

УДК 547.963.1

ПРИМЕНЕНИЕ N-АЦЕТИЛМУРАМОИЛ-L-АЛАНИЛ-D-ИЗОГЛУТАМИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ В КАЧЕСТВЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ

Крылова А. М., Цикалова В. Н.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: vika.tim@list.ru*

Рассмотрено проявление иммуноадьювантной, противоопухолевой, антиинфекционной активности *N*-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина (МДП) *in vivo* и *in vitro*. Показано, что сам МДП обладает рядом побочных эффектов, что препятствует его клиническому применению, поэтому актуальным становится синтез производных мурамоилдипептида с гидрофильными и липофильными свойствами. В качестве примеров представлены ромуртид, мурабутид, глимурид и ликопид как эффективные препараты с иммуномодулирующим действием.

Ключевые слова: *N*-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамин, мурамоилдипептид, адьювант, активность, иммуномодулятор.

ВВЕДЕНИЕ

С того момента как в 1974 году благодаря работе Е. Ледерера и С. Котани был идентифицирован *N*-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамин (мурамоилдипептид, МДП) как наименьшая активная единица клеточной стенки, входящая в состав активной фракции микобактерий, началась новая эра в иммунологии. Большие усилия ученых были направлены на установление связи «структура – активность» и привели к открытию новых синтетических низкомолекулярных адьювантов, стимулирующих выработку эндогенных медиаторов, синтез антителообразующих клеток, гиперчувствительность замедленного типа, неспецифическую резистентность к инфекциям, а также противоопухолевую активность.

В отличие от бактериальных иммуностимуляторов, синтетические адьюванты – аналоги МДП не токсичны, не иммуногенны и эффективны [1]. Некоторые из этих препаратов уже проходят расширенные клинические испытания. Свыше 800 аналогов МДП синтезированы в целях изучения взаимосвязи «структура – активность» и создания новых иммуномодуляторов.

В данном обзоре рассмотрены достижения в области адьювантной активности мурамоилдипептида и некоторых его синтетических аналогов.

1. ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ N-АЦЕТИЛМУРАМОИЛ-L-АЛАНИЛ-D-ИЗОГЛУТАМИНА.

1.1. Иммуноадьювантная активность N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина.

В иммунологии термин «адьювант» обозначает способность вещества стимулировать гуморальный или клеточный иммунный ответ. Основными компонентами гуморальной иммунной системы защиты являются специфические антитела. Роль клеточной защитной системы иммунитета выполняют различные компоненты: Тс-клетки, имеющие собственные рецепторы; различные типы гранулоцитов и нормальные киллеры, которые при связывании с цитотоксичными антителами становятся специфическими защитными клетками.

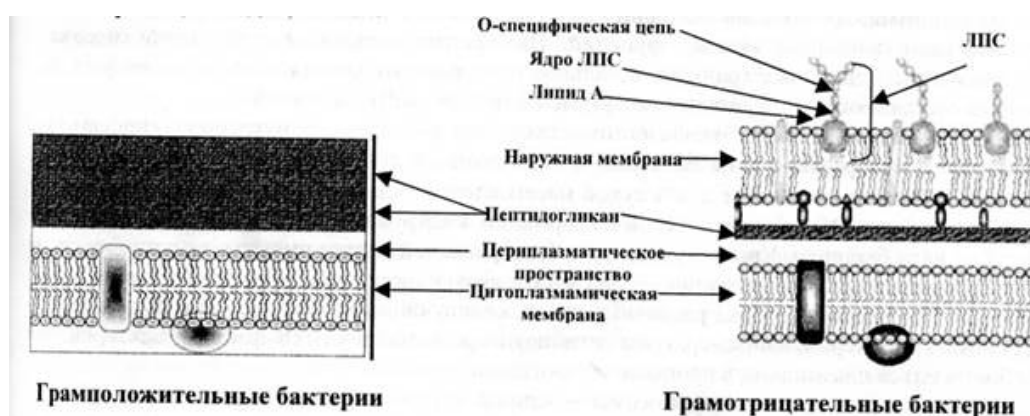
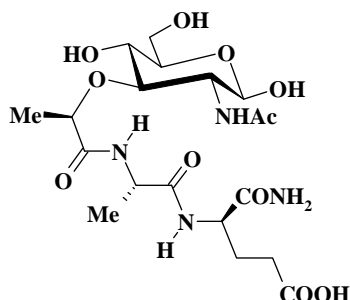


Рис. 1. Схема строения клеточной стенки грамположительной бактерии (золотистого стафилококка) и грамотрицательной бактерии (кишечной палочки).

N-Ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамин **1**, входящий в состав пептидогликанов клеточных стенок многих бактерий, является минимальной адьювантно-активной структурой, способной заменить целые микробактериальные клетки. МДП стимулирует выработку антител при введении с антигеном в водно-масляной эмульсии и индуцирует реакцию гиперчувствительности замедленного типа [2]. В отличие от микобактериальных адьювантных препаратов, которые функционируют только в форме водно-масляных эмульсий, МДП стимулирует выработку антител при введении в водном растворе, в салине, а также при введении в липосомах [3].

МДП обладает адьювантным эффектом, способностью стимулировать антиинфекционную резистентность, противоопухолевый иммунитет, активировать иммунокомпетентные клетки, способен стимулировать выработку антителобразующих клеток независимо от метода введения антигена [4, 5]. Одновременное введение мурамоилдипептида с антибиотиками вызывает синергетическое противоинфекционное действие. Однако существуют серьезные препятствия к клиническому применению этого гликопептида – достаточно высокая

пирогенная активность и быстрое выведение из организма после системного введения вследствие высокой гидрофильности. Из-за быстрого выведения МДП с мочой препарат не успевает эффективно воздействовать на иммунокомпетентные клетки.



1

1.2. Противоопухолевое и антиинфекционное действие МДП.

Мурамоилдипептид не проявляет противоопухолевого эффекта *in vivo*, однако он сам и ряд его производных *in vitro* могут усиливать цитостатическую активность брюшинных макрофагов против опухолевых клеток [6]. Известно, что при инкапсулировании МДП в фосфатидилхолин-фосфатидилсериновые липосомы цитотоксичность макрофагов возрастала в 2 раза [7]. Препарат, введенный в салине, активирует макрофаги, которые ингибируют рост опухолевых клеток.

МДП обладает антиинфекционной активностью при внутривенном, подкожном и пероральном способах введения [8]. Препарат стимулирует устойчивость к инфекции *Trypanosoma cruzi* у мышей при введении профилактически до заражения или в течение первых 16 дней после инфицирования. Известно, что МДП стимулирует антимикробную активность фагоцитов мышей против инфекции *Candida parapsilosis* при введении в дозе 100 мкг [9]. Также обнаружена антиинфекционная активность против *Salmonella* [10]. Однако МДП не защищает от инфекции *Toxoplasma gondii* и *Listeria monocytogenes* [11]. При введении МДП или нор-МДП в неполный адьювант Фрейнда с использованием в качестве антигенов *Plasmodium baleiparum* или *P. knowlesi* появлялся защитный иммунитет против малярии у обезьян [12]. Проявленный эффект МДП связан со стимуляцией неспецифической устойчивости [6]. Сам мурамоилдипептид не обладает антигенными свойствами, но является гаптогеном [13].

1.3. Побочные эффекты N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина.

МДП обладает рядом побочных эффектов, о которых было сказано. Он токсичен, пирогенен, способен индуцировать аутоиммунные заболевания, в том числе адьювантные артриты, грануломы, скоротечную лейкопению, эндотоксический шок. Острая его токсичность составляет примерно 2200 мг/кг при внутрибрюшинном введении.

Мурамилпептид активирует костный мозг, высвобождает пирогенные факторы, такие как интерлейкин-1, и вызывает кратковременное увеличение кортизола в плазме. Показано, что МДП усиливает выделение простагландина E₂ из макрофагов [14]. Он может оказывать непосредственное влияние на термочувствительные

структуры мозга. Так, повышение температуры возникало при введении в 10 000 раз меньшей дозы в спинной мозг. Отмечено, что пирогенные свойства усиливаются при сочетании с полимерными носителями. Пирогенную активность МДП можно ингибировать путем введения индометацина, тормозящего синтез подобных медиаторов терморегуляции, при этом адьювантные свойства МДП сохраняются. МДП вызывал адьювантные артриты у крыс при введении в водно-масляной эмульсии, а также способствовал образованию обширной гранулемы на коже у иммунодефицитных крыс, обусловленному подавлением функции Т-клеток [15].

2. СТРУКТУРНЫЕ АНАЛОГИ N-АЦЕТИЛМУРАМОИЛ-L-АЛАНИЛ-D-ИЗОГЛУТАМИНА И ИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ.

Перечисленные побочные эффекты N-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина ограничивали его терапевтическое применение в качестве адьюванта [16]. Поэтому перед химиками-синтетиками стала задача получения производных МДП с минимальными побочными эффектами. В настоящее время синтезировано несколько десятков производных МДП с улучшенными фармакодинамикой, фармакокинетикой и биологической доступностью, обладающих большей иммуностимулирующей активностью и меньшими побочными эффектами в сравнении с исходным препаратом. Синтезирован ряд структурных аналогов МДП, обладающих меньшей пирогенностью и большей иммуностимулирующей активностью. Некоторые изученные эффекты в зависимости от активности препарата в системе *in vivo* и *in vitro* представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Эффекты, обусловленные активностью производных МДП в системе *in vivo*

Активность	Эффект
Модулирование специфического иммунного ответа	Потенцирование гуморального и клеточного иммунного ответа, усиление экспрессии антигенов ГКГ на поверхности моноцитов/макрофагов [17], регулирование баланса Th1/Th2-клеток
Усиление естественных защитных механизмов	Усиление пролиферации стволовых клеток костного мозга, транзиторная лейкопения с последующим лейкоцитозом, активация макрофагов, усиление активности естественных киллеров, повышение резистентности к бактериальным и грибковым инфекциям [18] и опухолевому росту
Нейрофармакологическая активность	Пирогенный, сомногенный эффекты; частичный серотонинэргический агонизм, индукция эндогенной продукции морфина [19]

Продолжение таблицы 1

<p>Другие биологической активности виды</p>	<p>Провоцирование геморрагического некроза в месте введения, образование эпителиоидной гранулемы, противоопухолевый эффект и индуцирование продукции интерферонов, увеличение проницаемости сосудов, снижение артериального давления за счет прямого действия на гладкую мускулатуру сосудов и ингибирования ангиотензин-конвертирующего фермента [20], противовоспалительная активность [21], гепатопротекторный эффект [22], предотвращение ишемического инсульта печени [23]</p>
---	---

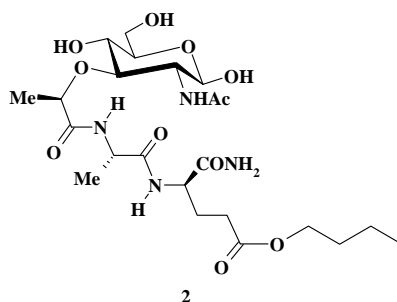
Таблица 2

Эффекты, обусловленные активностью производных МДП в системе *in vitro*

Активность	Эффект
<p>Стимулирование клеток, участвующих в иммунном ответе</p>	<p><i>Моноциты-макрофаги:</i> хемотаксис, стимуляция дифференцировки и фагоцитоза, супрессия синтеза ДНК, стимуляция освобождения лизосомальных ферментов и супероксида, усиление захвата глюкозамина, стимуляция продукции монокинов, простагландина и коллагеназы, индукция тумороксической и туморостатической активности, подавление в этих клетках репликации ВИЧ-1 [24], усиление экспрессии антигенов ГКГ, CD18, CD54 (ICAM-1), CD86 (B7-2) и др. <i>В-клетки:</i> митогенная активность, поликлональная активация, модуляция антителообразования, Т-хелпер-замещающая активность и др. <i>Т-клетки:</i> стимуляция дифференцировки, активация хелперной функции, индукция Т-киллеров, стимуляция реакции смешанной культуры лимфоцитов и др.; в высоких дозах активация Т-супрессоров <i>Другие клетки:</i> активация функций естественных киллеров, усиление фагоцитоза нейтрофилов, усиление освобождения гистамина тучными клетками, активация захвата гистидина базофилами</p>
<p>Эффекты на других клетках</p>	<p>Лизис и освобождение серотонина тромбоцитами, усиление пролиферации и выработки IL-1-подобного фактора фибробластами, усиление резорбции кости остеокластами, стимуляция продукции NO астроцитами</p>
<p>Действие на систему комплемента</p>	<p>Активация комплемента по классическому и альтернативному пути</p>

Некоторые производные МДП уже нашли клиническое применение в России или за рубежом, другие проходят клинические испытания. Разрешение на медицинское применение имеют такие препараты, как ромуртид (*N*-ацетилмурамил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин-*N*⁶-стеароил-*L*-лизин) в Японии и глимурид (β -гептилгликозид-МДП), ликолипид (*N*-ацетилглюкозаминил-*N*-ацетилмурамил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин, глюкозаминил-МДП, ГМДП) – в России. Последний препарат в настоящее время проходит клинические испытания в США, Англии, Австралии и Дании. За рубежом внедрены в клиническую практику или находятся на завершающих этапах клинических испытаний такие препараты, как мурабутид (*N*-ацетилмурамил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин-*n*-бутиловый эфир), 6-*O*-(тетрадецилгексадеcanoил)-*N*-ацетилмурамил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин (вещество В30-MDP). Препарат фосфатидилэтаноламид MDP-*L*-аланина (МТР-РЕ) используется в качестве лекарственного средства для лечения вторичных иммунодефицитов и ряда опухолей. Большинство из представленных производных МДП имеет липофильный характер. Рассмотрим структуру и свойства некоторых из них.

2.1. Структура и свойства мурабутида.



Мурабутид (*n*-бутиловый эфир *N*-ацетилмурамил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин) 2 прошел 1-ю и 2-ю фазу клинических испытаний в Австралии. Он показал практически полное отсутствие побочных эффектов. Через 6–8 ч после подкожного введения мурабутида в дозе 100 мкг/кг 12 здоровым мужчинам происходило существенное повышение уровня полиморфноядерных нейтрофилов, которое возвращалось к норме через 24 ч, и в сыворотке выявлялось некоторое количество растворимых рецепторов, которые являются антагонистами для этих противовоспалительных цитокинов. Мурабутид (Франция) зарекомендовал себя как препарат, стимулирующий неспецифическую резистентность к вирусным инфекциям. Доказана его способность подавлять репликацию вируса иммунодефицита человека I типа в макрофагах и дендритных клетках [24].

2.2. Структура и свойства ромуртида.

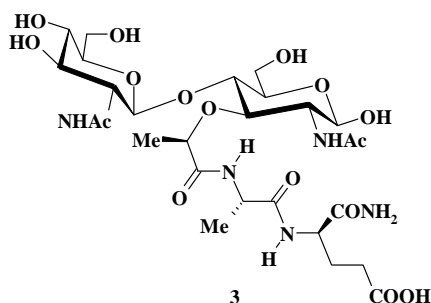
Ромуртид (ϵ -октадециламид MDP-*L*-лизина, название химического соединения – муруктазин, название лекарственного препарата – ромуртид) является первым иммуномодулятором мурамилдипептидного происхождения, разрешенным для медицинского применения. В доклинических исследованиях ромуртид повышал резистентность мышей к инфекциям, вызываемым *Corynebacterium kutscheri*,

Staphylococcus aureus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* и *Listeria monocytogenes* [25–27].

Ромуртид оказывал существенный синергический эффект в защите животных от инфекции в комбинации с антибиотиками: цефазолином, гентамицином, амфотерицином В. В процессе доклинических и клинических исследований было установлено, что ромуртид является мощным индуктором синтеза ИЛ-1, ИЛ-6 и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) в культуре моноцитарно-макрофагальных клеток, стимулятором лейкопоэза [28, 29].

Полученные данные позволили сделать вывод, что ромуртид является высокоэффективным лекарственным средством для восстановления числа лейкоцитов у онкологических больных после химио- или радиотерапии. Доклинические и клинические исследования показали, что ромуртид является перспективным адъювантом. Разрабатываются методики применения этого производного мурамилдипептида для усиления эффекта противовирусных вакцин, в частности экспериментальных вакцин против гепатита В [27, 30].

2.3. Структура и свойства ликопада.



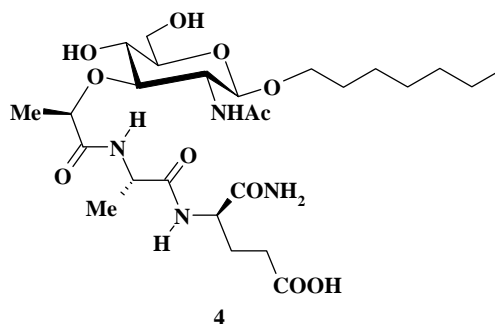
Ликопид (*N*-ацетилглюкозаминил-*N*-ацетилмурамил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин, ГМДП) **3** по сравнению с МДП обладает более высокой иммуностимулирующей активностью и слабой пирогенностью. Ликопид способен стимулировать развитие как клеточного, так и гуморального иммунного ответа. При иммунизации мышей БЦЖ этот препарат увеличивает в 3 раза синтез фактора, угнетающего миграцию макрофагов [25]. Ликопид вызывает 2–5-кратное усиление антителообразования к корпускулярным и растворимым антигенам. В доклинических исследованиях выраженный стимулирующий эффект был выявлен при использовании ликопада как адъюванта в экспериментальной ВИЧ-вакцине [26]. Стимулирующий эффект этого препарата был примерно в 2 раза выше, чем у МДП. Данные исследования показывают, что ликопид является перспективным адъювантом, пригодным для использования в составе широкого спектра вакцин.

Ликопид обладает также и антиинфекционной активностью. Его применение за 1–4 дня перед введением смертельной дозы *E. coli* или *Ps. aeruginosa* защищает от 60 до 100 % животных от гибели, причем ликопид и в этом тесте более эффективен, чем МДП [25]. Ликопид обладает и антивирусной активностью, подавляет распространение вируса гриппа в организме зараженных мышей.

Ликопид – эффективный иммуномодулятор, он с большим успехом применяется в комплексе с антибактериальными и противовирусными средствами, например, при лечении герпетических инфекций. Данный препарат является лекарственным средством, способствующим стимуляции лейкопоза. Ежедневное введение ликопида облученным животным в дозе 100 мкг в течение 8 дней достоверно увеличивает как общее число лейкоцитов, так и число нейтрофилов на 6–7-й день после облучения. Кроме того, ликопид обладает противоопухолевой активностью, тормозит рост некоторых перевиваемых опухолей, проявляет синергизм с другими противоопухолевыми агентами и иммуностимуляторами. Так, однократная инъекция циклофосфида за 1 ч до введения ликопида значительно ингибирует рост карциномы Льюиса LLC. В доклинических исследованиях комбинация ЛПС и ликопида полностью излечивала от тимомы EL-4, от саркомы Mc-11, у вылеченных мышей развивался противоопухолевый иммунитет. Результаты доклинических экспериментов и клинических испытаний показали высокий иммуностимулирующий эффект ликопида.

В настоящее время его применение разрешено при вторичных иммунодефицитных состояниях. Основными показаниями к назначению ликопида являются хронические неспецифические заболевания легких в стадиях обострения и ремиссии, острые и хронические гнойно-воспалительные процессы (постоперационные, посттравматические, постраневые), трофические язвы; туберкулез; острые и хронические вирусные инфекции, такие как генитальный и лабиальный герпес, герпетические кератиды и кератоувеиты, опоясывающий лишай, цитомегаловирусная инфекция; поражения шейки матки, вызванные вирусом папилломы человека, бактериальные и кандидозные вагиниты, урогенитальные инфекции [31].

2.4. Строение и свойства глимурида.



Действующим началом глимурида является амфифильный гликозидный дериват МДП (β -гептилгликозид-МДП). Высокая биодоступность и биологическая эффективность и низкая токсичность глимурида при пероральном приеме позволили внедрить это иммунотропное вещество в клиническую практику. Применение глимурида в лечении и реабилитации больных в резидуальную фазу хронического описторхоза вызывало стойкое восстановление угнетенной

фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов, нормализовало сывороточную концентрацию IgA, IgG и IgM.

Глимурид зарекомендовал себя как эффективный препарат для профилактики и коррекции иммунных и гематологических расстройств, вызванных химиотерапией злокачественных опухолей. Глимурид применялся в комплексной терапии хронического гепатита С, при этом была продемонстрирована высокая эффективность препарата, отмечен выраженный противовирусный эффект, вероятно, связанный с известной способностью мурамилдипептидов индуцировать продукцию интерферонов, а также с активацией специфических иммунных реакций в отношении вируса и инфицированных вирусом клеток.

При применении глимурида не выявлено отрицательных клинико-лабораторных побочных эффектов. На данный момент завершающий этап проходят работы по созданию на основе β -гептилгликозид-МДП, помимо парафармацевтика, иммуностропного лекарственного средства [32–34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Рассмотрены иммуноадьювантная, противоопухолевая, антиинфекционная активности *N*-ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамина (МДП), являющегося наименьшей активной частицей клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий.
2. Отмечено, что сам МДП наряду с адьювантными свойствами обладает рядом побочных эффектов, например токсичностью и пирогенностью, что препятствует его клиническому применению.
3. Рассмотрено действие некоторых синтетических производных мурамоилдипептида с гидрофильными, амфифильными и липофильными свойствами. В качестве примеров представлены ромуртид, мурабутид, глимурид и ликолипид как эффективные препараты с иммуномодулирующим действием.

Список литературы

1. Audibert F. Distinctive adjuvanticity of synthetic analogs of mycobacterial water-soluble components / F. Audibert, L. Chedid, P. Lefrancier [et al.]. // Cell Immunol – 1976 – Vol. 21 – P. 243–249.
2. Adjuvant activity of synthetic N-acetylmuramyl peptides in rats / A. Tanaka., R. Saito, K. Sugiyama [et al.] // Infect. Immunol. – 1977. – Vol. 15. – P. 332–334.
3. Masek K. Immunoadjuvant activity of synthetic N-acetyl muramyl dipeptide / K. Masek, M. Zaoral, J. Jezek, [et al.]. // Experientia – 1978. – Vol. 34. –P. 1363–1364.
4. Modulation of the immune response by a synthetic adjuvant and analogs / L. Chedid, F. Audibert, P. Lefrancier [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1976. – Vol. 73. – P. 2472–2475.
5. Chedid L. The role of nonspecific immunity in the prevention and treatment of cancer / L. Chedid // Ed. M. Sela. Amsterdam; New York; Oxford. – 1979. – P. 219–238.
6. Adam A. Chemical structure, biological activity and mechanism of action / A. Adam, J-F. Petit, Lefrancier [et al.] // Mol. Cell. Biochem. – 1981. –Vol. 41, № 4. – P. 27–47.
7. Fidler I. J. The in situ induction of tumoricidal activity in alveolar macrophages by liposomes containing muramyl dipeptide is a thymus-independent process / I. J. Fidler // J.Immunol. – 1981. – Vol. 127. – P. 1719–1720.

8. Enhancement of nonspecific immunity to *Klebsiella pneumoniae* infection by a synthetic immunoadjuvant (*N*-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine) and several analogs / L. Chedid, M. Parant, H. Parant [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. – 1979. – Vol. 74. – P. 2089–2093.
9. Nozawe R. Stimulation by conditioned medium of L-929 fibroblasts, *E. coli* lipopolysaccharide, and muramyl dipeptide of candidacidal activity of mouse macrophages / R. Nozawe, R. Sekiguchi, T. Yokota // Cell. Immunol. – 1980. – Vol. 53. – P. 116–124.
10. Dietrich F. M. Current Chemotherapy and infectious disease / F. M. Dietrich, W. Sachmann, O. Zak, [et al.] // Ed. J. D. Nelson., C. Grassi. Boston. – 1979. – Vol. 2. – P. 1730–1732.
11. Prevention of oncogenic viral infections in mice with CGP 11637, a synthetic muramyl dipeptide analog / H. F. Acevedo, R. B. Raikov, H. O. Acevedo [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemother. – 1985. – Vol. 28. – P. 589–596.
12. Immunization against malaria with antigen from *Plasmodium falciparum* cultivated in vitro / Reese R. T., Trager W., Jeansen J. B. [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. – 1978. – Vol. 75. – P. 5665–5668.
13. Джексенбаев О. Ш. Биологические свойства синтетических гликопептидов – стимуляторов иммуногенеза и неспецифической резистентности / О. Ш. Джексенбаев // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1981. – № 8. – С. 13–18.
14. Macrophage activation by mycobacterial water soluble compounds and synthetic muramyl dipeptide / Wahl S. M., Wahl I. M., McCarthy J. B. [et al.] // J. Immunol. – 1979. – Vol. 122. – P. 2226–2231.
15. Epithelioid Granuloma Induced by Muramyl Dipeptide in Immunologically Deficient Rats / Nagao S., Ota F., Emori K. [et al.] // Infect. Immunol. – 1981. – Vol. 34. – P. 993–999.
16. Delvin J. P. The design and synthesis of immune regulatory agents: Targets and approaches / Delvin J. P., Hargrave K. D. // Tetrahedron. – 1989. – Vol. 45. – P. 4327–4369.
17. Muramyl peptides augment expression of Ia-antigens on mouse macrophages / V. A. Nesmeyanov, S. V. Khaidukov, R.L. Komeleva [et al.] // Biomed. Sci. – 1990. – Vol. 1. – P. 151–154.
18. Parant M. Influence of synthetic adjuvants on nonspecific resistance to infections / M. Parant // Int. J. Immunopharmac. – 1994. – Vol. 16 (5–6). – P. 445–449.
19. Munjal I. D. Role of endogenous morphine in the attenuation of opiate withdrawal syndrome by *N*-acetylmuramyl-L-alanine-D-isoglutamine (MDP) / I. D. Munjal, D. Schmidt, S. Spector // Neuropsychopharmacology. – 1996. – Vol. 15(1). – P. 99–103.
20. Masek K. Immunopharmacology of muramyl peptides / K. Masek // Federat. Proc. – 1986. – Vol. 45 (11). – P. 2549–2551.
21. Zidek Z. Antiinflammatory effects of muramyl dipeptide in experimental models of acute inflammation / Z. Zidek, K. Masek, F. Sedevy // Agents Actions. – 1984. – Vol. 14. – P. 72–75.
22. The protection from hepatotoxicity of some compounds by the synthetic immunomodulator muramyl dipeptide (MDP) in rat hepatocytes and in vivo / Farghali H., Machkova Z., Kamenikova L. [et al.] // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 1984. – Vol. 6/8. – P. 449–454.
23. Improvement of normothermic rat liver ischemia/reperfusion by muramyl dipeptide / R. Cursio, J. Gugenheim, P. Panaia-Ferrari [et al.] // J. Surg. Res. – 1998. – Vol. 80(2). – P. 339–344.
24. The synthetic immunomodulator murabutide controls human immunodeficiency virus type 1 replication at multiple levels in macrophages and dendritic cells / E.C. Darcissac, M.J. Truong, J. Dewulf [et al.] // J. Virol. 2000. – Vol. – 74 (17). – P. 7794–7802.
25. Андропова Т. Мурамилдипептиды – иммунотропные лекарственные средства нового поколения / Т. Андропова, Б. Пинегин // Венеролог. – 2006. – № 6. – С. 11–15.
26. Пинегин Б. В. Иммуномодуляторы и некоторые аспекты их клинического применения / Б. В. Пинегин, Р. М. Хаитов // Клиническая медицина. – 1996. – № 8. – С. 7–12.
27. Караулов А. В. Производные мурамилдипептида в клинике / Караулов А. В., Калюжин О. В., Ликов В. Ф. // Актуальные вопросы клинической медицины. – 2002. – Т. 2. – С. 93–100.
28. Особенности продукции цитокинов, субпопуляционного состава лимфоцитов и функционального состояния нейтрофилов при неонатальных пневмониях и способы иммунокоррекции / М. В. Дегтярева, Н. Н. Володин, К. К. Бахтиян [и др.] // Медицинская иммунология. – 2000. – Т. 2. – № 1. – С. 69–76.
29. Azuma I. Review: Inducer of cytokines in vivo: overview of field and muramyl dipeptide experience / I. Azuma // Int. J. Immunopharmacol. – 1992. – Vol. 14. – P. 487–496.

30. Enhancing activity of mycobacterial cell-derived adjuvants on immunogenicity of recombinant human hepatitis B virus vaccine / Y. Koike, Y. C. Yoo, M. Mitobe [et al.] // *Vaccine*. – 1998. – Vol. 16, N 20. – P. 1982–1989.
31. Винницкий Л. И. Отечественный иммуномодулятор нового поколения ликолипид в комплексном лечении и профилактике инфекционных осложнений в хирургической практике / Л. И. Винницкий, К. А. Бунатян, Б. В. Пинегин // *Вестник РАМН*. – 1997. – № 11. – С. 46–48.
32. Биологическая активность аномерных пар липофильных гликозидов N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамина / О. В. Калюжин, А. Е. Земляков, Н. Г. Калина [и др.] // *Бюл. эксп. биол. мед.* – 2008. – Т. 145, № 5. – С. 561–564.
33. Караулов А. В. Биологическая активность гликозидных производных N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамина / А. В. Караулов, О. В. Калюжин, А. Е. Земляков // *Российский биотерапевтический журнал*. – 2002. – № 1. – С. 12–24.
34. Действие циклоалкилгликозидов мурамилдипептида на антибактериальную резистентность мышей и продукцию цитокинов мононуклеарами человека / О. В. Калюжин, Д. С. Лобанов, Е. Л. Мулик [и др.] // *Бюл. эксп. биол. мед.* – 2009. – Т. 148, № 10. – С. 426–429.

USE OF N-ACETYLMURAMOYL-L-ALANIN-D-ISOGLUTAMINE AND ITS DERIVATIVES AS IMMUNOMODULATORS

Krylova A. M., Tsikalova V. N.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation
E-mail: vika.tim@list.ru*

In 1974 scientists-chemists E. Lederer and S. Kotani identified *N*-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-isoglutamine (muramyldipeptide, MDP) as the least unit of a cell wall of gram-positive and gram-negative bacteria and as a part of the fissile fraction of micobacteria. From this point the new time in an immunology began. Great efforts of scientists were directed to establish of relationship structure–activity for derivatives of muramyldipeptide. New synthetic low-molecular adjuvants were made. *N*-Acetylmuramoyl-L-alanyl-D-isoglutamine as an adjuvant influences on nonspecific resistance to infections, activates synthesis of endogenic mediators, induces a hypersensitivity of delayed type, and also evinces antitumor activity. However it was noted that *N*-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-isoglutamine along with adjuvant properties has a number of the ghost effects, for example toxicity and pyrogenicity. These properties interferes with its clinical application. Therefore preparation of synthetic adjuvants, analogues of muramyl dipeptide is an actual task. Synthetic adjuvants are non-toxic, non-immunogenic and high effective. Some of these drugs are already undergoing advanced clinical trials. More than 800 MDP analogues have been synthesized for the purpose of studying the structure–activity relationship and the made of new immunomodulators. The action of some synthetic derivatives of muramoyl dipeptide with hydrophilic, amphiphilic and lipophilic properties were described. Examples are Romurtide, Murabutide, Glimurid and Lycopid as effective drugs with immunomodulating actions. Murabutide (France) has established itself as a drug that stimulate nonspecific resistance to virus infections. Romurtide (Japan) is a highly effective drug for restoring the number of leukocytes in cancer patients after chemotherapy or radiotherapy. Lycopid is able to stimulate the development of both a cell and humoral immune response. It also has antiinfective activity. Glimurid (Russia) was

established as an effective drug for the prevention and correction of immune and hematological disorders caused by chemotherapy of cancerous tumors.

Keywords: *N*-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-isoglutamine, muramoyldipeptide, MDP, adjuvant, activity, immunomodulator.

References

1. Audibert F., Chedid L., Lefrancier P., and Choay J. Distinctive adjuvanticity of synthetic analogs of mycobacterial water-soluble components, *Cell Immunol*, **21**, 243 (1976).
2. Tanaka A., Saito R., Sugiyama K., Morisaki I., Kotani S., Kusumoto S., and Shiba T. Adjuvant activity of synthetic *N*-acetylmuramyl peptides in rats, *Infect. Immunol*, **15**, 332 (1977).
3. Masek K., Zaoral M., Jezek J., Straka R. Immunoadjuvant activity of synthetic *N*-acetyl muramyl dipeptide, *Experientia*, **34**, 1363 (1978).
4. Chedid L., Audibert F., Lefrancier P., Choay J., Lederer E. Modulation of the immune response by a synthetic adjuvant and analogs, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **73**, 2472 (1976).
5. Chedid L. The role of nonspecific immunity in the prevention and treatment of cancer, *Ed. M. Sela. Amsterdam; New York; Oxford*, 219 (1979).
6. Adam A., Petit J.F., Lefrancier P., Lederer E. Chemical structure, biological activity and mechanism of action, *Mol. Cell. Biochem.*, **41(4)**, 27 (1981).
7. Fidler I. J. The in situ induction of tumoricidal activity in alveolar macrophages by liposomes containing muramyl dipeptide is a thymus-independent process, *J. Immunol.*, **127**, 1719 (1981).
8. Chedid L., Parant M., Parant F., Lefrancier P., Choay J., Lederer E. Enhancement of nonspecific immunity to Klebsiella pneumonia infection by a synthetic immunoadjuvant (*N*-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine) and several analogs, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **74**, 2089 (1979).
9. Nozawa R., Sekiguchi R., Yokota T. Stimulation by conditioned medium of L-929 fibroblasts, *E. coli* lipopolysaccharide, and muramyl dipeptide of candidacidal activity of mouse macrophages, *Cell. Immunol.*, **53**, 116 (1980).
10. Dietrich F. M., Sachmann W., Zak O., Dukor P. Current Chemotherapy and infectious disease, *Proc. 11th Int. Congr. Chemotherapy*, **2**, 1730 (1979).
11. Acevedo H. F., Raikow R. B., Acevedo H. O., Delgado T. F., Pardo M. Prevention of oncogenic viral infections in mice with CGP 11637, a synthetic muramyl dipeptide analog, *Antimicrobial Agents and Chemother.*, **28**, 589 (1985).
12. Reese R. T., Trager W., Jensen J. B., Millert D. A., Tantravahit R. Immunization against malaria with antigen from *Plasmodium falciparum* cultivated in vitro, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **75**, 5665 (1978).
13. Dzheksenbaev O. Sh. Biological properties of synthetic glycopeptides-stimulators of immunogenesis and nonspecific resistance, *Zhurn. microbiology, epidemiology and immunology*, **8**, 13 (1981). (*in Russ.*)
14. Wahl S. M., Wahl I. M., McCarthy J. B., Chedid L. Macrophage activation by mycobacterial water soluble compounds and synthetic muramyl dipeptide, *J. Immunol.*, **122**, 2226 (1979).
15. Nagao S., Ota F., Emori K., Inoue K., Tanaka A. Epithelioid Granuloma Induced by Muramyl Dipeptide in Immunologically Deficient Rats, *Infect. Immunol.*, **34**, 993 (1981).
16. Delvin J. P., Hargrave K. D. The design and synthesis of immune regulatory agents: Targets and approaches, *Tetrahedron*, **45**, 4327 (1989).
17. Nesmeyanov V. A., Khaidukov S. V., Komaleva R. L., Andronova T. M., Ivanov V. T. Muramylpeptides augment expression of Ia-antigens on mouse macrophages, *Biomed. Sci.*, **1**, 151 (1990).
18. Parant M. Influence of synthetic adjuvants on nonspecific resistance to infections, *Int. J. Immunopharmac.*, **16 (5-6)**, 445 (1994).
19. Munjal I. D., Schmidt D., Spector S. Role of endogenous morphine in the attenuation of opiate withdrawal syndrome by *N*-acetylmuramyl-L-alanine-D-isoglutamine, *Neuropsychopharmacology*, **15(1)**, 99 (1996).
20. Masek K. Immunopharmacology of muramyl peptides, *Federat. Proc.*, **45 (11)**, 2549 (1986).
21. Zidek Z., Masek K., Sedevy F. Antiinflammatory effects of muramyl dipeptide in experimental models of acute inflammation, *Agents Actions*, **14**, 72 (1984).

22. Farghali H., Machková Z., Kameníková L., Janků I., Masek K. The protection from hepatotoxicity of some compounds by the synthetic immunomodulator muramyl dipeptide (MDP) in rat hepatocytes and in vivo, *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **6/8**, 449 (1984).
23. Cursio R., Gugenheim J., Panaia-Ferrari P., Lasfar A., Tovey M., Chastanet S., Saint-Paul M. C., Ferré C., Mouiel J. Improvement of normothermic rat liver ischemia/reperfusion by muramyl dipeptide, *J. Surg. Res.*, **80(2)**, 339 (1998).
24. Darcissac E., Truong M. J., Dewulf J., Mouton Yv., Capron A., George M. Bahr. The synthetic immunomodulator murabutide controls human immunodeficiency virus type 1 replication at multiple levels in macrophages and dendritic cells, *J. Virol.*, **74 (17)**, 7794 (2000).
25. Andronova T., Pinegin B. Muramildipeptidy – immunotropic drugs of a new generation, *Venereologist*, **6**, 11 (2006). (in Russ.).
26. Pinegin B. V., Haitov P. M. Immunomodulators and some aspects of their clinical application, *Clinical medicine*, **8**, 7 (1996). (in Russ.).
27. Karaulov A. V., Kalyuzhin O. V., Likov V. F. Derivatives of muramyl dipeptide in the clinic, *Topical issues of clinical medicine*, **2**, 93 (2002). (in Russ.).
28. Degtyareva M. V., Volodin N. N., Bakhtikyan K. K., Soldatova I. G., Kovalchuk L.V., Gankovskaya L. V., Krivtunova L. N. Features of the production of cytokines, the subpopulation composition of lymphocytes and the functional state of neutrophils in neonatal pneumonia and immunocorrection methods, *Medical immunology*, **2**, 69 (2000). (in Russ.).
29. Azuma I. Review: Inducer of cytokines in vivo: overview of field and romurtide experience, *Int. J. Immunopharmacol.*, **14**, 487 (1992).
30. Koike Y., Yoo Y. C., Mitobe M., Oka T., Okuma K., Tono-oka S., Azuma I. Enhancing activity of mycobacterial cell-derived adjuvants on immunogenicity of recombinant human hepatitis B virus vaccine, *Vaccine*, **16**, 1982 (1998).
31. Vinnitsky L. I., Bunatyan K. A., Pinegin B. V. The domestic immunomodulator of the new generation of lycopides in the complex treatment and prevention of infectious complications in surgical practice, *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, **11**, 46 (1997). (in Russ.).
32. Kalyuzhin O. V., Zemlyakov A. E., Kalina N. G., Mulik E. L., Kuzovlev F.N., Makarova O. V. Biological activity of anomeric pairs of lipophilic glycosides of N-acetylmuramyl-L-alanine-D-isoglutamine, *Bul. exp. Biol. Honey*, **145**, 561 (2008). (in Russ.).
33. Karaulov A. V., Kalyuzhin O. V., Zemlyakov A. E. Biological activity of glycoside derivatives of N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine, *Russian Biotherapeutic Journal*, **1**, 12 (2002). (in Russ.).
34. Kalyuzhin O. V., Lobanov D. S., Mulik E. L., Kimpava D. S., Zemlyakov A. E., Kalina N. G., Karaulov A. V. Action of cycloalkyl glycosides of muramyl dipeptide on antibacterial resistance of mice and production of cytokines by human mononuclears, *Bul. exp. Biol. Honey*, **148**, 426 (2009). (in Russ.).