



УДК 547.91

## СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОНЬЮГАТОВ 3,4,6-ТРИ-*O*-АЦЕТИЛ-*N*-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНА И ТЕТРААЦЕТИЛГЛЮКОПИРАНОЗЫ С АЛКИЛФОСФАТАМИ

© 2019 г. Р. Р. Шарипова\*, Б. Ф. Гарифуллин\*, А. С. Сапунова\*, А. Д. Волошина\*,  
М. А. Кравченко\*\*, В. Е. Катаев\*.\*

\*Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН,  
Россия, 420088, Казань, ул. Арбузова, 8

\*\*Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии – филиал ФГБУ “НМИЦ ФПИ”  
Минздрава России, Россия, 620039, Екатеринбург, ул. 22 Партсъезда, 50

Поступила в редакцию 19.09.2018 г.

После доработки 01.10.2018 г.

Принята к публикации 11.10.2018 г.

Синтезированы конъюгаты 3,4,6-три-*O*-ацетил-*N*-ацетилглюкозамина и тетраацетилированной глюкопиранозы с алкилфосфатами. Выявлена зависимость их антибактериальной и антитуберкулезной активности от длины алкильного заместителя у фосфатной группы. Так, конъюгаты с децильным заместителем проявили лучшую *in vitro* антитуберкулезную активность против *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (МИК 3 мкг/мл), но показали самое слабое антибактериальное действие в отношении *Streptococcus aureus* и *Bacillus cereus* (МИК 125 и более мкг/мл). И, наоборот, конъюгаты с цетильным заместителем продемонстрировали лучшую антибактериальную активность *in vitro* в отношении *S. aureus* и *B. cereus* (МИК 16 мкг/мл), но проявили самую низкую в изученных рядах производных антитуберкулезную активность *in vitro* (МИК 12 мкг/мл).

**Ключевые слова:** глюкозамин, глюкопираноза, гликоконъюгаты, гликолипиды, антитуберкулезная активность, антибактериальная активность, *Mycobacterium tuberculosis*

DOI: 10.1134/S013234231902012X

### ВВЕДЕНИЕ

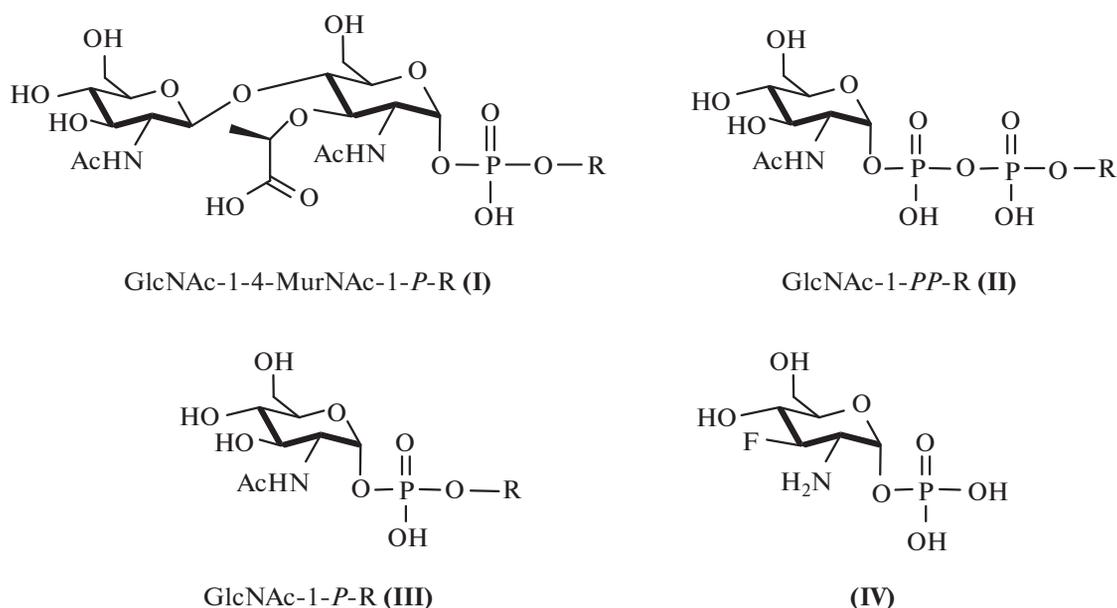
Пептидогликан (PG) является важной макромолекулой, которая окружает бактерии и микобактерии, придает им форму и защищает их от разрушающего действия собственного высокого осмотического давления. Ингибирование синтеза PG приводит к лизису бактериальных клеток, поэтому все ферменты, участвующие в его биосинтезе, являются привлекательными мишенями для дизайна новых антибактериальных и антимикобактериальных (антитуберкулезных) агентов. Из всего разнообразия ферментов внимание исследователей сосредоточено на *N*-ацетилглюкозамин-1-фосфат-уридилтрансферазе (GlmU-T) и PG-гликозилтрансферазах (PG-Ts), которые катализируют последние стадии биосинтеза PG [1–3].

В последнее десятилетие была синтезирована большая серия ингибиторов GlmU- и PG-трансфераз с модификацией углеводного остатка, фос-

фатной группы и алкильного заместителя (рис. 1) [3–9]. Наиболее известные ингибиторы имеют дисахаридный фрагмент, состоящий из *N*-ацетилглюкозамина (GlcNAc) и фрагментов *N*-ацетилмурамовой кислоты (MurNAc) (соединения (I) [4]) или имеют только фрагмент GlcNAc (соединения (II), (III) [5–8]). Кроме того, известные ингибиторы подразделяются на дифосфаты (соединения (II) [5–8]) и монофосфаты (соединения (I), (III) [4, 7]). Было показано, что ингибиторы (II), (III) являются альтернативными субстратами для бактериальных глюкозил- и галактозилтрансфераз и способны в некоторой степени ингибировать активность различных бактериальных ферментов [4–8]. Очень интересно, что простейшее соединение (IV) (рис. 1) ингибирует GlmU-трансферазу *M. tuberculosis* в миллимолярных концентрациях [9]. Казалось бы, если какое-либо соединение ингибирует любой фермент на пути к пептидогликану бактерии, оно также должно ингибировать рост самой бактерии. Удивительно, но, насколько нам известно, в литературе нет сообщений о том, как синтезированные ингибиторы бактериальных глюкозил- или галактозилтрансфераз угнетают рост самих бактерий. В литературе можно найти только одно сравнение антиферментативной

Сокращения: PG – пептидогликан; МИК – минимальная ингибирующая концентрация; GlmU-T – GlcNAc-1P-уридилтрансфераза; PG-T – PG-гликозилтрансфераза; GlcNAc-1-*P*-алкил – *N*-ацетилглюкозамин-1-алкилфосфат; TMS-OTf – триметилсилилтрифторметансульфонат.

# Автор для связи (тел. +7 (843) 273-93-65; факс +7 (843) 273-22-53; эл. почта kataev@iopc.ru).



**Рис. 1.** Некоторые представители ингибиторов ферментов, участвующих в биосинтезе пептидогликанов бактерий и микобактерий. R = пренил ( $-C_5H_9$ ); фарнезил ( $-C_{15}H_{25}$ ); феноксигексил ( $-C_6H_{12}OPh$ ); децил ( $-C_{10}H_{21}$ ); феноксиундецил ( $-C_{11}H_{22}OPh$ ); цетил ( $-C_{16}H_{33}$ ); феноксицетил ( $-C_{16}H_{32}OPh$ ).

и антибактериальной активности ингибиторов гликозилтрансфераз [4]. Причем полученные результаты [4] удивительны. Так, лучшие ингибиторы (III) PG-гликозилтрансферазы PBP1b *E. coli* продемонстрировали отсутствие антибактериальной активности [4].

Принимая во внимание эти данные, мы решили проверить, появится ли антибактериальная активность у соединений типа (III), если ацетилировать гидроксильные группы углеводного остатка.

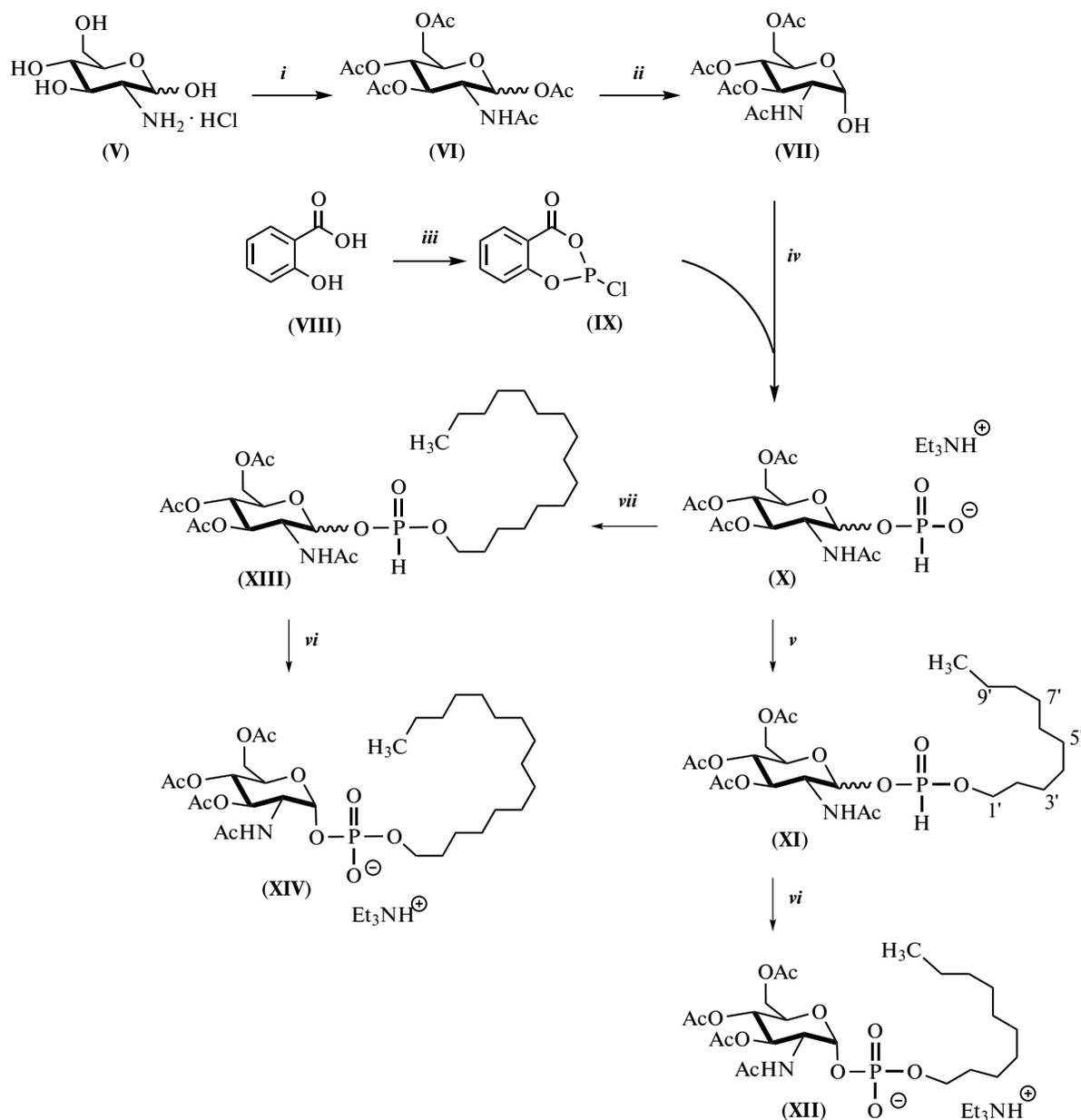
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе сообщается о синтезе, антибактериальной и антитуберкулезной активности конъюгатов 3,4,6-три-*O*-ацетил-*N*-ацетил-*D*-глюкозамина и тетраацетилированной *D*-глюкопиранозы с алкилфосфатами.

В качестве исходного соединения для синтеза целевых конъюгатов (далее гликофосфатов) на основе 3,4,6-три-*O*-ацетил-*N*-ацетил-*D*-глюкозамина (XII) и (XIV) использовали коммерческий гидрохлорид глюкозамина (V) (схема 1). Он был ацилирован аналогично [10], и полученный 1,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-*N*-ацетил-*D*-глюкозамин (VI) региоселективным удалением защиты с аномерной гидроксильной группы метиламином в метаноле аналогично [11] был превращен в 3,4,6-три-*O*-ацетил-*N*-ацетил-*D*-глюкозамин (VII). Затем аномерную гидроксильную группу производного (VII) подвергли фосфонилированию салицилхлорфосфитом (2-хлор-2*H*,4*H*-1,3,2-бензодиазоксафосфорин-4-он) (IX) [12], который был получен из салициловой кислоты (VIII) анало-

гично [13]. *H*-Фосфонат (X) выделили с выходом 34% после хроматографирования. В спектре  $^1H$ -ЯМР *H*-фосфоната (X) наряду с характеристичными сигналами 3,4,6-три-*O*-ацетил-*N*-ацетилглюкозамина (VII) появились сигналы в виде триплета при 1.36 м.д. ( $J_{P-H}$  7.3 Гц) и квартета при 3.08 м.д. ( $J_{H-H}$  7.3 Гц), что соответствовало резонансу протонов триэтиламмониевой группы, а также дублет при 6.9 м.д. ( $J_{P-H}$  668 Гц), соответствующий резонансу протона P–H. Аномерный протон резонировал в виде мультиплета в области 5.61–5.69 м.д., что указывало на образование смеси аномеров. В спектре  $^{31}P$ -ЯМР соединения (X) присутствовал синглет при 1.93 м.д., соответствующий резонансу атома фосфора в *H*-фосфонатах.

На следующей стадии провели реакцию *H*-фосфоната (X), активированного пивалоилхлоридом, с деканолом. Полученный таким образом гликофосфонат (XI) затем окисляли водным раствором йода и с выходом 23% (после хроматографирования) получили целевой гликофосфат (XII). Его образование было подтверждено, в первую очередь, исчезновением в спектре  $^1H$ -ЯМР сигнала протона P–H при 6.90 м.д. и появлением в спектре  $^{31}P$ -ЯМР синглета при  $-2.27$  м.д., соответствующего фосфатной группе в моноанионной форме ( $PO_4^-$ ). Масс-спектральные данные также указывали на образование гликофосфата (XII). В спектре MALDI гликофосфата (XII) наблюдался пик при  $m/z$  566.4 [ $M$ ] $^-$  ( $C_{24}H_{41}NO_{12}P$ ). Аномерный протон гликофосфата (XII) резонировал в виде дублета дублетов при 5.51 м.д. ( $^3J_{H_1,P}$  7.34 Гц,  $^3J_{H_1,H_2}$  3.22 Гц), что указывало на образование индивидуального  $\alpha$ -аномера.



**Схема 1.** Синтез гликофосфатов (XII) и (XIV). Условия и реагенты: (i)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{Py}$ ,  $0 \rightarrow 20^\circ\text{C}$ , 24 ч; (ii)  $\text{CH}_3\text{NH}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{THF}$ , *rt*, 0.5 ч; (iii)  $\text{PCl}_3$ , толуол,  $110^\circ\text{C}$ , 12 ч; (iv)  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{THF}$ , *rt*, 12 ч; (v)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{OH}$ ,  $\text{PivCl}$ ,  $\text{Py}$ ,  $-15^\circ\text{C}$ , 2 ч; (vi) 1.  $\text{I}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $20^\circ\text{C}$ , 1 ч; 2.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ; (vii)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{OH}$ ,  $\text{PivCl}$ ,  $\text{Py}$ ,  $-15^\circ\text{C}$ , 2 ч, *rt*.

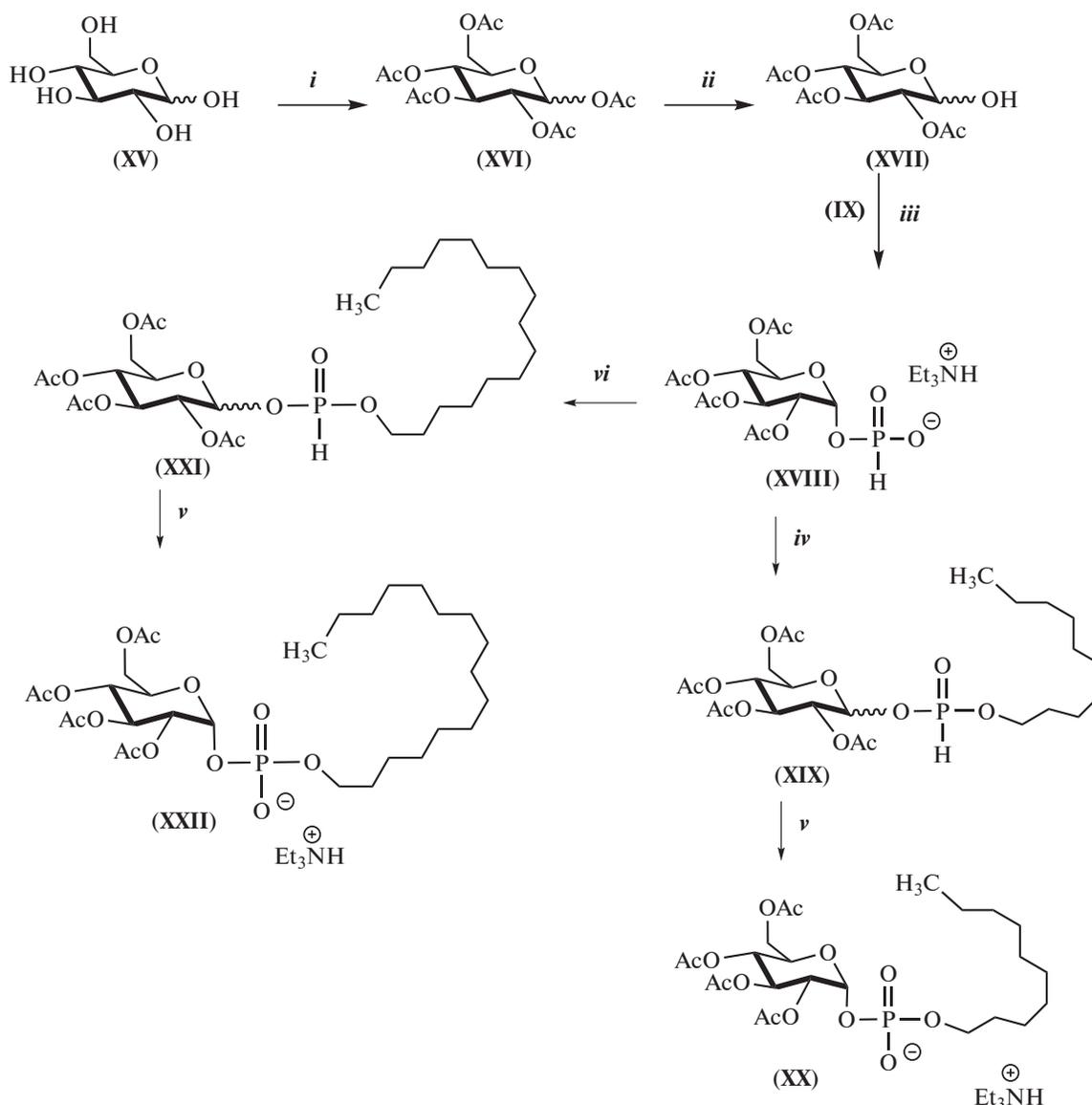
Для определения влияния длины алкильного заместителя на биологическую активность, кроме гликофосфата (XII), взаимодействием *H*-фосфоната (X) с цетиловым спиртом был синтезирован гликофосфат (XIV), выделенный после хроматографии с выходом 10%. Его образование было подтверждено отсутствием в спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР сигнала протона P–H и появлением в спектре  $^{31}\text{P}$ -ЯМР синглета при  $-2.43$  м.д., соответствующего фосфатной группе в моноанионной форме ( $\text{PO}_4^-$ ). Спектр MALDI гликофосфата (XIV) содержал

пик при  $m/z$  650.6  $[M]^-$  ( $\text{C}_{30}\text{H}_{53}\text{NO}_{12}\text{P}$ ). Аномерный протон гликофосфата (XIV) наблюдался в спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР в виде дублета дублетов при 5.51 м.д. ( $^3J_{\text{H}_1, \text{P}}$  7.18 Гц,  $^3J_{\text{H}_1, \text{H}_2}$  3.53 Гц) что указывало на  $\alpha$ -ориентацию гликозидной связи.

Для оценки влияния на биологическую активность гликофосфатов (XII) и (XIV) остатка глюкозамина были синтезированы гликофосфаты (XX) и (XXII), в которых вместо 3,4,6-три-*O*-ацетил-*N*-ацетилглюкозамина содержалась тетра-

ацелированная *D*-глюкопираноза (схема 2). Исходное соединение, *D*-глюкопираноза (XV), была ацелирована аналогично [14], затем аномерную защитную группу региоселективно удалили раствором ацетата гидразина аналогично [15], и полученная таким образом 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил- $\alpha/\beta$ -*D*-глюкопираноза (XVII) была вовлечена в реакцию с салицилхлорфосфитом (IX), которая привела к *H*-фосфонату (XVIII), выделенному колоночной хроматографией с выходом 44%. В его спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР, наряду с характерными сигналами тетраацелированной глюкопиранозы (XVII), наблюдался триплет при

1.28 м.д. ( $J_{\text{H-H}}$  7.3 Гц) и кватрет при 3.0 м.д. ( $J_{\text{H-H}}$  7.3 Гц), соответствующие триэтиламмониевой группе, а также дублет при 6.91 м.д. ( $J_{\text{P-H}}$  638.9 Гц), соответствующий протону P–H. В спектре  $^{31}\text{P}$ -ЯМР соединения (XVIII) присутствовал синглет при 0.77 м.д., соответствующий резонансу атома фосфора в *H*-фосфонатах. В спектре MALDI *H*-фосфоната (XVIII) наблюдался пик при  $m/z$  513.2 [*M*] ( $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{NO}_{12}\text{P}$ ). Аномерный протон, резонирующий в виде дублета дублетов при 5.75 м.д. ( $J_{\text{H1, P}}$  8.9 Гц,  $J_{\text{H1, H2}}$  3.4 Гц), указывал на образование  $\alpha$ -аномера.



**Схема 2.** Синтез гликофосфатов (XX) и (XXII). Условия и реагенты: (i)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , Py,  $0 \rightarrow 20^\circ\text{C}$ , 24 ч; (ii)  $\text{H}_3\text{N}^+\text{NH}_3^+2\text{AcO}^-$ , DMF,  $0 \rightarrow 20^\circ\text{C}$ , 3 ч; (iii) THF,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $20^\circ\text{C}$ , 12 ч; (iv)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{OH}$ , PivCl, Py,  $-15^\circ\text{C}$ , 2 ч; (v) 1.  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{I}_2$ ,  $20^\circ\text{C}$ , 1 ч, 2.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ; (vi)  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{OH}$ , PivCl, Py,  $-15^\circ\text{C}$ , 2 ч.

Гликофосфаты (XX) и (XXII) были получены из *H*-фосфоната (XVIII) в полном соответствии с процедурой синтеза гликофосфатов (XII) и (XIV) (схема 1), описанной выше. Гликофосфат (XX) был получен с выходом 53% после хроматографии. В его спектре MALDI присутствовал пик при  $m/z$  567.1  $[M]^-$  ( $C_{24}H_{40}O_{13}P^-$ ). Атом фосфора резонировал в спектре  $^{31}P$ -ЯМР в виде синглета при  $-2.69$  м.д., что указывало на наличие фосфатной группы в моноанионной форме ( $PO_4^-$ ). Аномерный протон в спектре  $^1H$ -ЯМР резонировал в виде дублета дублетов при 5.72 м.д. ( $J_{H1, P}$  7.8,  $J_{H1, H2}$  3.3 Гц), что указывало на образование индивидуального  $\alpha$ -аномера. Гликофосфат (XXII) был получен с выходом 35% после хроматографии. В его спектре MALDI наблюдался пик при  $m/z$  675.2  $[M + Na]^+$  ( $C_{30}H_{53}NaO_{13}P$ ). В спектре  $^{31}P$ -ЯМР гликофосфата (XXII) присутствовал только один синглет при  $-2.31$  м.д., а аномерный протон в спектре  $^1H$ -ЯМР резонировал в виде дублета дублетов при 5.57 м.д. ( $J_{H1, P}$  7.9,  $J_{H1, H2}$  3.5 Гц), что указывало на образование гликофосфата (XXII) в виде индивидуального  $\alpha$ -аномера.

Отметим различие между нашим методом получения гликофосфатов (XII), (XIV) и методами получения конъюгатов глюкозамина с фосфатными или дифосфатными фрагментами, описанными в литературе [4–8, 16]. Во-первых, это способ получения ключевого производного глюкозамина (VII) с защищенными гидроксильными группами в положениях C3, C4, C6 и свободной аномерной гидроксильной группой, которая далее подвергается фосфонилрованию. 3,4,6-Три-*O*-ацетил-*N*-ацетилглюкозамин (VII) легко получали региоселективным удалением ацетильной защиты аномерной гидроксильной группы моносахарида (VI) раствором метиламина в метаноле. Во-вторых, мы использовали другую процедуру [12] для получения конъюгатов с фосфатной группой из производного глюкозамина (VII). Обычно (см., например, [4]) моносахарид (VII)

фосфорилируется реакцией с дибензил-*N,N*-дизопропилфосфорамидатом и 1*H*-тетразолом с последующим окислением перекисью водорода, дебензилированием и обработкой гидроксидом *трет*-бутиламмония. Полученная соль далее вовлекается в реакции с алифатическими бромидами в присутствии молекулярных сит. В своем исследовании мы алкилировали не фосфат глюкозамина, а *H*-фосфонат (X), который был легко получен реакцией 3,4,6-три-*O*-ацетил-*N*-ацетилглюкозамина (VII) с салицилхлорфосфитом (IX) [13]. Получение целевых гликофосфатов (XII) и (XIV) из *H*-фосфоната (X) проводили в одну стадию окислением *H*-фосфонатов (XI) и (XIII) до фосфатов (XII) и (XIV) йодом на заключительном этапе процесса. Аналогичным образом синтезировали гликофосфаты (XX) и (XXII) на основе 2,3,4,6-три-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозы. Выходы гликофосфатов (XII) и (XIV) были небольшими, но условия реакции будут доработаны.

Для определения влияния на биологическую активность гликофосфатов (XII) и (XIV) наличия алкильного заместителя был синтезирован гликофосфат (XXV) (схема 3). Оксазолин (XXIII) получали реакцией 1,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-*N*-ацетилглюкозамина (VI) с триметилсилилтрифторметансульфонатом (TMS-OTf) аналогично [17]. Гликофосфат (XXV) синтезировали из оксазолина (XXIII) по известной методике [18], но без выделения и очистки дибензилфосфата (XXIV). Гликофосфат (XXV) в виде монотриметиламмониевой соли получили с выходом 27%. В его спектре  $^{31}P$ -ЯМР присутствовал синглет при 1.94 м.д., соответствующий фосфатной группе в моноанионной форме ( $PO_4^-$ ). В спектре MALDI фосфата (XXV) наблюдался пик при  $m/z$  426.3  $[M]^-$  ( $C_{14}H_{21}NO_{12}P$ ). В отличие от гликофосфатов (XII), (XIV), (XX), (XXII), аномерный протон гликофосфата (XXV) присутствовал в спектре  $^1H$ -ЯМР в виде триплета при 5.18 м.д. ( $^3J_{H1, -2} = ^3J_{H1, P} = 10$  Гц), что указывало на образование  $\beta$ -аномера.

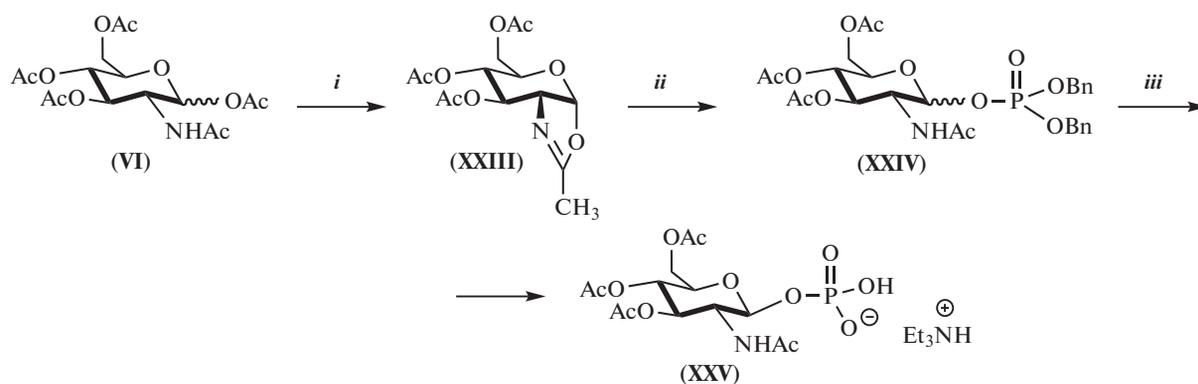


Схема 3. Синтез фосфата (XXV). Условия и реагенты: (i) TMS-OTf,  $C_2H_4Cl_2$ , 50°C, 30 ч; (ii)  $(PhCH_2O)_2P(O)OH$ ,  $Ag_2CO_3$ ,  $CH_2Cl_2/CH_3CN/Et_2O$ , 0–20°C, 18 ч; (iii)  $H_2$ , Pd/C, MeOH,  $Et_3N$ , 20°C, 4–8 ч.

Соединения (VI), (X), (XII), (XIV), (XX), (XXII), (XXV) и (XXVI) тестировали на антитуберкулезную активность в отношении *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (МБТ), а также на антимикробную активность в отношении грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus* ATCC 209p и *Bacillus cereus* ATCC 8035), грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli* CDCF-50 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) и грибов (*Aspergillus niger* ВКМФ-1119, *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum* 1773 и *Candida albicans* 855-653). Оказалось, что все изученные соединения ингибируют *in vitro* рост МБТ (табл. 1). Хотя их антитуберкулезная активность в 30–125 раз ниже, чем активность противотуберкулезного препарата Изониазид, тем не менее антитуберкулезная активность соединений (X), (XIV), (XXII) и (XXV) была равна активности противотуберкулезного препарата Пиразинамид. Более того, антитуберкулезная активность соединений (VI) и (XXVI) превышала активность Пиразинамида в 2 раза, а активность соединений (XII) и (XX) превышала активность Пиразинамида в 4 раза (табл. 1). Соединения (VI), (XX), (XXV), (XXVI) оказались неактивными против всех бактерий и грибов, используемых при антимикробном тестировании. Только гликофосфаты (XII), (XIV), (XXII) проявили антибактериальную активность против *S. aureus* и *B. cereus* (табл. 1). В отношении других бактерий и грибов, использованных при скрининге, эти соединения оказались неактивными. Анализируя значения МИК, представленные в табл. 1, можно сделать следующие важные выводы. Во-первых, именно алкильный заместитель обуславливает появление антибактериальной активности у тетраацетилированной глюкопиранозы и 3,4,6-три-*O*-ацетил-*N*-ацетилглюкозамина. Что касается антитуберкулезной активности, то она примерно одинакова для производных глюкозамина (VI), (XXVI) и гликофосфатов (XII) и (XX). Во-вторых, гликофосфаты (XIV) и (XXII) с гексадецильным заместителем показали лучшую антибактериальную активность (МИК 16 мкг/мл), чем гликофосфаты (XII) и (XX) с децильным заместителем. Действительно, гликофосфаты (XIV) и (XXII) с гексадецильным заместителем ингибировали *in vitro* рост *S. aureus* в четыре раза лучше, чем антибиотик Хлорамфеникол, в то время как гликолипид (XII) с децильным спейсером был равен по активности Хлорамфениколу, а гликофосфат (XX) вообще был не активен в отношении бактерий и грибов, используемых при тестировании. В-третьих, среди изученных соединений природа углеводного остатка гликофосфата не влияла на его антибактериальную активность, более важной оказалась длина алкильного заместителя. Так, можно видеть, что антибактериальная *in vitro* активность в отношении *S. aureus* и *B. cereus* гликофосфата (XIV), содержащего остаток глюкозамина, и гли-

кофосфата (XXII), содержащего глюкопиранозильный остаток, одинакова. В-четвертых, длина алкильного заместителя значительно влияет на антитуберкулезную активность исследуемых соединений. Гликофосфаты (XII) и (XX) с децильным заместителем в четыре раза лучше ингибировали *in vitro* рост МБТ (МИК 3 мкг/мл), чем гликофосфаты (XIV) и (XXII) с гексадецильным фрагментом (МИК 12 мкг/мл). В-пятых, длина алкильного заместителя в изученных гликофосфатах влияет на антитуберкулезную и антибактериальную активность по-разному. Так, гликофосфаты (XII) и (XX) с децильной цепочкой продемонстрировали лучшую антитуберкулезную активность *in vitro* против МБТ (МИК 3 мкг/мл), но одновременно показали самую слабую антибактериальную активность против *S. aureus* (МИК 62 и более 500 мкг/мл соответственно) и *B. cereus* (МИК 125 и более 500 мкг/мл соответственно). И наоборот, гликофосфаты (XIV) и (XXII) с цетильной цепочкой показали лучшую антибактериальную активность *in vitro* против *S. aureus* (МИК 16 мкг/мл) и против *B. cereus* (МИК 62.5 мкг/мл), но проявили самую низкую антитуберкулезную активность *in vitro* (МИК 12 мкг/мл) против МБТ.

Таким образом, в этом исследовании мы показали, что ацетилирование гидроксильных групп углеводного остатка в гликофосфатах типа (III) [4] приводит к появлению антибактериальной и антитуберкулезной активности.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  ЯМР ( $\delta$ , м.д.; КССВ *J*, Гц) регистрировали на спектрометре Avance-400 (Bruker, Германия) с частотой 400 МГц ( $^1\text{H}$ ) и 100.6 МГц ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) в  $\text{CDCl}_3$ . Масс-спектры MALDI получены на времяпролетном масс-спектрометре UltraFlex III TOF/TOF (Bruker Daltonik GmbH, Бремен, Германия) в линейном режиме. Лазер Nd:YAG,  $\lambda$  355 нм. Данные обрабатывали с помощью программы FlexAnalysis 3.0 (Bruker Daltonik GmbH, Бремен, Германия). Измерения проводили в диапазоне  $m/z$  200–6000, фиксировали отрицательно заряженные ионы. Использовали металлическую мишень, в качестве матрицы использовали *n*-нитроанилин. Образцы растворяли в метаноле ( $10^{-3}$  мг/мл). Оптическое вращение измеряли на поляриметре Perkin Elmer-341 (Perkin Elmer, США) при  $\lambda = 589$  нм, 20°C. Полноту протекания реакций и чистоту веществ контролировали методом тонкослойной хроматографии на пластинах Sorbfil (ООО “Имид” Краснодар, Россия), вещества обнаруживали обработкой пластин 5% раствором серной кислоты с последующим нагреванием до 120°C.

Все реакции, чувствительные к воздуху и/или влаге, проводились в атмосфере аргона в безвод-

ных растворителях, которые предварительно очищали и сушили (при необходимости) в соответствии со стандартными процедурами.

**Соединения (VI)** [10], **(VII)** [11], **(IX)** [13], **(XVI)** [14], **(XVII)** [15], **(XXIII)** [17] и **(XXVI)** [19, 20] были синтезированы по известным методикам. Спектральные данные соединений **(VI)**, **(VII)**, **(IX)** согласуются с опубликованными в литературе [10, 11, 13]. Спектральные данные соединений **(XVI)**, **(XVII)** и **(XXIII)** согласуются с данными, опубликованными в литературе [21–23]. Характеристики соединения **(XXVI)** соответствовали литературным [19, 20]. Использовали коммерческие гидрохлорид *D*-глюкозамина (**V**) и *D*-глюкопиранозу (**XV**) (Acros, Бельгия).

**3,4,6-Три-*O*-ацетил-2-дезоксид-2-ацетиламино- $\alpha$ / $\beta$ -*D*-глюкопиранозил-*H*-фосфонат триэтиламмония (X).** К раствору 0.67 г (2 ммоль) 3,4,6-три-*O*-ацетил-*N*-ацетилглюкозамина (**VII**) [11] и 1.87 мл триэтиламина (18.5 ммоль) в 10 мл сухого THF добавляли при перемешивании 0.42 г (2 ммоль) салицилхлорфосфита (**IX**) [13], перемешивали 3 ч, добавляли 1 мл воды и перемешивали еще 1 ч. Реакционную смесь упаривали досуха, полученный остаток хроматографировали на силикагеле (элюент –  $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{--CH}_3\text{OH}$ , 40 : 1  $\rightarrow$  5 : 1 с добавлением 1%  $\text{Et}_3\text{N}$  по объему). Получили 0.33 г (34%) соединения (**X**) в виде бесцветного масла,  $[\alpha]_D^{20} +56.7$  (*c* 0.8,  $\text{CHCl}_3$ ). Найдено, %: С 47.05; Н 7.49; N 5.53; P 5.98.  $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{P}$ . Вычислено, %: С 46.87; Н 7.28; N 5.47; P 6.04. Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 1.36 [т, 9H, *J* 7.30,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 1.97, 2.01, 2.07 (все с, 12H, 4 $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3.08 [кв, 6H, *J* 7.3,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 4.09–4.27 (м, 3H, H2, H6a, H6b), 4.36–4.46 (м, 1H, H5), 5.17 (т, 1H, *J* 9.62, H4), 5.27–5.35 (м, 1H, H3), 5.61–5.69 (м, 1H, H1), 6.90 (д, 1H,  $J_{1,P}$  668.04, P–H), 6.90–7.05 [м, 1H,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$ ], 11.73 (уш. с, 1H,  $\text{HN}^+$ ). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 8.7 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 20.7, 20.8 [3 C(O) $\text{CH}_3$ ], 23.0 ( $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NH}$ ), 45.9 ( $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 52.1 (C2), 61.9 (C6), 68.4 (C4), 69.0 (C3), 71.2 (C5), 93.1 (C1, *J* 3.9), 169.6, 170.9, 171.1, 171.2 (4 C=O). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР: +1.93.

**Общая методика синтеза гликофосфатов (XII) и (XIV).** К охлажденному до  $-20^\circ\text{C}$  раствору *H*-фосфоната (**X**) (1 экв.) в 10 мл пиридина добавляли при перемешивании сначала 2 экв. декан-1-ола или гексадекан-1-ола, затем раствор 4.3 экв. пивалоилхлорида (Piv-Cl) в 5 мл пиридина. Перемешивали 1 ч, затем добавляли 1 мл воды и 1 экв. йода. Продолжали перемешивание 2 ч, затем по каплям добавляли 1 М раствор  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  до исчезновения окраски йода. Реакционную смесь соломенно-желтого цвета упаривали досуха, полученный остаток хроматографировали на силикагеле (элюент –  $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{--CH}_3\text{OH}$ , 40 : 1  $\rightarrow$  5 : 1 с добавлением 1%  $\text{Et}_3\text{N}$  по объему), после чего выделяли

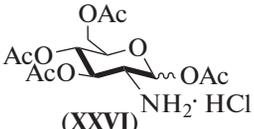
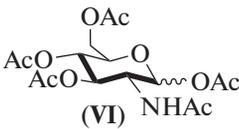
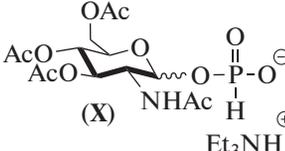
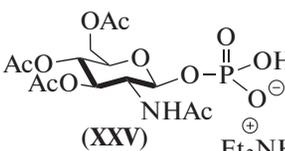
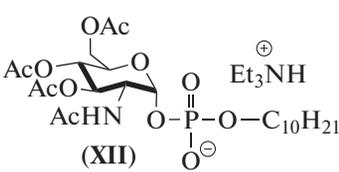
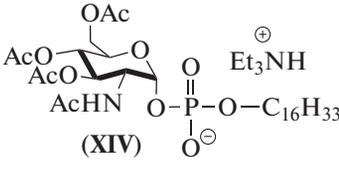
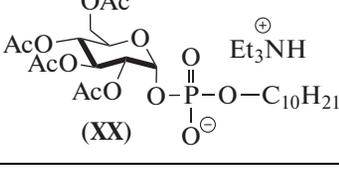
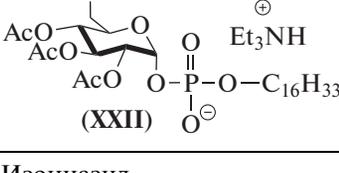
децилгликофосфат (**XII**) (23%, бесцветное масло) и гексадецилгликофосфат (**XIV**) (10%, бесцветное масло).

**2-Ацетиламино-2-дезоксид-3,4,6-три-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозилдецилфосфат триэтиламмония (XII).**  $[\alpha]_D^{20} +26.6$  (*c* 0.642,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). Найдено, %: С 54.09; Н 8.78; N 4.21; P 4.55.  $\text{C}_{30}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{P}$ . Вычислено, %: С 53.88; Н 8.59; N 4.19; P, 4.63. Масс-спектр MALDI-TOF MS: *m/z* 566.4 [*M*] $^-$ . Рассчитана *M* $^-$  566.2 ( $\text{C}_{24}\text{H}_{41}\text{NO}_{12}\text{P}^-$ ). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 0.86 (т, 3H, *J* 7.0, H10'), 1.18 (уш. с, 4H, H-9', H-8'), 1.21–1.28 (м, 10H, H3'–H-7'), 1.32 [т, 9H, *J* 7.30,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 1.56–1.64 (м, 2H, H2'), 1.94, 1.98, 1.99, 2.06 (все с, 12H, 4  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3.06 [кв, 6H, *J* 7.31,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 3.83–3.94 (м, 2H, H1'), 4.05–4.10 (м, 1H, H2), 4.18–4.25 (м, 2H, H6a, H6b), 4.30–4.40 (м, 1H, H5), 5.16 (т, 1H, *J* 9.80, H4), 5.26–5.32 (м, 1H, H3), 5.51 (дд, 1H,  $J_{1,P}$  7.34,  $J_{1,2}$  3.22, H1), 7.06 [д, 1H,  $J_{2,NH}$  9.35,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$ ], 11.98 (уш. с, 1H,  $\text{HN}^+$ ). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 8.7 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 14.1 (C10'), 20.8, 22.7, 23.0 [3 C(O) $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{NH}$ ], 25.9, 27.4, 29.4, 29.5, 29.6, 29.7, 31.9 (C2'–C9'), 45.7 ( $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 52.2 (C2), 61.9 (C6), 66.2 (C1'), 68.4 (C4), 68.7 (C3), 71.5 (C5), 94.1 (d, C1,  $J_{C,P}$  5.4), 169.5, 170.8, 171.0, 182.2 (4 C=O). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР: –2.27.

**2-Ацетиламино-2-дезоксид-3,4,6-три-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозилшестилфосфат триэтиламмония (XIV).**  $[\alpha]_D^{20} +10.5$  (*c* 0.846,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Найдено, %: С 57.35; Н 9.20; N 3.63; P 4.08.  $\text{C}_{36}\text{H}_{69}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{P}$ . Вычислено, %: С 57.43; Н 9.24; N 3.72; P 4.11. Масс-спектр MALDI-TOF MS: *m/z* 650.6 [*M*] $^-$ . Рассчитана *M* $^-$  650.3 ( $\text{C}_{30}\text{H}_{53}\text{NO}_{12}\text{P}^-$ ). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 0.86 (т, 3H, *J* 6.8, H16'), 1.19 (уш. с, 4H, H15', H14'), 1.22–1.27 (м, 22H, H3'–H13'), 1.36 [т, 9H, *J* 7.33,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 1.55–1.65 (м, 2H, H2'), 1.94, 1.98, 1.99, 2.06 (все с, 12H, 4  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3.07 [кв, 6H, *J* 7.33,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 3.85–3.94 (м, 2H, H1'), 4.05–4.11 (м, 1H, H2), 4.17–4.27 (м, 2H, H6a, H6b), 4.32–4.40 (м, 1H, H5), 5.16 (т, 1H, *J* 9.68, H4), 5.29 (т, 1H, *J* 9.96, H3), 5.51 (дд, 1H,  $J_{1,P}$  7.18,  $J_{1,2}$  3.53, H1), 7.17 (д, 1H,  $J_{2,NH}$  9.64,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$ ). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 8.8 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 14.2 (C16'), 20.8, 20.9 [3 C(O) $\text{CH}_3$ ,  $\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$ ], 22.8, 25.9, 27.4, 29.5, 29.8, 32.0 (C2'–C15'), 45.8 ( $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 52.3 (C2), 62.0 (C6), 63.6 (C1'), 68.7 (C3, C4, C5), 94.2 (C1), 169.5, 170.9, 182.6 (4 C=O). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР: –2.43.

**2,3,4,6-Тетра-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозил-*H*-фосфонат триэтиламмония (XVIII).** К раствору 6.2 г (17.8 ммоль) тетраацетата глюкопиранозы (**XVII**) [15] и 17.3 мл триэтиламина (124.6 ммоль) в 35 мл THF добавляли при перемешивании 3.23 г (16 ммоль) салицилхлорфосфита (**IX**) [13], перемешивали 9 ч, добавляли 15.4 мл воды и переме-

Таблица 1. Антитуберкулезная и антимикробная активность синтезированных соединений

	Минимальная ингибирующая концентрация (МИК), мкг/мл		
	<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	<i>S. aureus</i> ATCC 209p	<i>B. cereus</i> ATCC 8035
 (XXVI)	6	>500	>500
 (VI)	6	>500	>500
 (X)	12	—	—
 (XXV)	12	>500	>500
 (XII)	3	62	125
 (XIV)	12	16	62
 (XX)	3	>500	>500
 (XXII)	12	16	62
Изониазид	0.1	—	—
Пиразинамид	12	—	—
Хлорамфеникол	—	62	62

шивали еще 1 ч. Реакционную смесь упаривали досуха, полученный остаток хроматографировали на силикагеле (элюент —  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ — $\text{CH}_3\text{OH}$ , 50 : 1 с добавлением 1%  $\text{Et}_3\text{N}$  по объему). Получили 4 г соединения (**XVIII**) (44%) в виде гигроскопичного белого порошка,  $[\alpha]_D^{20} +48.4$  ( $c$  0.9,  $\text{CHCl}_3$ ). Найдено, %: С 46.82; Н 7.11; N 2.81; P 6.00.  $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{NO}_{12}\text{P}$ . Вычислено, %: С 46.78; Н 7.07; N 2.73; P 6.03. Масс-спектр MALDI-TOF MS:  $m/z$  513.2 [ $M$ ]. Рассчитана  $M$  513.2 ( $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{NO}_{12}\text{P}$ ). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 1.28 [т, 9H,  $J$  7.30,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 1.96, 1.98, 2.01, 2.04 (все с, 12H,  $4\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3.0 [кв, 6H,  $J$  7.30,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 4.07 (дд, 1H,  $J_{6a,6b}$  12.4,  $J_{6a,5}$  2.3, H6a), 4.19 (дд, 1H,  $J_{6a,6b}$  12.4,  $J_{6b,5}$  3.39, H6b), 4.26–4.30 (м, 1H, H5), 4.90–4.94 (м, 1H, H2), 5.07 (т, 1H,  $J$  9.8, H4), 5.50 (т, 1H,  $J$  9.8, H3), 5.75 (дд, 1H,  $J_{1,p}$  8.9,  $J_{1,2}$  3.4, H1), 6.91 (д, 1H,  $J_{1,p}$  638.9, P—H). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 8.5 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 20.49, 20.57, 20.59, 20.61 [4 C(O) $\text{CH}_3$ ], 45.7 ( $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 61.6 (C6), 68.2 (C3), 68.3 (C4), 70.1 (C5), 70.5 (C2), 91.1 (C1), 169.5, 169.8, 169.9, 170.6 (4 C=O). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР: +0.77.

**Общая методика синтеза гликофосфатов (XX), (XXII).** К охлажденному до  $-20^\circ\text{C}$  раствору *H*-фосфоната (**XVIII**) (1 экв.) в 10 мл пиридина добавляли при перемешивании сначала 2 экв. декан-1-ола или гексадекан-1-ола, затем раствор 4.3 экв. пивалоилхлорида в 5 мл пиридина. Перемешивали 1 ч, затем добавляли 1 мл воды и 1 экв. йода. Продолжали перемешивание 2 ч, затем по каплям добавляли 1 М раствор  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  до исчезновения окраски йода. Реакционную смесь соломенно-желтого цвета отгоняли досуха, полученный остаток хроматографировали на силикагеле), после чего выделяли гликофосфаты (**XX**) (53%, бесцветное масло) и (**XXII**) (35%, бесцветное масло).

**2,3,4,6-Тетра-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозил-децилфосфат триэтиламмония (XX).** Фосфат (**XX**) выделяли флеш-хроматографией на силикагеле (элюент  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ , 100 : 1  $\rightarrow$  100 : 2, 1 об. %  $\text{Et}_3\text{N}$ ). Выход 53%, бесцветное масло;  $[\alpha]_D^{20} +18.2^\circ$  ( $c$  1.00,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Найдено, %: С 53.79; Н 8.49; N 2.05; P 4.68.  $\text{C}_{30}\text{H}_{56}\text{NO}_{13}\text{P}$ . Вычислено, %: С 53.80; Н 8.43; N 2.09; P 4.62. Масс-спектр MALDI-TOF MS:  $m/z$  567.1 [ $M$ ]<sup>-</sup>. Рассчитана  $M^-$  567.2 ( $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_{13}\text{P}^-$ ). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 0.86 (т, 3H,  $J$  6.9, H10'), 1.18–1.23 (м, 14H, H3'—H7'), 1.31 [т, 9H,  $J$  7.3,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 1.39–1.44 (м, 2H, H8'), 1.56–1.65 (м, 2H, H2'), 1.98, 1.99, 2.02, 2.05 (все с, 12H,  $4\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3.07 [кв, 6H,  $J$  7.3,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 3.84–3.95 (м, 2H, H1'), 4.05–4.34 (м, 3H, H5, H6a, H6b), 4.89–4.96 (м, 1H, H2), 5.11 (т, 1H,  $J$  9.8, H4), 5.52 (т, 1H,  $J$  9.8, H3), 5.72 (дд, 1H,  $J_{1,p}$  7.8,  $J_{1,2}$  3.3, H1). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 8.5 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 14.1 (C10'),

20.6, 20.7 [4 C(O) $\text{CH}_3$ ], 22.6, 25.7, 27.1, 29.3, 29.4, 29.6, 30.8, 31.9 (C2'—C9'), 45.6 ( $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 61.6 (C6), 67.9 (C1'), 68.3 (C4), 68.3 (C3), 70.2 (C5), 70.3 (C2), 91.9 (C1), 169.6, 170.1, 170.7 (4 C=O). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР:  $-2.69$ .

**2,3,4,6-Тетра-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозил-цетилфосфат триэтиламмония (XXII).** Фосфат (**XXII**) выделяли флеш-хроматографией на силикагеле (элюент  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ , 100 : 1  $\rightarrow$  100 : 1.5, 1 об. %  $\text{Et}_3\text{N}$ ). Выход 35%, бесцветное масло;  $[\alpha]_D^{20} +11.2^\circ$  ( $c$  1.00,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Найдено, %: С 57.41; Н 9.01; N 1.78; P 4.15.  $\text{C}_{36}\text{H}_{68}\text{NO}_{13}\text{P}$ . Вычислено, %: С 57.35; Н 9.09; N 1.86; P 4.11. Масс-спектр MALDI-TOF MS:  $m/z$  675.2 [ $M + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>. Рассчитана [ $M + \text{Na}$ ]<sup>+</sup> 675.3 ( $\text{C}_{30}\text{H}_{53}\text{NaO}_{13}\text{P}^+$ ). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 0.75 (т, 3H,  $J$  7.0, H16'), 1.03–1.23 (м, 26H, H3'—H15'), 1.28 [т, 9H,  $J$  7.3,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 1.45–1.53 (м, 2H, H2'), 1.88, 1.90, 1.92, 1.95 (все с, 12H,  $4\text{CH}_3\text{CO}$ ), 3.07 [кв, 6H,  $J$  7.3,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 3.52–3.76 (м, 2H, H1'), 3.96–4.16 (м, 3H, H5, H6a, H6b), 4.76–4.80 (м, 1H, H2), 4.98 (т, 1H,  $J$  9.7, H4), 5.38 (т, 1H,  $J$  9.6, H3), 5.57 (дд, 1H,  $J_{1,p}$  7.9,  $J_{1,2}$  3.5, H1). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 8.7 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 14.2 (C10'), 20.8 [C(O) $\text{CH}_3$ ], 22.8, 25.9, 27.4, 29.5, 29.6, 29.8, 30.1, 30.8, 32.0 (C2'—C15'), 45.9 ( $\text{CH}_2\text{N}^+$ ), 61.8 (C6), 66.2 (C1'), 68.5 (C4), 68.9 (C3), 70.3 (C5), 70.8 (C2), 92.0 (C1), 169.8, 170.3, 170.9 (4 C=O). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР:  $-2.31$ .

**3,4,6-Три-*O*-ацетил-2-дезоксид-2-ацетамидо- $\beta$ -*D*-глюкопиранозил-*O*-фосфат триэтиламмония (XXV).** К раствору 1.69 г (5.13 ммоль) оксазолина (**XXIII**) [17] в 37 мл 1,2-дихлорэтана добавляли 1.71 г (6.16 ммоль) дибензилфосфата, реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 19 ч. Реакционную смесь концентрировали и сушили в вакууме. Полученный продукт (**XXIV**) использовали далее без дальнейшей очистки. В 50 мл метанола растворяли 1.7 г (2.8 ммоль) фосфата (**XXIV**) и добавляли 1.6 г 10% Pd/C в атмосфере аргона. Раствор гидрировали при энергичном перемешивании 3 ч при комнатной температуре, фильтровали через целит. Целит промывали горячим метанолом (10 мл) и триэтиламиноом (0.4 мл). Растворители удаляли в вакууме, остаток промывали смесью  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /диэтиловый эфир. Осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме. Получили 0.4 г (27%) соединения (**XXV**) в виде бесцветного сиропа,  $[\alpha]_D^{20} +34.4$  ( $c$  0.9,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). Найдено, %: С 45.51; Н 7.01; N 5.23; P 5.89.  $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_{12}\text{P}$ . Вычислено, %: С 45.45; Н 7.06; N 5.30; P 5.86. Масс-спектр MALDI-TOF MS:  $m/z$  426.3 [ $M$ ]<sup>-</sup>. Рассчитана  $M^-$  426.1 ( $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_{12}\text{P}^-$ ). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 1.17 [т, 9H,  $J$  7.3,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ], 1.86, 1.87, 1.89, 1.95 (все с, 12H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 2.95 (кв, 6H,  $J$  7.3,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$ ),

3.91–3.99 (м, 1H, H6a), 4.05–4.17 (м, 3H, H2, H5, H6b), 4.98 (т, 1H, J 9.5, H4), 5.08 (д, 1H, J 3.2, H3), 5.18 (т, 1H, J 10, H1), 6.44 (д, 1H, J<sub>2, NH</sub> 9.5, NH), 9.37 (уш. с, 1H, N<sup>+</sup>H). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 8.7 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>), 20.7, 20.8, 22.8 [3 C(O)CH<sub>3</sub>], 23.2 (CH<sub>3</sub>C(O)NH), 45.5 (CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>), 52.6 (C2), 62.4 (C6), 67.3 (C4), 68.7 (C3), 71.6 (C5), 91.6 (д, J 6.7, C1), 169.6 (NHС=O), 170.7, 170.9, 171.4 (3 C=O). Спектр <sup>31</sup>P- ЯМР: +1.94.

**Биологическая активность.** Антимикробную активность соединений (VI), (XII), (XIV), (XX), (XXII), (XXV), (XXVI) изучали методом серийных разведений в жидких питательных средах по методикам [24, 25], определяя минимальную ингибирующую концентрацию (МИК), вызывающую задержку роста и размножения тест-микроорганизмов. Использовали культуры грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus* ATCC 209p, *Bacillus cereus* ATCC 8035; грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* CDC F-50, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 и грибов *Aspergillus niger* ВКМФ-1119, *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum* 1773, *Candida albicans* 855-653. В качестве контроля использовали антибиотик Хлорамфеникол.

Изучение антитуберкулезной активности соединений (VI), (X), (XII), (XIV), (XX), (XXII), (XXV), (XXVI) проводили методом вертикальной диффузии [26] на плотной питательной среде “Новая” с использованием лабораторного штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (МБТ). Питательную среду разливали в пробирки по 5 мл, засеивали по 0.1 мл суспензией микобактерий разведенной по стандарту мутности 10 ед. ГКИ, и помещали в термостат на 24 ч для выращивания МБТ. Через сутки пробирки ставили в вертикальное положение и по свободному краю пробирки закапывали по 0.3 мл субстанции соединений (VI), (X), (XII), (XIV), (XX), (XXII), (XXV), (XXVI) в водном растворе DMSO в концентрациях 12.5, 6.2, 3.1, 1.5, 0.7, 0.35, 0.1 мкг/мл. Затем пробирки помещали в термостат и выдерживали в стерильных условиях при температуре 37°C в течение 10 суток. Оценку роста МБТ проводили по стандартной методике, согласно которой появление зон задержки роста МБТ более 10 мм свидетельствует о наличии туберкулостатических свойств. В качестве контроля использовали противотуберкулезные препараты Изониазид и Пиразинамид, ингибирующие рост МБТ при МИК 0.1 мкг/мл и 12 мкг/мл соответственно.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Изучение биологической активности всех соединений проведено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 14-50-00014).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. van Heijenoort J. // Nat. Prod. Rep. 2001. V. 18. P. 503–519.
2. Rani C., Khan I.A. // Eur. J. Pharm. Sci. 2016. V. 83. P. 62–70.
3. Derouaux A., Sauvage E., Terrak M. // Frontier Immun. 2013. V. 4. P. 1–6.
4. Dumbre S., Derouaux A., Lescrinier E., Piette A., Joris B., Terrak M., Herdewijn P. // J. Amer. Chem. Soc. 2012. V. 134. P. 9343–9351.
5. Montoya-Peleaz P.J., Riley J.G., Szarek W.A., Valvano M.A., Schutzbach J.S., Brockhausen I. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2005. V. 15. P. 1205–1211.
6. Brockhausen I., Larsson E.A., Hindsgaul O. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008. V. 18. P. 804–807.
7. Riley J.G., Xu C., Brockhausen I. // Carbohydr. Res. 2010. V. 345. P. 586–597.
8. Винникова А.Н., Торгов В.И., Уткина Н.С., Веселовский В.В., Дружинина Т.Н., Ванг С., Брокхаузен И., Данилов Л.Л. // Биоорган. химия. 2015. Т. 41. № 1. С. 121–123. [Vinnikova A.N., Torgov V.I., Utkina N.S., Veselovsky V.V., Druzhinina T.N., Wang S., Brockhausen I., Danilov L.L. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2015. V. 41. P. 105–107.]
9. Li Y., Zhou Y., Mac Y., Li X. // Carbohydr. Res. 2011. V. 346. P. 1714–1720.
10. Cao Z., Qu Y., Zhou J., Liu W., Yao G. // J. Carbohydr. Chem. 2015. V. 34. P. 28–40.
11. Gorityala B.K., Lu Z., Leow M.L., Ma J., Liu X.-W. // J. Amer. Chem. Soc. 2012. V. 134. P. 15229–15232.
12. Изместьев Е.С., Андреева О.В., Шарипова Р.Р., Кравченко М.А., Гарифуллин Б.Ф., Стробыкина И.Ю., Катаев В.Е., Миронов В.Ф. // Ж. орг. хим. 2017. Т. 53. № 1. С. 56–61. [Izmet'ev E.S., Andreeva O.V., Sharipova R.R., Kravchenko M.A., Garifullin B.F., Strobyskina I.Yu., Kataev V.E., Mironov V.F. // Russ. J. Org. Chem. 2017. V. 53. P. 51–56.]
13. Young R.W. // J. Amer. Chem. Soc. 1952. V. 74. P. 1672–1673.
14. Filice M., Guisan J.M., Terreni M., Palomo J.M. // Nat. protocols. 2012. V. 7. P. 1783–1796.
15. Fusari M., Fallarini S., Lombardi G., Lay L. // Bioorg. Med. Chem. 2015. V. 23. P. 7439–7447.
16. Chen C., Liu B., Xu Y., Utkina N., Zhou D., Danilov L., Torgov V., Veselovsky V., Feng L. // Carbohydr. Res. 2016. V. 430. P. 36–43.
17. Saneyoshi H., Yamamoto Y., Kondo K., Hiyoshi Y., Ono A. // J. Org. Chem. 2017. V. 82. P. 1796–1802.
18. Wang S., Czuchry D., Liu B., Vinnikova A.N., Gao Y., Vlahakis J.Z., Szarek W.A., Wang L., Feng L., Brockhausen I. // J. Bacteriol. 2014. V. 196. P. 3122–3133.
19. Chauviere G., Bouteille B., Enanga B., de Albuquerque C., Croft S.L., Dumas M., Perie J. // J. Med. Chem. 2003. V. 46. P. 427–440.
20. Kyas A., Feigel M. // Helv. Chim. Acta. 2005. V. 88. P. 2375–2396.
21. Débieux J.-L., Cosandey A., Helgen C., Bochet C.G. // Eur. J. Org. Chem. 2007. P. 2073–2077.
22. Bock K., Guzman J.F.-B., Refn S. // Carbohydr. Res. 1992. V. 232. P. 353–357.

23. *Chambers D.J., Evans G.R., Fairbanks A.J.* // *Tetrahedron*. 2004. V. 60. P. 8411–8419.
24. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Methods for dilution antimicrobial susceptibility. Tests for bacteria that grow aerobically. Sixth edition: Approved standard. M7–A5, NCCLS, Wayne, Pa., USA. 2000.
25. *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium-forming filamentous fungi: Proposed standard. M38–P, NCCLS, Wayne, Pa., USA. 1998.
26. *Kudoh S., Kudoh T.* // *Kekkaku*. 1973. V. 48. P. 501–512.

## SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF CONJUGATES OF 3,4,6-TRI-O-ACETYL-N-ACETYLGLUCOSAMINE AND TETRAACETYLGLUCOPYRANOSE WITH ALKYL PHOSPHATES

R. R. Sharipova\*, B. F. Garifullin\*, A. S. Sapunova\*, A. D. Voloshina\*,  
M. A. Kravchenko\*\*, and V. E. Kataev\*.\*

\**Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Arbuzov str., 8, Kazan, 420088, Russian Federation*

\*\**Ural Research Institute for Phthisiopulmonology, Ministry of Health Protection of the Russian Federation, XX Parts'ezda str., 50, Yekaterinburg, 620039, Russian Federation*

Conjugates of 3,4,6-tri-*O*-acetyl-*N*-acetylglucosamine and tetraacetylated glucopyranose with alkyl phosphates were synthesized. The dependence of their antibacterial and anti-tuberculosis activity on the length of the alkyl substituent in the phosphate group was revealed. Thus, conjugates with a decyl substituent showed the best in vitro anti-tuberculosis activity against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (MIC 3 µg/mL), but showed the weakest antibacterial action against *Streptococcus aureus* and *Bacillus cereus* (MIC 125 or more µg/mL). Conversely, conjugates with a cetyl substituent demonstrated the best in vitro antibacterial activity against *S. aureus* and *B. cereus* (MIC 16 µg/mL), but showed the lowest in vitro antituberculosis activity in the studied series of derivatives (MIC 12 µg/mL).

*Keywords: glucosamine, glucopyranose, glycoconjugates, glycolipids, mycobacterium tuberculosis, anti-tubercular*