

Пиколилами́ды эремомицина и катионные липогликопептиды на их основе: синтез и оценка антимикробных свойств

Е. И. Моисеенко,^a Н. Э. Грамматикова,^a А. Е. Щекотихин^{a,b,@}

^aИнститут по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, 119021 Москва, Российская Федерация

^bРоссийский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, 125047 Москва, Российская Федерация

@E-mail: shchekotikhin@mail.ru

Описаны синтез и свойства новых полусинтетических производных гликопептидного антибиотика эремомицина (**2**) – катионных липоамидов эремомицина (**6a-e**), а также пиколиламидов эремомицина (**6f-h**). Новые гликопептиды были получены трансформацией карбоксильной группы эремомицина в карбоксамидную с использованием пиколиламинов и их соответствующих производных в присутствии RuVOP в качестве конденсирующего агента в ДМСО. Строение всех пиколиламидов эремомицина было подтверждено масс-спектрометрией высокого разрешения (HRMS ESI), а чистота и индивидуальность полученных образцов – методом ВЭЖХ. Кроме того, структура соединения **6e** подтверждена ¹H ЯМР спектрами. Исходные для получения пиколиламидов **6a-e** кватернизованные пиколиламины **5a-e** получены по трехстадийной схеме, включающей защиту аминогруппы, алкилирование гетероцикла и удаление защитной Вос-группы. Структура кватернизованных пиколиламинов **5a-e** доказана совокупностью данных ¹H и ¹³C ЯМР спектров, а также масс-спектров высокого разрешения (HRMS ESI). Исследование антибактериальных свойств показало, что пиколилами́ды эремомицина обладают существенно большей активностью в отношении чувствительных к гликопептидам штаммов грамположительных патогенов по сравнению с исходным эремомицином, а также «золотым стандартом» – ванкомицином. Кватернизация пиридинового фрагмента длинноцепочечными алкилами приводит к увеличению активности производных **6a-e** в отношении резистентных к гликопептидам штаммов, но сопровождается снижением активности в отношении чувствительных.

Ключевые слова: Гликопептидные антибиотики, эремомицин, амиды эремомицина, катионные липогликопептиды, полусинтетический антибиотик, антибактериальная активность.

Eremomycin Picolylamides and Their Cationic Lipoglycopeptides: Synthesis and Antimicrobial Properties

Elena I. Moiseenko,^a Natalia E. Grammatikova,^a and Andrey E. Shchekotikhin^{a,b,@}

^aGause Institute of New Antibiotics, 119021 Moscow, Russian Federation

^bMendeleev University of Chemical Technology of Russia, 125047 Moscow, Russian Federation

@Corresponding author E-mail: shchekotikhin@mail.ru

In 2017, the World Health Organization (WHO) published a list of pathogens that currently pose the greatest threats to humanity. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium* were included in this list as high-risk pathogens.^[1,2] The creation of antibiotics with improved chemotherapeutic properties and toxicological characteristics that act on vancomycin-resistant pathogens remains a priority for the development of new antibacterial agents.^[3-5] This achievement will help to significantly reduce the human mortality rate due to bacterial infections. Eremomycin (**2**) is a natural glycopeptide antibiotic that exhibits better antibacterial activity against *Staphylococci* and *Enterococci* than vancomycin; however, it is still inactive against antibiotic-resistant Gram-positive bacteria.^[6] Therefore, it is important to develop new semi-synthetic eremomycin derivatives, especially a new class of derivatives called cationic lipoglycopeptides.^[7-9] The introduction of a cationic surfactant residue may contribute to the glycopeptide molecule's ability to anchor to the membrane surface and empower its' bactericidal action by a multitarget manner.^[10-12] Thus, the assessment of the antimicrobial potential of previously unknown eremomycin-based cationic lipogly-

copeptides and comparison of their properties with derivatives without the lipophilic cationic group was the main purpose of this study. We describe the synthesis and properties of semisynthetic cationic lipoamides of eremomycin (**6a-e**) and eremomycin picolylamides (**6f-h**). To prepare amines for eremomycin modification, a scheme for quaternized picolylamine derivatives synthesis was developed. First, *N*-tert-butoxycarbonylpicolylamines (**4a,b**) were obtained by blocking the amino group of 3(4)-picolylamines (**3a,b**) with the treatment with Boc-anhydride in THF. Next, intermediate 1-alkyl(*tert*-butoxycarbonylaminoethyl)pyridinium salts were synthesized via quaternization of the pyridine ring of the *N*-Boc-picolylamines (**4a,b**) by boiling in 1,4-dioxane. The maximum yields for the Boc-derivatives of the pyridinium salts, **5a-e** (58–65 %), were obtained with 1-alkyl halides in a 1.5-fold excess. A procedure was developed for their purification, including column chromatography on silica gel and subsequent reversed-phase chromatography on C18 silica gel using water–isopropanol. Then, upon removing the Boc protection from the 1-alkyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonylaminoethyl)pyridinium salts followed by treatment with hydrogen chloride in methanol, quaternized picolylamines **5a-e** were obtained. The structures of the quaternized picolylamines **5a-e** were confirmed by a combination of ¹H and ¹³C NMR spectra and high-resolution mass spectra (HRMS ESI). Finally, a series of cationic lipoamides of eremomycin (**6a-e**) with an alkyl chain of altered lengths and positions was synthesized via the condensation of eremomycin (**2**) with quaternized picolylamines **5a-e**. Additionally, to study the effect of the quaternization of the pyridine fragment on the antibacterial properties of lipoamides, previously undescribed eremomycin picolylamides **6f-h** were obtained from picolylamines **3a-c**. The synthesis of amides **6a-h** was performed via condensation of eremomycin (**2**) with amines in the presence of PyBOP and triethylamine in DMSO. Isolation and purification of the obtained derivatives was performed via re-precipitation of the crude product, followed by reversed phase chromatography on C18 silica gel with gradient elution in a water–isopropanol system. Using the developed method of condensation and purification, target derivatives **6a-h** were obtained with acceptable purity (95–98.5 % according to HPLC). The structures of all eremomycin picolylamides were confirmed via high resolution mass spectrometry (HRMS ESI), and the purities and homogeneity of the samples were confirmed using HPLC. Additionally, the structure of compound **6e** was confirmed by ¹H NMR spectra. A study of their antibacterial properties showed that eremomycin picolylamides **6f-h** have significantly greater activities against glycopeptide-sensitive strains of gram-positive pathogens compared with the original eremomycin (**2**) and compared with the “gold standard”, vancomycin (**1**). Quaternization of the pyridine fragment with long chain alkyls led to an increase in the activities of derivatives **6a-e** against glycopeptide-resistant strains but was accompanied by decreasing activities against sensitive strains. The analysis showed that the cationic lipoglycopeptides are highly active against glycopeptide-resistant strains compared with the picolylamides of eremomycin **6f-h**. The most active lipoglycopeptides, **6a** and **6c**, may be the focus of future in-depth studies of the antibacterial activity, to test their efficacy on *in vivo* models and to evaluate their toxicological characteristics.

Keywords: Glycopeptide antibiotics, eremomycin, eremomycin amides, cationic lipoglycopeptides, semisynthetic antibiotic, antibacterial activity.

Введение

Несмотря на успехи в терапии бактериальных инфекций, появление и быстрое распространение штаммов, устойчивых к антибиотикам является одним из глобальных вызовов человечеству. В настоящее время до 40 % изолятов патогенов имеют резистентность к одному или нескольким антибактериальным препаратам, причем неуклонный рост доли устойчивых микроорганизмов повышает риск пандемии резистентности.^[1,2] Согласно прогнозу Всемирной ассоциации здравоохранения (ВОЗ) к 2050 году смертность от заболеваний, вызванных резистентными бактериями, достигнет 10 млн человек в год. Основным препаратом выбора для лечения тяжелых, устойчивых к антибиотикам бактериальных инфекций, прежде всего, ассоциированных с метициллин-резистентным стафилококком (MRSA), до сих пор остается гликопептидный антибиотик ванкомицин (**1**).^[3] Однако широкое применение ванкомицина в течение последних десятилетий привело к распространению устойчивых штаммов энтерококков и стафилококков (VRE и GISA). Кроме того, недостатками ванкомицина являются его нефро- и ототоксичность, а также способность

вызывать псевдоаллергические реакции, связанные с высвобождением гистамина.^[4]

Поиски препаратов, активных в отношении резистентных к ванкомицину штаммов, привели к созданию гликопептидов второго поколения (далбаванцин, оритаванцин и телеванцин). Эти полусинтетические антибиотики относятся к липогликопептидам, поскольку содержат липофильную цепь, которая способствует увеличению времени полувыведения и связыванию их с бактериальной мембраной, что повышает антибактериальную активность этого типа производных.^[5] Липогликопептиды действуют на резистентные к ванкомицину штаммы энтерококков и стафилококков, однако ряд недостатков, прежде всего узкий перечень показаний и побочные эффекты, ограничивают их широкое клиническое применение.

В 2017 году ВОЗ опубликовала список патогенов, представляющих наибольшую угрозу для человечества. *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecium*, устойчивые к ванкомицину, вошли в этот список как возбудители с высоким уровнем риска.^[2] Создание антибиотиков с улучшенными химиотерапевтическими свойствами и токсикологическими характеристиками, действующих на резистентные к ванкомицину пато-

гены, остается приоритетным направлением в разработке новых антибактериальных средств, поскольку поможет в будущем существенно сократить смертность населения от бактериальных инфекций. Все вышеперечисленное обуславливает необходимость поиска новых гликопептидных антибиотиков, активных в отношении резистентных бактерий, и обладающих при этом минимальными побочными эффектами и улучшенными фармакологическими свойствами.

Эремомицин (2) – оригинальный антибиотик, близкий по структуре к ванкомицину, был открыт Г.Ф. Гаузе в 1978 году.^[6] Эремомицин более активен, чем ванкомицин в отношении большинства штаммов грамположительных бактерий, поэтому его структура является перспективной основой для разработки нового поколения гликопептидов. Несмотря на сложность и лабильность структуры эремомицина, наличие большого количества реакционных центров, реакция амидирования при использовании конденсирующих агентов в оптимальных условиях протекает достаточно селективно и дает амиды эремомицина с приемлемыми выходами.^[7] Для производных эремомицина показано, что введение гидрофобных заместителей позволяет повысить активность антибиотика в отношении чувствительных и устойчивых штаммов.^[8]

Новым направлением в исследовании гликопептидных антибиотиков является синтез катионных липогликопептидов. Для этого типа производных показано, что за счет увеличения аффинности к строительным блокам пептидогликана они обладают значительной активностью в отношении резистентных к ванкомицину бактерий.^[9] Следует отметить, что катионные агенты являются отдельным классом противоинфекционных препаратов, применяемых для лечения и профилактики бактериальных заболеваний. Наиболее известными являются бензалкония хлорид и цетилпиридиния хлорид (3) – катионные сурфактанты, широко используемые в качестве местных антисептиков с высокой антимикробной и противовирусной эффективностью.^[10]

Синтез и исследование антибактериальных свойств гибридных катионных липогликопептидов, в которых молекула антибиотика конъюгирована с остатком алкилпиридиния, может стать перспективным направлением в разработке нового поколения препаратов этого класса. Введение остатка катионного сурфактанта может способствовать закориванию молекулы гликопептида на поверхности мембран и придать мультитаргетный характер механизму его бактерицидного действия. Создание гибридных (химерных) антибиотиков является перспективным направлением в разработке новых антимикробных препаратов, поскольку такие производные обладают целым рядом преимуществ: они активны в отношении резистентных штаммов бактерий, обладают расширенным спектром действия и препятствуют распространению резистентности.^[11] Так, гетеродимер на основе ванкомицина и цефалоспоринона – цефилаванцин находится на заключительных стадиях клинических испытаний.^[12]

Основной целью этой работы являлась оценка антимикробного потенциала ранее неизвестных катионных липогликопептидов на основе эремомицина и сравнение их с производными, не имеющими липофильной цепи и положительного заряда. Для достижения поставленной цели синтезирована серия пиколиламидов эремомицина и их кватернизованных производных, проведены сравнительные исследования активности полученных соединений. Анализ показал, что катионные липогликопептиды в сравнении с пиколиламидами эремомицина высокоактивны в отношении резистентных к гликопептидам штаммов бактерий.

Экспериментальная часть

Химическая часть

Реагенты и растворители производства Sigma-Aldrich. Эремомицин (чистота 95 %), продуцируемый штаммом *Amicalatopsis Orientalis*, получен на опытной установке

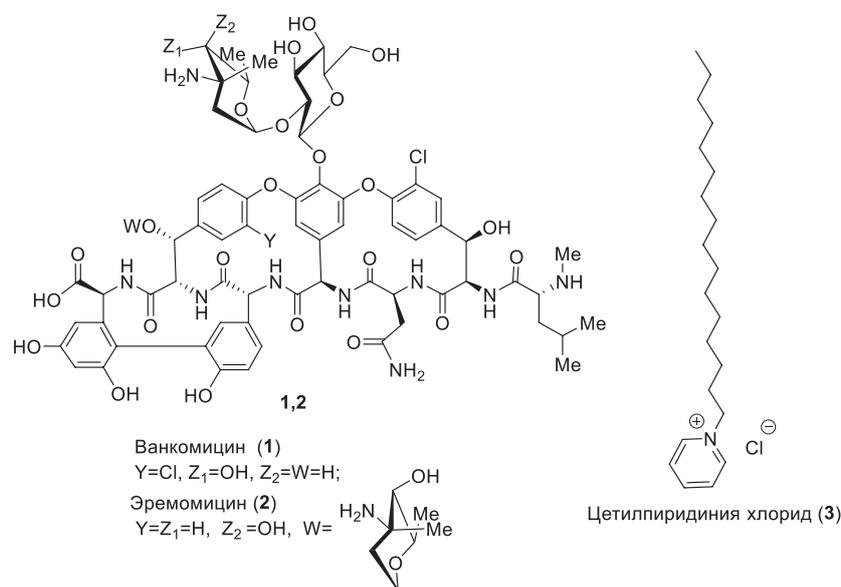


Рисунок 1. Структура ванкомицина (1), эремомицина (2) и цетилпиридиния хлорида (3).

НИИНА им. Г.Ф. Гузе (Москва, Российская Федерация). Для аналитической ТСХ использовались алюминированные пластинки с закрепленным слоем силикагеля F₂₅₄ толщиной 0.2 мм (Merck); для колоночной хроматографии использовался силикагель 60 (Merck). Соединения обнаруживали в УФ свете (254 нм). Очистка веществ методом обращенно-фазовой хроматографии осуществлялась на автоматической системе Isolera™ Prime (Biotage), картриджи SNAP KP-C18-HS (Biotage, 12 г), максимальное рабочее давление 10 бар, детектирование УФ-детектором (254–280 нм).

Анализ чистоты веществ методом ВЭЖХ проводили на хроматографе Shimadzu LC-20 AD, колонка Kromasil-100-5-мкм C-18 колонка (4.6×250 мм), LW=260 нм, элюент: А – H₃PO₄, В – MeCN (градиент В).

Масс-спектры высокого разрешения ESI регистрировали на спектрометре micrOTOF-Q II (Bruker Daltonics GmbH). Точность измерений 0.25–0.38 в интервале масс 118.086255–2721.894829. Положительно заряженные ионы детектировали в следующих условиях: напряжение на капилляре 4 кВ, давление азота в распылителе 40 кПа, скорость потока осушающего газа 4 л/мин, температура источника 180 °С.

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на спектрометре Varian VXR-400 в CDCl₃, DMSO-*d*₆, внутренний стандарт TMS. Отнесения сигналов в спектрах ЯМР ¹³C проводились с помощью метода АРТ (Attached Proton Test). ИК спектры регистрировали с использованием ИК-Фурье спектрометра Nicolet-iS10 (детектор DTGS, светоделиитель KBr) с приставкой Smart Performer, оснащенной ZnSe кристаллом (Nicolet, Madison, WI, USA). Измерение проводили при разрешении 4 см⁻¹; зона спектра 4000–650 см⁻¹. Спектр обрабатывали с использованием программы OMNIC-7.0.

N-трет-Бутоксикарбонил-4-пиколиламин (**4a**). 4-Пиколиламин (**3a**, 5.0 г, 46 ммоль) растворяют в ТГФ (30 мл), к полученному раствору прибавляют Вос-ангидрид (10.1 г, 46 ммоль) и перемешивают реакционную смесь 30 мин. Перед выделением продукта следует удостовериться в полной конверсии 4-пиколиламина методом ТСХ (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck, элюент хлороформ-метанол, 10:1). В случае неполной конверсии 4-пиколиламина, раствор оставляют при перемешивании еще на 15–30 мин. Раствор концентрируют в вакууме до 5 мл, после чего осаждают продукт петролейным эфиром. Выпавший осадок отфильтровывают и промывают петролейным эфиром (2×10 мл). Получают 3.35 г (93 %) *N*-трет-бутоксикарбонил-4-пиколиламина (**4a**) в виде желтого порошка. Т пл. 82–85 °С. HRMS (ESI) вычислено для C₁₁H₁₆N₂O₂ [M+H]⁺: 209.1290; найдено: 209.1289. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ_H м.д.: 1.41 (с, 9H, C(CH₃)₃), 4.40 (д, 2H, CH₂, *J*=5.2 Гц), 5.82 (с.уш., 1H, NH), 7.16 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.3 Гц), 8.55 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.3 Гц). ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ_C м.д.: 28.42, 45.71, 79.34, 121.63, 122.13, 136.62 (2C), 149.05 (2C), 156.11, 157.63.

N-трет-Бутоксикарбонил-3-пиколиламин (**4b**). Получают аналогично *N*-трет-бутоксикарбонил-4-пиколиламину (**4a**), взаимодействием 3-пиколиламина (**3b**) и Вос-ангидрида. Выход 3.42 г (95 %) в виде темно-желтого масла. HRMS (ESI) вычислено для C₁₁H₁₆N₂O₂ [M+H]⁺: 209.1290; найдено: 209.1289. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ_H м.д.: 1.46 (с, 9H, C(CH₃)₃), 4.34 (д, 2H, CH₂, *J*=5.1 Гц), 5.04 (с.уш., 1H, NH), 7.24–7.30 (м, 1H, CH_{аром}), 7.64 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=7.5 Гц), 8.47–8.56 (м, 2H, CH_{аром}). ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ_C м.д.: 28.53, 42.31, 80.04, 123.62, 134.72, 135.41 (2C), 148.93 (2C), 149.14, 156.02.

Гидрохлорид 4-(аминометил)-1-децилпиридиния хлорида (**5a**). В круглодонной колбе объемом 50 мл растворяют *N*-трет-бутоксикарбонил-4-пиколиламин (**4a**, 2.0 г, 9.6 ммоль) в кипящем 1,4-диоксане (2.5 мл). К полученному раствору добавляют 1-иододекан (3.85 г, 14.4 ммоль) и кипятят реакционную смесь 3–4 ч. Перед выделением продукта

следует удостовериться в полной конверсии *N*-трет-бутоксикарбонил-4-пиколиламина методом ТСХ (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck, элюент хлороформ-метанол, 10:1). В случае неполной конверсии *N*-трет-бутоксикарбонил-4-пиколиламина, раствор кипятят еще 1–2 ч. Раствор концентрируют в вакууме и очищают продукт хроматографически (силикагель, градиентное элюирование хлороформ-метанол), контроль фракций проводят методом ТСХ (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck, элюент хлороформ-метанол, 10:1). Фракции, содержащие основной продукт, объединяют и концентрируют в вакууме. Технический продукт вносят на колонку для обращенно-фазовой хроматографии (SNAP Cartridge KP-C18-HS, 12г) и элюируют дистиллированной водой (скорость потока 12 мл/мин) с последующим добавлением этанола (градиент этанола: 0→100% – 15 мин). Фракции, содержащие продукт (время выхода – 8–12 мин) объединяют и концентрируют в вакууме. К полученному Вос-производному кватернизованного пиколиламина прибавляют хлороводород в метаноле (7 %, 30 мл) и перемешивают 1 ч. Отфильтровывают образовавшийся осадок и промывают диэтиловым эфиром (2×20 мл), петролейным эфиром (10 мл), и сушат продукт в вакууме. Получают 2.2 г (85 %) гидрохлорида кватернизованного пиколиламина **5a** в виде светло-коричневого порошка. Т пл. 202–205 °С. HRMS (ESI) вычислено для C₁₆H₂₉N₂ [M]⁺: 249.2325; найдено: 249.2326. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ_H м.д.: 0.84 (т, 3H, CH₃, *J*=6.5 Гц), 1.21 (с, 16H, CH₂), 1.87 (с.уш., 2H, CH₂), 4.40 (д, 2H, CH₂, *J*=4.8 Гц), 4.52 (т, 2H, CH₂, *J*=7.0 Гц), 7.92 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.1 Гц), 8.97 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.1 Гц). ¹³C ЯМР (100 МГц, DMSO-*d*₆) δ_C м.д.: 14.41, 22.53, 25.83, 28.79, 29.08, 29.23, 29.29, 31.70, 40.39, 60.61, 125.75, 144.73.

Гидрохлорид 4-(аминометил)-1-додецилпиридиний хлорида (**5b**). Получают аналогично соединению **5a**, взаимодействием *N*-трет-бутоксикарбонил-4-пиколиламина (**4a**) и 1-иодододекана. Выход: 2.8 г (70 %) в виде светло-желтого порошка Т пл. 208–211 °С. HRMS (ESI) вычислено для C₁₈H₃₃N₂ [M]⁺: 277.2638; найдено: 277.2634. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ_H м.д.: 0.83 (т, 3H, CH₃, *J*=6.6 Гц), 1.21 (с, 20H, CH₂), 1.89 (т, 2H, CH₂, *J*=5.0 Гц), 4.40 (с, 2H, CH₂), 4.63 (т, 2H, CH₂, *J*=7.1 Гц), 8.34 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.1 Гц), 9.26 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.1 Гц), 9.29 (с.уш., 3H, NH). ¹³C ЯМР (100 МГц, DMSO-*d*₆) δ_C м.д.: 13.97, 22.11, 25.41, 28.4, 28.73, 29.02, 30.65, 31.31, 40.83, 60.39, 127.21, 144.41, 153.46.

Гидрохлорид 4-(аминометил)-1-тетрадецилпиридиний хлорида (**5c**). Получают аналогично соединению **5a**, взаимодействием *N*-трет-бутоксикарбонил-4-пиколиламина (**4a**) и 1-бромтетрадекана. Выход: 3.6 г (82 %) в виде темно-желтого порошка. Т пл. 215–218 °С. HRMS (ESI) вычислено для C₂₀H₃₇N₂ [M]⁺: 305.2951; найдено: 305.2943. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ_H м.д.: 0.83 (т, 3H, CH₃, *J*=7.6 Гц), 1.21 (с, 22H, CH₂), 1.90 (т, 2H, CH₂, *J*=7.1 Гц), 4.41 (д, 2H, CH₂, *J*=5.4 Гц), 4.63 (т, 2H, CH₂, *J*=5.9 Гц), 8.33 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.4 Гц), 9.23 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.6 Гц), 9.27 (с.уш., 3H, NH). ¹³C ЯМР (100 МГц, DMSO-*d*₆) δ_C м.д.: 13.96, 22.12, 25.42, 28.42, 28.73, 28.99, 29.04, 29.09, 30.66, 31.32, 40.84, 60.40, 127.20, 144.41, 153.46.

Гидрохлорид 4-(аминометил)-1-гексадецилпиридиний хлорида (**5d**). Получают аналогично соединению **5a**, взаимодействием *N*-трет-бутоксикарбонил-4-пиколиламина (**4a**) и 1-бромгексадекана. Выход: 1.8 г (51 %) гидрохлорида 1-гексадецил-4-метиламинопиридиний хлорида **5d** в виде светло-желтого порошка. Т пл. 221–224 °С. HRMS (ESI) вычислено для C₂₂H₄₁N₂ [M]⁺: 333.3264; найдено: 333.3273. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ_H м.д.: 0.82 (т, 3H, CH₃, *J*=7.6 Гц), 1.20 (с, 28H, CH₂), 1.89 (т, 2H, CH₂, *J*=7.1 Гц), 4.40 (д, 2H, CH₂, *J*=5.4 Гц), 4.60 (т, 2H, CH₂, *J*=5.9 Гц), 8.30 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.4 Гц), 9.16 (с.уш., 3H, NH), 9.21 (д, 2H, CH_{аром}, *J*=5.6 Гц). ¹³C ЯМР (100 МГц, DMSO-*d*₆) δ_C м.д.: 14.39, 22.53, 25.84, 28.84, 29.15, 29.29, 29.45, 29.50, 31.73, 38.05, 41.26, 60.61, 127.57, 144.86, 153.87.

Гидрохлорид 3-(аминометил)-1-тетрадецилпиридиний хлорида (**5e**). Получают аналогично соединению **5a**, взаимодействием *N*-трет-бутоксикарбонил-3-пиколиламина (**4b**) и 1-бромтетрадекана. Выход: 3.8 г (86 %) в виде светло-желтого порошка. Т пл. 155–158 °С. HRMS (ESI) вычислено для $C_{20}H_{37}N_2$ $[M]^+$: 305.2951; найдено: 305.2950. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ_H м.д.: 0.81 (т, 3H, CH_3 , $J=7.5$ Гц), 1.20 (с, 2H, CH_2), 1.93 (с.уш., 2H, CH_2), 4.24 (с.уш., 2H, CH_2), 4.60 (т, 2H, CH_2 , $J=7.5$ Гц), 8.21 (т, 1H, $CH_{аром}$, $J=7.1$ Гц), 8.78 (л, 1H, $CH_{аром}$, $J=8.2$ Гц), 8.93 (с.уш., 3H, NH_3), 9.15 (д, 1H, $CH_{аром}$, $J=6.1$ Гц), 9.40 (с, 1H, $CH_{аром}$). ^{13}C ЯМР (100 МГц, DMSO- d_6) δ_C м.д.: 14.00, 22.14, 25.46, 28.50, 28.76, 29.11, 30.52, 31.34, 40.14, 60.01, 127.55, 134.69, 144.39, 145.61, 146.14.

N-((1-Децилпиридин-1-ил-4-ил)метил)амид эремомицина (**6a**). При слабом нагревании и интенсивном перемешивании растворяют сульфат эремомицина (**2**, 0.5 г, 0.29 ммоль) и триэтиламин (0.2 мл, 1.45 ммоль) в безводном диметилсульфоксиде (12.5 мл). К полученному раствору прибавляют гидрохлорид 4-(аминометил)-1-децилпиридиний хлорида (**5a**, 0.42 г, 1.35 ммоль), RuBOP (0.258 г, 0.5 ммоль) и перемешивают 1 ч. Перед выделением продукта следует удостовериться в полной конверсии эремомицина **2** методом ТСХ (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck, элюент этилацетат-*n*-пропанол-25 % аммиак, 3:3:4). В случае неполной конверсии эремомицина (**2**) прибавляют дополнительно гидрохлорид 4-(аминометил)-1-децилпиридиний хлорида (**5a**, 0.12 г, 0.4 ммоль) и RuBOP (0.06 г, 0.12 ммоль) и перемешивают еще 30 мин. К тщательно перемешиваемой реакционной смеси прибавляют изопропанол (8.5 мл), ацетон (25 мл) и диэтиловый эфир (15 мл). Выпавший осадок отфильтровывают, промывают ацетоном (3×10 мл), петroleйным эфиром (10 мл) и высушивают в вакууме. Осадок растворяют в воде (2.5 мл), при перемешивании прибавляют изопропанол (3–4 мл) до помутнения раствора и повторно осаждают продукт ацетоном (25 мл) и диэтиловым эфиром (15 мл). Выпавший осадок отфильтровывают, промывают ацетоном (3 раза по 10 мл), петroleйным эфиром (10 мл) и высушивают в вакууме. Получают технический продукт с выходом 83 % в виде кремового порошка. Технический продукт растворяют в 3–5 мл воды и наносят на картридж для обращенно-фазовой хроматографии (SNAP Cartridge KP-C18-HS 12g). Продукт элюируют в системе вода-изопропиловый спирт (скорость потока – 12 мл/мин, градиент изопропилового спирта: 0→100% – 15 мин). Контроль фракций проводят методом ТСХ (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck, элюент этилацетат-*n*-пропанол-25 % аммиак, 3:3:4). Фракции, содержащие продукт (время выхода – 5–8 минут), объединяют, концентрируют в вакууме до объема 2–3 мл и осаждают продукт ацетоном (50 мл). Выпавший осадок отфильтровывают, промывают ацетоном (2×8 мл), диэтиловым эфиром (2×8 мл), петroleйным эфиром (8 мл) и высушивают в вакууме. Получают 0.23 г (40 %) *N*-децил-4-пиколиламида эремомицина **6a**, в виде белого порошка. HRMS (ESI) вычислено для $C_{89}H_{116}ClN_{12}O_{25}$ $[M]^+$: 1787.7858; найдено 1787.7856. ИК ν_{max} cm^{-1} : 3286, 1651, 1503, 1208, 1062 cm^{-1} . ВЭЖХ (колонка Kromasil-100-5-мкм C-18 4.6×250 мм, LW=260 нм) элюент: А – H_3PO_4 (0.01 М) pH=2.6, В – MeCN; градиент В, 10→90 % (45 мин): $R_t=24.2$ мин, чистота 95.6 %.

N-((1-Додэцилпиридин-1-ил-4-ил)метил)амид эремомицина (**6b**). Соединение **6b** получают аналогично соединению **6a** из эремомицина (**2**) и гидрохлорида 4-(аминометил)-1-додэцилпиридиний хлорида (**5b**). Выход: 0.29 г (56 %), в виде белого порошка. HRMS (ESI) вычислено для $C_{91}H_{120}ClN_{12}O_{25}$ $[M]^+$: 1815.8171; найдено 1815.8179. ИК ν_{max} cm^{-1} : 3299, 1651, 1504, 1212, 1063. ВЭЖХ (колонка Kromasil-100-5-мкм C-18 4.6×250 мм, LW=260 нм) элюент: А – H_3PO_4 (0.01 М) pH=2.6, В – MeCN; градиент В, 10→90 % (53 мин): $R_t=27.0$ мин, чистота 95.3 %.

N-((1-Тетрадецилпиридин-1-ил-4-ил)метил)амид эремомицина (**6c**). Соединение **6c** получают аналогично соединению

нию **6a** из эремомицина (**2**) и гидрохлорида 4-(аминометил)-1-тетрадецилпиридиний хлорида (**5c**). Выход: 0.15 г (27 %), в виде кремового порошка. HRMS (ESI) вычислено для $C_{93}H_{124}ClN_{12}O_{25}$ $[M]^+$: 1843.8484; найдено 1843.8492. ИК ν_{max} cm^{-1} : 3284, 1651, 1504, 1406, 1212, 1063. ВЭЖХ (колонка Kromasil-100-5-мкм C-18 4.6×250 мм, LW=260 нм) элюент: А – H_3PO_4 (0.01 М) pH=2.6, В – MeCN; градиент В, 10→90 % (53 мин): $R_t=28.1$ мин, чистота 96.1 %.

N-((1-Гексадецилпиридин-1-ил-4-ил)метил)амид эремомицина (**6d**). Соединение **6d** получают аналогично соединению **6a** из эремомицина (**2**) и гидрохлорида 4-(аминометил)-1-гексадецилпиридиний хлорида (**5d**). Выход: 0.20 г (33 %), в виде белого порошка. HRMS (ESI) вычислено для $C_{95}H_{128}ClN_{12}O_{25}$ $[M]^+$: 1871.8797; найдено 1871.8791. ИК ν_{max} cm^{-1} : 3294, 1651, 1504, 1212, 1062. ВЭЖХ (колонка Kromasil-100-5-мкм C-18 4.6×250 мм, LW=260 нм) элюент: А – H_3PO_4 (0.01 М) pH=2.6, В – MeCN; градиент В, 10→90 % (45 мин): $R_t=29.0$ мин, чистота 95.2 %.

N-((1-Тетрадецилпиридин-1-ил-3-ил)метил)амид эремомицина (**6e**). Соединение **6e** получают аналогично соединению **6a** из эремомицина (**2**) и гидрохлорида 3-(аминометил)-1-тетрадецилпиридиний хлорида (**5e**). Выход: 0.27 г (50 %), в виде белого порошка. HRMS (ESI) вычислено для $C_{93}H_{124}ClN_{12}O_{25}$ $[M+H]^+$: 1843.8484; найдено 1843.8489. ИК ν_{max} cm^{-1} : 3298, 1652, 1505, 1211, 1064. ВЭЖХ (колонка Kromasil-100-5-мкм C-18 4.6×250 мм, LW=260 нм) элюент: А – H_3PO_4 (0.01 М) pH=2.6, В – MeCN; градиент В, 10→90 % (45 мин): $R_t=27.8$ мин, чистота 98.4 %.

N-((Пиридин-4-ил)метил)амид эремомицина (**6f**). При слабом нагревании и интенсивном перемешивании растворяют эремомицина сульфат **2** (0.5 г, 0.29 ммоль) и триэтиламин (0.2 мл, 1.45 ммоль) в безводном диметилсульфоксиде (12.5 мл). К полученному раствору прибавляют 4-пиколиламин (**3a**, 0.19 г, 1.7 ммоль) и RuBOP (0.25 г, 0.55 ммоль). Перед выделением продукта следует удостовериться в полной конверсии эремомицина методом ТСХ (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck, элюент этилацетат-*n*-пропанол-25 % аммиак, 3:3:4). В случае неполной конверсии эремомицина внести дополнительно 4-пиколиламин (0.045 г, 0.4 ммоль) и RuBOP (0.06 г, 0.12 ммоль) и оставить еще на 30 мин. К перемешиваемому раствору прибавляют изопропанол (8.5 мл), ацетон (25 мл) и диэтиловый эфир (15 мл). Выпавший осадок отфильтровывают, промывают ацетоном (3 раза по 10 мл), петroleйным эфиром (10 мл) и высушивают в вакууме. Осадок растворяют в воде (2 мл), при перемешивании прибавляют изопропанол (3–4 мл) до помутнения раствора и повторно осаждают продукт ацетоном (25 мл) и диэтиловым эфиром (15 мл). Выпавший осадок отфильтровывают, промывают ацетоном (3×10 мл), петroleйным эфиром (10 мл) и высушивают в вакууме. Получают технический продукт с выходом 89 % в виде кремового порошка. Технический продукт растворяют в воде (40–60 мл), и из полученного раствора на ионообменной колонке сорбируют антибиотик на смоле Dowex 50Wx2 (12.5 мл) в NH_4^+ -форме. Смолу промывают водой (60–80 мл), и десорбируют продукт водным раствором (0.25 %) аммиака. Контроль фракций проводят методом ТСХ (Silicagel 60 F₂₅₄, Merck, элюент этилацетат-*n*-пропанол-25 % аммиак, 3:3:4). Фракции, содержащие продукт, объединяют, концентрируют в вакууме до объема ~5 мл. Раствор подкисляют при тщательном перемешивании водным раствором соляной кислоты (1 %) до pH ~5, упаривают до объема 1–2 мл, после чего осаждают продукт ацетоном (50 мл). Выпавший осадок отфильтровывают, промывают ацетоном (2×8 мл), диэтиловым эфиром (2×8 мл), петroleйным эфиром (8 мл) и высушивают в вакууме. Получают 0.31 г (64.6 %) *N*-((пиридин-4-ил)метил)амида **6f** в виде кремового порошка. HRMS (ESI) вычислено для $C_{79}H_{96}ClN_{12}O_{25}$ $[M+H]^+$: 1647.6293; найдено 1647.6290. ИК ν_{max} cm^{-1} : 3291, 1659, 1504, 1213, 1065. ВЭЖХ (колонка Kromasil-

100-5-мкм С-18 4.6×250 мм, LW=260 нм) элюент: А – H₃PO₄ (0.6 %) pH=7.8, В – MeCN; градиент В, 8→70 % (40 мин): R_t=25.4 мин, чистота 95.9 %.

N-(Пиридин-3-илметил)амид эремомицина (**6g**). Соединение **6g** получают аналогично 4-пиколиламиду эремомицина **6f** из 3-пиколиламина. Выход: 0.24 г (51 %) в виде кремового порошка. HRMS (ESI) вычислено для C₇₉H₉₆ClN₁₂O₂₅ [M+H]⁺: 1647.6293; найдено 1647.6298. ИК ν_{max} см⁻¹: 3293, 1651, 1504, 1212, 1064. ВЭЖХ (колонка Kromasil-100-5-мкм С-18 4.6×250 мм, LW=260 нм) элюент: А – H₃PO₄ (0.6 %) pH=7.8, В – MeCN; градиент В, 8→70 % (40 мин): R_t=26.7 мин, чистота 97.6 %.

N-(Пиридин-2-илметил)амид эремомицина (**6h**). Соединение **6h** получают аналогично *N*-(пиридин-4-илметил)амиду эремомицина **6f** из 2-пиколиламина. Выход: 0.30 г (62.5 %) в виде кремового порошка. HRMS (ESI) вычислено для C₇₉H₉₆ClN₁₂O₂₅ [M+H]⁺: 1647.6293; найдено 1647.6295. ИК ν_{max} см⁻¹: 3297, 1652, 1504, 1212, 1064. ВЭЖХ (колонка Kromasil-100-5-мкм С-18 4.6×250 мм, LW=260 нм) элюент: А – H₃PO₄ (0.6 %) pH=7.8, В – MeCN; градиент В, 8→70 % (40 мин): R_t=25.8 мин, чистота 95.5 %.

Биологическая часть

В исследовании использовали эталонные штаммы *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 и клинические изоляты *E. spp.*, полученные из музея лаборатории медицинской микробиологии Государственного научного центра по антибиотикам (ГНЦА).

Антимикробная активность гликопептидов **6a-h** изучена в сравнении с природными антибиотиками **1, 2** на штаммах *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, клинических изолятах энтерококков: чувствительных и устойчивых к ванкомицину *E. faecalis* 6413 (МПК 1.0 мкг/мл), *E. gallinarum* 1308 (МПК 128 мкг/мл), *E. faecium* 3567 (МПК 128 мкг/мл), *E. faecium* 1 (МПК 8 мкг/мл), *E. faecium* 2 (МПК 8 мкг/мл), *E. faecium* 4 (МПК 8 мкг/мл).

Штаммы активировали после криохранения на агаризованной среде с сердечно-мозговым экстрактом (ВНИ - Brain Heart Infusion Agar, Himedia) и выращивали в течение 24 часов при 35±2°. Минимальную подавляющую рост микроорганизмов концентрацию (МПК) для тестируемых соединений определяли микрометодом серийных разведений в бульоне, в соответствии с рекомендациями CLSI.^[13] В качестве контроля точности результатов исследования, использовали антибиотик ванкомицин (ванкомицин гидрохлорид стандарт U. S. Pharmacopeia, Lot R07250) и эталонные штаммы *E. faecalis* ATCC 29212 и *S. aureus* ATCC 29213, в отношении которых определены значения МПК. Референсные значения МПК 0.5–2 мкг/мл для *S. aureus* ATCC 29213 и 1–4 мкг/мл для *E. faecalis* ATCC 29212. Полученные значения МПК ванкомицина для контрольных штаммов не выходили за границы диапазона чувствительности, и составили для *S. aureus* ATCC 29213 – 1.0 мкг/мл, для *E. faecalis* ATCC 29212 – 2.0 мкг/мл.

Обсуждение результатов

Различия в структуре и свойствах эремомицина (**2**) и ванкомицина (**1**), как отмечено выше, делают эремомицин более перспективной платформой для разработки нового поколения полусинтетических гликопептидов. Наличие дополнительного углеводного остатка при АК6 обеспечивает эремомицину (**2**) большую стабильность в растворе по сравнению с ванкомицином (**1**) благодаря способности образовывать прочные межмолекулярные димеры.^[14] К настоящему

времени разработано несколько направлений модификации эремомицина (**2**),^[15] но приемлемая региоселективность, минимальное количество стадий и высокая активность ряда производных выделяют амидирование С-концевой аминокислоты как наиболее перспективное направление для получения новых полусинтетических гликопептидов.^[16,17]

Введение в гликопептидные антибиотики катионных липофильных групп повышает их активность в отношении резистентных грамположительных бактерий и даже, в некоторых случаях, приводит к появлению активности в отношении грамтрицательных патогенов, на которые природные гликопептиды не действуют.^[9] Исходя из этих данных, для создания новых амидов эремомицина, потенциально обладающих улучшенной антибактериальной активностью, синтезирован ряд пиколиламидов эремомицина и их производные, кватернизованные по гетероциклу длинноцепочечными алкильными радикалами.

На первом этапе, для получения аминов, используемых для модификации эремомицина, разработана схема синтеза кватернизованных производных пиколиламинов (Схема 1). На первой стадии блокированием с помощью Вос-защиты аминогруппы 3(4)-пиколиламинов (**3a,b**) действием Вос-ангидрида в ТГФ получены *N*-(*m*ре-бутоксикарбонил)пиколиламины (**4a,b**, Схема 1). На следующей стадии кватернизацией пиридинового цикла производных **4a,b** действием высших 1-галогеналканов при кипячении в 1,4-диоксане синтезированы промежуточные 1-алкил(*m*ре-бутоксикарбониламинометил)пиридиниевые соли. Максимальный выход Вос-производных пиридиниевых солей **5a-e** (58–65 %) получен при полуторакратном избытке 1-алкилгалогенидов, а для их очистки разработана методика, включающая колоночную хроматографию на силикагеле с градиентным элюированием в системе хлороформ-метанол и последующую обращенно-фазовую хроматографию на силикагеле С18. На заключительной стадии удалением Вос-защиты 1-алкил-*N*-(*m*ре-бутоксикарбониламинометил)пиридиниевых солей с последующим действием хлороводорода в метаноле получены кватернизованные пиколиламины **5a-e**.

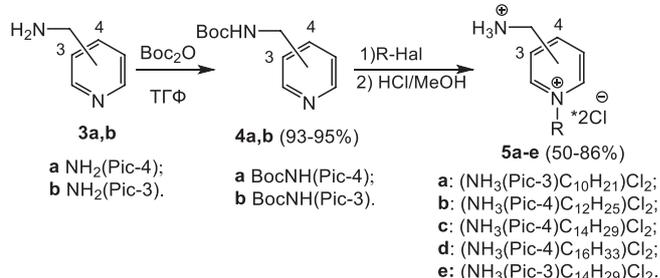


Схема 1. Синтез кватернизованных производных пиколиламинов **5a-e**.

Структура кватернизованных пиколиламинов **5a-e** доказана совокупностью данных ¹H и ¹³C ЯМР спектров, а также масс-спектров высокого разрешения (HRMS ESI). Так, в спектрах ¹H и ¹³C ЯМР **5a-e** наблюдаются

сигналы, соответствующие алкильным группам, а также синглетный сигнал аммонийной группы в ^1H ЯМР спектрах (Рисунки Д1–10, Дополнительные материалы). Эти сигналы отсутствуют в ^1H и ^{13}C ЯМР спектрах *N*-*mpem*-бутоксикарбонилпиколиламинов **4a,b**.

На следующем этапе конденсацией эремомицина (**2**) с кватернизованными пиколиламинами **5a-e** синтезирован ряд катионных липоамидов эремомицина **6a-e** с различной длиной и расположением алкильной цепи (Схема 2). Кроме того, для исследования влияния кватернизации пиридинового фрагмента на антибактериальные свойства соединений из пиколиламинов **3a-c** получены ранее не описанные пиколиламиды эремомицина **6f-h**. Синтез амидов **6a-h** проводили амидированием эремомицина (**2**) аминами действием конденсирующего реагента PyBOP в присутствии триэтиламина в ДМСО. Выделение и очистку полученных производных осуществляли переосаждением продукта реакции с последующей обращенно-фазовой хроматографией, градиентным элюированием в системе вода-изопропанол. По разработанной методике конденсации и очистки целевые производные **6a-h** получены с приемлемой чистотой (95.2–98.4 % по данным ВЭЖХ).

Строение всех новых производных подтверждено масс-спектрами высокого разрешения. ИК спектры новых производных имеют характерные для гликопептидов интенсивные полосы поглощения в районе 3300 cm^{-1} (NH/OH), 1650 и 1500 cm^{-1} (амидные группы), 1100 – 1000 cm^{-1} (C–O углеводных остатков), а также интенсивная полоса в районе 1212 cm^{-1} (C–O), характерная для всех антибиотиков этой группы (Рисунок Д11–Д18, Дополнительные материалы). Для производного **6e** также исследованы ^1H ЯМР спектры. Известно, что динамические особенности полипептидного коря, гидрофобных групп и углеводных фрагментов гликопептидных антибиотиков в значительной степени влияют на их ЯМР спектры и возможности их идентификации этим методом.^[18] Исследование ^1H ЯМР спектров производного **6e** подтвердило их динамический характер. Коалесценция сигналов в ^1H ДЯМР спектре в $\text{DMSO-}d_6$ наблюдается при температуре выше $70\text{ }^\circ\text{C}$, а коллапс сигналов происходит лишь

при $110\text{ }^\circ\text{C}$, что, по-видимому, связано с интенсивными флуктуационными процессами в молекуле антибиотика (Рисунок Д19, Дополнительные материалы). Сравнение ^1H ЯМР спектра производного **6e** и исходного эремомицина (**2**)^[18] подтверждает введение кватернизованного фрагмента пиколиламина, сигналы которого наблюдаются в слабополюной и в сильнополюной областях спектра.

Оценка антибактериальной активности новых амидов эремомицина **6a-h** проведена в сравнении с ванкомицином (**1**) на панели грамположительных патогенов, включающей контрольные штаммы *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, а также клинические изоляты энтерококков: чувствительных к ванкомицину *E. faecalis* 6413, *E. faecium* Yh 2-2 и резистентных к гликопептидам *E. gallinarum* 1308, *E. faecium* 3567, *E. faecium* 1, *E. faecium* 2, *E. faecium* 4. Полученные данные свидетельствуют о том, что введение остатка пиколиламина оказывает существенное влияние на антибактериальный спектр действия эремомицина (Таблица 1). Все новые производные **6a-h** показали более высокую, чем ванкомицин, активность в отношении как чувствительных, так и устойчивых штаммов. Изомерные пиколиламиды эремомицина **6f-h** в 2–20 раз более активны, чем природные гликопептиды **1**, **2**. Рост антибактериальной активности наблюдается как в отношении чувствительных к гликопептидам референсных штаммов, так и в отношении клинических изолятов с промежуточной чувствительностью к гликопептидам. Активность пиколиламидов **6f-h** в отношении резистентных к гликопептидам штаммов *E. gallinarum* 1308 и *E. faecium* 3567, хотя и оказалась на 1–2 порядка ниже, чем в отношении чувствительных, но заметно выше, чем у препаратов сравнения эремомицина (**2**) и ванкомицина (**1**).

Липогликопептиды **6a-c,e** более активны в отношении высокоустойчивых изолятов *E. gallinarum* 1308 и *E. faecium* 3567 (МПК 1–4 мкг/мл), чем производные **6d,f,h** (МПК 4–16 мкг/мл, Таблица 1). Однако кватернизация пиридинового ядра приводит к снижению активности соединений **6a-e** в отношении чувствительных штаммов и штаммов с промежуточной резистентно-

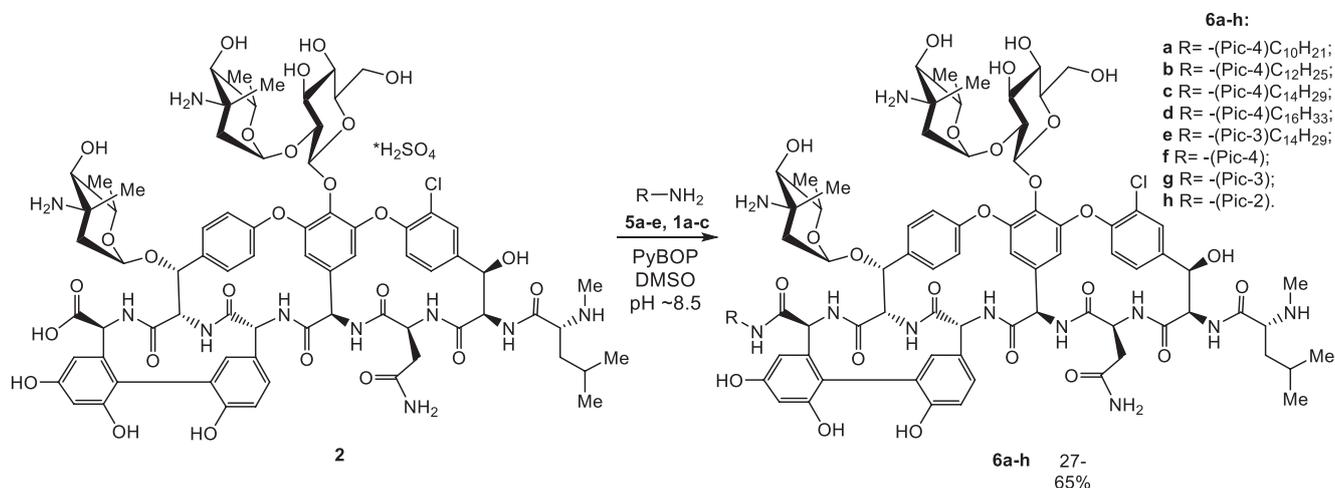


Схема 2. Синтез пиколиламидов эремомицина и их кватернизованных производных **6a-h**.

Таблица 1. Антибактериальная активность ванкомицина (**1**), эремомицина (**2**) и пиколиламидов эремомицина **6a-h**.

№	R	Штамм / Минимальная подавляющая концентрация (МПК), мкг/мл								
		<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E.</i> <i>faecalis</i> 6413	<i>E.</i> <i>faecium</i> 1	<i>E.</i> <i>faecium</i> 2	<i>E.</i> <i>faecium</i> 4	<i>E.</i> <i>gallinarum</i> 1308	<i>E.</i> <i>faecium</i> 3567	<i>E. coli</i> ATCC 25922
1	–	2.0	1.0	1.0	8.0	8.0	8.0	128.0	128.0	–
2	–	0.125	0.25	0.06	1.0	1.0	1.0	16.0	16.0	>32
6a	-(Pic-4)C ₁₀ H ₂₁	1.0	1.0	0.03	2.0	2.0	1.0	4.0	2.0	>32
6b	-(Pic-4)C ₁₂ H ₂₅	4.0	4.0	1.0	4.0	4.0	2.0	2.0	2.0	>32
6c	-(Pic-4)C ₁₄ H ₂₉	1.0	2.0	0.25	2.0	2.0	1.0	2.0	2.0	>32
6d	-(Pic-4)C ₁₆ H ₃₃	16.0	32.0	2.0	4.0	4.0	0.25	4.0	8.0	>32
6e	-(Pic-3)C ₁₄ H ₂₉	4.0	2.0	0.25	2.0	2.0	2.0	4.0	2.0	>32
6f	-(Pic-4)	0.03	0.125	0.03	0.25	0.5	0.5	16.0	8.0	нт*
6g	-(Pic-3)	0.25	0.06	0.015	0.5	0.5	0.25	8.0	4.0	нт*
6h	-(Pic-2)	0.06	0.125	0.06	0.5	0.5	0.5	16.0	8.0	нт*

*нт – производное не тестировалось

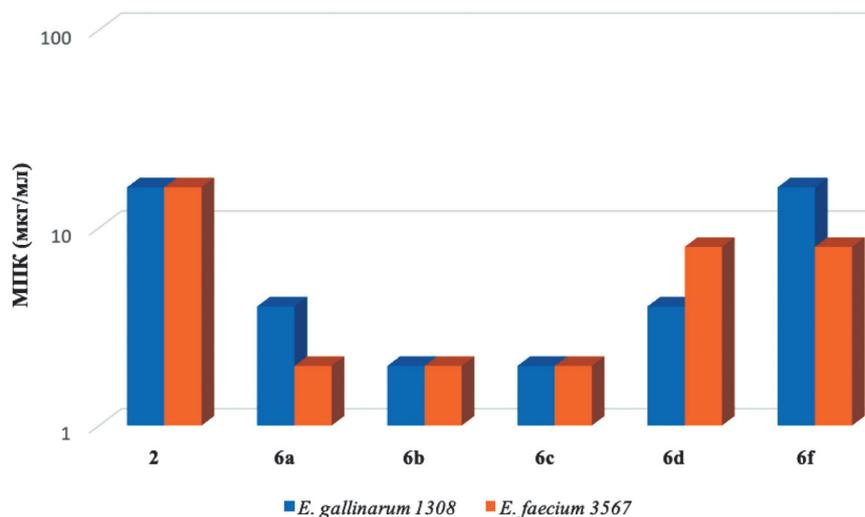


Рисунок 2. Сравнение антибактериальной активности эремомицина (**2**), пиколиламида эремомицина **6f** и его кватернизованных производных **6a-d** в отношении гликопептид-резистентных штаммов грамположительных патогенов.

стью по сравнению с пиколиламидами эремомицина **6f-h** (МПК 0.25–32 мкг/мл и 0.03–0.125 мкг/мл, соответственно). Следует отметить, что гомологи **6a-c**, содержащие от децильного до тетрадецильного радикала, имеют схожую активность (Рисунок 2). Однако дальнейшее увеличение длины алкильного радикала приводит к заметному снижению активности производного **6d** (*N*-гексадецил-4-пиколиламид эремомицина) в отношении резистентных штаммов. Известно, что введение катионной группы в гликопептиды приводит к потенцированию их действия на грамотрицательные бактерии. Однако исследование действия катионных гликопептидов **6a-e** на *E. coli* ATCC 25922 показало, что ни одно из новых производных эремомицина не ингибирует рост этой грамотрицательной бактерии (МПК более 32 мкг/мл).

Выводы

В результате работы синтезированы неизвестные ранее пиколиламиды эремомицина и ряд катионных липогликопептидов на их основе. Все новые полусинтетические гликопептиды **6a-h** более активны, чем ванкомицин (**1**), в отношении как чувствительных, так и резистентных к гликопептидам штаммов грамположительных патогенов. Введение остатка пиколиламина приводит к существенному росту антибактериальной активности пиколиламидов эремомицина **6f-h** для чувствительных к гликопептидам штаммов и штаммов с промежуточной резистентностью. Кватернизация гетероцикла пиколиламидов эремомицина длинноцепочечными алкилами приводит к росту активности катионных липогликопептидов **6a-e** в отношении

резистентных штаммов, однако сопровождается увеличением МПК для чувствительных штаммов.

Таким образом, на основе эремомицина (**2**) получен новый тип высокоактивных полусинтетических производных. Конъюгация этого гликопептидного антибиотика с остатком катионного сурфактанта на основе алкилпиридиния приводит к росту антибактериальной активности таких гибридных производных в отношении высокорезистентных к гликопептидам штаммов грамположительных бактерий. Наиболее активные липогликопептиды **6a,c** перспективны для углубленного изучения спектра антибактериальной активности, исследования эффективности на моделях *in vivo* и токсикологических характеристик.

Ссылки

References

1. Page M.G., Bush K. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2014**, *18*, 91–97.
2. Tacconelli E., Carrara E. *Lancet Infect. Dis.* **2018**, *18*(3), 318–327.
3. Bruniera F.R., Ferreira F.M., Saviolli L.R., Bacci M.R., Feder D., Pedreira L.G., Sorgini Peterlini M.A., Azzalis L.A., Campos Junqueira V.B., Fonseca F.L. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2015**, *19*(4), 694–700.
4. Hubert S.K., Mohammed J.M., Fridkin S.K., Gaynes R.P., McGowan Jr. J.E., Tenover F.C. *J. Clin. Microbiol.* **1999**, *37*(11), 3590.
5. Zhanel G.G. *Drugs* **2010**, *70*, 859.
6. Gauze G.F., Brazhnikova M.G., Laiko A.V., Sveshnikova M.A., Preobrazhenskaia T.P. *Antibiot. Med. Biotekhnol.* **1987**, *32*(8), 571–576.
7. Olsuf'eva E.N., Solov'eva S.E., Reznikova M.I., Korolev A.M., Preobrazhenskaia M.N. *Bioorg. Khim.* **2013**, *39*(2), 141–150.
8. Kim S.J., Cegelski L., Preobrazhenskaya M.N., Schaefer J. *Biochemistry* **2006**, *45*, 5235.
9. Yarlagadda V. *J. Antibiot.* **2015**, *45*, 302–312.
10. Verbina N.M., Smirnova L.S., Danilchenko R.N. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya* **1973**, *9*(4), 575–578.
11. Parkes A.L., Yule I.A. *Expert Opin. Drug Discov.* **2016**, *11*(7), 665–680.
12. Butler M.S., Blaskovich M.A.T., Cooper M.A. *J. Antibiot.* **2017**, *70*, 3–24.
13. CLSI M100 S25 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement, January **2015**.
14. Mackay J.P., Gerhard U., Beauregard D.A., Williams D.H., Westwell M.S., Searle M.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4581.
15. Pavlov A.I., Preobrazhenskaia M.N. *Bioorg. Khim.* **1998**, *24*(9), 644–662.
16. Olsufyeva E.N., Shchekotikhin A.E., Bychkova E.N., Pereverzeva E.R., Treshalin I.D., Mirchink E.P., Isakova E.B., Chernobrovkin M.G., Kozlov R.S., Dekhnichev A.V., Preobrazhenskaya M.N. *Drug Des. Devel. Ther.* **2018**, *10*(12), 2875–2885.
17. Wu Z.-C., Isley N.A., Boger D.L. *ACS Infect. Dis.* **2018**, *4*(10), 1468–1474.
18. Batta G., Sztaricskai F., Kover K.E., Rudel C., Berdnikova T.F. *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 1208–1221.

Received 02.12.2018

Accepted 29.01.2019