CH <sub>3</sub> ); 1,02 (9H, с, (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )
Iг ( $\beta$ )	4,51...5,00, м	3,57...3,93, м	3,57...3,93, м		2,11	1,60		0,33 (6H, д, $J = 2$ Гц, 2CH <sub>3</sub> ); 0,98 (9H, с, (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> )
Iд ( $\alpha$ )	4,40, уш. с	3,64, с	3,35, 3,71 АБ-к, $J = 19$	2,00				0,51 (6H, с, 2CH <sub>3</sub> ); 7,30...7,71 (5H, м, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
Iд ( $\beta$ )	4,77, д, $J = 5$	3,55, д, $J = 5$	3,30...3,80, м	2,00		1,53		0,62 (6H, д, $J = 3$ Гц, 2CH <sub>3</sub> ); 7,30...7,71 (5H, м, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
Iе ( $\alpha$ )	4,35, уш. с	3,60, уш. с	3,44, 3,88 АБ-к, $J = 19$		2,04	1,53		0,60 (6H, д, $J = 3$ Гц, 2CH <sub>3</sub> ); 7,26...7,66 (5H, м, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
Iе ( $\beta$ )	4,80, д, $J = 5$	3,68, д, $J = 5$	3,55, 3,78 АБ-к, $J = 14$		2,04	1,53		0,60 (6H, с, 2CH <sub>3</sub> ); 7,26...7,66 (5H, м, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
Iж ( $\alpha$ )	4,55, уш. с	3,55, уш. с	3,71, 3,95 АБ-к, $J = 18$		2,08	1,53		0,53...1,15 (15H, м, 3C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )
Iж ( $\beta$ )	4,50...5,20, м	3,50...4,00	3,50...4,00 м		2,08	1,53		0,53...1,15 (15H, м, 3C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )
VIa ( $\alpha$ )	4,66, д, $J = 1$	3,44, д, $J = 1$	3,79, 4,00 АБ-к, $J = 18$		2,06		7,26	0,53...1,15 (15H, м, 3C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )
VIб ( $\alpha$ )	4,53, д, $J = 1$	3,64, д, $J = 1$	3,77, 3,91 АБ-к, $J = 19$		2,04		7,77	0,51 (6H, с, 2CH <sub>3</sub> ); 7,28...7,77 (5H, м, C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )

замещение диазогруппы в IIIa, б гидросиланами IVa—в и гидрогерманом IVг в присутствии Rh<sub>2</sub>(OAc)<sub>4</sub>.

Склонность цефалоспоринового родий-карбеноидного интермедиата V к образованию побочных продуктов в отсутствие гидросиланов (гидрогермана) определила порядок смешения реагентов. Максимальные выходы получены в результате добавления 7-дiazоцефалоспоранатов III к раствору гидросилана (гидрогермана) IV и катализатора в дихлорметане при 20 °С. После завершения реакции сульфоны 7-силлил- и 7-гермилцефалоспоранатов Ia—ж выделяли из реакционной смеси с помощью колоночной хроматографии в виде смеси 7α- и 7β-стереоизомеров (табл. 1). Их соотношение было установлено с помощью ВЭЖХ, а идентичность — спектров ПМР благодаря наличию характерных сигналов протонов С<sub>6</sub>—Н и С<sub>7</sub>—Н с константами спин-спинового взаимодействия  $J = 5$  Гц для *цис*- или 7β-стереоизомера и  $J = 2$  Гц для *транс*- или 7α-стереоизомера (табл. 2).

Известно, что в процессе замещения диазогруппы непланарность конденсированного цефемового ядра цефалоспориона благоприятствует предпочтительному образованию 7α-изомеров в результате стереоселективного подхода карбанионов с α-стороны β-лактамного цикла. Однако анализ соотношений 7α- и 7β-изомеров для синтезированных веществ свидетельствует об отсутствии существенного влияния упомянутого фактора, а также размеров заместителей и природы связи М—Н в IVa—г на стереоселективность данной реакции (см. табл. 1).

Кратковременная обработка 7-силлилцефалоспоранатов Ib и Ie трифторуксусной кислотой приводит к отщеплению сложноэфирной защиты. Из реакционной среды с помощью препаративной колоночной хроматографии были выделены соответствующие цефалоспорановые кислоты VI охарактеризованные спектрами ПМР как индивидуальные 7α-стереоизомеры (см. табл. 2).

Цитотоксические свойства синтезированных соединений проверены на двух стандартных линиях опухолевых клеток: HT-1080 (фибросаркома человека) и MG-22A (мышинная гепатома). Было изучено также влияние этих веществ на амидолитическую активность Porcine Pancreas Elastase (Type III) в отношении субстрата — *пара*-нитроанилида стандартного

Т а б л и ц а 3

Биологические свойства 7-силлил- и 7-гермилцефалоспоранатов

Соединение	Ингибирование эластазы, IC <sub>50</sub> (ммоль)*	Цитотоксический эффект в отношении опухолевых клеток (мкг/мл)			
		MG-22A		HT-1080	
		TD <sub>50</sub> (CV) <sup>*2</sup>	TD <sub>50</sub> (MTT) <sup>*3</sup>	TD <sub>50</sub> (CV)	TD <sub>50</sub> (MTT)
Ia	—	>100	>100	100	>100
Iб	—	53	48	69	67
Iв	—	>100	>100	62	96
Iг	—	>100	>100	74	86
Iд	1,00	>100	>100	>100	>100
Iе	0,33	71	65	>100	>100
Iж	—	49	42	52	49
VIб	0,33	71	65	>100	>100

\* Концентрация в ммоль, обеспечивающая 50% ингибирование амидолитической активности Porcine Pancreas Elastase (Type III) при использовании в качестве субстрата *пара*-нитроанилида N-метоксисукцинил-ала-ала-про-вал.

\*2 Концентрация в мкг/мл, обеспечивающая 50% гибель клеток (окрашивание CV — кристаллическим фиолетовым).

\*3 Концентрация в мкг/мл, обеспечивающая 50% гибель клеток (окрашивание MTT — бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия).

тетрапептида N-метоксисукцинил-ала-ала-про-вал. Результаты исследования приведены в табл. 3.

Анализ зависимости между структурой и активностью для изученных веществ позволяет сделать следующие выводы: цефалоспорины, содержащие ацетоксигруппу, проявляют более выраженную активность в качестве цитотоксических веществ и ингибиторов эластазы, чем соответствующие дезацетоксицефалоспорины; триэтилсилильная и триэтилгермилная группы обеспечивают подавление роста опухолевых клеток *in vitro* в более низких концентрациях по сравнению с другими 7-замещенными цефалоспоринами.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ПМР сняты на спектрометре Bruker WH-90/DS (90 МГц) в  $\text{CDCl}_3$ , внутренний стандарт ТМС, ИК спектры — на спектрометре Perkin-Elmer 580B в вазелиновом масле. Элементные анализы выполнены на анализаторе Carlo Erba 1108. Данные ВЭЖХ получены на приборе Du Pont Model 8800, снабженном УФ детектором ( $\lambda = 254 \text{ нм}$ ) и колонкой (4,6×250 мм), заполненной фазой Supelcosil LC-Si (Symmetry C18), в системе гексан—этилацетат, 4 : 1, скорость 1,5...2,0 мл/мин. Контроль за ходом реакции осуществлялся методом ТСХ на пластинках Merck Kieselgel, с УФ проявлением. Для препаративной колоночной хроматографии применялся силикагель марки Merck Kieselgel (0,063...0,230 мм). В экспериментах применялись реагенты и материалы фирм Aldrich, Acros и Sigma.

Соотношение стереоизомеров, брутто-формула, данные элементного анализа и  $\nu_{\text{C=O}}$   $\beta$ -лактамного карбониль в ИК спектре для синтезированных соединений приведены в табл. 1.

Сульфон *трет*-бутилового эфира 7-диазодезацетоксицефалоспорановой кислоты (IIIa) и сульфон *трет*-бутилового эфира 7-диазоцефалоспорановой кислоты (IIIб) синтезированы по методу, приведенному в работе [4].

Сульфон *трет*-бутилового эфира 7-триэтилсилилдезацетоксицефалоспорановой кислоты (Ia). К раствору триэтилсилана (453 мкл, 2,8 ммоль) в 5 мл сухого  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  добавляют каталитическое количество  $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$  и в течение часа к нему добавляют сульфон *трет*-бутилового эфира 7-диазодезацетоксицефалоспорановой кислоты (300 мг, 0,95 ммоль), растворенный в 2 мл сухого  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Смесь перемешивают 3 ч при комнатной температуре. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют на колонке с силикагелем (элюент гексан—этилацетат, 2 : 1). Фракции с  $R_f$  0,60 объединяют и упаривают. Обработка петролевым эфиром маслообразного остатка приводит к получению 100 мг кристаллического вещества. Выход 26%.

Сульфон *трет*-бутилового эфира 7-триэтилсилилцефалоспорановой кислоты (Iб). К раствору триэтилсилана (776 мкл, 4,86 ммоль) в 5 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  добавляют каталитическое количество  $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4$  и в течение часа к нему добавляют сульфон *трет*-бутилового эфира 7-диазоцефалоспорановой кислоты (600 мг, 1,62 ммоль), растворенный в 2 мл сухого  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Смесь перемешивают 3 ч при комнатной температуре. Растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют на колонке с силикагелем (элюент гексан—этилацетат, 2 : 1). Фракции с  $R_f$  0,71 объединяют и упаривают. Обработка петролевым эфиром маслообразного остатка приводит к получению 210 мг кристаллического вещества. Выход 28%.

Сульфон *трет*-бутилового эфира 7-*трет*-бутилдиметилсилилдезацетоксицефалоспорановой кислоты (Iв) получают аналогично соединению Ia из *трет*-бутилдиметилсилана и сульфона *трет*-бутилового эфира 7-диазодезацетоксицефалоспорановой кислоты. Выход 12%.

Сульфон *трет*-бутилового эфира 7-*трет*-бутилдиметилсилилцефалоспорановой кислоты (Iг) получают аналогично соединению Iб из *трет*-бутилдиметилсилана и сульфона *трет*-бутилового эфира 7-диазоцефалоспорановой кислоты. Выход 23%.

Сульфон *трет*-бутилового эфира 7-фенилдиметилсилилдезацетоксицефалоспорановой кислоты (Iд) получают аналогично соединению Ia из фенилдиметилсилана и сульфона *трет*-бутилового эфира 7-диазодезацетоксицефалоспорановой кислоты. Выход 19%.

Сульфон *трет*-бутилового эфира 7-фенилдиметилсилилцефалоспорановой кислоты (Iе) получают аналогично соединению Iб из фенилдиметилсилана и сульфона *трет*-бутилового эфира 7-диазоцефалоспорановой кислоты. Выход 33%.

Сульфон *трет*-бутилового эфира 7-триэтилгермицефалоспоровой кислоты (Iж) получают аналогично соединению Iб из триэтилгермана и сульфона *трет*-бутилового эфира 7-диазоцефалоспоровой кислоты. Выход 15%.

Сульфон 7-триэтилсилилицефалоспоровой кислоты (VIa). Раствор сульфона *трет*-бутилового эфира 7-триэтилсилилицефалоспоровой кислоты Iб (300 мг, 0,65 ммоль) в 3 мл трифторуксусной кислоты выдерживают при комнатной температуре один час и растворитель упаривают при пониженном давлении. Остаток хроматографируют на колонке с силикагелем (элюент гексан—этилацетат, 1 : 1). Фракции с  $R_f$  0,50 объединяют и упаривают. Получают 210 мг кристаллического вещества. Выход 35%.

Сульфон 7-фенилдиметилсилилицефалоспоровой кислоты (VIб) получают аналогично соединению VIa из сульфона *трет*-бутилового эфира 7-фенилдиметилсилилицефалоспоровой кислоты Iе. Выход 50%.

**Биологические тесты.** Влияние соединений Ia и Ib на каталитические свойства *Rocine* *Rapreas* *Elastase* (Type III) в отношении субстрата *пара*-нитроанилида *N*-метоксисукцинил-алала-про-вал были определены с помощью стандартной методики с применением горизонтального спектрофотометра *Tetertek Multiscan MCC/340* для измерения оптической плотности, приведенной в работе [5].

Цитотоксические свойства соединений были изучены на культурах монослойных опухолевых клеток, культивированных в 96 луночных панелях в стандартной среде без индикатора и антибиотиков, согласно стандартной методике [6]. Количество живых клеток определялось двумя колориметрическими методами по интенсивности окрашивания клеточных мембран кристаллическим фиолетовым и клеточной среды бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия, характеризующей интенсивность окислительно-восстановительных процессов митохондриальных ферментов клеток в сравнении с контролем.

Контрольные клетки (без тестируемых веществ) культивировались на отдельной панели.

*Авторы выражают признательность Латвийскому совету по науке за финансирование работы (грант № 708), а также компаниям Taiho Pharmaceutical Co. и Gist-brocades за безвозмездное предоставление 7-аминоцефалоспоровой и 7-аминодезацетоксицефалоспоровой кислот.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Buck R. T., Doyle M. P., Drysdale M. J., Ferris L., Forbes D. C., Haigh D., Moody C. J., Pearson N. D., Zhou Q.-L. // *Tetrah. Lett.* — 1996. — Vol. 37. — P. 7631.
2. Hatanaka Y., Watanabe M., Onozawa S., Tanaka M., Sakurai H. // *J. Org. Chem.* — 1998. — Vol. 63. — P. 422.
3. Bulughapitiya P., Landais Y., Parra-Rapado L., Planchenault D., Weber V. // *J. Org. Chem.* — 1997. — Vol. 62. — P. 1630.
4. Blacklock T. J., Butcher J. W., Sohar P., Lamanec T. R., Grabowski E. J. J. // *J. Org. Chem.* — 1989. — Vol. 54. — P. 3907.
5. Veinberg G., Shestakova I., Petrulanis L., Grigan N., Musel D., Zeile D., Kanepe I., Domrachova I., Kalvinsh I., Strakovs A., Lukevics E. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* — 1997. — Vol. 7. — P. 843.
6. Freshliey P. J. // *Culture of Animal Cells (A Manual of Basic Technique)*. — New York: Wiley-Liss, 1994. — P. 296.

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

Поступило в редакцию 16.09.98