

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НЕОГЛИКОЛИПИДОВ НА ОСНОВЕ 2-АМИНО-2-ГИДРОКСИМЕТИЛПРОПАН-1,3-ДИОЛА

Е.Д. Шуина[@], И.С. Щелик, Ю.Л. Себякин

Московский технологический университет (Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова), Москва 119571, Россия

[@]Автор для переписки, e-mail: c-221@yandex.ru

Использование в качестве ядер разветвляющих фрагментов производных TRIS является современным методом получения углеводсодержащих дендримероподобных амфифилов. Разработана схема синтеза получения производных трехвалентных неогликолипидов с терминальными остатками D-маннозы и разветвляющей компонентой на основе 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диола (TRIS), различающиеся степенью насыщенности углеводородных цепей. Получение гидрофильной части целевых молекул проводили по реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения, с дальнейшей конъюгацией с гидрофобной компонентой карбодиимидным способом с добавкой HOBT в качестве катализатора. В работе исследованы подходы к формированию целевых конструкций – липосом на основе фосфатидилхолина и синтезированных неогликолипидов и их физико-химические свойства, такие как размер частиц и стабильность. Изучена активность полученных соединений в составе липосом, загруженных антибиотиком меропенемом, в отношении штамма бактерий Escherichia coli. Выявлена возможность изменять профиль действия образца липосом, содержащих неогликолипиды, выбором различных методов его приготовления, что перспективно для дальнейших исследований в этом направлении.

Ключевые слова: *трехвалентный неогликоконъюгат, D-манноза, TRIS, агрегаты, антибактериальное действие.*

SYNTHESIS AND PROPERTIES OF NEOGLYCOLIPIDS BASED ON 2-AMINO-2-HYDROXYMETHYLPROPANE-1,3-DIOL

E.D. Shuina[@], I.S. Shchelik, Yu.L. Sebyakin

Moscow Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow 119571, Russia

[@]Corresponding author c-221@yandex.ru

The use of TRIS derivatives as the kernels of branching fragments is a modern method of preparing carbohydrate-containing dendrimer-like amphiphiles. A scheme of the synthesis of derivatives of trivalent neoglycolipids with terminal residues of D-mannose and a branching component based on 2-amino-2-hydroxymethylpropene-1,3-diol (TRIS) differing in the degree of saturation of the hydrocarbon chains is developed. The preparation of the hydrophilic part of the target molecules was carried out with the use of the reaction of 1,3-dipolar cycloaddition followed by conjugation with the hydrophobic component according to the carbodiimide method with the addition of HOBT as a catalyst. Approaches to the formation of target designs – liposomes based on phosphatidylcholine and synthesized neoglycolipids – and their physical and chemical properties, such as the size of particles and stability are investigated. The activity of the obtained compounds in the composition of liposomes loaded with the antibiotic meropenem with respect to Escherichia coli strain is carried out. An opportunity of changing the profile of the action of a liposome sample containing neoglycolipids by choosing various methods of its preparation that is promising for further research in this direction is revealed.

Keywords: *trivalent neoglycoconjugate, D-mannose, TRIS, aggregates, antibacterial action.*

Введение

Углеводы – самые распространенные биомолекулы в природе, которые принимают участие в широком спектре процессов живых систем, в том числе и в клеточном узнавании [1].

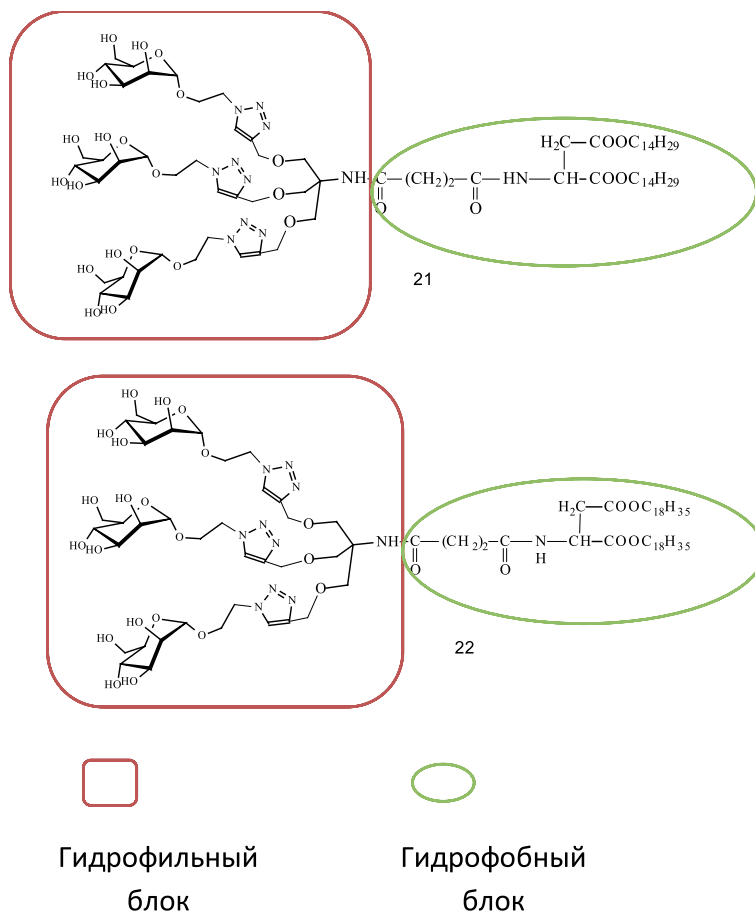
Адгезия патогенных микроорганизмов на поверхности клетки хозяина является первоначальным шагом в колонизации и возникновении инфекции. Бактериальные молекулы, участвующие в адгезии – белковые лектины, – распознают комплементарные олигосахариды на поверхности клетки хозяина. Общая специфичность бактерии для конкретной клетки будет зависеть от наличия концевых олигосахаридных рецепторов [2]. Наиболее хорошо охарактеризованными специфическими лектинами являются фимбрии I типа, которые способны связываться со звеньями α-D-маннозы в структуре гликолипидов на поверхности эукариотических клеток разнообразных типов. Подобные взаимодействия, опосредованные фимбриями I типа, приводят к образованию бактериальной пленки. Для ингибирования различных процессов, протекающих с участием лектинов, применяют гликоконъюгаты [3]. В нашей работе в качестве векторного элемента была выбрана D-манноза, так как дендримероподобные молекулы с терминальными остатками D-маннозы могут быть использованы в качестве антибактериальных агентов [4].

Существует несколько механизмов, посредством которых лиганд может взаимодействовать с рецептором: рецептор-связывающим способом, недоступным одновалентным молекулам, и с помощью мультиплетного взаимодействия. Поскольку сродство одновалентных углеводных лигандов к лектинам обычно очень слабое, оно может быть усилено мультивалентными взаимодействиями [4]. Понимание структуры и способа связывания позволяет создать синтетические мультивалентные лиганды с необходимыми свойствами [5].

Цель работы заключалась в синтезе маннозосодержащих неогликолипидов на основе 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диола, различающихся степенью насыщенности углеводородных цепей, с последующим их включением в липосомальные конструкции и изучением свойств.

Результаты и их обсуждение

Структура предложенных неогликолипидов **21**, **22** включает гидрофобную составляющую – соответственно дитетрадециловый и диоктадецен-9-овый эфир L-аспарагиновой кислоты для встраивания в липидный бислой и гидрофильную составляющую – конъюгат на основе 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диола (TRIS) с тремя терминальными остатками D-маннозы для эффективного связывания с рецепторами на поверхности клеток-мишеней.



Синтез трехвалентного неогликолипида 21 осуществляли последовательными реакциями, включающими получение гидрофильного блока с разветвляющимся ядром и векторной компонентой на основе D-маннозы, гидрофобного блока с углеводородными цепями различной степени насыщенности и их конъюгацию.

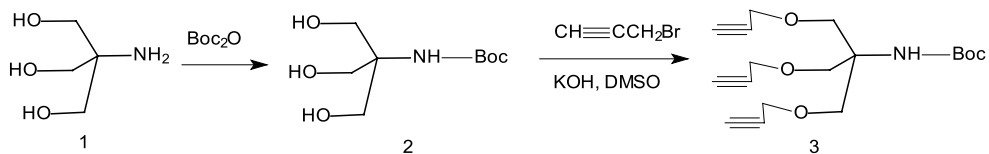


Схема 1

Следующим этапом синтеза было получение гидрофильной компоненты.

Для получения 1-O-(2-азидоэтил)- α -D-маннопиранозиды (7) в качестве элемента связывания с фим-

бриями на поверхности бактерий, полный ацетат маннозы **5** обрабатывали бромэтанолом в присутствии эфира трифтористого бора, а затем азидом натрия. Выход продукта составил 70%.

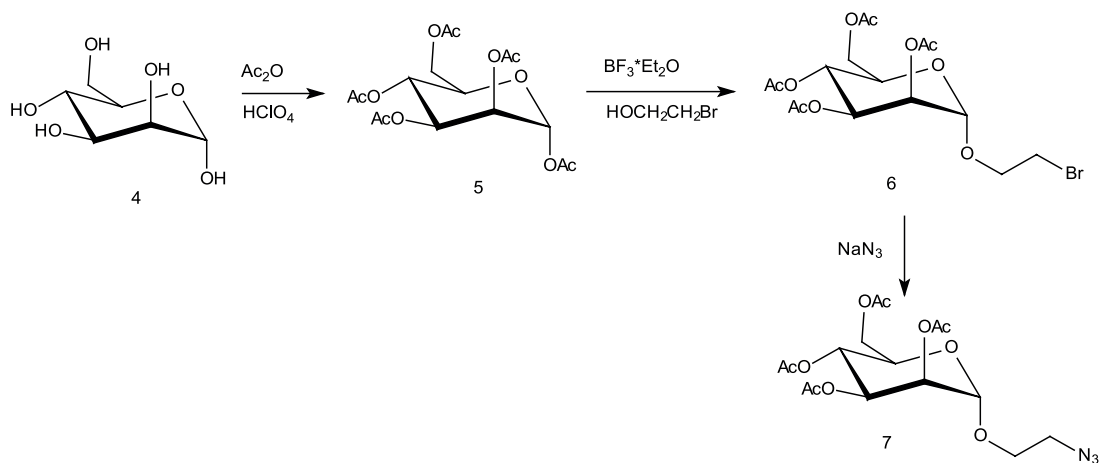


Схема 2

Получение гидрофильной части целевых молекул проводили по реакции 1,3-циклодиполярного присоединения (схема 3) в безводном хлоро-

форме в присутствии CuI и DIPEA [7]. Продукт **8** выделяли при помощи колоночной хроматографии с выходом 70%.

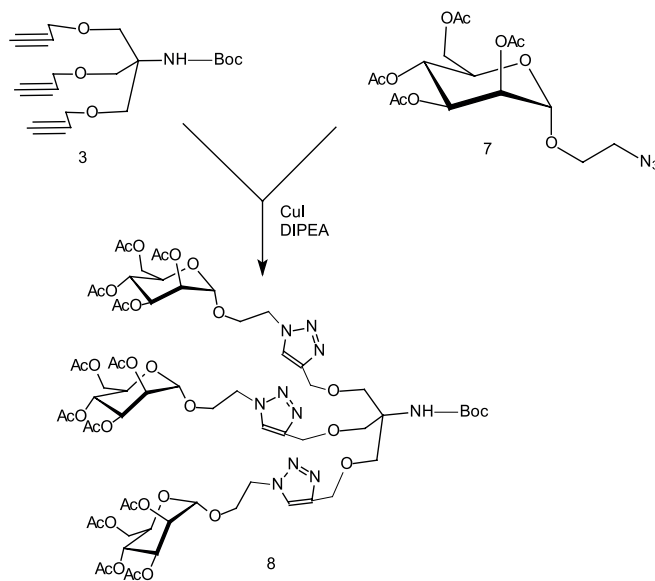


Схема 3

Вос-защитную группировку соединения **8** удаляли действием трифторуксусной кислоты, ацетильные защиты – обработкой 0.1 М раствором метилата натрия

в метаноле при комнатной температуре (схема 4). В масс-спектре гидрофильной компоненты **10** наблюдался сигнал молекулярного иона m/z : 1009.694 (M^+).

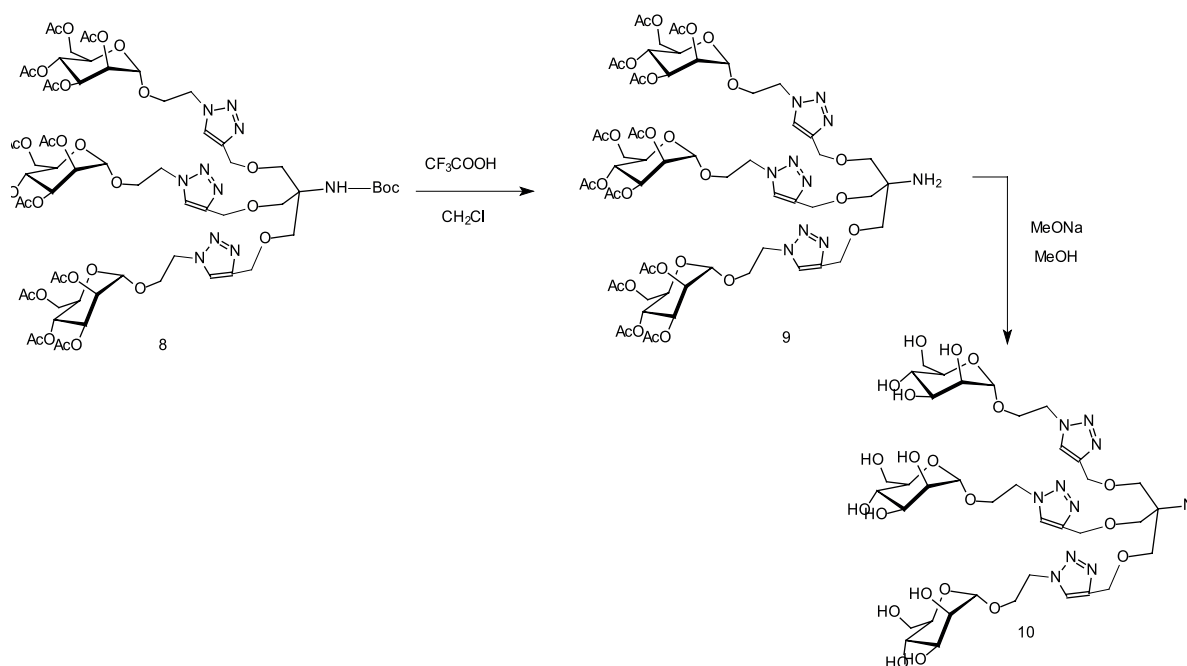


Схема 4

Гидрофобные компоненты получали следующим образом. Для синтеза соединения **14** проводили реакцию дитетрадецилового эфира L-аспарагиновой

кислоты **13** с янтарным ангидридом в присутствии триэтиламина при комнатной температуре (схема 5) [7]. Выход продукта реакции составил 98%.

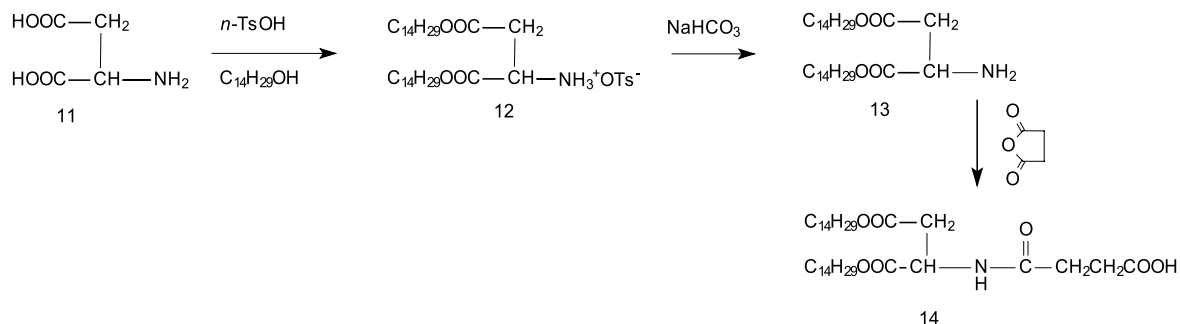


Схема 5

Для получения непредельной гидрофобной компоненты **20** (схема 6) метиловый эфир *cis*-9-октадеценовой кислоты (**16**) восстанавливали с помощью $LiAlH_4$ в абсолютном эфире (выход 85%) [8]. Далее избыток олеинового спирта сплавляли с L-аспарагиновой кислотой в присутствии *n*-толуолсульфокислоты с последующей обработкой соли **18** гидрокарбонатом натрия с образованием диоктадецен-9-ового эфира L-аспарагиновой кислоты (**19**) [7]. Целевой продукт **20** получали из соединения **19** аналогично соединению **14** по реакции с янтарным ангидридом, описанной выше.

Конъюгацию гидрофильной (**10**) и гидрофобной (**14**) составляющих осуществляли карбодимидным методом в присутствии НОВт в качестве катализатора (схема 7).

Реакцию проводили в среде ДМФА, продукт очищали с помощью препаративной хроматографии (выход 31%). В масс-спектре соединения **21** присутствовал пик молекулярного иона m/z : 1639.392 ($M^+ + 2Na^+$).

Аналогичным образом получали целевой конъюгат **22** с использованием гидрофобной компоненты **20** (схема 8). В масс-спектре конечного соединения присутствовал пик молекулярного иона m/z : 2121.685 ($M^+ + 12K^+$).

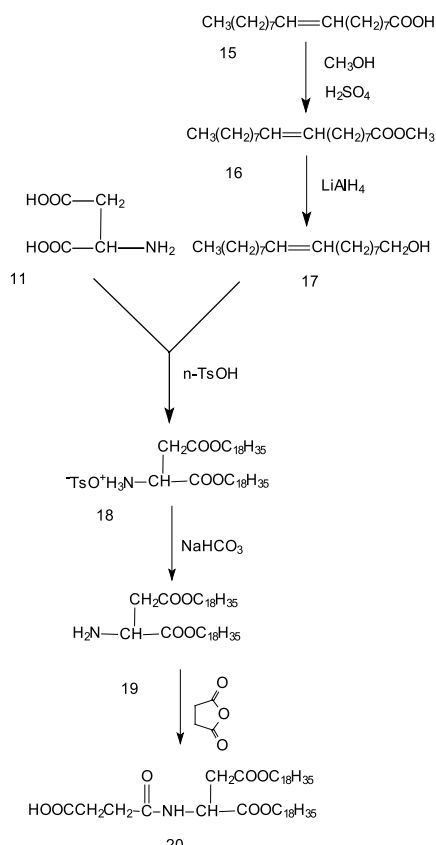


Схема 6

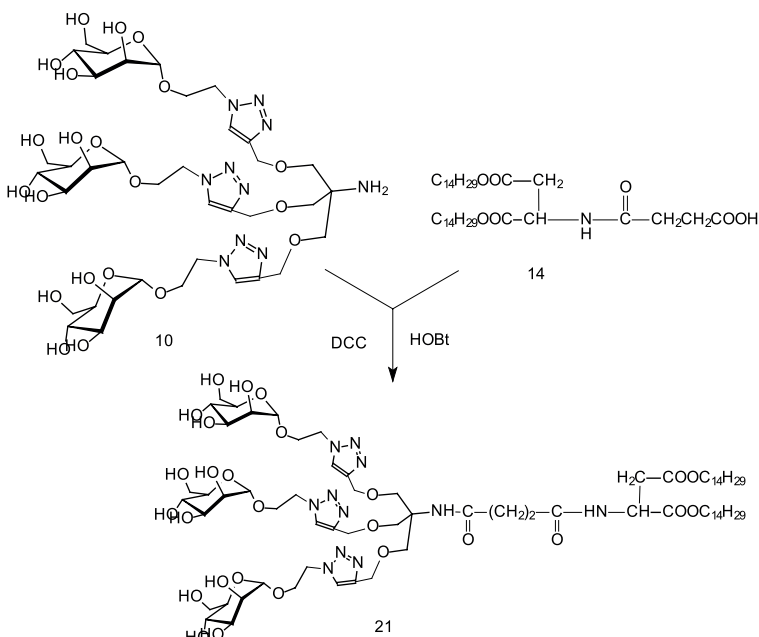


Схема 7

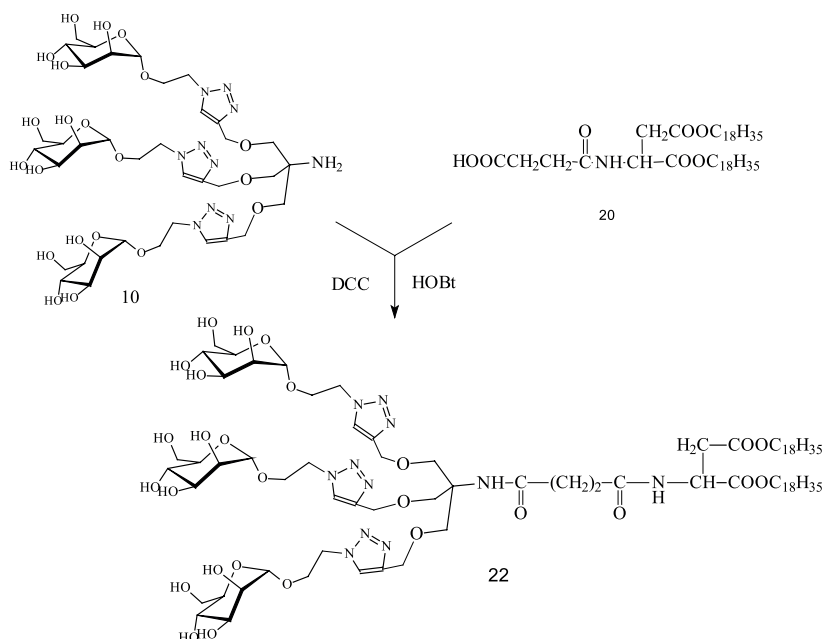


Схема 8

Стабильность и размер частиц. Изучены физико-химические свойства липосом, сформированных на основе фосфатидилхолина (ФХ) с добавлением 10% мас. соединений **21**, **22**. Исследованы такие параметры, как стабильность липидных дисперсий и размер образующихся частиц.

Для определения стабильности фиксировали изменение оптической плотности приготовленных об-

разцов при прохождении через них световой волны длиной 400 нм. Установлено, что углеводсодержащие липосомы стабильны в течение суток.

После определения относительного распределения частиц по размерам установлено, что частицы на основе ФХ и соединения **21** имели средний диаметр 178 нм, а соединения **22** – соответственно 169 нм (рис. 1).



Рис. 1. Распределение частиц по размерам для липосом на основе ФХ и соединений 21 (а) и 22 (б).

Влияние агрегатов на кинетику роста *Escherichia coli*. Исследована активность полученных соединений 21, 22 в составе липосом на основе фосфатидилхолина (ФХ) в отношении штамма бактерий *Escherichia coli*. Эксперимент проводился для каждого соединения: использовали липосомы состава неогликолипид–фосфатидилхолин (0.5:2.1, мг/мг), загруженные меропенемом (из расчета МПК 0.25 мг/мл) [9], полученные двумя способами: методом гидратации тонкой липидной пленки и замораживания–оттаивания. Эффективность антибактериально-

го действия определяли по изменению оптической плотности среды культуры клеток *E. coli*.

Из графиков (рис. 2) видно, что агрегаты на основе ФХ и соединения 22, загруженные меропенемом, полученные методом гидратации тонкой липидной пленки, проявляют большую активность в отношении штаммов бактерий, в отличие от аналогично полученных липосом, имеющих в своем составе соединение 21. Такой же сравнительный эффект наблюдали и в отношении частиц, полученных методом замораживания–оттаивания.

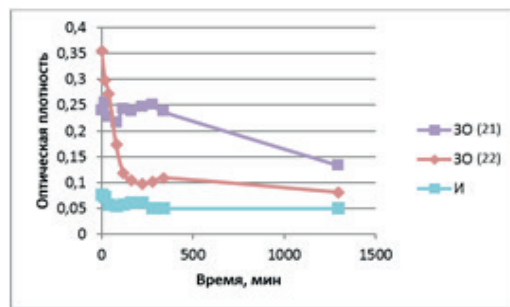
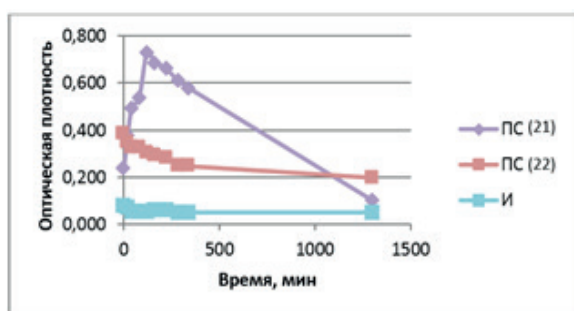


Рис. 2. Сравнение роста культуры клеток *E. coli* при действии на нее углеводсодержащих липосом на основе ФХ и соединений 21, 22, загруженных меропенемом. ПС – липосомы, полученные методом гидратации тонкой липидной пленки; ЗО – липосомы, полученные методом замораживания–оттаивания; И – интактный меропенем.

Таким образом, установлено, что агрегаты на основе ФХ и соединения 22, загруженные меропенемом, полученные методом замораживания–оттаивания, имеют профиль действия, аналогичный интактному меропенему в отношении клеток *E. coli*, с большей эффективностью по сравнению с подобными липосомами, полученными методом гидратации тонкой липидной пленки (рис. 3).

Экспериментальная часть

Спектры ¹H-ЯМР регистрировали в дейтерированном хлороформе или диметилсульфоксиде на импульсном ЯМР-спектрометре «BrukerWM-400» (Германия) с рабочей частотой 400 МГц. Внутренний стандарт – гексаметилдисилоксан. ИК-спектры регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре, модель EQUINOX 55, фирма «Bruker», Германия. Масс-спек-

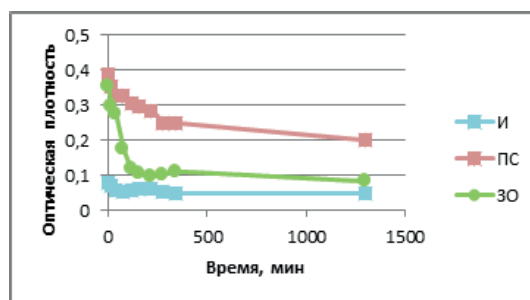


Рис. 3. Сравнение роста культуры клеток *E. coli* при действии на нее углеводсодержащих липосом на основе ФХ и соединения 22, загруженных меропенемом, полученных методом гидратации тонкой липидной пленки (ПС) и методом замораживания–оттаивания (ЗО); И – интактный меропенем.

тры получены на времяпролетном масс-спектрометре VISION 2000 методом MALDI с использованием в качестве матрицы дигидроксibenзола (DHB).

Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Silufol (Чехия), Сорбфил (Краснодар, РФ). Препаративную тонкослойную хроматографию проводили на силикагеле Sigma-Aldrich TLS standard grade (Германия), колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле Acros 0.060–0.200 мм, 60 Å (Бельгия). Относительное распределение частиц по размерам определяли на анализаторе размера частиц серии LSTM 13320 (Beckman Coulter, США).

Обнаружение пятен веществ на ТСХ осуществляли в парах йода или нагреванием над пламенем спиртовки. Вещества, содержащие тройные углерод-углеродные связи, обнаруживали раствором перманганата калия. Вещества, содержащие свободные аминогруппы, обнаруживали 5%-ным раствором нингидрина с последующим нагреванием до 50–80 °С.

***N*-(трет-Бутилоксикарбонил)-2-амино-2(гидроксиметил)пропан-1,3-диол (2)**. К раствору 1 г (8.25 ммоль) 2-амино-2-гидроксиметил-пропан-1,3-диола (TRIS) (1) в 25 мл безводного метанола прибавляли раствор 1.87 г (8.58 ммоль) ди-трет-бутилдикarbonата в 6 мл метанола в течение 15 мин. Реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. После окончания реакции растворитель удаляли в вакууме. Выход соединения 2: 1.20 г (63%) в виде аморфного вещества. ¹H-ЯМР-спектр (DMCO-*d*₆, δ, м.д.): 1.36 (с, 9H, 3×CH₃), 3.28 (с, 1H, NH), 3.50 (д, 6H, CH₂O); ¹³C-ЯМР-спектр (DMCO, δ, м.д.): 27.9 (CH₃), 59.3 (CH₂), 60.4 (CCH₂), 62.6 (CCH₃), 153.3 (COO).

***N*-(трет-Бутилоксикарбонил)трис[(пропаргилокси)метил]аминометан (3)**. К раствору 0.83 г (3.76 ммоль) соединения 2 в безводном ДМСО прибавляли пропаргилбромид (2.01 мл, 22.50 ммоль). Затем в течение 10 мин порциями добавляли 1.26 г (22.50 ммоль) гидроксида калия. Реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Далее продукт реакции экстрагировали толуолом. Органический слой сушили безводным Na₂SO₄. Остаток растворителя удаляли в вакууме. Выделение продукта проводили при помощи колоночной хроматографии в системе толуол–этилацетат, 9:1. Выход соединения 3: 0.40 г (32%) в виде светло-желтого масла. ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 1.43 (с, 9H, CH₃), 2.22, 2.44, 2.47 (т, 3H, C≡CH), 3.61 (с, 1H, NH), 3.75 (т, 6H, NHCH₂), 4.18 (дт, 6H, CH₂C≡CH).

2,3,4,6-Тетра-*O*-ацетил-1-*O*-(2-бромэтил)-α-*D*-маннопиранозид (6). К раствору 3 г (7.69 ммоль) 1,2,3,4,6-пента-*O*-ацетил-α-*D*-маннопиранозид (5) в 22 мл безводного хлористого метилена прибавляли 1.46 мл (12.0 ммоль) эфиратного комплекса трехфтористого бора, а еще через 15 мин 0.82 мл (12.0 ммоль)

2-бромэтанола и выдерживали 12 ч при 20 °С. Далее реакционную массу перемешивали при нагревании до 40 °С. Затем нейтрализовывали 25%-ым раствором аммиака до pH 7. Раствор промывали 3×100 мл воды, органический слой сушили, растворитель удаляли в вакууме. Продукт очищали перекристаллизацией из изопропилового спирта. Выход соединения 6: 2.08 г (59%). ИК-спектр (ν_{\max} , см⁻¹): 2836 (C–H), 1755 (C=O), 1460, 1380 (C–H), 1218 (C–O), 1158–1035 (C–O, 4 полосы, углеводный скелет). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 2.01, 2.06, 2.11, 2.18 (с, 12H, COCH₃), 3.53 (т, 2H, OCH₂CH₂), 3.84–4.09 (м, 2H, OCH₂CH₂), 4.11–4.18 (м, 2H, H-6), 4.25–4.33 (дд, 1H, H-5), 4.88 (д, 1H, H-1, J₁₂ 1.6 Гц), 5.24–5.30 (м, 2H, H-2, H-4), 5.36–5.39 (дд, 1H, H-3).

2,3,4,6-Тетра-*O*-ацетил-1-*O*-(2-азидоэтил)-α-*D*-маннопиранозид (7). К раствору 951 мг (2.09 ммоль) 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-1-*O*-(2-бромэтил)-α-*D*-маннопиранозид (6) в безводном диметилформамиде добавляли 41 мг (6.28 ммоль) азид натрия и перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. В раствор добавляли избыток безводного диэтилового эфира. Образовавшийся осадок отфильтровывали, растворитель удаляли в вакууме. Получили 610 мг (70%) соединения 7 в виде аморфного вещества. ИК-спектр (ν_{\max} , см⁻¹): 2833 (C–H), 2100 (N=N), 1746 (C=O), 1460, 1348 (C–H), 1250 (C–N), 1212 (C–O), 998–1125 (C–O, 4 полосы, углеводный скелет); ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 1.99, 2.05, 2.10, 2.16 (с, 12H, COCH₃), 3.40–3.52 (м, 2H, OCH₂CH₂), 3.62–3.9 (м, 2H, OCH₂CH₂), 4.0–4.15 (м, 2H, H-6), 4.24–4.32 (дд, 1H, H-5), 4.85–4.87 (д, 1H, H-1, J₁₂ 1.88 Гц), 5.26–5.30 (м, 2H, H-2, H-4), 5.34–5.38 (дд, 1H, H-3).

Защищенный конъюгат (8). К раствору 0.060 г (0.18 ммоль) соединения 3 в 2 мл безводного хлороформа добавляли 0.30 г (0.72 ммоль) соединения 7, добавляли каталитическое количество CuI, DIPEA и перемешивали при комнатной температуре в течение суток. Растворитель удаляли в вакууме. Очистку проводили при помощи колоночной хроматографии в системе хлороформ–метанол, 50:1. Выход соединения 8: 0.20 г (70%).

Трехвалентный конъюгат как разветвляющая компонента (10). Соединение 8 (0.190 г, 0.12 ммоль) растворяли в 2 мл трифторуксусной кислоты. Перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Далее реакционную смесь экстрагировали концентрированным водным раствором соды. Выход соединения 9: 0.11 г (62%) в виде аморфного вещества, которое без дополнительной обработки использовали на следующей стадии. Далее к раствору 0.067 г соединения 9 в 3 мл безводного метанола при перемешивании при комнатной температуре прибавляли 0.1 мл свежеприготовленного 0.1 М раствора метилата натрия в метаноле до достижения pH 8 и нагре-

вали смесь на водяной бане. Обессоливали раствор ионообменной смолой КУ-2 (H⁺-форма), отфильтровывали и удаляли растворитель в вакууме. Выход соединения **10**: 0.031 г (70%) в виде желтого масла. ИК-спектр: (ν_{\max} , см⁻¹): 3372 (O–H; N–H), 2924 (C–H), 1392 (N=N), 1228 (C–N), 1134–978 (C–O, 4 полосы, углеводный скелет). Масс-спектр, m/z : 1009.694 (M⁺).

n-Толуолсульфонатная соль дитетрадецилового эфира L-аспарагиновой кислоты (**12**) получена по методике, описанной в [7]. Выход соединения **12**: 84%. ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 3450 (NH), 2954, 2917 (CH), 1737 (C=O), 1542 (C–C аром.), 1450 (C–O), 1375 (CH), 1218 (симм. S(=O)₂), 972, 812, 720 (C–H аром.), 655 (C–C аром.).

Дитетрадециловый эфир L-аспарагиновой кислоты (13) получали по методике, представленной в [7]. Выход соединения **13**: 85%; без дополнительной обработки использовали на следующей стадии. ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 3370 (NH), 2953, 2916, 2848 (CH), 1738 (C=O), 1470 (CH₂, CH₃), 1275 (CH), 1193 (C–O), 718 (CH₂).

Сукцинат дитетрадецилового эфира L-аспарагиновой кислоты (14) получали по методике, представленной в [7]. Выход соединения **14**: 98%. ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 3312 (COOH), 2953–2913 (CH₃), 2847 (CH₂), 1721 (C=O эфир), 1670 (C=O, «амидная полоса I»), 1595 (NH, «амидная полоса II»), 1466 (CH₂), 1408 (CH₃), 1184 (N–C), 722 (CH). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ , м.д.): 0.80 (т, 6H, CH₃), 1.26 (с, 36H, CH₂), 1.62 (т, 4H, CH₂), 2.02, 2.21, 2.39 (т, 4H, β CH₂), 2.56 (м, 2H, β CH₂CH₂OCO), 2.70 (м, 2H, α CH₂CH₂OCO), 3.00, 3.73 (с, 2H, NHCH₂), 4.06, 4.14 (т, 4H, α CH₂), 4.60 (дд, 1H, CH), 6.54 (д, 1H, NH).

Метилловый эфир олеиновой кислоты (16) получали по методике, описанной в [8]. Выход соединения **16**: 84% в виде масла. ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 2928 (CH₃), 1740 (C=O эфир), 2858 (CH₂), 1653 (CH=CH, *цис*-конфигурация), 1456 (CH₂), 1396 (CH₃). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ , м.д.): 1.00 (т, 3H, CH₃), 1.41 (м, 20H, CH₂), 1.76 (м, 2H, CH₂CH₂OCO), 2.15 (дд, 4H, CH₂CH=CH), 2.43 (тд, 2H, CH₂OCO), 3.78 (с, 3H, OCH₃), 5.46 (м, 2H, CH=CH).

Олеиновый спирт (17) получали по методике, описанной в [8]. Выход соединения **17**: 85% в виде масла. ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 3341 (OH), 3006 (CH₃), 2924–2853 (CH₂), 1653 (CH=CH, *цис*-конфигурация), 1462 (CH₂).

n-Толуолсульфонатная соль диоктадецен-9-ового эфира L-аспарагиновой кислоты (**18**) получена по методике, представленной в [7]. Выход соединения **18**: 93%, которое без дополнительной очистки использовали на следующей стадии. ИК-спектр (ν_{\max} , см⁻¹): 3320 (OH, NH), 2904, 2835, 720 (CH), 1742 (C=O,

эфир), 1650 (CH=CH), 1460 (CH₂), 1356 (CH₃), 1240 (C–O, эфир), 1177 (симм. S(=O)₂), 1040 (C–O, эфир), 972, 812, 720 (C–H аром.), 655 (C–C аром.).

Диоктадецен-9-овый эфир L-аспарагиновой кислоты (19) получали по методике, представленной в [7]. Выход соединения **19**: 91% в виде аморфного вещества. ИК-спектр (ν_{\max} , см⁻¹): 3368 (NH₂), 2921 (CH₃), 2856 (CH₂), 2322 (=CH₂ обертон), 1738 (C=O эфир), 1624 (HC=CH), 1469 (CH₂), 1386 (CH₃), 765 (C–H). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ , м.д.): 0.80 (м, 6H, CH₃), 1.41–1.20 (м, 44H, CH₂), 1.63 (м, 4H, β CH₂C–H₂OCO), 2.00 (дт, 8H, CH₂CH=), 2.85–2.63 (м, 2H, CH₂), 3.81 (дд, 1H, CH), 4.11 (м, 4H, α CH₂OCO), 5.34 (м, 4H, HC=CH).

Сукцинат диоктадецен-9-ового эфира L-аспарагиновой кислоты (20) получали по методике, представленной в [7]. Выход соединения **20**: 99% в виде желтого масла. ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 3261 (COOH), 2924 (CH₃), 2855 (CH₂), 1735 (C=O эфир), 1662 (C=O, «амидная полоса I»), 1535 (NH, «амидная полоса II»), 1458 (CH₂), 1401 (CH₃), 1208 (N–C), 721 (CH). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ , м.д.): 0.87 (т, 6H, CH₃), 1.27 (м, 44H, CH₂), 1.62 (т, 4H, β CH₂CH₂OCO), 1.8–2.1 (м, 8H, CH₂CH=CH), 2.57, 2.70 (м, 4H, OCOCH₂CH₂OCO), 2.86, 2.99 (д, 2H, CH₂), 4.00–4.2 (дт, 4H, α CH₂OCO), 4.82 (д, 1H, CH), 5.35 (м, 4H, =CH), 6.72 (д, 1H, NH).

Трехвалентный неогликолипид (21) с насыщенными углеводородными цепями. К раствору 0.02 г (0.03 ммоль) сукцината дитетрадецилового эфира L-аспарагиновой кислоты (**14**) в безв. ДМФА добавляли 8.57 мг DCC и 5.60 мг HOBT в качестве катализатора. Смесь охлаждали до 0 °С в бане со льдом в течение 15 мин. Добавляли 0.03 г (0.03 ммоль) соединения **10** в безв. ДМФА. Реакцию проводили в течение 3-х сут. Продукт очищали при помощи препаративной хроматографии в системе хлороформ–метанол, 1:1. Выход продукта **21**: 0.02 г (31%). ИК-спектр (ν_{\max} , см⁻¹): 3320 (NH), 2818 (CH₃), 2848 (CH₂), 1738 (C=O), 1623 (C=O «амидная полоса I»), 1564 (NH «амидная полоса II»), 1434 (CH₂), 1296–1186 (4 полосы углеводного скелета, C–O). Масс-спектр, m/z : 1639.392 (M⁺ + 2Na⁺).

Трехвалентный неогликолипид (22) с ненасыщенными углеводородными цепями. Целевой конъюгат **22** был получен аналогично соединению **21**. Выход продукта **22**: 0.02 г (31%). ИК-спектр (ν_{\max} , см⁻¹): 3325 (OH), 2926 (CH₂), 2853 (CH₃), 1737 (C=O), 1650 (C=O «амидная полоса I»), 1625 (NH «амидная полоса II»), 1457 (C–O), 1434 (CH₂), 1393 (N=N), 1162–1087 (4 полосы углеводного скелета, C–O). Масс-спектр, m/z : 2121.685 (M⁺ + 12K⁺).

Получение липосом на основе фосфатидилхолина и соединений 21, 22. Для получения липосо-

мальных дисперсий было реализовано два подхода.

Способ А (гидратация тонкой липидной пленки): раствор 0.5 мг соединения **21** и 2.1 мг фосфатидилхолина в 3 мл хлороформа медленно упаривали на ротаторном испарителе в круглодонной колбе. Остаток высушивали в вакууме в течение 1 ч при 20 °С. Затем прибавляли 3 мл дистиллированной воды, нагревали до 60 °С и обрабатывали в течение 20 мин на ультразвуковой бане при данной температуре. Аналогично получали дисперсии с использованием соединения **22**.

Способ Б (замораживание–оттаивание): раствор 0.5 мг соединения **21** и 2.1 мг фосфатидилхолина в 3 мл дистиллированной воды попеременно замораживали/оттаивали. Цикл повторяли 5 раз. Аналогично получали дисперсии с использованием соединения **22**.

Стабильность липосомальных дисперсий подтверждали определением показателя оптической плотности при длине волны 400 нм. В качестве контрольного образца использовали дистиллированную воду.

Относительное распределение частиц по размерам определяли на анализаторе размера частиц серии LSTМ 13320 (Beckman Coulter, США).

Встраивание меропенема. Загрузку меропенема осуществляли на этапе создания тонкой пленки по методу А и на этапе смешения компонентов по методу Б: в раствор добавляли навеску меропенема из расчета МПК 0.25 мг на 1 мл среды клеток. Не

включенный в липосомальные везикулы меропенем удаляли диализом, за ходом диализа наблюдали по прекращению изменения показателя оптической плотности внешней среды.

Влияние липосом на кинетику роста *Escherichia coli*.¹ Липосомы добавляли к 5 мл среды клеток *Escherichia coli* и записывали кинетику роста числа бактерий, измеряя оптическую плотность растворов при 600 нм через определенные промежутки времени.

Заключение

В результате проделанной работы предложен дизайн и осуществлен синтез двух новых неогликолипидов **21**, **22** с терминальными остатками D-маннозы. Исследованы подходы к формированию липосомальных конструкций с участием этих соединений, определены стабильность и размер образующихся частиц и проведены предварительные биологические испытания, показывающие возможность использования агрегатов на основе данных неогликолипидов для антибактериального действия в регулировании инфекционных процессов, что свидетельствует о перспективности дальнейших исследований в этом направлении.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований гранта РФФИ (№ 17-04-01141-а).

References:

Список литературы:

1. Jebali A. Nano-carbohydrates: Synthesis and application in genetics, biotechnology, and medicine // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2016. № 240. P. 1–14.
2. Hartmann M. The bacterial Lectin FimH, a target for drug discovery – carbohydrate inhibitors of type 1 fimbriae-mediated bacterial adhesion // *Eur. J. Org. Chem*. 2011. P. 3583–3609.
3. Bernardi A. Multivalent glycoconjugates as anti-pathogenic agents // *Chem. Soc. Rev*. 2013. № 42. P. 4709–4727.
4. Гостенин В.Б., Щелик И.С., Себякин Ю.Л. Синтез и оптимизация процесса получения октавалентного болаамфила с терминальными остатками D-маннозы // *Тонкие химические технологии*. 2015. Т. 10. № 5. С. 39–43.
5. Kiessling L.L., Gestwicki J.E., E. Laura. Strong. Synthetic multivalent ligands as probes of signal transduction // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. 2006. № 45. P. 2348–2368.
6. Kaplanek R. Three-fold polyfluoroalkylated amines and isocyanates based on tris(hydroxymethyl) aminomethane (TRIS) // *J. Fluorine Chem*. 2007. № 128. P. 179–183.

1. Jebali A. Nano-carbohydrates: Synthesis and application in genetics, biotechnology, and medicine // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2016. № 240. P. 1–14.
2. Hartmann M. The bacterial Lectin FimH, a target for drug discovery – carbohydrate inhibitors of type 1 fimbriae-mediated bacterial adhesion // *Eur. J. Org. Chem*. 2011. P. 3583–3609.
3. Bernardi A. Multivalent glycoconjugates as anti-pathogenic agents // *Chem. Soc. Rev*. 2013. № 42. P. 4709–4727.
4. Gostenin V.B., Shchelik I.S., Sebyakin Yu.L. Synthesis and optimization of octavalent bolaamphiphile preparation with terminal D-mannose residues. // *Tonkie khimicheskie tekhnologii (Fine Chemical Technologies)*. 2015. V. 10. № 5. P. 39–43. (in Russ.).
5. Kiessling L.L., Gestwicki J.E., E. Laura. Strong. Synthetic multivalent ligands as probes of signal transduction // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*. 2006. № 45. P. 2348–2368.
6. Kaplanek R. Three-fold polyfluoroalkylated amines and isocyanates based on tris(hydroxymethyl)

¹ Исследования проводились в Группе кросс-сшивающих ферментов ИБХ РАН им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова под руководством к.х.н. Пестова Н.Б.

7. Гурьева Л.Ю., Большебородова А.К., Себякин Ю.Л. Синтез углеводсодержащих компонентов липидных транспортных систем направленного действия методом «Click-Chemistry» // Вестник МИТХТ. 2009. Т. 4. № 6. С. 62–67.

8. Golovanov A.B., Ganina K.D., Groza N.V., Eremin S.V., Myagkova G.I. Synthesis of the 6-(5z,8z)-tetradecadienoic and (7z,10z)-hexadecadienoic polyene fatty acids // Chem. Nat. Comp. 2015. № 51. P. 26–30.

9. Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Гринев А.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С. Осложненные внебольничные инфекции мочевых путей у взрослых пациентов в России // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2014. Т. 16. № 1. С. 39–56.

aminomethane (TRIS) // J. Fluorine Chem. 2007. № 128. P. 179–183.

7. Guryeva L.Yu., Bolsheborodova A.K., Yu.L. Sebiakin. Synthesis of carbohydrate-containing components of lipid transport systems of directional lipid transport systems of directed action by the "Click-Chemistry" method // Vestnik MITHT (Fine Chemical Technologies). 2009. V. 4. № 6. P. 62–67. (in Russ.).

8. Golovanov A.B., Ganina K.D., Groza N.V., Eremin S.V., Myagkova G.I. Synthesis of the 6-(5z,8z)-tetradecadienoic and (7z,10z)-hexadecadienoic polyene fatty acids // Chem. Nat. Comp. 2015. № 51. P. 26–30.

9. Palagin I.S., Sukhorukova M.V., Dehnich A.V., Eidelshtein M.V., Grinev A.V., Perepanova T.S., Kozlov R.S. Complicated out-of-hospital urinary tract infections in adult patients in Russia // Clinicheskay microbiologiya i antimicrobnaya khimioterapiya. (Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy). 2014. V. 16. № 1. P. 39–56. (in Russ.).

Об авторах:

Шуина Екатерина Дмитриевна, магистр кафедры химии и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «Московский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86)

Щелик Инга Сергеевна, аспирант кафедры химии и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «Московский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86)

Себякин Юрий Львович, доктор химических наук, профессор кафедры химии и технологии биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «Московский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86)