



УДК 547.963.1.057

## ГЛИКОЗИДЫ *N*-АЦЕТИЛМУРАМОИЛ-*L*-АЛАНИЛ-*D*-ИЗОГЛУТАМИНА. ВЛИЯНИЕ КОНФИГУРАЦИИ ГЛИКОЗИДНОГО ЦЕНТРА И ПРИРОДЫ АГЛИКОНА НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

© 2003 г. А. Е. Земляков\*, В. В. Цикалов\*, О. В. Калюжин\*\*,  
В. О. Курьянов\*, В. Я. Чирва\*<sup>#</sup>

\* Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского,  
95007, Украина, Крым, Симферополь, ул. Ялтинская, 4;

\*\* НИИ морфологии человека РАМН, Москва

Поступила в редакцию 22.03.2002 г. Принята к печати 10.07.2002 г.

Осуществлен синтез  $\beta$ -гексил-,  $\beta$ -октил-,  $\beta$ -циклогексил-,  $\alpha$ -гептил- и  $\alpha$ -циклогексилгликозидов мурамоилдипептида. Изучение иммуностимулирующего действия гликозидов MDP в тестах *in vitro* и *in vivo* выявило меньшую активность  $\alpha$ -гликозидов мурамоилдипептида по сравнению с соответствующими  $\beta$ -гликозидами и с самим MDP. Установлено, что для  $\beta$ -алкилгликозидов MDP различие в длине углеводородной цепи ( $C_4$ – $C_8$ ), а также в химической природе агликона (алифатическая цепь, алифатический или ароматический цикл) не оказывает существенного влияния на их иммуностимулирующую активность.

**Ключевые слова:** гликопептиды; мурамоилдипептид; гликозиды мурамоилдипептида, иммуностимулирующая активность, неспецифическая антиинфекционная резистентность.

В синтезированных до начала наших работ  $\alpha$ - и  $\beta$ -метилгликозидах *N*-ацетилмурамоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамина (мурамоилдипептид, MDP) гликозидирование MDP проводилось для закрепления конфигурации аномерного центра [1] или фуранозной формы [2]. Мы использовали *O*-гликозидирование мурамоилдипептида как способ химической модификации, которая может влиять на биологические свойства этого вещества. Было установлено, что различные  $\beta$ -гликозиды MDP (алкил- [3, 4], (2,3-дидодецилоксипропил)- [5], холестерил- [6] и арил- [7]) обладают высокой иммуностимулирующей активностью в тестах как *in vitro* [8, 9], так и *in vivo* [9–11]. С целью установления структурных факторов, влияющих на биологическую активность подобных производных мурамоилдипептида, в данной работе описан синтез  $\beta$ -гексил-,  $\beta$ -октил-,  $\beta$ -циклогексил-,  $\alpha$ -гептил- и  $\alpha$ -циклогексилгликозидов MDP (VIIa)–(VIIд). В биологических тестах использовались также  $\beta$ -бутил-,  $\beta$ -гептил- [4] и  $\beta$ -фенилгликозиды [7] MDP, синтезированные нами ранее.

Синтез гликозидов MDP осуществлялся по известной схеме (см. схему). Исходные  $\alpha$ - и  $\beta$ -глико-

зиды *N*-ацетилглюкозамина (Ia)–(Id), полученные гликозилированием соответствующих спиртов 2-ацетамидо–3,4,6-три-*O*-ацетил- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозилхлоридом по модифицированному методу Кенигса–Кнорра с использованием в качестве катализатора иодида ртути(II) [12], дезацетилювали и действием 2,2-диметоксипропана на триолы (IIa)–(IIд), блокировали 4,6-диольную группировку. Алкилирование свободной гидроксильной группы у C3 проводили (*S*)-2-бром- или хлорпропионовой кислотой в диоксане в присутствии гидрида натрия и получили производные *N*-ацетил-*D*-мурамовой кислоты (IVa)–(IVд), которые конденсировали с бензиловым эфиром *L*-аланил-*D*-изоглутамина *N*-гидроксисукцинимидным методом. Двухступенчатое деблокирование (кислотный гидролиз ацетальной защиты и каталитический гидролиз бензинового эфира в остатке изоглутамина) дало целевые гликозиды (VIIa)–(VIIд).

Сравнение <sup>1</sup>H-ЯМР-спектров дезацетилюрованных гликозидов (IIa)–(IIд) со спектрами гликозилгликопептидов (VIa)–(VIд) подтверждает введение лактилпептидного фрагмента. Об этом, в частности, свидетельствует наличие в спектрах сигналов протонов бензиловых эфиров: синглеты с  $\delta$  5.02–5.08 м.д. метиленовых групп и мультиплеты с  $\delta$  7.35–7.36 м.д. фенильных протонов; триплетов  $\gamma$ -метиленовой группы с  $\delta$  2.20–2.36 м.д. и двух синглетов амидных протонов остатка изоглутамина в области 7.06–7.13 и 7.29–7.34 м.д. (подробнее см. таблицу).

Сокращения: ConA – конканавалин А; MDP – *N*-ацетилмурамоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин; TNF – фактор некроза опухолей; IL – интерлейкин; ЛПС – липополисахарид. Обозначения агликонов и остальные сокращения соответствуют рекомендациям номенклатурного комитета IUPAC-IUB.

<sup>#</sup> Автор для переписки (тел.: (065) 223-38-85; факс: (065) 223-23-10; эл. почта: vladimir@tnu.crimea.ua).

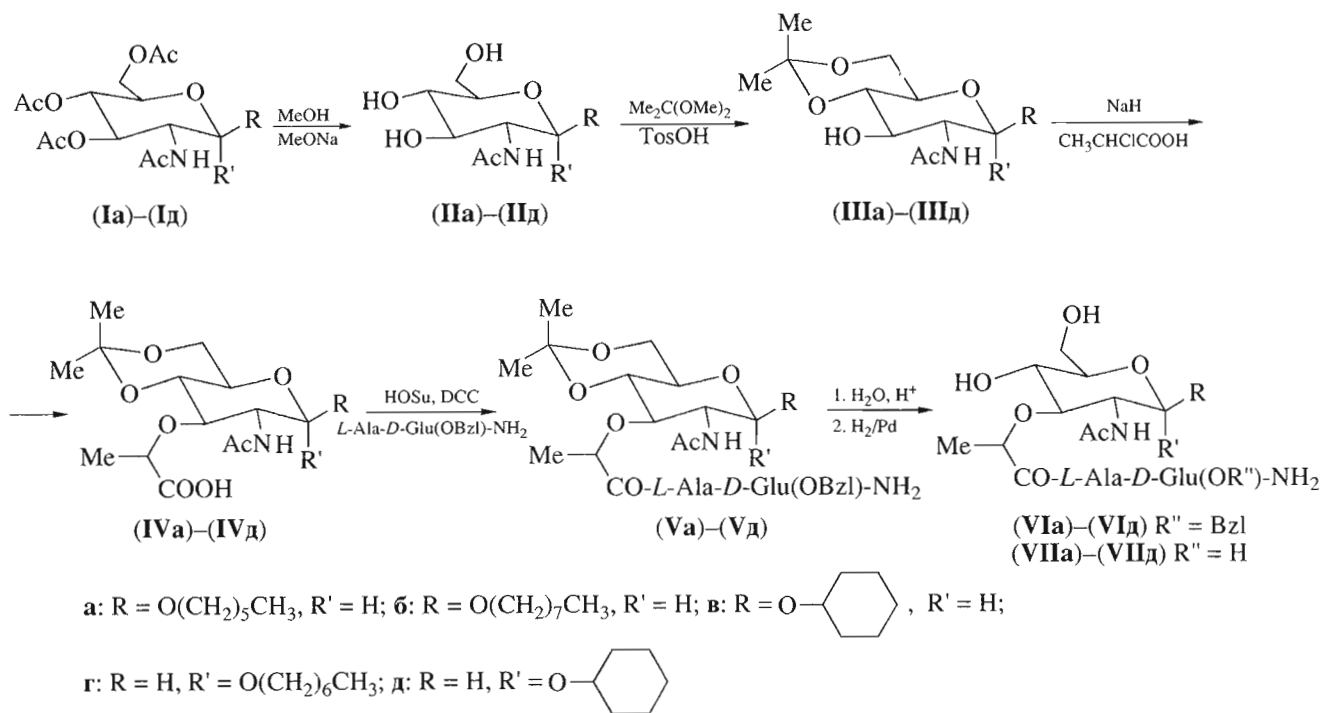


Схема.

Наиболее характерным показателем иммуностимулирующего действия MDP и его производных *in vitro* является активация продукции таких

важных в противоопухолевом и антибактериальном иммунитете моно- и лимфокинов, как фактор некроза опухолей и интерлейкины. Результаты

<sup>1</sup>H-ЯМР-спектры соединений (IIa)–(IIд), (VIa)–(VIд)\*

Группа или атом	(IIa)	(VIa)	(IIб)	(VIб)	(IIв)	(VIв)	(IIг)	(VIг)	(IIд)	(VIд)
R	0.86т, 1.27м, 1.47м	0.85т, 1.24м, 1.43м	0.86т, 1.24м, 1.43м	0.86т, 1.24м, 1.44м	1.26м, 1.46м, 1.67м	1.23м, 1.41м, 1.60м	0.85т, 1.24м, 1.45м	0.86т, 1.26м, 1.51м	1.22м, 1.45м, 1.66м	1.22м, 1.43м, 1.66м
H1 (J <sub>1,2</sub> )	4.28д (8.0)	4.35д (8.0)	4.25д (8.0)	4.25д (8.0)	4.43д (8.5)	4.37д (8.0)	4.72д (3.0)	4.69д (3.0)	4.79д (3.0)	4.84д (3.5)
NAc	1.79с	1.75с	1.78с	1.75с	1.82с	1.74с	1.80с	1.79с	1.82с	1.78с
C4-OH,	4.72д,	5.28д,	4.85д,	4.25д,	4.89уд,	5.24д,	4.72д,	5.27д,	4.66д,	5.28д,
C6-OH	4.32ут	4.61т	4.47ут	4.57ут	4.53ут	4.56т	4.52т	4.53т	4.46т	4.53т
CH <sub>3</sub> CH	–	1.24м	–	1.24м	–	1.23м	–	1.22д,	–	1.22д,
CHCH <sub>3</sub>	–	4.22к	–	4.22к	–	4.23к	–	4.29к	–	4.29м
CH(Ala)	–	4.18дк	–	4.12дк	–	4.17дк	–	4.28дк	–	4.29м
CH(iGln)	–	4.10ддд	–	3.69ддд	–	4.09ддд	–	4.18ддд	–	4.18ддд
β-CH <sub>2</sub> (iGln)	–	1.77м, 2.01м	–	1.71м, 1.94м	–	1.77м, 2.01м	–	1.76м, 2.02м	–	1.73м, 2.01м
γ-CH <sub>2</sub> (iGln)	–	2.35т	–	2.20т	–	2.35т	–	2.36т	–	2.36т
CONH <sub>2</sub> (iGln)	–	7.13с 7.29с	–	7.09с 7.33с	–	7.12с 7.32с	–	7.06с 7.32с	–	7.08с 7.34с
CH <sub>2</sub> Ph	–	5.08с, 7.36м	–	5.02с, 7.36м	–	5.07с, 7.35м	–	5.08с, 7.36м	–	5.08с, 7.36м
NH	7.50д	7.39д, 7.80д, 8.13д	7.63д	7.39д, 7.80д, 8.09д	7.54д	7.41д, 7.77д, 8.12д	7.56д	7.59д, 7.98д, 8.14д	7.62д	7.65д, 7.98д, 8.17д

\* Условные сокращения: уд – уширенный дублет, ут – уширенный триплет, дд – дублет дублетов, дк – дублет квартетов, ддд – дублет дублет дублетов.

изучения влияния гликозидов MDP на продукцию IL-1, IL-2 и TNF перитонеальными макрофагами мышей представлены на рис. 1. Корпоративное воздействие мурамоилдипептидов на иммунную систему удобно оценивать в тесте стимуляции неспецифической антиинфекционной резистентности у мышей на модели перитонита, вызываемого внутрибрюшинным введением *Salmonella typhi* в дозе 100 LD<sub>50</sub> (рис. 2)\*.

Сравнение иммуностимулирующего действия  $\alpha$ - и  $\beta$ -гептил- и  $\alpha$ - и  $\beta$ -циклогексилгликозидов MDP показало, что как в тестах *in vitro*, так и *in vivo*  $\alpha$ -гликозиды менее активны по сравнению не только с соответствующими  $\beta$ -гликозидами мурамоилдипептида, но и с самим MDP. Аналогичный эффект наблюдался нами для  $\alpha$ -бутилгликозида MDP в исследованиях активации Т- и В-клеточного иммунного ответа на протеины ВИЧ-1 [9]. Превышение адъювантного действия  $\beta$ -метилгликозида MDP над соответствующим  $\alpha$ -метилгликозидом в тесте индукции экспериментального аллергического энцефаломиелита описано в работе [13], а  $\beta$ -бензилгликозид MDP по сравнению с  $\alpha$ -бензил-MDP обладал большей адъювантностью в тесте гиперчувствительности замедленного типа [14]. По-видимому, активной формой является  $\beta$ -аномер мурамоилдипептида. Исходя из этого предположения, можно объяснить меньший по сравнению с  $\beta$ -гликозидами MDP стимулирующий эффект свободного мурамоилдипептида, который в растворах находится в виде смеси  $\alpha$ - и  $\beta$ -аномеров. Также становится понятной малая адъювантность  $\alpha$ -1-*O*-ацил-MDP [15] в отличие от смеси  $\alpha$ - и  $\beta$ -1-*O*-ацил-MDP [16].

Сравнение стимулирующих эффектов  $\beta$ -алкилгликозидов MDP с различной длиной углеводородной цепи, а также гликозидов мурамоилдипептида с агликонами, имеющими одинаковое количество атомов углерода, но различное химическое строение (алифатическая цепь, алифатический и ароматический цикл) показало, что все они обладают сравнимой иммуностимулирующей активностью.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Температуры плавления определяли на приборе ПТП, оптическое вращение при 20–25°C – на поляриметре Polamat-A ( $\lambda$  546 нм). Спектры <sup>1</sup>H-ЯМР получены на приборе Varian VXR-300 (300 МГц), растворитель DMSO-*d*<sub>6</sub>, внутренний стандарт – Me<sub>4</sub>Si. Приведены химические сдвиги ( $\delta$ -шкала) и константы спин-спинового взаимодействия (*J*, Гц).

ТСХ проводили на пластинках Silufol UV-254 (Kavalier) и Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck). Вещества об-

наруживали обугливанием при 300°C (Silufol) и обработкой 2% раствором серной кислоты в бутаноле-1 с последующим нагреванием при 150°C (Kieselgel). Использовали системы растворителей: хлороформ–этанол, 15 : 1 (*A*), 5 : 1 (*B*); хлороформ–бензол–этанол, 10 : 1 : 1 (*B*); этанол–бутанол-1–пиридин–вода–уксусная кислота, 100 : 10 : 10 : 3 (*Г*); бутанол-1–уксусная кислота–вода, 3 : 1 : 1 (*Д*). Колоночную хроматографию (КХ) проводили на силикагеле Aldrich 70–230 меш и Merck 230–400 меш.

Данные элементного анализа ключевых соединений соответствуют расчетным значениям. Исследование биологической активности проводили по методикам, приведенным в работах [8, 10].

В работе использовали ряд общих синтетических методик.

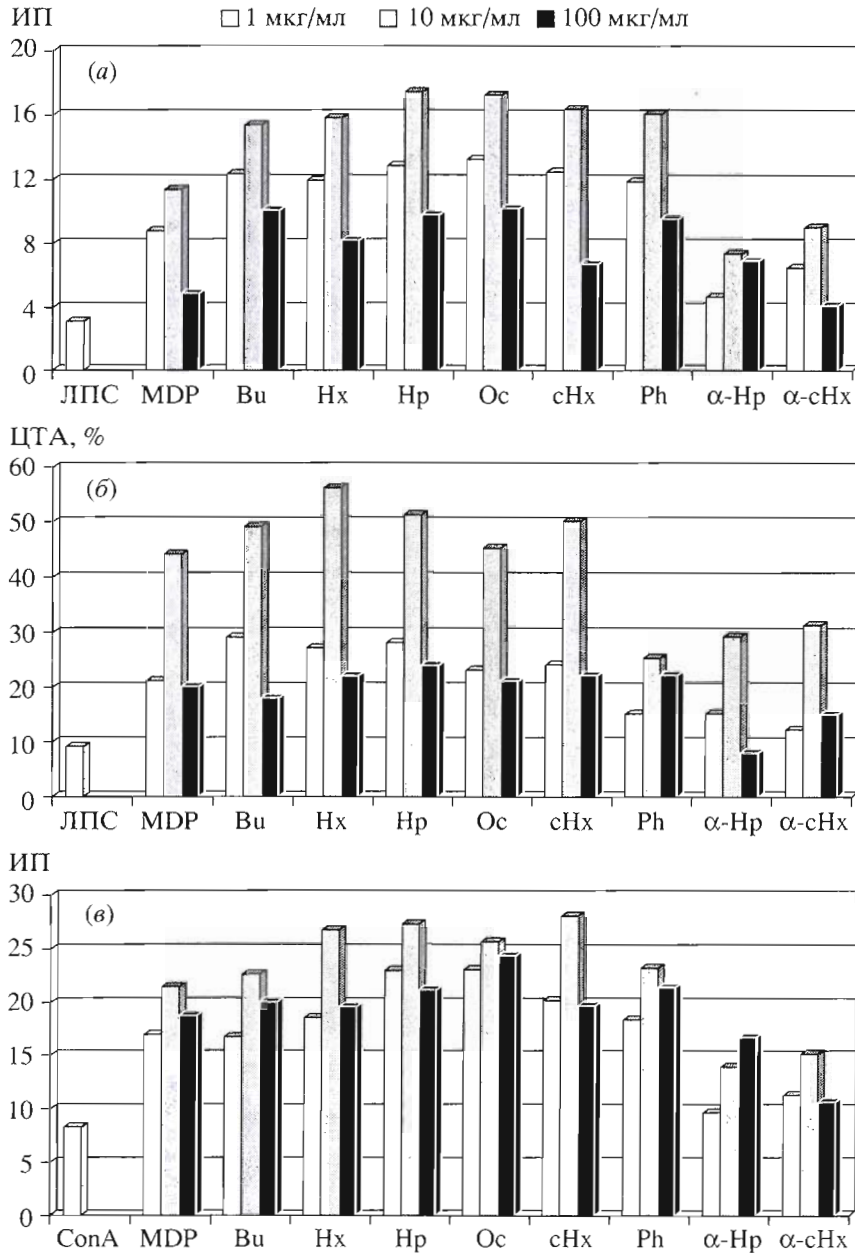
**Деацетилирование по Земплу.** К раствору ацетатов (**Ia**)–(**Iд**) в сухом метаноле (10 мл/г) добавляли 0.01–0.05 экв. 0.1 н. раствора метилата натрия в метаноле, выдерживали 12–24 ч. Раствор нейтрализовывали катионитом КУ-2 (Н<sup>+</sup>). Смолу отфильтровывали, промывали метанолом и фильтрат упаривали.

**Изопропилиденирование.** К раствору триолов (**IIa**)–(**IIд**) в диоксане или THF (50 мл/г) при нагревании до 60°C добавляли 3 экв. 2,2-диметоксипропана и 10 мг сухой TosOH. Через 1 ч (контроль ТСХ в системах *A, B*) реакционную смесь нейтрализовывали пиридином и упаривали. Остаток растворяли в 50 мл хлороформа, промывали водой (3 × 25 мл). Органический слой высушивали безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали досуха.

**Получение мурамовых кислот.** К раствору ацетата (**IIIa**)–(**IIIд**) в сухом диоксане (20 мл/г) при перемешивании порциями добавляли 4 экв. гидрида натрия. Реакционную смесь нагревали до 95°C, выдерживали при этой температуре 1 ч и после охлаждения до 65°C приливали 1.5 экв. (*S*)-2-бромпропионовой кислоты или 2 экв. (*S*)-2-хлорпропионовой кислоты и выдерживали при 65°C еще 1 ч. После охлаждения избыток гидрида натрия разлагали этанолом, смесь концентрировали и выливали в холодную воду. Раствор подкисляли 1 н. соляной кислотой до pH 2–3 и экстрагировали мурамовую кислоту хлороформом. Экстракт высушивали безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали.

**Получение гликопептидов *N*-оксисукцинимидным методом.** К раствору мурамовых кислот (**IVa**)–(**IVд**) в сухом диоксане или THF (10 мл/г) при перемешивании добавляли 1.1 экв. HOSu и 1.1 экв. DCC. Через 3–5 ч (контроль ТСХ в системах *A, B*) отфильтровывали осадок дициклогексилмочевины, промывали его растворителем. К фильтрату добавляли 1 экв. трифторацетата бензильного эфира *L*-аланил-*D*-изоглутамина [17] и триэтиламин до pH 8. По окончании реакции

\* Исследования проводились совместно с сотрудниками НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, г. Москва.



**Рис. 1.** Влияние гликозидов MDP (в дозах 1, 10, 100 мкг/мл; на оси абсцисс приведен соответствующий агликон) в сочетании с субоптимальной дозой ЛПС (20 нг/мл) (а, б) и конканавалина А (1 мкг/мл) (в) на продукцию IL-1 (а), TNF (б) перитонеальными макрофагами и IL-2 (в) спленocyтocyтами мышей C57BL/6. Эксперимент проведен как описано ранее [8]. ИП – индекс пролиферации; ЦТА – цитотоксическая активность. Все гликозиды β-ряда, кроме гептил- (α-Нр), циклогексил- (α-сНх).

(контроль ТСХ в системах А, Б) растворитель упаривали.

**Гидролиз изопропилиденовых групп.** Алкилиденовые производные (Va)–(Vd) растворяли при нагревании на кипящей водяной бане в 80% уксусной кислоте (10 мл/г) и выдерживали при этой температуре 5–15 мин (контроль ТСХ в системах Б, Г). Раствор упаривали досуха.

**Гидрогенолиз бензильных защит.** Бензильные эфиры (VIa)–(VIд) растворяли в этаноле (50–

100 мл/г) и подвергали гидрогенолизу над 10% Pd/C (1 : 5 к веществу) при комнатной температуре в течение 3–6 ч. По окончании реакции (контроль ТСХ в системах Г, Д) катализатор отфильтровывали, промывали растворителем, фильтрат упаривали.

**O-(Гексил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси-β-D-глюкопиранозид-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (VIIa).** Гексил-2-ацетамидо-2-дезокси-β-D-глюкопиранозид (IIa) получили дезацетилирова-

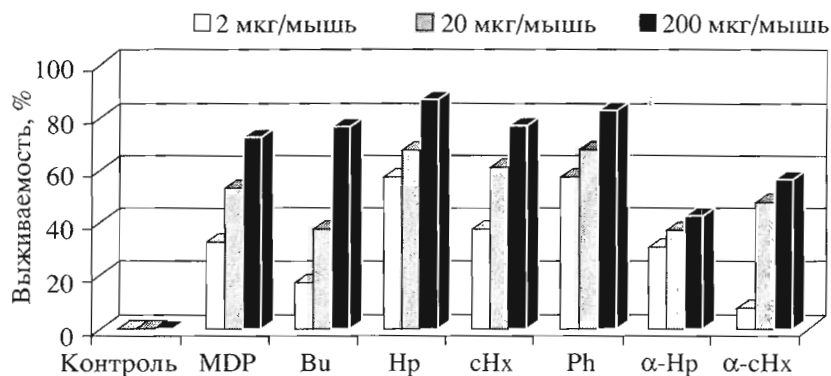


Рис. 2. Влияние гликозидов MDP (в дозах 2, 20, 200 мкг/мышь) на протективный эффект к внутрибрюшинному заражению мышей *S. typhi* ( $10^3$  клеток/мышь). Эксперимент проведен как описано ранее [10]. Обозначения как на рис. 1.

нием 1.54 г (3.57 ммоль) ацетата (**Ia**). Выход 1.0 г (92%); т. пл. 160–162°C,  $[\alpha]_{546} -29^\circ$  (с 1.0; этанол).  $^1\text{H-NMR}$  (таблица).

Гексил-2-ацетиамидо-2-дезоксид-4,6-О-изопронилен-β-D-глюкопиранозид (**IIIa**) синтезировали изопрониленированием 1.0 г (3.28 ммоль) триола (**IIa**). Выход после очистки КХ (элюент: хлороформ → хлороформ-этанол, 20 : 1) 0.61 г (54%); стеклообразный продукт,  $[\alpha]_{546} -88^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

Гексил-2-ацетиамидо-2-дезоксид-4,6-О-изопронилен-3-О-(D-1-карбоксиэтил)-β-D-глюкопиранозид (**IVa**) получили алкилированием (S)-2-бромпропионовой кислотой 485 мг (1.41 ммоль) ацетала (**IIIa**). Выход 0.57 г (97%); аморфное соединение,  $[\alpha]_{546} -15^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

Бензиловый эфир О-(гексил-2-ацетиамидо-2,3-дидезокси-β-D-глюкопиранозид-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (**VIa**). 0.55 г (1.32 ммоль) мурамовой кислоты (**IVa**) конденсировали с дипептидом. В полученном соединении (**Va**) гидролизвали изопрониленовую защиту и КХ (элюент: хлороформ → хлороформ-этанол, 10 : 1) выделили 0.48 г (55%) соединения (**VIa**); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} +2^\circ$  (с 1.0; этанол).  $^1\text{H-NMR}$  (таблица).

О-(Гексил-2-ацетиамидо-2,3-дидезокси-β-D-глюкопиранозид-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (**VIIa**) получили каталитическим гидрогенолизом 250 мг (0.38 ммоль) бензилового эфира (**VIa**). Выход 170 мг (78%); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} +5^\circ$  (с 0.83; этанол).

О-(Октил-2-ацетиамидо-2,3-дидезокси-β-D-глюкопиранозид-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (**VIIb**). Октил-2-ацетиамидо-2-дезоксид-D-глюкопиранозид (**IIb**) получили дезацетилированием 2.5 г (5.45 ммоль) ацетата (**Ib**). Выход 1.80 г (99%); т. пл. 185–188°C,  $[\alpha]_{546} -42^\circ$  (с 1.0; диметилформамид).  $^1\text{H-NMR}$  (таблица).

Октил-2-ацетиамидо-2-дезоксид-4,6-О-изопронилен-β-D-глюкопиранозид (**IIIb**) синтезировали

изопрониленированием 1.65 г (4.95 ммоль) триола (**IIb**). Выход после очистки КХ (элюент: хлороформ → хлороформ-этанол, 25 : 1) 1.55 г (84%); аморфное соединение,  $[\alpha]_{546} -71^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

Октил-2-ацетиамидо-2-дезоксид-4,6-О-изопронилен-3-О-(D-1-карбоксиэтил)-β-D-глюкопиранозид (**IVb**) получили алкилированием (S)-2-бромпропионовой кислотой 2.2 г (5.9 ммоль) ацетала (**IIIb**). Выход после очистки КХ (элюент: хлороформ → хлороформ-этанол, 25 : 1) 2.4 г (92%); стеклообразное вещество,  $[\alpha]_{546} -12^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

Бензиловый эфир О-(октил-2-ацетиамидо-2,3-дидезокси-β-D-глюкопиранозид-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (**VIb**). Конденсация 2.0 г (4.49 ммоль) мурамовой кислоты (**IVb**) с дипептидом дала 2.0 г (61%) гликопептида (**Vb**). В 1.0 г (1.36 ммоль) соединения (**Vb**) гидролизвали изопрониленовую защиту и КХ (элюент: хлороформ → хлороформ-этанол, 5 : 1) выделили 0.72 г (76%) диола (**VIb**);  $[\alpha]_{546} +9^\circ$  (с 1.0; этанол).  $^1\text{H-NMR}$  (таблица).

О-(Октил-2-ацетиамидо-2,3-дидезокси-β-D-глюкопиранозид-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (**VIIb**) получили каталитическим гидрогенолизом 350 мг (0.51 ммоль) бензилового эфира (**VIb**). Выход 290 мг (95%); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} +12^\circ$  (с 0.93; этанол).

О-(Циклогексил-2-ацетиамидо-2,3-дидезокси-β-D-глюкопиранозид-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамин (**VIIIb**). Циклогексил-2-ацетиамидо-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозид (**IIc**) получили дезацетилированием 2.8 г (6.5 ммоль) ацетата (**Ic**). Выход 1.9 г (96%). Аналитический образец перекристаллизовали из метанола; т. пл. 167–169°C,  $[\alpha]_{546} -37^\circ$  (с 0.67; метанол).  $^1\text{H-NMR}$  (таблица).

Циклогексил-2-ацетиамидо-4,6-О-изопронилен-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозид (**IIIc**) синтезировали изопрониленированием 830 мг (2.74 ммоль) триола (**IIc**). Выход после очистки

КХ (элюент: бензол–этанол, 75 : 1 → бензол–этанол, 25 : 1) 765 мг (81%); стеклообразный продукт,  $[\alpha]_{546} -69^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

Циклогексил-2-ацетамидо-4,6-*O*-изопропилиден-2-дезоксид-3-*O*-(*D*-1-карбокситил)- $\beta$ -*D*-глюкопиранозид (IVв) получили алкилированием (*S*)-2-бромпропионовой кислотой 750 мг (2.19 ммоль) ацетата (IIIв). Выход 850 мг (94%); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} -6^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

Бензиловый эфир *O*-(циклогексил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси- $\beta$ -*D*-глюкопиранозид-3-ил)-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамина (VIв). 835 мг (2.01 ммоль) мурамовой кислоты (IVв) конденсировали с дипептидом. В производном (Vв) удалили изопропилиденную защиту и КХ (элюент: хлороформ → хлороформ–этанол, 10 : 1) выделили 635 мг (48%) соединения (VIв); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} +6^\circ$  (с 1.0; этанол). <sup>1</sup>H-ЯМР (таблица).

*O*-(Циклогексил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси- $\beta$ -*D*-глюкопиранозид-3-ил)-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин (VIIв) получили каталитическим гидролизом 325 мг (0.49 ммоль) бензилового эфира (VIв). Выход 265 мг (92%); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} +6^\circ$  (с 0.67; этанол).

*O*-(Гептил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид-3-ил)-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин (VIIг) Гептил-2-ацетамидо-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид (IIг) получили дезацетилизацией 800 мг (1.80 ммоль) ацетата (Iг). Выход 500 мг (87%). Аналитический образец перекристаллизовали из метанола; т. пл. 163–165°C,  $[\alpha]_{546} +131^\circ$  (с 1.0; метанол). <sup>1</sup>H-ЯМР (таблица).

Гептил-2-ацетамидо-4,6-*O*-изопропилиден-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид (IIIг) синтезировали изопропилиденированием 1.0 г (3.30 ммоль) триола (IIг). Выход после очистки КХ (элюент: бензол–этанол, 75 : 1 → бензол–этанол, 25 : 1) 925 мг (82%); стеклообразный продукт;  $[\alpha]_{546} +100^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

Гептил-2-ацетамидо-4,6-*O*-изопропилиден-2-дезоксид-3-*O*-(*D*-1-карбокситил)- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид (IVг) получили алкилированием (*S*)-2-хлорпропионовой кислотой 250 мг (0.70 ммоль) ацетата (IIIг). Выход 228 мг (76%); аморфный порошок;  $[\alpha]_{546} +85^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

Бензиловый эфир *O*-(гептил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид-3-ил)-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамина (VIг). 228 мг (0.53 ммоль) мурамовой кислоты (IVг) конденсировали с дипептидом. В гликопептиде (Vг) удалили изопропилиденную защиту и осаждением эфиром выделили 290 мг (78%) аморфного соединения (VIг);  $[\alpha]_{546} +95^\circ$  (с 0.83; этанол). <sup>1</sup>H-ЯМР (таблица).

*O*-(Гептил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид-3-ил)-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин (VIIг) получили каталитическим гидролизом 190 мг (0.29 ммоль) бензилового

эфира (VIг). Выход – 150 мг (90%); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} +96^\circ$  (с 0.67; этанол).

*O*-(Циклогексил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид-3-ил)-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин (VIIд). Циклогексил-2-ацетамидо-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид (IIд) получили дезацетилизацией 3.43 г (3.22 ммоль) ацетата (IIд). Выход 2.42 г (100%). Аналитический образец перекристаллизовали из метанола; т. пл. 206–207°C,  $[\alpha]_{546} +192^\circ$  (с 1.0; этанол). <sup>1</sup>H-ЯМР (таблица).

Циклогексил-2-ацетамидо-4,6-*O*-изопропилиден-2-дезоксид- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид (IIIд) синтезировали изопропилиденированием 1.0 г (3.30 ммоль) триола (IIд). Выход после очистки КХ (элюент: бензол → бензол–этанол, 20 : 1) 925 мг (82%); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} +100^\circ$  (с 1.0; хлороформ).

Бензиловый эфир *O*-(циклогексил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид-3-ил)-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамина (VIд). 910 мг (2.65 ммоль) ацетата (IIIд) алкилировали (*S*)-2-хлорпропионовой кислотой, полученную мурамовую кислоту (IVд) конденсировали с дипептидом. В производном (Vд) удалили изопропилиденную защиту и КХ (элюент: хлороформ → хлороформ–этанол, 20 : 1) выделили 0.78 г (44%) соединения (VIд); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} +98^\circ$  (с 1.0; этанол). <sup>1</sup>H-ЯМР (таблица).

*O*-(Циклогексил-2-ацетамидо-2,3-дидезокси- $\alpha$ -*D*-глюкопиранозид-3-ил)-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин (VIIд) получили каталитическим гидролизом 380 мг (0.57 ммоль) бензилового эфира (VIд). Выход 330 мг (98%); аморфный порошок,  $[\alpha]_{546} +93^\circ$  (с 1.0; этанол).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lefrancier P., Derrien M., Lederman I., Nief F., Choay J., Lederer E. // Int. J. Peptide Protein Res. 1978. V. 11. P. 289–296.
2. Durette P.L., Dorn C.P., Friedman A., Schlabach A. // J. Med. Chem. 1982. V. 25. P. 1028–1033.
3. Земляков А.Е., Чирва В.Я. // Химия природн. соед. 1987. № 5. С. 714–718.
4. Курьянов В.О., Земляков А.Е., Чирва В.Я. // Укр. хим. журн. 1994. Т. 60. С. 858–861.
5. Курьянов В.О., Земляков А.Е., Чирва В.Я. // Биооргани. химия. 1994. Т. 20. С. 439–447.
6. Курьянов В.О., Земляков А.Е., Чирва В.Я. // Биооргани. химия. 1996. Т. 22. С. 287–290.
7. Земляков А.Е., Цикалов В.В., Курьянов В.О., Чирва В.Я., Бовин Н.В. // Биооргани. химия. 2001. Т. 27. С. 390–394.
8. Kalyuzhin O.V., Zemlyakov A.E., Fuchs B.B. // Int. J. Immunopharmac. 1996. V. 18. P. 651–659.
9. Krivorutchenko Yu.L., Andronovskaja I.B., Hinkula J., Krivoshein Yu.S., Ljungdahl-Stähle E., Pertel S.S.,

- Grishkovets V.I., Zemlyakov A.E., Wahren B. // *Vaccine*. 1997. V. 15. P. 1479–1486.
10. Калюжин О.В., Калюжин В.В., Земляков А.Е., Елькина С.И., Шкалев М.В., Сергеев В.В. // *Бюлл. эксп. биол.* 1999. № 5. С. 543–545.
11. Калюжин О.В., Нелюбов М.В., Кузовлев Ф.Н., Калюжина М.И., Земляков А.Е., Шкалев М.В., Мулик Е.Л., Караулов А.В. // *Вопросы биол. мед. и фарм. химии*. 2001. № 1. С. 45–46.
12. Земляков А.Е., Курьянов В.О., Сидорова Е.А., Чирва В.Я. // *Биоорган. химия*. 1998. Т. 24. С. 623–630.
13. Nagai Y., Akiyama K., Kotani S., Watanabe Y., Shimono T., Shiba T., Kusumoto S. // *Cell. Immun.* 1978. V. 35. P. 168–172.
14. Azuma I., Okumura H., Saiki I., Kiso M., Hasegawa A., Taniyama Y., Yamamura Y. // *Infect. Immun.* 1981. V. 33. P. 834–839.
15. Hasegawa A., Kigawa K., Kiso M., Azuma I. // *Agric. Biol. Chem.* 1986. V. 50. P. 2091–2094.
16. Hasegawa A., Hioki Y., Kiso M., Azuma I. // *Carbohydr. Res.* 1983. V. 123. P. 63–67.
17. Ростовцева Л.И., Андропова Т.М., Малькова В.П., Сорокина И.Б., Иванов В.Т. // *Биоорган. химия*. 1981. Т. 7. С. 1843–1858.

## ***N*-Acetylmuramyl-*L*-Alaninyl-*D*-Isoglutamine Glycosides: Effect of Glycoside Bond Configuration and Aglycone on Biological Activity**

**A. E. Zemlyakov\*, V. V. Tsikalov\*, O. V. Kalyuzhin\*\*,  
V. O. Kur'yanov\*, and V. Ya. Chirva\*\***

# Phone: (065) 223-38-85, fax: (065) 223-23-10, e-mail: vladimir@tnu.crimea.ua

\* Vernadsky Taurian National University, ul. Yaltinskaya 4, Simferopol, 95007 Ukraine

\*\* Research Institute of Human Morphology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Tsuryupy 3, Moscow, 117418 Russia

Hexyl, octyl, and cyclohexyl  $\beta$ -glycosides and heptyl and cyclohexyl  $\alpha$ -glycosides of muramyl dipeptide (MDP) were synthesized. Tests *in vitro* and *in vivo* revealed lower immunostimulating activities of MDP  $\alpha$ -glycosides in comparison with the corresponding  $\beta$ -glycosides and MDP itself. In the case of alkyl  $\beta$ -glycosides, differences in hydrocarbon chain lengths (C<sub>4</sub>–C<sub>8</sub>) and in aglycone (aliphatic chain and aliphatic or aromatic ring) exerted no substantial effect on the immunostimulating activity. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2003, vol. 29, no. 3; see also <http://www.maik.ru>.

*Key words:* glycopeptides, muramyl dipeptide, muramyl dipeptide glycosides, immunostimulating activity, non-specific infectious resistance