



УДК 547.963.07

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ  
ГЛИКОПЕПТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ  
N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИЛ-( $\beta$  1--4)-  
N-АЦЕТИЛМУРАМИЛ-ДИСАХАРИДНОЕ ЗВЕНО

Ростовцева Л. П., Андропова Т. М., Малькова В. П.,  
Сорокина И. Б., Иванов В. Т.

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина  
Академии наук СССР, Москва

Предложен общий метод получения и осуществлен синтез фрагментов и аналогов гликопептидов клеточных стенок бактерий, содержащих моно-, ди- или тетра-сахаридное звено. Ряд соединений обнаружил высокую иммуностимулирующую (адьювантную) и противоопухолевую (избирательный некроз и торможение роста сильно развитой опухоли) активность. Рассмотрена зависимость биологической активности от структуры гликопептида.

Известно, что целые бактериальные клетки (БЦЖ, *Mycobacteria*, *Corynebacteria* и др.), продукты частичного гидролиза их клеточных стенок или синтетические гликопептиды, моделирующие фрагменты клеточных стенок бактерий, обладают выраженным иммунорегулирующим (адьювантным) действием [1-3]. К последним относятся N-ацетилмурамил-аланил-D-изоглутами (мурамилдипептид, МДП) и его многочисленные аналоги [2-12]. Установлено, что МДП — минимальная по размеру структура среди веществ этого типа, обладающая иммуностимулирующим действием [4, 5]. БЦЖ и некоторые другие препараты из бактериальных клеток проявляют противоопухолевую активность и уже сравнительно давно исследуются в качестве средств иммунотерапии злокачественных опухолей [13-15]. При исследовании противоопухолевых свойств синтетических гликопептидов в ряду мурамилпептидов показано, что серия производных МДП, например содержащих в сахарной части остатки миколовых, нокардомиколовых или некоторых жирных кислот, обладают противоопухолевым действием [8, 16-18]. Относительно противоопухолевых свойств МДП имеются противоречивые данные [16, 17, 19, 20, 24].

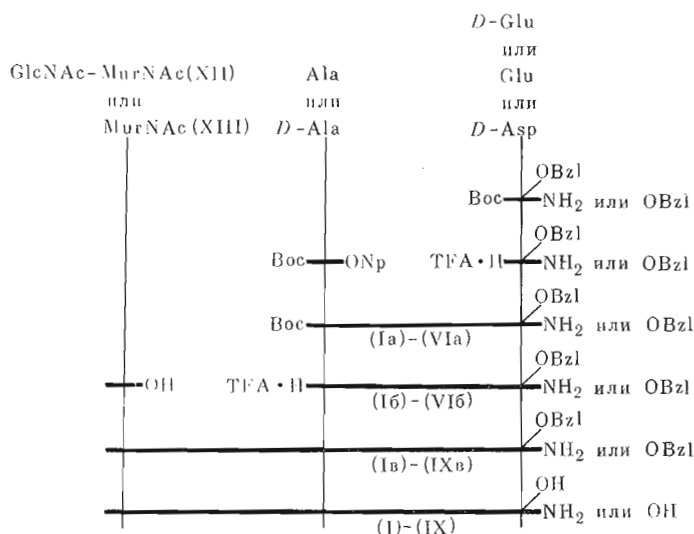
В 1975 г. было показано, что гликопептидные фракции, образующиеся при ферментативном гидролизе клеточных стенок *Lactobacillus bulgaricus* (гликопептиды с молекулярным весом 1000-10 000), обладают необычной

---

В работе приняты стандартные сокращения, рекомендованные комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC — IUB, а также: БЦЖ — *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG), MurNAc — 2-ацетамидо-2-дезоксис-3-O-(D-1'-карбоксивтил)- $\beta$ -D-глюкопираноза (N-ацетилмурамовая кислота), mA<sub>2</sub>mp — мезо-диаминопимелиновая кислота, ДМФА — диметилформамид, TFA — трифторуксусная кислота.



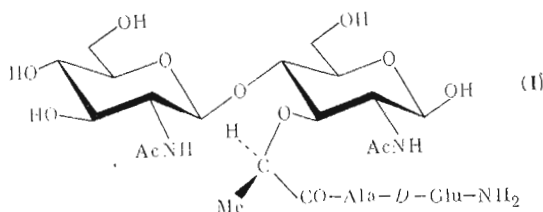
Схема 1



ряд гликопептидных фракций из клеточных стенок *E. coli* и *Micrococcus lysodeikticus* [25]. Несмотря на существенные структурные различия исходных клеточных стенок этих микроорганизмов, а следовательно, и получаемых из них при ферментативном гидролизе гликопептидов (рис. 1), выделенные фракции обнаруживали заметную противоопухолевую активность (см. ниже). Значит, такая активность присуща широкому спектру гликопептидов и не является уникальным свойством лизатов клеточных стенок *L. bulgaricus*. Учитывая изложенное, мы предприняли синтез ряда модельных гликопептидов, содержащих звено  $\text{GlcNAc}\beta 1-4\text{MurNAc}$ .

К началу работы синтеза таких гликопептидов не были описаны. Обычный синтез подобных соединений включает в себя многостадийное избирательное блокирование и деблокирование функциональных группировок моносахаридов перед введением их в реакцию конденсации между собой и, далее, с пептидным компонентом (например, [26, 27]). Мы выбрали путь прямой конденсации природных *O*-незащищенных ди- и тетрасахаридов с защищенными аминокислотами и пептидами с помощью обычных методов пептидного синтеза [28]. Синтез олигосахаридов общей формулы  $[-4\text{GlcNAc}\beta 1-4\text{MurNAc}\beta 1-]_n$  к началу работы описан не был, поэтому мы использовали ди- и тетрасахариды, выделенные из клеточных стенок *M. lysodeikticus* [29].

В качестве первого объекта синтеза был выбран глюкозаминилмуромилдипептид (I) (ГМДП, см., табл. 1 и схему 1) — общий повторяющийся фрагмент гликопептидов клеточных стенок большинства микроорганизмов, а также ближайший в рассматриваемой серии веществ аналог МДП\*:



\* После завершения настоящей работы появились сообщения о многостадийных синтезах этого соединения [26, 27].

Физико-химические константы синтезированных гликопептидов

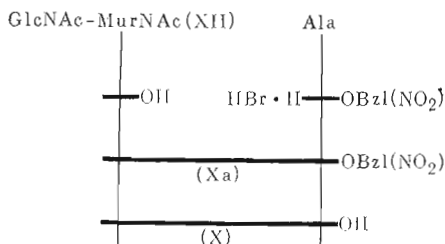
Номер	Соединение <sup>1*</sup>	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$ , град	$R_f^{3*}$
(I)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub> (ГМДП)	170-174 (разл.) 170-178 (разл.) [26]	+3,6 (0,5, H <sub>2</sub> O) +4,0 (1, H <sub>2</sub> O, через 2 мин) [26]	0,33 (А), 0,45 (В)
(II)	GlcNAc-MurNAc-D-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	165-168 (разл.)	+33,2 (1,026, H <sub>2</sub> O, через 5 мин)	0,33 (А), 0,45 (В)
(III)	GlcNAc-MurNAc-Ala-Glu-NH <sub>2</sub>	170 (разл.)	-7,6 (0,5, H <sub>2</sub> O)	0,33 (А), 0,45 (В)
(IV)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Glu	170 (разл.)	-4,2 (0,5, H <sub>2</sub> O)	0,20 (А), 0,42 (В)
(V)	GlcNAc-MurNAc-D-Ala-D-Glu	166 (разл.)	+13,8 (0,5, H <sub>2</sub> O)	0,24 (А), 0,42 (В)
(VI)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Asp-NH <sub>2</sub>	194 (разл.)	+2,17 (1, H <sub>2</sub> O)	0,35 (А)
(VII)	MurNAc-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub> (МДП)	157-159 (разл.)	+36,5 (0,5, H <sub>2</sub> O) +36,9 (0,51, H <sub>2</sub> O) [7]	0,45 (А), 0,47 (В)
(VIII)	MurNAc-D-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	138-140 (разл.)	+68,2 (1, MeOH) +57,0 (1, AcOH) +68,3 (AcOH) [9] +58,0 (AcOH) [40]	0,45 (А), 0,35 (Б)
(IX)	MurNAc-Ala-D-Asp-NH <sub>2</sub>	199-201 198 (разл.) [7]	+43,2 (1, H <sub>2</sub> O) +43,7 (0,5, H <sub>2</sub> O) [7] +33,0 (H <sub>2</sub> O) [9] -3,5 (0,5, H <sub>2</sub> O)	0,43 (Б)
(X)	GlcNAc-MurNAc-Ala	150-153 (разл.)	-	0,40 (А), 0,39 (В)
(XI)	GlcNAc-MurNAc-GlcNAc-MurNAc ↓ Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub> Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	161 (разл.)	-	0,1 (В)

<sup>1\*</sup> Связью β1 → 4-связи в изображенных олигосахаридах опущен; пептиды при исследовании амидной связью по карбоксильной группе остатка мурамовой кислоты.

<sup>2\*</sup> Через 10 мин.

<sup>3\*</sup> (А), (Б) — системы ТСХ (см. «Экспер. часть»).

Схема 2



Защищенный дипептид (Ia) синтезировали по модифицированной методике [30] методом активированных эфиров. Использование *n*-нитрофенилового эфира аланина, взятого с 20% избытком, и проведение реакции конденсации при 38°С позволило получить дипептид с выходом 95%.  $\alpha$ -Аминогруппу аланинового остатка освобождали действием трифторуксусной кислоты. Реакция конденсации дисахарида с дипептидом (Iб) методом смешанных ангидридов привела к смеси, где наряду с требуемым продуктом получили несколько неидентифицированных соединений, образовавшихся, по-видимому, в результате ацилирования незащищенных гидроксильных групп дисахарида. При активации карбоксила остатка мурамовой кислоты *N,N'*-дихлорогексилкарбодимидом количественно образовывалась соответствующая ацилмочевина. Целевой продукт (Iв) был получен с выходом 60% при использовании в качестве конденсирующего агента реактива Вудворда К [34]. Последующее удаление бензильной защиты с  $\gamma$ -карбоксильной группы *D*-глутаминовой кислоты проводили гидрогенолизом над Pd/чернью.

С целью изучения связи между структурой и биологическими свойствами аналогичным способом по схемам 1–3 была синтезирована серия гликопептидов (табл. 1), отличающихся от ГМДП (I) С-концевой группировкой (IV), отсутствием С-концевого остатка изоглутамина (X) или его заменой на изоаспарагин (VI), (IX), конфигурацией аминокислотных остатков (II), (III), сочетанием указанных признаков (V), числом дисахаридных звеньев, несущих дипептидный остаток (XI), а также удлинением пептидной цепи (XVIII)\*.

Дипептиды (IIa)–(VIa) (табл. 2) получали с использованием *n*-нитрофениловых эфиров с выходом 80–90%, для защиты  $\alpha$ -аминогруппы использовали *tert*-бутилоксикарбонильную группировку, для С-концевых карбоксильных групп – бензильные эфиры (кроме соединения (Xa), где применяли *n*-нитробензиловый эфир аланина). Конденсация углеводного и пептидного участков методом Вудворда проходила с выходом 40–60%; исключение составляла конденсация тетрасахарида с дипептидом (Iб), протекавшая с низким выходом (5%). Удаление защитных групп в гликопептидах (Iв)–(IXв), (Xa), (XIa) (см. табл. 2) осуществляли гидрогенолизом над Pd/чернью в 75% водной уксусной кислоте. Очистку гликопептидов проводили с помощью ионообменной хроматографии. Защищенные гликопептиды (Iв)–(IXв), (Xa), (XIa) хроматографировали на колонках с дауэксом 50×8 и дауэксом 1×8, используя в качестве элюента 50% водный этанол. После гидрогенолиза очистку гликопептидов (I)–(XI) проводили на дауэксе 1×8, используя градиентную элюцию смесью вода – 0,5 н. CH<sub>3</sub>COOH. Хроматографически гомогенные продукты, охарактеризованные также данными элементного, аминокислотного и углеводного анализов, представляют собой гигроскопические аморфные вещества.

В качестве образцов для сравнения, исходя из *N*-ацетилмурамовой кислоты, тем же методом (схема 1) получены также МДП (VII), MurNAc-Ala-*D*-Asp-NH<sub>2</sub> (IX) и MurNAc-*D*-Ala-*D*-Glu-NH<sub>2</sub> (VIII). Кроме

\* Гликопептид (XVIII) получен ранее [23].

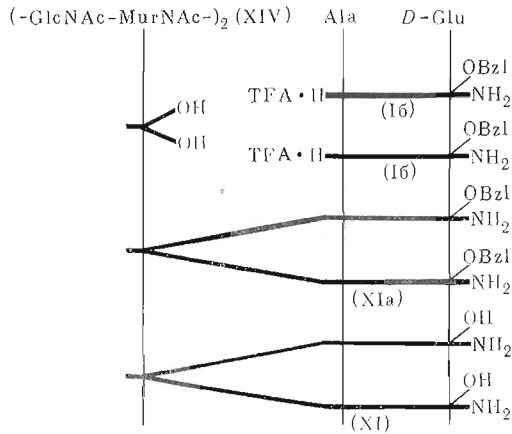
Физико-химические константы промежуточных соединений

Номер	Соединение	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$ , град	$R_f$
(Ia)	Вос-Ala-D-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	139-140 137,5-138,5 [7] 139-140 [9]	-9,0 (1, MeOH) -8,1 (1, MeOH) [7] -9,0 (1, MeOH) [9]	0,75 (A) 0,63 (Г)
(IIa)	Вос-D-Ala-D-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	129-130 128-130 [9]	+28,0 (1, MeOH) +27,9 (1, MeOH) [9, 30]	0,75 (A) 0,63 (Г)
(IIIa)	Вос-Ala-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	129-130	-28,3 (1, MeOH) -18,1 (1, ДМФА) -28,0 (1, MeOH) [9]	0,75 (A) 0,63 (Г)
(IVa)	Вос-Ala-D-Glu(OBzl)-OBzl	133-134 [9]	+7,6 (1, ДМФА) +7,0 (1, ДМФА) [9]	0,82 (A) 0,72 (Г)
(Va)	Вос-D-Ala-D-Glu(OBzl)-OBzl	98-100 99-100 [9]	+22,6 (1,5, MeOH) +15,8 (1, ДМФА)	0,82 (A) 0,72 (Г)
(VIa)	Вос-Ala-D-Asp(OBzl)-NH <sub>2</sub>	65-67	+11,5 (1, EtOAc) +12,2 (0,5, EtOAc) [7] +22,6 (1, ДМФА) [9]	0,55 (Г) 0,45 (Д)
(16)	ТФа·Ala-D-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	124-126 125,5-126,5 [7] 124-125 [9]	+4,4 (1, MeOH)	0,62 (B)
(II6)	ТФа·D-Ala-D-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	Аморфный	-6,4 (1, MeOH)	0,62 (B)
(III6)	ТФа·Ala-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	»	+0,8 (0,5, MeOH)	0,62 (B)
(IV6)	ТФа·Ala-D-Glu(OBzl)-OBzl	Масло	+15,0 (1, MeOH) +2,6 (0,5, MeOH)	0,51 (Б)
(V6)	ТФа·D-Ala-D-Glu(OBzl)-OBzl	»	-	0,51 (Б)
(VI6)	ТФа·Ala-D-Asp(OBzl)-NH <sub>2</sub>	Аморфный	-	0,60 (Б)
(Iв)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	166-167	-4,4 (1, MeOH)	0,63 (A)
(IIв)	GlcNAc-MurNAc-D-Ala-D-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	-	-	0,63 (A)

Таблица 2 (окончание)

Номер	Соединение	Т. пл., °С	$[\alpha]_D^{20}$ , град	$R_f$
(IIIБ)	GlcNAc-MurNAc-Ala-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	—	—	0,63 (А)
(IVБ)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Glu(OBzl)-OBzl	120–123 разл.	+2,7 (1, MeOH)	0,70 (А) 0,65 (Б)
(VБ)	GlcNAc-MurNAc-D-Ala-D-Glu(OBzl)-OBzl	118–120	—	0,70 (А)
(VIБ)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Asp(OBzl)-NH <sub>2</sub>	—	—	0,70 (А); 0,53 (Б)
(VIIБ)	MurNAc-Ala-D-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	—	—	0,70 (Б)
(VIIIБ)	MurNAc-D-Ala-D-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	115–117	+53,3 (0,6, MeOH)	0,70 (Б)
(IXБ)	MurNAc-Ala-D-Asp(OBzl)-NH <sub>2</sub>	185–187	—	0,80 (А); 0,63 (Б)
(Xа)	GlcNAc-MurNAc-Ala-OBzl(NO <sub>2</sub> )	—	—	0,65(А)
(XIа)	NH <sub>2</sub> -D-Glu(OBzl) ← Ala   GlcNAc-MurNAc-GlcNAc-MurNAc	—	—	0,50 (А)
(XII)	GlcNAc-MurNAc   Ala → D-Glu(OBzl)-NH <sub>2</sub>	—	+15,2 → +10,2 (0,5, H <sub>2</sub> O) +6 → +3 (0,5, H <sub>2</sub> O) [29] +10 → +4,5 (1,55, H <sub>2</sub> O, 2 ч) [36]	0,30 (Б); 0,35 (Б)
(XIV)	(-GlcNAc-MurNAc) <sub>2</sub>	—	-10,4 → -13,1 (0,5, H <sub>2</sub> O, 24 ч) -11,0 → -12,0 (0,5, H <sub>2</sub> O) [29]	0,10 (Б); 0,20 (Б)
(XV)	TFA · Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	80–82	+18,2 (1, H <sub>2</sub> O)	0,1 (Б)
(XVI)	TFA · Ala-D-Glu	76–79	+19,9 (1 H <sub>2</sub> O)	0,3 (Б)
(XVII)	TFA · Ala-D-Glu-D-Asp-NH <sub>2</sub>     Lys-D-Ala-NH <sub>2</sub>	134–136	+15,2 (1, ДМФА)	0,23 (Б)

Схема 3



того, получены пептиды (XV), (XVI) и (XVII). Проводимое в настоящее время ЯМР-исследование также подтвердило их гомогенность. Формулы и физико-химические константы полученных веществ приведены в табл. 1 и 2.

В настоящее время осуществляются биологические исследования синтезированных веществ. В табл. 3 приведены результаты испытаний противоопухолевой активности препаратов на саркоме Крокера 180. Противоопухолевый эффект оценивали визуально по наличию некротической реакции в опухолевой ткани через 24 ч после однократного внутривенного введения препарата на 7–8-е сут после перевивки опухоли мышам (сильно развитая опухоль), а также по торможению роста опухоли, определяемому по среднему весу опухоли после забоя животных через 7 сут после введения препарата.

Наиболее изученное вещество настоящей серии, ГМДП (I), при однократном введении обнаружило высокую противоопухолевую активность, максимальную при дозах 50–100 мг/кг (1,4–2,8 мкмоль на 1 животное) и отчетливо проявляющуюся даже при дозе 0,5 мг/кг (0,015 мкмоль/животное). Интересно, что при дозе 200 мг/кг эффект снижается.

При введении одной и той же суммарной дозы ГМДП многократными инъекциями процент некротических реакций и процент торможения роста опухоли, определяемый по среднему объему опухоли, увеличивается в среднем на 10–20% при переходе от дозы 100 мг/кг×1 к дозе 50 мг/кг×2 и далее к дозе 25 мг/кг×4. В эксперименте с двукратным введением препарата (50 мг/кг×2) две мыши из 10 были излечены.

ГМДП также был исследован на 8 других перевиваемых экспериментальных опухолях: карциноме легких Льюис (LL), аденокарциноме толстой кишки (АКАТОЛ), аденокарциноме молочной железы (Ca-755), меланоме Б-16, саркомах 37, 298, Иенсена и лейкемии L-1210. Перевивка указанных штаммов и схема испытаний соответствовали рекомендациям и методике, принятой Онкологическим научным центром АМН СССР [39]. Противоопухолевый эффект препарата, оцениваемый по торможению роста опухолей (на лейкемии L-1210 по увеличению продолжительности жизни животных), был отмечен на меланоме Б-16, саркоме 37, саркоме 298, а также на саркоме Иенсена (рис. 2). Менее достоверны результаты на карциноме Ca-755 и карциноме LL. Не обнаружено противоопухолевого действия на лейкемии L-1210 и аденокарциноме толстой кишки (АКАТОЛ).

В табл. 3 приведены данные, демонстрирующие связь между структурой исследованных препаратов и их действием на саркому 180 при однократном введении. Аминосакхара и олигосахариды (XII)–(XIV), а также



## Противоопухолевая активность на саркоме-180 аминоксахаров, пептидов и синтетических гликопептидов

Номер	Соединение	Доза, мг/кг	Наличие некротической реакции на количество животных	Торможение роста опухоли, %
(I)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	200	4/10	0
		100	8/10	70
		100	10/10	35
		50	9/10	25
		25	5/10	15
		5	8/10	23
		0,5	6/10	16
(II)	GlcNAc-MurNAc-D-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	100	3/5	19
		50	2/5	17
		5	0/8	40
(III)	GlcNAc-MurNAc-Ala-Glu-NH <sub>2</sub>	100	0/5	16
		50	0/5	0
(IV)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Glu	100	3/5	45
		50	4/10	28
(V)	GlcNAc-MurNAc-D-Ala-D-Glu	100	5/5	44
		50	3/5	38
(VI)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Asp-NH <sub>2</sub>	100	2/10	0
		50	0/10	0
		50	3/10	31
(VII)	MurNAc-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	100	4/5	—
		50	1/5	16
(VIII)	MurNAc-D-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	50	0/10	0
		5	0/10	0
		50	4/10	39
(IX)	MurNAc-Ala-D-Asp-NH <sub>2</sub>	100	0/10	0
		50	0/10	0
(X)	GlcNAc-MurNAc-Ala	100	3/5	19
		50	2/5	17
(XI)	GlcNAc-MurNAc-GlcNAc-MurNAc ↓                  ↓ Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub> Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	50	3/5	66
(XII)	GlcNAc-MurNAc	250	0/8	0
		100	0/8	0
(XIII)	MurNAc	250	0/8	—
		100	0/8	37
(XIV)	(-GlcNAc-MurNAc) <sub>2</sub>	250	0/10	0
		100	0/10	0
(XV)	Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	100	0/10	-28*
(XVI)	Ala-D-Glu	100	0/10	37
(XVII)	Ala-D-Glu-D-Asp-NH <sub>2</sub>   ε Lys-D-Ala-NH <sub>2</sub>	250	0/5	0
(XVIII) **	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Glu-D-Asp-NH <sub>2</sub>                      ε                  ε Lys-D-Ala-NH <sub>2</sub>	100	3/5	41
		50	3/5	23
(XIX)	GlcNAc	250	0/8	0
	Фрагменты клеточной стенки <i>M. lysodeikticus</i>			
	<i>M</i> 1000-10 000	100	10/10	40
		250	10/10	73
	Фрагменты клеточной стенки <i>E. coli</i>			
	<i>M</i> < 1000	250	2/5	—
	<i>M</i> < 10 000	250	5/8	—

\* Стимуляция роста опухоли.

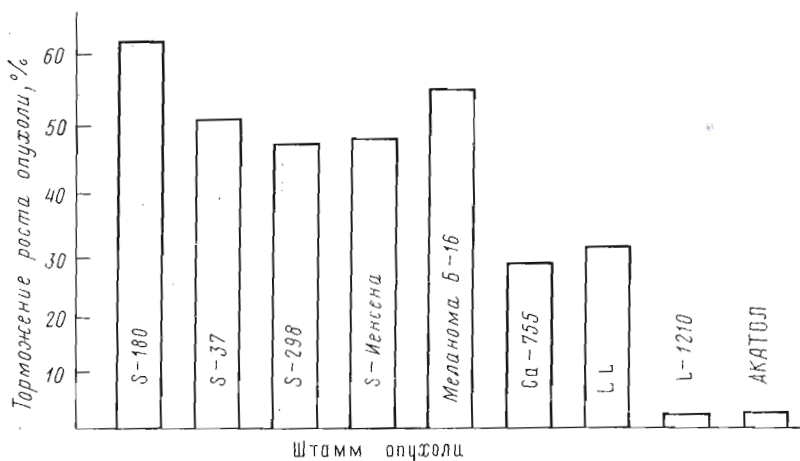


Рис. 2. Спектр противоопухолевого действия ГМДП (I): S – саркома; Са-755 – аденокарцинома молочной железы; LL – карцинома легких Льюис; L-1210 – лейкомия; АКАТОЛ – аденокарцинома толстой кишки. Для L-1210 показано продление жизни животных по сравнению с контролем в процентах [39]

незащищенные пептиды не вызывают некроза опухолевой ткани. Наблюдающийся в отдельных случаях эффект на рост опухоли (незначительная стимуляция у аланил-*D*-изоглутамина (XV) и слабое торможение у аланил-*D*-глутаминовой кислоты (XVI) и у *N*-ацетилмурамовой кислоты (XIII)), по-видимому, нуждается в дальнейшей проверке.

Укорочение пептидной цепи ГМДП (переход к дисахаридаланину (X)) или углеводной цепи (переход к МДП (VII)), а также переход от гликопептида (II) к соответствующему моносахаридному аналогу (VIII) сопровождаются снижением активности. При удлинении пептидной цепи (дисахаридпентапептид (XVIII) [23]), несмотря на изменение порядка аминокислот по сравнению с природным аналогом, например из *Lactobacilli* (рис. 1 [25]), биологическая активность сохраняется. При удлинении углеводной цепи (переход к тетрасахарид-бисдипептиду (XI)) наблюдается менее выраженный некроз, но более высокий процент торможения роста опухоли, чем при той же или даже вдвое более высокой мольной дозе дисахариддипептида (I). Максимальный эффект (некроз у 100% животных при значительном торможении роста опухоли) обнаружила смесь продуктов ферментативного гидролиза клеточной стенки *M. lysodeikticus*, по-видимому также содержащая компоненты с удлиненной пептидной и/или углеводной частью. Обращение конфигурации аланинового остатка при переходе от ГМДП к соединению (II), замена карбоксамидной группировки на карбоксильную (IV) или сочетание указанных модификаций (V) несущественно влияют на активность; полученные препараты высокоэффективны. Резкое падение активности происходит при обращении конфигурации остатка изоглутамина (III) или при его замене на остаток *D*-Asp-NH<sub>2</sub> (VI). Аналогичная замена у МДП (переход (VII) → (IX)) также приводит к неактивному препарату.

Механизм биологического действия гликопептидов исследуемого класса еще не выяснен. Не исключено, что противоопухолевое действие связано с адьювантными свойствами этих соединений. Поэтому интересно сопоставить полученные нами данные о влиянии структурных факторов на противоопухолевую активность с литературными данными по влиянию аналогичных структурных изменений на адьювантное действие\*. Как

\* Адьювантную активность вновь синтезированных гликопептидов определяли Л. Е. Никитина, Л. К. Масленникова, М. А. Бичурнина, Э. А. Фридман и Ф. С. Носков (НИИЭМ им. Пастера, Ленинград).

## Адьювантная и противоопухолевая активность гликопептидов

Номер	Соединение	Адьювантная актив- ность [лит. источник]	Противоопухолевая активность
(I)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	+ [24, 26, 27, 32]	+
(II)	GlcNAc-MurNAc-D-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	+ [24]	+
(III)	GlcNAc-MurNAc-Ala-Glu-NH <sub>2</sub>	± [24]	-
(IV)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Glu		+
(V)	GlcNAc-MurNAc-D-Ala-D-Glu	± [24]	+
(VI)	GlcNAc-MurNAc-Ala-D-Asp-NH <sub>2</sub>	± [24]	+
(VII)	MurNAc-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	+ [4, 5, 32-34]	+
			+ [20]
			- [16, 17, 19]
(VIII)	MurNAc-D-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	- [24, 34, 35, 40]	±
(IX)	MurNAc-Ala-D-Asp-NH <sub>2</sub>	- [5, 24]	-
(X)	GlcNAc-MurNAc-Ala	- [4], + [24]	+
(XI)	GlcNAc-MurNAc	- [4]	-
(XII)	MurNAc	- [5]	-
(XIII)	(-GlcNAc-MurNAc) <sub>2</sub>		-
(XIV)	Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	- [34]	-
(XV)	Ala-D-Glu	- [34]	-
(XVI)	Ala-D-Glu-D-Asp-NH <sub>2</sub>		-
	ε ↓ Lys-D-Ala-NH <sub>2</sub>		
(XVII)	GlcNAc-MurNAc		+
	↓ Ala-D-Glu-D-Asp-NH <sub>2</sub>		
	ε ↓ Lys-D-Ala-NH <sub>2</sub>		
(XIX)	GlcNAc		-
(XX)	D-Lac-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	- [35]	
(XXI)	Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	- [5]	
	γ <sup>1</sup> Lys-D-Ala		
(XXII)	MurNAc-Ala	- [5, 6]	
(XXIII)	MurNAc-Ala-D-Glu	+ [5, 33, 34] - [33, 35]	
(XXIV)	MurNAc-Ala-Glu-NH <sub>2</sub>	- [5, 34, 35]	
(XXV)	MurNAc-Ala-D-Glu-NH <sub>2</sub>	+ [5]	
	γ <sup>1</sup> Lys-D-Ala		

видно из табл. 3 и 4, между этими двумя видами активности существует определенная корреляция. Например, как для дисахаридных производных, так и для мурамилпептидов отмечается значительное падение обоих видов активности при удалении остатка D-Glu-NH<sub>2</sub>: (I) → (X), (VII) → (XXII), или его замене на L-Glu-NH<sub>2</sub>: (I) → (III), (VII) → (XXIV) или D-Asp-NH<sub>2</sub>: (I) → (VI), (VII) → (IX). Отдельно взятые аминокислоты и олигосахариды (XII) — (XIV), (XIX) или пептиды (XV) — (XVII), (XX), (XXI) неактивны. Удлинение пептидной цепи ГМДП [(I) → (XVII)] не влияет на противоопухолевую активность, а сходная замена у МДП [(VII) → (XXV)] не влияет на адьювантное действие. Вместе с тем, если некоторые замены в МДП [(VII) → (VIII), (IX), (XXII), (XXIV)] при-

водят к полной потере адьювантных, а в случае производного (IX) — и противоопухолевых свойств, аналогичные замены в ряду ГМДП (I) не столь драматичны: дисахаридаланин (X) и дисахаридаланил-*D*-изоаспарагин (VI) в отличие от *N*-ацетилмурамовых аналогов сохраняют, хотя и ослабленную, адьювантную и противоопухолевую активность, а гликопептид дисахарид-*D*-аланил-*D*-изоглутамин (II) обнаруживает высокую иммуностимулирующую и противоопухолевую активность. В целом как ГМДП, так и его производные с измененной пептидной частью обладают более высокой адьювантной и противоопухолевой активностью, чем МДП и соответствующие его аналоги.

### Экспериментальная часть

Температуры плавления определены в блоке Кофлера (ГДР) (температуры исправлены), углы вращения — на поляриметре «Perkin Elmer-141» (Швеция). Данные элементного анализа для синтезированных соединений соответствовали вычисленным. Аминокислотный и аминокислотный анализ проводили на аминокислотном анализаторе «Liquimat» (Labotron, ФРГ) на смоле DC-6A (0,45×33 см), используя последовательно стандартные *Na*-цитратные буферные растворы с pH 3,25 (50°С) и (после выхода аланина) с pH 6,45 (68°С). Скорость в системе буферного раствора и нингидринового реагента 20 и 10 мл/ч соответственно\*. Образцы соединений гидролизовали 6 н. HCl при 110°С в течение 24 ч (пептиды), 2 и 24 ч (аминосахара) и 16 ч (гликопептиды). При обработке результатов вносили поправку на степень разложения аминокислотных и аминокислотных остатков в условиях гидролиза.

Системы для тонкослойной хроматографии (силикагель фирмы «Merck»): *n*-бутанол — этанол — вода, 3 : 6 : 1 (А); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 3 : 1 : 1 (Б); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода 2 : 1 : 1 (В); бензол — этанол, 8 : 2 (Г); хлороформ — метанол, 9 : 1 (Д). Обнаружение на хроматограммах Вос-производных проводили нингидрином, предварительно выдержав пластинки в парах HCl; хроматограммы гликопептидов обрабатывали бензидином или анилинфталатом.

1. *N*-Ацетилглюкозаминил-(β 1-4)-*N*-ацетилмурамовую кислоту (XII) выделяли из биомассы *M. lysodeikticus* по методике Хошино [29] в виде белого гигроскопического аморфного порошка. Выход 1 г (1%) из 100 г биомассы. Аминокислотный и аминокислотный анализ: Мур — GlcNH<sub>2</sub> 1,0 : 1,0 (гидролиз 2 ч); 1,0 : 1,03 (24 ч), аминокислот нет. Найдено, % : С 43,88 Н 6,70; N 5,00. С<sub>19</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>13</sub>·1,5H<sub>2</sub>O. Вычислено, % : С 43,59; Н 6,74; N 5,30.

2. γ-Бензиловый эфир трет-бутилоксикарбонил-аланил-*D*-изоглутамина (Ia). а) Раствор 17,88 г (0,05 моль) γ-бензилового эфира трет-бутилоксикарбонил-*D*-изоглутамина [30] в 300 мл трифторуксусной кислоты выдерживали 30 мин при 20°С. После упаривания остаток кристаллизовали из смеси эфира с гексаном. Получали 17,7 г (99,9%) трифторацетата γ-бензилового эфира *D*-изоглутамина в виде белого порошка. Т. пл. 87–88°С, *R*<sub>f</sub> 0,5 (В).

б) К раствору 17,7 г (0,05 моль) трифторацетата γ-бензилового эфира *D*-изоглутамина в 20 мл ДМФА добавляли 5,5 мл (0,05 моль) *N*-метилморфолина и 18,6 г (0,06 моль) *n*-нитрофенилового эфира трет-бутилоксикарбонилаланина и выдерживали 2 сут при 40°С. Растворитель упаривали, остаток растворяли в этилацетате, промывали 1 н. NH<sub>2</sub>OH, 1 н. лимонной кислотой и насыщенным раствором NaCl. Остаток после упаривания перекристаллизовывали из этилацетата. Получали 19,3 г (95%) защищенного дипептида (Ia).

3. *N*-Ацетилглюкозаминил-(β 1-4)-*N*-ацетилмурамил-аланил-*D*-изоглутамин (I). а) Раствор 1,6 г (3,6 ммоль) защищенного дипептида (Ia) в

\* Методика анализа разработана И. Е. Федуловой (ИБХ АН СССР).

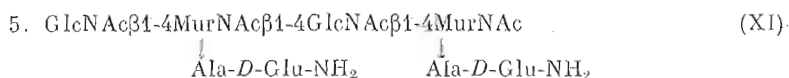
5 мл трифторуксусной кислоты выдерживали 30 мин при 20° С. После упаривания получали 1,65 г (99,7%) трифторацетата дипептида (Iб) в виде аморфного порошка.  $R_f$  0,45 (А), 0,55 (Б).

б) К раствору 1,3 г (2,6 ммоль) дисахарида (XII) в 70 мл свежеперегнанного ДМФА при 0° С и перемешивании добавляли 0,8 мл триэтиламина и 0,9 г (3,6 ммоль) реактива Вудворда К [31]. Смесь выдерживали 1,5 ч при 0° С, затем 1,5 ч при 20° С до полного растворения реагентов. Добавляли 0,5 мл триэтиламина и в течение 15–20 мин 1 г (2,3 ммоль) трифторацетата дипептида (Iб), растворенного в 5 мл ДМФА. Реакционную смесь выдерживали 24 ч при 20° С. Остаток после упаривания растворяли в 50% водном метаноле и пропускали через колонку (170 мл) с дауэксом 50×8, а затем через колонку с дауэксом 1×8. Элюировали в обоих случаях 50% водным этанолом. После упаривания получали 1,45 г (77,8%) неочищенного безвильного эфира дисахариддипептида (Iв), содержащего 75–90% целевого продукта (данные ТСХ).

в) 1,45 г полученного продукта конденсации без дополнительной очистки подвергали гидрогенолизу над Pd-чернью в 25 мл 75% уксусной кислоты при 20° С. После упаривания остаток растворяли в 2 мл H<sub>2</sub>O и хроматографировали на колонке (170 мл) с дауэксом 1×8 в CH<sub>3</sub>COO-форме, используя градиентную элюцию смесью вода – 0,5 н. уксусная кислота. После лиофилизации получали 0,87 г дисахариддипептида (I) в виде белого аморфного гигроскопического порошка. Выход 53% от TFA-дипептида (Iб). Аминокислотный и углеводный анализ: Ala – Glu – Mur – GlcNH<sub>2</sub> 1,0 : 0,96 : 1,01 : 1,02. Найдено, %: С 39,64; Н 7,11; N 8,41. C<sub>27</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>16</sub>·7H<sub>2</sub>O. Вычислено, %: С 39,22; Н 7,23; N 8,51.

4. *N*-Ацетилглюкозаминил-(β1–4)-*N*-ацетилмурамиллаланин (X) (см. схему 2). а) В условиях опыта 3б из 0,16 г (0,33 ммоль) дисахарида (XII) и 0,9 г (0,3 ммоль) шитробензилowego эфира бромгидрата аланина в присутствии 0,05 мл триэтиламина и 0,1 г (0,45 ммоль) реактива Вудворда К получали 0,8 г (33%) защищенного дисахаридаланина (Xa).

б) Аналогично опыту 3в из 0,5 г производного (Xa) получали 0,32 г (80%) дисахаридаланина (X).



Исходный тетрасахарид *N*-ацетилглюкозаминил-(β1–4)-*N*-ацетилмура-мил-(β1–4)-*N*-ацетилглюкозаминил-(β1–4)-*N*-ацетилмурамовую кислоту (XIV) выделяли из биомассы *M. lysodeikticus* [29]. Выход 0,1 г (0,025%) в виде белого гигроскопического порошка из 400 г биомассы. Аминокислотный и углеводный анализ: Mur – GlcNH<sub>2</sub> 1,0 : 1,0 (гидролиз 16 ч) и 1,0 : 1,04 (24 ч), аминокислот нет. Найдено, %: С 44,57; Н 6,63; N 5,00. C<sub>38</sub>H<sub>62</sub>N<sub>4</sub>O<sub>25</sub>·3H<sub>2</sub>O. Вычислено, %: С 44,35; Н 6,66; N 5,45.

Из 243 мг (0,25 ммоль) тетрасахарида (XIV) и 210 мг (0,5 ммоль) трифторацетата дипептида (Iб), введенных в конденсацию в условиях опыта 3б, после хроматографии на ионообменных смолах получали 50 мг неочищенного продукта конденсации, из которого в результате деления на препаративных пластинках «Merck» в системе *n*-бутанол – этанол – вода, 3 : 6 : 1, получали 18 мг защищенного гликопептида (XIa) и (после удаления безвильных групп) 10 мг тетрасахарид-бисдипептида (XI). Аминокислотный и аминокислотный анализ: Ala – Glu – Mur – GlcNH<sub>2</sub> 1,00 : 1,01 : 1,00 : 1,05.  $R_f$  0,1 (А). Найдено, %: С 44,01; Н 6,74; N 9,44. C<sub>53</sub>H<sub>86</sub>N<sub>10</sub>O<sub>29</sub>·6H<sub>2</sub>O. Вычислено, %: С 44,34; Н 6,88; N 9,76.

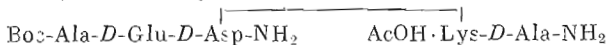
6. *Гликопептиды* (II) – (IX) (схема 1). Аналогично синтезу дисахариддипептида (I) из защищенных пептидов (IIa) – (VIa) (табл. 2) по методике 3а получали трифторацетаты соединений (IIб) – (VIб). Последние вводили в реакцию конденсации с дисахаридом (XII) (синтез (II) – (VI)) или с *N*-ацетилмурамовой кислотой (Sigma) (синтез (VII) –

(IX)) согласно методике 3б и после гидрогенолиза над Pd-чернью и хроматографического деления на ионообменниках, как описано в методике 3в, получали гликопептиды (II) — (IX) с выходом 30—40% от исходных защищенных пептидов. Физико-химические характеристики полученных соединений приведены в табл. 1.

7. Трифторацетат аланил-D-изоглутамина (XV) (см. табл. 3). 0,7 г защищенного дипептида (Ia) растворяли в метаноле и гидрировали над Pd-чернью. Остаток после фильтрации и упаривания кристаллизовали из смеси метанол — эфир. Получали 0,5 г (98%) *трет*-бутилоксикарбонилаланил-D-изоглутамина. Полученное соединение растворяли в TFA, выдерживали 30 мин и высаживали абсолютным эфиром. Выход 0,48 г (97%) трифторацетата дипептида (XV) в виде белого гигроскопического порошка.

8. Трифторацетат аланил-D-глутаминовой кислоты (XVI). В условиях предыдущего опыта из 0,8 г защищенного дипептида (IVa) (см. табл. 2) получали 0,48 г трифторацетата дипептида (XVI).

9. Трифторацетат амида N<sup>ε</sup>-(аланил-D-глутамил-D-изоаспарагинил)-лизил-D-аланина (XVII) получали согласно методике 7 из 0,5 г



[23] в 2 мл TFA в виде белого кристаллического порошка с выходом 0,47 г (97%).

10. Гликопептидные фракции из *M. lysodeikticus*. 10 г лиофилизированной биомассы *M. lysodeikticus* («Союзреактив») суспендировали в 400 мл 0,05 М аммоний-ацетатного буфера, pH 6,8, добавляли 100 мг лизоцима («Союзреактив»), 0,2 мл толуола и инкубировали 24 ч при 37° С. Непрореагировавший остаток (12%) отделяли центрифугированием (6000 об./мин), супернатант подвергали ультрафильтрации через фильтр UM-10 (Amicon ultrafiltration cell model 402, США) при 4° С. Остаток на фильтре (~5 г) суспендировали в 200 мл того же буфера и вторично подвергали инкубации со 120 мг лизоцима и фильтрации через фильтр UM-10. Из объединенных фильтратов получали 1,5 г фракции с  $M < 10\,000$ , которую делили последовательно на колонках с дауэксом 1×8 и биогелем P-4 [37] и получали 30 мг фракции с  $M \sim 1000$ . Время выхода этой фракции с колонки (биогель P-4) соответствовало выходу синтетического гликопептида (XVIII) [23] с  $M\ 1233,2$ . Аминокислотный и аминокислотный анализ полученного препарата: GlcNH<sub>2</sub> — Mur — Glu — Lys — Gly — Ala 3,79 : 3,09 : 0,76 : 1,01 : 1,00 : 2,27.

Гликопептидные фракции из *E. coli* В<sub>1</sub> выделяли согласно методике [38]. Инкубацию с лизоцимом, дальнейшую обработку смеси и выделение фракций гликопептидов различных молекулярных масс проводили аналогично опыту с препаратами из *M. lysodeikticus*. Из 200 мг исходных пептидогликанов получали 80 мг смеси гликопептидов с  $M < 10\,000$ , 25 мг с  $M < 1000$  и 35 мг с  $M\ 10\,000$ — $100\,000$ .

*Испытание противоопухолевой активности гликопептидов на саркоме 180.* В эксперименте использовали белых беспородных мышей весом 18—20 г. Подкожную трансплантацию солидной формы саркомы Крокера 180 проводили по методике, принятой Онкологическим центром АМН СССР [39]. Препараты в 0,5 мл физиологического раствора вводили внутривенно однократно на 7—8-е сут после перевивки опухоли. Противоопухолевый эффект оценивали: 1) визуально через 24 ч после введения препарата по числу животных с некротическими реакциями в опухолях, считая реакцию положительной при охвате некрозом всей опухоли или когда по периферии остается лишь небольшая каемка опухоли без некроза; 2) через 7 сут после введения препарата по торможению роста опухоли, определяемому по среднему весу опухолей после забоя животных. Процент торможения вычисляли по формуле  $(K - O) \cdot 100 / K$ , где  $K$  — средний вес опухолей в контроле,  $O$  — средний вес опухолей у опытной группы животных. В опытах с многократным введением гликопептидов исключили забой животных на 7-е сут. Эффект торможения роста оценивали, измеряя объем опухоли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kotani S., Narita T., Stewart-Tull D. E. S., Shimono T., Watanabe Y., Kato K., Iwata S. *Biken J.*, 1975, v. 18, № 2, p. 77-92.
2. Chedid L., Lederer E. *Biochem. Pharmacol.*, 1978, v. 27, № 18, p. 2183-2186. Chedid L., Carelli C., Audibert F. *J. Ret. Endo Soc.*, 1979, v. 26, December supplement, p. 631-641. Lederer E. *J. Med. Chem.*, 1980, v. 23, № 8, p. 819-825.
3. Gislis R. H., Dietrich F. M., Baschang G., Brownbill A., Schumann G., Staber F. G., Tarcsay L., Wachsmuth E. D., Dukor P. In: *Drugs and immune responsiveness* / Eds Turk J. L., Parker D. N. Y.: MacMillan Press, 1979, p. 133-160.
4. Ellouz F., Adam A., Giorbaru R., Lederer E. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1974, v. 59, № 4, p. 1317-1325.
5. Kotani S., Watanabe Y., Kinoshita F., Shimono T., Morisaki I., Shiba T., Kusumoto S., Tarumi Y., Ikenaka K. *Biken J.*, 1975, v. 18, № 2, p. 105-111.
6. Merser C., Sinay P., Adam A. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1975, v. 66, № 4, p. 1316-1322.
7. Kusumoto S., Tarumi Y., Ikenaka K., Shiba T. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1976, v. 49, № 2, p. 533-539.
8. Kusumoto S., Inage M., Shiba T., Azuma I., Yamamura Y. *Tetrahedron Lett.*, 1978, v. 49, p. 4899-4902.
9. Lefrancier P., Choay J., Derrien M., Lederman I. *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1977, v. 9, p. 249-257.
10. Lefrancier P., Petitou M., Level M., Derrien M., Choay J., Lederer E. *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1979, v. 14, p. 437-444.
11. Parant M. A., Audibert F. M., Chedid L. A., Level M. R., Lefrancier P. L., Choay J. P., Lederer E. *Infect. Immunol.*, 1980, v. 27, № 3, p. 826-831.
12. Galelli A., Le Garrec Y., Chedid L., Lefrancier P., Derrien M., Level M. *Infect. Immunol.*, 1980, v. 28, № 1, p. 1-5.
13. Johnson A. G., Audibert F., Chedid L. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1978, v. 3, p. 219-227.
14. Маре Ж. Активная иммунотерапия рака, иммунопрофилактика и иммунореабилитация. М.: Медицина, 1980, с. 161-186, 209-294.
15. Purnell D. M., Bartlett G. L., Kreider J. W., Biro T. G., Kontra J. *Cancer Res.*, 1979, v. 39, № 12, p. 4838-4842.
16. Shiba T., Okada S., Kusumoto S., Azuma I., Yamamura Y. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 1978, v. 51, № 11, p. 3307-3311.
17. Kobayashi S., Fukuda T., Imada I., Fujino M., Azuma I. *Chem. Pharm. Bull.*, 1979, v. 27, № 12, p. 3193-3196.
18. Yamamura Y., Azuma I., Sugimura K., Yamawaki M., Uemiyama M., Kusumoto S., Okada S., Shiba T. *Gann*, 1976, v. 67, p. 867; *Proc. Japan. Acad.*, 1977, v. 53, p. 63.
19. Azuma I., Sugimura K., Taniyama T., Yamawaki M., Yamamura Y., Kusumoto S., Okada S., Shiba T. *Infect. Immunol.*, 1976, v. 14, № 6, p. 18-27.
20. Byars N. E., Ferrarrest R. W. *Ann. Meeting Amer. Soc. Microbiol.*, 1979, E 13.
21. Bogdanov P. G., Dalev P. G., Gurevich A. I., Kolosov M. N., Mal'kova V. P., Pletyanikova L. A., Sorokina I. B. *FEBS Lett.*, 1975, v. 57, № 3, p. 259-261.
22. Богданов П. Г., Величина В. Т., Гуревич А. И., Далев П. Г., Колосов М. Н., Малькова В. П., Сорокина И. Б., Христова Л. Н. *Бюл. экскпер. бюл. мед.*, 1977, т. 84, № 12, с. 709-712.
23. Андропова Т. М., Ростовцева Л. И., Добрушкина Е. П., Гаврилов Ю. Д., Дешко Т. Н., Иванов В. Т. *Биоорг. химия*, 1980, т. 6, № 12, с. 1830-1841.
24. Ivanov V. T., Rostovtseva L. I., Andronova T. M., Sorokina I. B., Mal'kova V. P., Gavrillov Yu. D., Noskov F. S., Fridman E. A. *Proc. 16 Eur. Pept. Symp.*, 1980, Hel-singer.
25. Schleifer K. H., Kandler O. *Bacteriol. Revs.*, 1972, v. 36, № 4, p. 407-477.
26. Kusumoto S., Yamamoto K., Shiba T. *Tetrahedron Lett.*, 1978, v. 45, p. 4407-4410.
27. Durette Ph. L., Meitzner E. P., Shen T. Y. *Carbohydr. Res.*, 1979, v. 77, p. C1-C4.
28. Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Ростовцева Л. И., Андропова Т. М., Сорокина И. Б., Малькова В. П. *Авт. свид.*, 1977, № 727647. *Бюл. изобр.*, 1980, № 14, с. 118.
29. Hoshino O., Zenavi U., Sinay P. *J. Biol. Chem.*, 1972, v. 247, № 2, p. 381-390.
30. Lefrancier P., Bricas E. *Bull. Soc. chim. Biol.*, 1967, v. 49, p. 1257-1271.
31. Woodward R. B., Olofson R. A., Mayer H. J. *Amer. Chem. Soc.*, 1961, v. 83, № 4, p. 1010-1012.
32. Tsujimoto M., Kinoshita F., Okunaga T., Katani S., Kusumoto S., Yamamoto K., Shiba T. *Microbiol. Immunol.*, 1979, v. 23, № 9, p. 933-936.
33. Audibert F., Chedid L., Lefrancier P., Choay J. *Cell. Immunol.*, 1976, v. 21, p. 243-249.
34. Chedid L., Audibert F., Lefrancier P., Choay J., Lederer E. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1976, v. 73, № 7, p. 2472-2475.
35. Adam A., Devys M., Souvannavong V., Lefrancier P., Choay J., Lederer E. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1976, v. 72, № 1, p. 339-346.

36. Sharon N., Osawa T., Flowers H., Jeanloz R. W. J. Biol. Chem., 1966, v. 241, № 1, p. 223-230.
37. Mirelman D., Sharon N. J. Biol. Chem., 1967, v. 242, № 15, p. 3414-3427.
38. Nguyen-Huy H., Nauciel Ch., Wermuth C.-G. Eur. J. Biochem., 1976, v. 66, p. 79-84.
39. Софьина З. П. Вopr. онкология, 1976, т. 22, № 4, с. 82-96.
40. Adam A., Lefrancier P., Lederer E. US Patent 4, 101, 049, 1978.

Поступила в редакцию  
12.VI.1981

**SYNTHESIS AND ANTITUMOR ACTIVITY OF GLYCOPEPTIDES CONTAINING  
N-ACETYLGLUCOSAMINYL-( $\beta$  1-4)-N-ACETYLMURAMYL DISACCHARIDE UNIT**

**ROSTOVTSOVA L. I., ANDRONOVA T. M., MALKOVA V. P.,  
SOROKINA I. B., IVANOV V. T.**

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy  
of Sciences of the USSR, Moscow*

A novel convenient approach has been developed to glycopeptides containing the N-acetylmuramyl, N-acetylglucosaminy-( $\beta$ 1-4)-N-acetylmuramyl or (N-acetylglucosaminy-( $\beta$ 1-4)-N-acetylmuramyl)<sub>2</sub> moiety. A series of eleven glycopeptides were synthesized and their antitumor activity studied in sarcoma 180. Some of them induced selective tumor necrosis and inhibited the tumor growth. Glycopeptide fractions obtained from lysozyme hydrolysates of *E. coli* and *Micrococcus lysodeikticus* cell walls also display high antitumor activity. The antitumor spectrum was studied for the most active synthetic preparation, N-acetylglucosaminy-( $\beta$ 1-4)-N-acetylmuramylalanyl-D-isoglutamine, which represents the common repeating glycopeptide fragment of bacterial cell walls. Selected samples were tested for adjuvant activity. Structure-activity relationship of glycopeptides is discussed. The disaccharide containing glycopeptides were found generally more active than the respective N-acetylmuramyl derivatives.