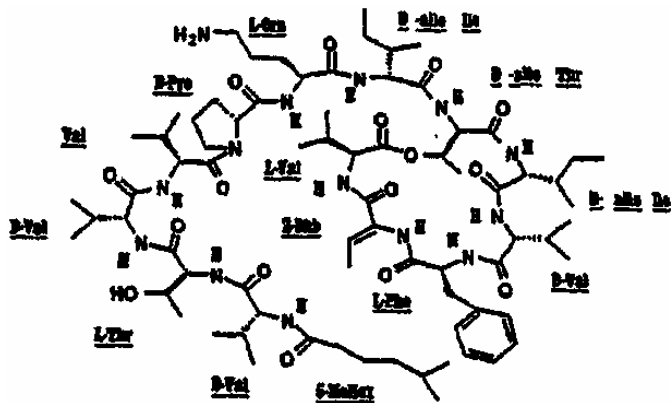


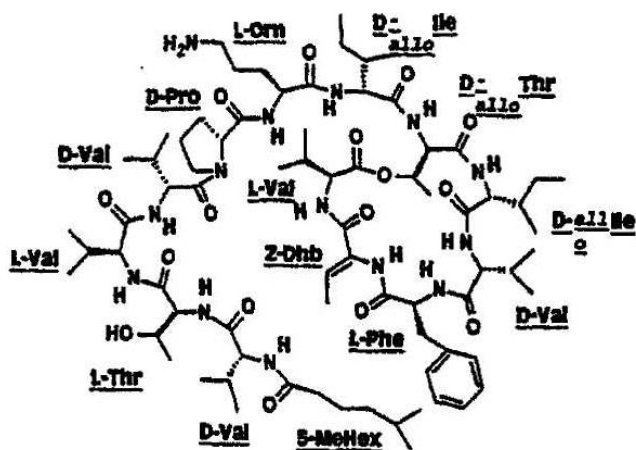
Даний винахід відноситься до кахалалідних сполук, конкретніше - до кахалаліду F та споріднених йому сполук, а також до способу синтезу таких сполук.

Кяхалалід F є біоактивним циклічним депсипептидом, виділеним з молюска *Elysia rufescens* (sarcoglossan) і його корму, зеленої водорості *Bryopsis* sp. Кяхалалід F був уперше виділений Hamann та Scheuer, див. [Hamann, M.T.; Scheuer, P.J. J. Am. Chem. Soc. 1993, 115, 5825-5826]. У цій публікації не була визначена абсолютна стереохімія індивідуальних валінів (3 D-Val та 2 L-Val) та треонінів (L-Thr та D-allo-Thr). У пізнішій публікації Scheuer et al. [Goetz, G.; Yoshida, W.Y.; Scheuer, P.J. Tetrahedron 1999, 55, 7739-7746] визначили положення у молекулі для 5 Val та 2 Thr.

Таким чином, структура Кяхалаліду F, за Scheuer et al., виглядала таким чином:



Тим часом професор Reinhart також визначив індивідуальні положення для 5-Val та 2-Thr (K.L. Reinhart, персональне повідомлення). Хоча для 2 Thr та 3 Val, його визначення співпадали з визначеннями проф. Scheuer, для останнього 2 Val спостерігається розходження. Так, відповідно до визначення Reinhart, два послідовних Val у бічному ланцюгу мають відмінний вигляд, й структура має вигляд формули (I):



Формула (I)

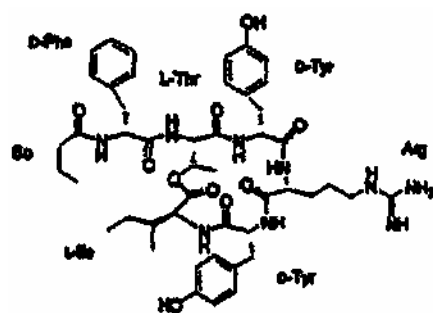
У цей час прийнято - й у даному тексті це знову показано - що правильна формула кяхалаліду F відповідає формулі (I).

Його будова досить складна, і складається з шести амінокислот у циклічній частині, й екзоциклічний ланцюжок включає в себе сім амінокислот з кінцевою ацильною групою.

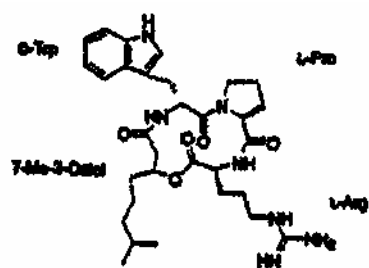
Кяхалалід F (I) є надзвичайно ефективним та рідкісним протипухлинним агентом морського походження, хоча відсутність його у достатній кількості затримала плани клінічних досліджень.

Відомі й інші сполуки кяхалалідів, описані, наприклад, [Hamann, M.T., et al., J. Org. Chem., 1996, «Kahalalides: Bioactive Peptides from Marine Mollusk *Elysia rufescens* and its Algal Diet *Bryopsis* sp», vol.61, pp.6594-6660. Крім кяхалаліду F, в цій статті наведені структури кяхалалідів A-E. Повідомлення про Кяхалалід K зустрічається у [J Nat. Prod. 1999, 62, 1169], а про Кяхалалід O зустрічається у [J Nat Prod. 2000, 63, 152].

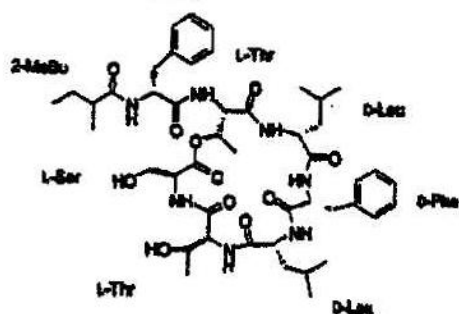
Структури цих інших сполук кяхалалідів представлені такими формулами:



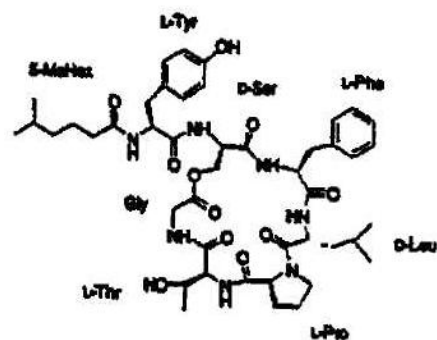
Kahalalide C (3)



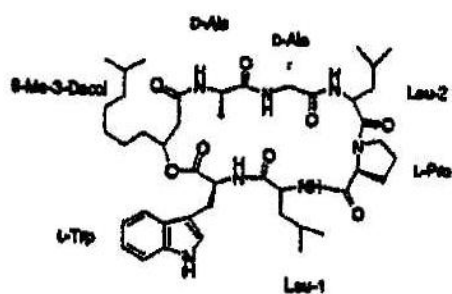
Kahalalide D (4)



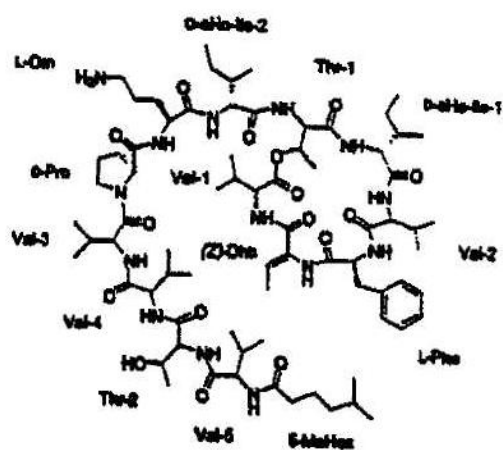
Kahalalide A (1)



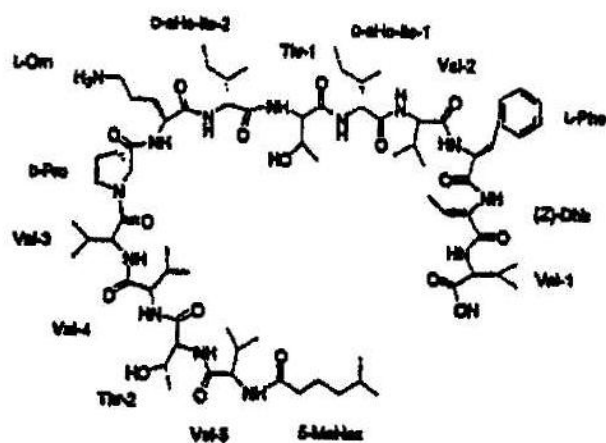
Kahalalide B (2)



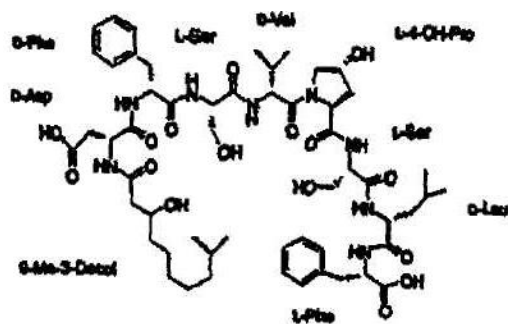
Kahalalide E (5)



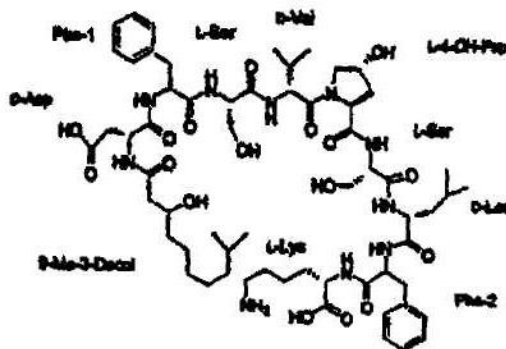
Kahalalide F (6)



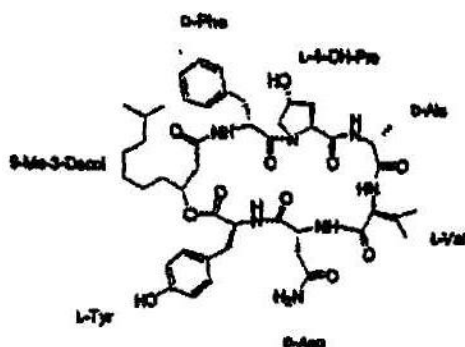
Kahalalide G (7)



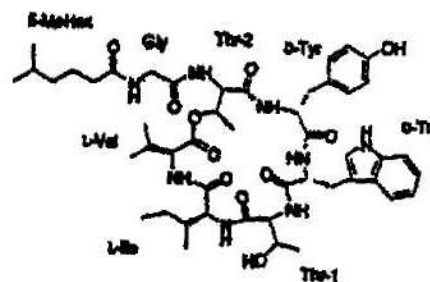
Kahalalide H (8)



Kahalalide J (9)



Kahalalide K (10)



Kahalalide O (11)

Циклічні кахалаліди містять кільцеві амінокислоти та бічний ланцюг, який закінчується ацильною групою.

Кahalаліди мають різну біологічну активність, особливо протипухлинну та протитуберкульозну активність.

У даному винаході запропоновані імітатори природних кахалалідів. Сполуки можуть відрізнятися однією або більшою кількістю амінокислот, і одним або більшою кількістю компонентів ацильного бічного ланцюга.

Бажано, щоб імітатори згідно з даним винаходом відрізнялися щонайменше однією з наступних характеристик вихідного від природного кахалаліду:

Від 1 до 7, переважно від 1 до 3, більш переважно - 1 або 2, і найбільш переважно - 1 амінокислота відрізняється від вихідної сполуки;

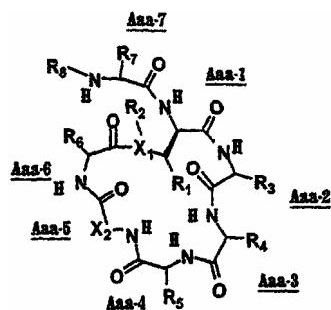
Від 1 до 10, переважно від 1 до 6, більш переважно - від 1 до 3, особливо 1 або 2 додатковими метиленовими групами у бічному ацильному ланцюгу вихідної сполуки;

Від 1 до 10, переважно від 1 до 6, більш переважно - від 1 до 3, особливо 1 або 2 метиленові групи опущені у бічному ацильному ланцюгу вихідної сполуки;

Від 1 до 6, переважно від 1 до 3, більш переважно - 1 або 3 замісники додані або пропущені у бічному ланцюгу ацильної групи вихідної сполуки.

Для циклічних кахалалідів додавання та видалення амінокислоти можна здійснити як у циклічному кільці, так і у бічному ланцюгу.

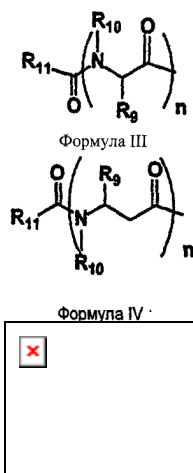
Прикладами згідно з винаходом є сполуки, споріднені кахалаліду F, який має таку формулу:



Формула II

де Aaa₁, Aaa₂, Aaa₃, Aaa₄, Aaa₆ та Aaa₇ являють собою незалежно α-амінокислоти L- або D-конфігурації, (якщо це можна застосувати); де R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇ незалежно являють собою H або органічну групу, вибрану з групи, яка складається з алкільної групи, арильної групи, аралкільної групи та їх похідних, заміщених гідрокси-групою, меркапто-групою, аміно-групою, гуанідино-групою, галогеном; де X₁ незалежно являє собою O, S, або N; де R₂ незалежно являє собою (якщо присутній) H або органічну групу, вибрану з групи, яка складається з алкільної групи та аралкільної групи; де Aaa₅ незалежно являє собою амінокислоту L- або D-конфігурації (якщо це має місце); де X₂ незалежно являє собою органічну групу, вибрану з групи, яка складається з алкєнілу, алкільної групи, арильної групи, аралкільної групи та їх похідних, заміщених

незалежно гідрокси-групою, меркапто-групою, аміно-групою, гуанідино-групою, галогеном; де R_8 незалежно являє собою сполуку, що виражається такими формулами III, IV, або V:



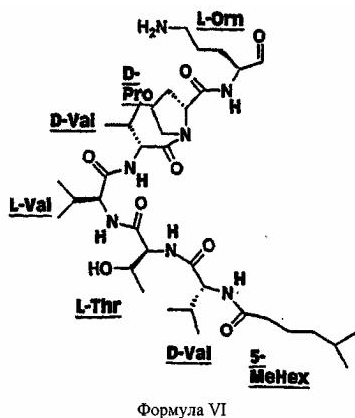
де R_9 , R_{10} та R_{11} незалежно являють собою H або органічну групу, вибрану з групи, яка складається з алкільної групи, арильної групи, аралкільної групи та їх похідних, заміщених гідрокси-групою, меркапто-групою, аміно-групою, гуанідино-групою, карбоксильною групою, карбоксамідо-групою, галогеном; R_9 та R_{10} можуть становити частину того самого циклу;

R_9 (якщо присутній) може бути у S або R конфігурації по відношенню до вуглецю, до якого він приєднаний; і n приймає значення від 0 до 6. Визначення амінокислот також можуть варіюватися (мається на увазі пролін та аналогічні амінокислоти, включаючи гідроксипролін). Формули (III), (IV) та (V) можуть бути перемішані, що призводить до утворення бічного ланцюга, який складається із ланок, що повторюються більш ніж в одній з цих формул.

При модифікації одна або більша кількість з кільцевих амінокислот Aaa-6 та Aaa-5 гексаамінокислотного циклу відсутня, або амінокислота Aaa-7 додана між Aaa-6 та Aaa-1, внаслідок чого утворюються кільця, що містять чотири, п'ять або сім амінокислот у кільці. Переважними кільцями є ті, що містять шість амінокислот.

Далі даний винахід відноситься до способу одержання сполук кахалаліду F та споріднених структур.

Переважають сполуки є спорідненими кахалаліду F (I), в яких у формулі (II) Aaa-1 являє собою D-allo-Thr ($X_1=O$, $R_1=CH_3$), Aaa-2 являє собою D-allo-Ile ($R_3=1$ -метилпропіл), Aaa-3 являє собою D-Val ($R_4=$ ізопропіл), Aaa-4 являє собою Phe ($R_5=$ бензил), Aaa-5 являє собою Z-Dhb ($X_2=C=CHCH_3$ з Z конфігурацією), Aaa-6 являє собою L-Val ($R_6=$ ізопропіл), Aaa-7 являє собою D-allo-Ile ($R_7=1$ -метилпропіл), і R_8 містить гексапептидне похідне наступної формули (формула VI):



Інші переважні сполуки є аналогічними спорідненими сполуками інших кахалалідів і містять амінокислоти та бічні ланцюги, загальні з такими сполуками. Є посилання на відомі структури кахалалідів. Переважно, щоб сполуки згідно з винаходом імітували природний кахалалід, з модифікацією, вставкою або виключенням в одній або більше кількості точок у молекулі.

Особливо переважні сполуки, які містять ті самі амінокислоти, що і в природних циклічних кахалалідних сполуках, але відрізняються бічним ланцюгом, особливо в ацильній частині. Такі відмінності можуть включати в себе збільшення або зменшення числа метиленових груп, звичайно найбільше - зміна двох метиленових груп, і збільшення або зменшення числа замісників, особливо додавання замісника-галогена, такого як фтор.

У використаному тут значенні термін «органічна група» означає вуглеводневу групу, яка класифікується як аліфатична група, циклічна група або комбінація аліфатичних та циклічних груп (наприклад, аралкільні групи).

У контексті згідно з винаходом термін «аліфатична група» означає насичений або ненасичений лінійний або розгалужений вуглеводень. Цей термін охоплює, наприклад, алкільні, алкенільні та алкінільні групи.

Термін «алкільна група» означає насичену лінійну або розгалужену вуглеводневу групу, включаючи, наприклад, метильну, етильну, ізопропілну, ізобутильну, трет-бутильну, гептильну, додецильну,

октадецильну, амільну, 2-етилгексильну, 2-метилбутильну, 5-метилгексильну, 9-метил-3-децильну та інш., особливо алкільні групи, які містять єдину розгалужену метиленову групу. Відповідними алкільними групами є групи з довгими ланцюгами, які містять від 1 до 20 атомів вуглецю, звичайно від 1 до 15 або від 1 до 10 атомів вуглецю, або вони можуть бути коротшими, і можуть містити від 1 до 6 або від 1 до 3 атомів вуглецю. Зручно, щоб група R₁₁ була групою з довгим ланцюгом, а інші групи переважно були б короткими.

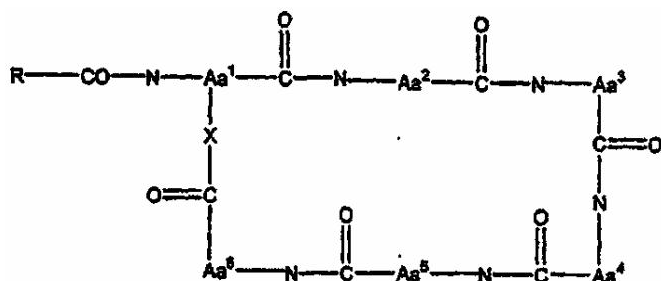
Термін «алкенільна група» означає ненасичену лінійну або розгалужену вуглеводневу групу з однією або більшою кількістю вуглець-вуглецевих подвійних зв'язків, такий як вінільна група. Відповідні алкенільні групи містять від 2 до 8 або від 2 до 4 атомів вуглецю.

Термін «алкінільна група» означає ненасичену лінійну або розгалужену вуглеводневу групу, з однією або більшою кількістю вуглець-вуглецевих потрійних зв'язків. Відповідні алкінільні групи містять від 2 до 8 або від 2 до 4 атомів вуглецю.

Термін «циклічна група» означає замкнену кільцеву вуглеводневу групу, яка класифікується як аліциклічна група, ароматична група або гетероциклічна група. Термін «аліциклічна група» означає циклічну вуглеводневу групу, що зберігає властивості аліфатичних груп, і яка є моно- або біциклом, який містить від 4 до 10 атомів вуглецю. Термін «ароматична група» або «арильна група» означає моно- або поліциклічну ароматичну вуглеводневу групу, яка представляє моно- або біцикл, і яка містить від 5 до 10 атомів вуглецю. Термін «гетероциклічна група» означає замкнений кільцевий вуглеводень, в якому один або більше атомів кільця являє собою елемент, відмінний від вуглецю (наприклад, від 1 до 3 з одного або більше з азоту, кисню, сірки інш.), відповідно, моно- або біцикл, який містить від 4 до 10 атомів у кільці.

Як зрозуміло фахівцям у цій області, великий ступінь заміщення не тільки допустимий, але часто буває бажаним. Заміщення передбачаються у сполук згідно з винаходом. Щоб спростити посилання та вказівки на деякі терміни, що використовуються в описі, який розглядається, терміни «група» та «фрагмент» використовують для того, щоб розрізнити види хімічних сполук, які допускають наявність замісників, і ті, які не допускають наявності замісників або не заміщені. Так, якщо термін «група» використовують для опису хімічного замісника, хімічний матеріал, що описується, включає в себе незаміщену, групу, і наприклад, групу з атомами O, N або S, в ланцюгу, а також карбонільну групу, або інші звичайні замісники. Якщо термін «фрагмент» використовують для опису хімічної сполуки або замісника, припускається тільки незаміщений хімічний матеріал. Наприклад фраза «алкільна група» повинна включати в себе не тільки чисті з розкритим ланцюгом насичені алкільні вуглеводневі замісники, такі як метил, етил, пропіл, ізобутил та ін., але також і алкільні замісники, що містять інші замісники, відомі фахівцям, такі як гідрокси, алкокси, аміно, карбоксил, карбоксамідо, атоми галогенів, ціано, нітро, алкілсульфоніл та інш. Так, «алкільна група» включає в себе ефірні групи, галогеналкіли, спирти, тіоли, карбоксил, аміни, гідроксialкіли, сульфоалкіли та інш. Переважними є галогеналкільні групи. З іншого боку, фраза «алкільний фрагмент» обмежена включенням тільки чистих насичених вуглеводневих замісників з відкритими ланцюгами, таких як метил, етил, пропіл, ізобутил та ін.

У найбільш переважному варіанті згідно з винаходом запропонована сполука формули (A):

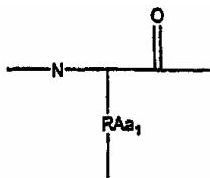


де кожний з Aa¹-Aa⁶ з сусідніми -N- та -CO-, відповідно, являє собою α- або β-амінокислоту, переважно α-амінокислоту, X являє собою групу, яка зв'язує Aa¹, переважно вибрану з аміно, гідрокси або тіолу, більш переважно - гідрокси, і R являє собою групу, що необов'язково включає в себе одну або більше з α або β амінокислот, переважно α амінокислоти. Як варіант можуть бути відсутніми -CO-Aa⁵-N-, можливо також одночасна відсутність -CO-Aa⁵-N-, або - в іншому варіанті - між Aa⁶ і Aa¹ може бути вставлена група -CO-Aa⁷-N-.

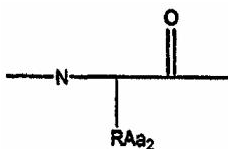
Амінокислоти можуть бути у L- або D-конфігурації. Переважно, щоб конфігурація була такою самою, як і конфігурація відповідних амінокислот у кахалалідній сполуці, особливо у кахалаліді F. Один або більше з Aa¹-Aa⁷ переважно відповідає амінокислоті у тому самому положенні, що і у природному кахалаліді або спорідненій йому сполуці. У найбільш переважному варіанті кожна з амінокислот відповідає амінокислоті у природному кахалаліді F. Так, переважно, щоб Aa¹ являв собою D-allo-Thr, Aa² являв собою D-allo-Ile, Aa³ являв собою D-Val, Aa⁴ являв собою Phe, Aa⁵ являв собою Z-Dhb, Aa⁶ являв собою L-Val.

Якщо використовують споріднені сполуки, відповідні споріднені сполуки містять заміщені амінокислоти, в яких заміщення відповідають структурі відповідних амінокислот у природному кахалаліді, такому як Кахалалід F. Замісники для треоніну включають у себе серин та інші гомологи, а також цистеїн та гомологи. Замісники ізолейцину включають у себе інші амінокислоти з неполярними групами, включаючи аланін, валін, лейцин та пролін, а також аналоги та гомологи. У цьому плані наявність атомів азоту -N- у формулі (A) не виключає можливості утворення кільця, такого, яке утворюється з проліном. Замісники валіну включають у себе ізолейцин та інші амінокислоти з неполярними групами, включаючи аналоги та гомологи. Замісники фенілаланіну включають у себе триптофан та тирозин. Замісники Dhb включають у себе інші амінокислоти з таким алкеніліденовим замісником, включаючи амінокислоти з C₃ або з вищими бічними ланцюгами, а також аналоги та гомологи.

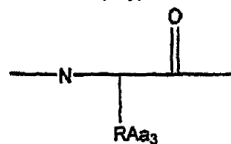
Переважно, щоб Aa¹ мав вигляд:



де Ra_{a1} являє собою бічний ланцюг, що містить зв'язок X . Приклади бічних ланцюгів включають у себе алкіл, арил та аралкіл, особливо алкіл, більш типово алкіл, що містить від 1 до 4, наприклад, 2 атоми вуглецю. Переважний розгалужений алкіл. Зв'язувальна група X звичайно являє собою кисень, причому Aa_1 переважно одержаний з треоніну, але можуть бути використані сірка, аміно (незаміщений або заміщений алкілом, арилом або аралкілом) та інші зв'язуючі. Відповідною групою X є єдина полярна група в Aa^1 . Aa^1 може бути рацемічним, може мати L- або D-конфігурацію, але переважна D-конфігурація. Переважно, щоб Aa^2 мав вигляд

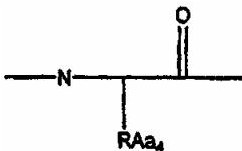


де Ra_{a2} являє собою бічний ланцюг, такий як алкіл, арил або аралкіл, особливо алкіл, конкретніше - алкіл, який містить від 1 до 5 атомів вуглецю, наприклад, 3 атоми вуглецю. Переважний розгалужений алкіл, такий як ізолейцин. Бажано, щоб в Aa^2 не було полярних замісників. Aa^2 може бути рацемічним, може мати L- або D-конфігурацію, але D-конфігурація переважна. Переважно, щоб Aa^3 мав вигляд:

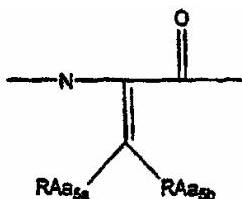


де Ra_{a3} являє собою бічний ланцюг, такий як алкіл, арил або аралкіл, особливо алкіл, конкретніше - алкіл, який містить від 1 до 5 атомів вуглецю, наприклад, 3 атоми вуглецю. Переважний розгалужений алкіл, такий як валін. Бажано, щоб в Aa^3 не було полярних замісників. Aa^3 може бути рацемічним, може мати L- або D-конфігурацію, але переважною є D-конфігурація.

Переважно, щоб Aa^4 мав вигляд:

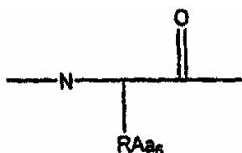


де Ra_{a4} являє собою бічний ланцюг, такий як алкіл, арил або аралкіл, особливо аралкіл, конкретніше - аралкіл, який містить від 7 до 10 атомів вуглецю, наприклад, 7 атоми вуглецю. Переважний бензил, такий як фенілаланін. Бажано, щоб в Aa^4 не було полярних замісників. Aa^4 може бути рацемічним, може мати L- або D-конфігурацію, але переважною є L-конфігурація. Переважно, щоб Aa^5 мав вигляд:



де Ra_{a5a} та Ra_{a5b} кожний вибирають з водню або бічного ланцюга, такого як алкіл, арил або аралкіл, особливо алкіл, конкретніше - алкіл, який містить від 1 до 4 атомів вуглецю, наприклад, 1 атом вуглецю. Переважно, щоб Ra_{a5a} являв собою водень, забезпечуючи Z конфігурацію, як в переважній a,b-дидегідро-аміномасляній кислоті. Бажано, щоб в Aa^5 не було полярних замісників. Aa^5 може бути рацемічним, може мати L- або D-конфігурацію, але переважною є L-конфігурація.

Переважно, щоб Aa^6 мав вигляд:



де Ra_{a6} являє собою бічний ланцюг, такий як алкіл, арил або аралкіл, особливо алкіл, конкретніше -

алкіл, який містить від 1 до 5 атомів вуглецю, наприклад, 3 атоми вуглецю. Переважний розгалужений алкіл, такий як валін. Бажано, щоб в Aa^6 не було полярних замісників. Aa^6 може бути рацемічним, може мати L- або D-конфігурацію, але переважно є L-конфігурація.

Амінокислоти Aa^1 до Aa^7 можуть бути такими, які визначені для груп $Aaa-1$ до $Aaa-7$ формули (II).

Переважає, щоб бічний ланцюг R включав в себе 5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile або споріднену йому сполуку, включаючи аналоги та гомологи. Приклади споріднених сполук включають в себе сполуки загальної формули $(R^1)_m$ -(амінокислота) $_n$, причому $m+n$ не дорівнює нулю, де R^1 являє собою кінцеву групу, переважно алкіл, алкеніл, алкініл, арил, аралкіл, гетероарил, гетероалкіл, аліциклічну, або іншу кінцеву групу, і -(амінокислота) $_n$ являє собою довільний ланцюг амінокислот.

Кінцева алкільна група переважно містить від 1 до 12 атомів вуглецю, конкретніше - від 4 до 10 атомів вуглецю, вона може бути заміщена і переважно є розгалуженою. Приклади включають в себе бутіл, пентил, гексил, гептил, октил та інші алкільні групи, які містять 1 або більше метильних або етильних груп, або довші бічні групи, що переважно містять від 1 до 6 атомів вуглецю, особливо 5-метилгексил та інші алкільні групи з розгалуженнями удаліні від точки приєднання до іншої частини молекули. Відповідні замісники включають у себе галогени, гідрокси, алкокси, аміно, карбоксил, карбоксамідо, ціано, нітро, алкілсульфоніл, алкокси, алкоксилалкіл, арилалкіларил, гетероциклічні, аліциклічні, арильні, аралкільні та інші групи, згадані вище. Відповідно, такі замісники можуть містити додаткові замісники, як наприклад, толільна група. Найбільш переважні галогенові замісники, особливо 1 або більше, наприклад, від 1 до 3 атомів фтору. Інші кінцеві групи можна вибрати відповідно до вказівок, наведених в описі, і вони включають в себе аліциклічні, аралкільні, арильні, гетероциклічні або інші групи, які можуть містити 1 або більше, зокрема, від 1 до 3, замісників.

Бічний ланцюг R-CO-N- може містити водень або замісник у азоту, такий як алкільна, арильна або аралкільна група.

У бічних ланцюгах відповідних споріднених сполук використовують заміщені амінокислоти, вибрані відповідно до викладених вище принципів, альтернативних ізолейцину, валіну та треоніну, причому їх вибирають як для цих амінокислот у циклічній частині молекули, так альтернативні орнітину, включаючи лізин, пістидин, аргінін; альтернативні проліну, включаючи аланін та інші неполярні амінокислоти, такі як гліцин, ізолейцин та інші, які згадувалися вище. Звичайно ланцюг R містить від 0 до 10, більш переважно - від 4 до 8, наприклад, 5, 6 або 7, особливо 7, амінокислотних залишків. Якщо присутні більше семи амінокислот, тоді переважно, щоб ці додаткові амінокислоти були такими, які існують у природі, особливо ті, які були вказані вище.

Можуть бути використані L- або D-амінокислоти або їх рацемічні суміші. Переважає, якщо амінокислоти є присутніми у бічному ланцюгу R, щоб одна або більша кількість з них була б у конфігурації, відповідній конфігурації природного бічного ланцюга. Вважаючи з циклічного гексапептиду, амінокислотні залишки знаходяться у конфігурації DLDDLLD. Зручно, щоб кінцева алкільна група містила від 1 до 12 атомів вуглецю, більш переважно - від 4 до 10 атомів вуглецю, і може бути заміщеною, і переважно розгалуженою. Відповідні замісники включають в себе галоген, гідрокси, алкокси, аміно, карбоксил, карбоксамідо, ціано, нітро, алкілсульфоніл та інші згадані тут групи. Найбільш переважні як замісники галогени.

У більш загальній формі бічний ланцюг R-CO-N- можна визначити для бічного ланцюга R_8 -NH-CHR $_7$ -CO-NH- у сполуках формули (II), включаючи сполуки зі сумішами амінокислот, що визначаються формулами (III), (IV) та (V).

Хоча переважні характеристики були сформульовані у відношенні кахалаліду F, інші переважні сполуки згідно з даним винаходом одержані із застосуванням тих самих принципів створення імітаторів інших кахалалідів. Так, амінокислоти та бічні ланцюги можуть бути змінені, переважно при збереженні гідрофобно-гідрофільної рівноваги між полярними та неполярними угрупованнями.

Сполуки згідно з винаходом мають корисну біологічну активність, включаючи протипухлинну активність.

У даному винаході запропонований спосіб лікування будь-якого ссавця, особливо людини, з раковим захворюванням, який включає в себе введення хворому індивідууму терапевтично ефективної кількості сполуки згідно з винаходом або фармацевтичної композиції, яка її містить.

Даний винахід відноситься також до фармацевтичних препаратів, які містять як активний інгредієнт сполуку або сполуки згідно з винаходом, а також до способів їх одержання.

Приклади фармацевтичних композицій включають в себе будь-які тверді композиції (таблетки, пілюлі, капсули, гранули та інш.) або рідкі композиції (розчини, суспензії або емульсії) відповідного складу для перорального, зовнішнього або парентерального введення, і вони можуть містити або чисту сполуку, або її комбінацію з будь-яким носієм або іншими фармацевтично прийнятними сполуками. Може виявитися необхідним стерилізувати ці композиції, призначені для парентерального введення.

Введення сполук згідно з винаходом можна здійснити будь-яким зручним способом, таким як внутрішньовенне вливання, у вигляді препаратів для перорального прийому, внутрішньочеревинних та внутрішньовенних ін'єкцій. Автори рекомендують використовувати тривалість вливань аж до 24 годин, більш переважно - від 2 до 12 годин, і найбільш переважно - 2-6 годин. Особливо бажані короточасні вливання, які дозволяють провести лікування без необхідності залишатися у лікарні на ніч. Однак при необхідності вливання можуть тривати від 12 до 24 годин і навіть довше. Вливання можна здійснювати з відповідними інтервалами, наприклад, від 2 до 4 тижнів. Фармацевтичні композиції, які містять сполуки згідно з винаходом, можна постачати в інкапсульованому у ліпосоми вигляді або у вигляді наносфер, у композиціях з уповільненим виділенням активної речовини, або за допомогою інших стандартних способів доставки.

Точне дозування сполук буде мінятися в залежності від конкретної лікарської форми, способу введення та конкретних ділянок введення, від пацієнта і пухлини, що підлягає лікуванню. Потрібно враховувати і інші фактори, такі як вік, вага, стать, харчовий раціон, швидкість виведення, стан пацієнта, комбінацію ліків, реакційну чутливість та тяжкість захворювання, що підлягає лікуванню. Введення препарату можна здійснювати безперервно або періодично у рамках максимальної переносимої дози.

Сполуки та композиції згідно з винаходом можна використати разом з іншими ліками для забезпечення комбінованої терапії. Інші ліки можуть становити частину тієї самої композиції або можуть надаватися у вигляді окремої композиції для одночасного введення або для введення в інший час. Склад інших ліків

конкретно не обмежений, і відповідні варіанти включають в себе

а) лікарські засоби, які мають антимітотичну дію, особливо такі, мішенню яких є цитоскелетні елементи, включаючи модулятори мікротрубочок, такі як таксанові лікарські засоби (такі як таксол, паклітаксел, таксотере, доцетаксел), подофілотоксини або алкалоїди барвінку (вінкристин, вінбластин);

б) антиметаболічні агенти, такі як 5-фторурацил, цитарабін, гемцитабін, пурин та аналоги, такі як пентостатин, метотрексат);

с) алкілюючі агенти, такі як азотистий іприт (такі як циклофосфамід або іфосфамід);

д) лікарські засоби, які діють на ДНК, такі як ліки антрациклінового ряду, адриаміцин, доксорубіцин, фарморубіцин або епірубіцин;

е) лікарські засоби, які діють на топоізомерази, такі як етопозид;

ф) гормони та агоністи гормонів або їх антагоністи, такі як естрогени, антиестрогени (тамоксифен та споріднені сполуки) і андрогени, флутамід, леупрорелін, гозерелін, ципротрон або октреотид;

г) лікарські засоби, які діють на сигнальну трансдукцію в пухлинних клітинах, включаючи похідні антитіл, такі як герцептин;

h) алкілюючі агенти, такі як лікарські препарати на основі платини (цис-платин, карбонплатин, оксаліплатин, параплатин) або нітрозозуреаза;

і) лікарські засоби, що потенційно впливають на метастази пухлин, такі як інгібітори матричної металопротеази;

j) агенти генної терапії та антисмислові агенти;

к) лікарські засоби на основі антитіл;

l) інші біоактивні сполуки морського походження, особливо ектейнасцидини, такі як ектейнасцидин 743 або дидемніни, такі як аплідін;

m) аналоги стероїдів, зокрема дексаметазон;

n) протизапальні лікарські засоби, особливо дексаметазон; та

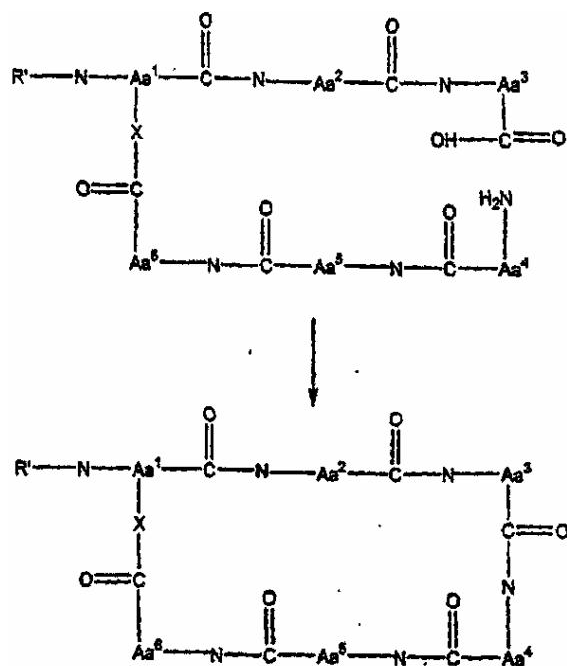
о) протиплювотних ліків, зокрема, дексаметазон.

Даний винахід охоплює також сполуки згідно з винаходом, які використовуються у способі лікування, і застосування сполук для одержання композицій для лікування раку.

Припускається також, що сполуки згідно з винаходом мають протитуберкульозну активність.

Відповідно до даного винаходу, запропонований спосіб одержання сполук згідно з винаходом, включаючи кахалалід F, який включає у себе замикання кільця між Aa₃ та Aa₄. Автори виявили, що замикання кільця у цьому положенні забезпечує гарний спосіб. Замикання кільця може відбуватися перед іншими модифікаціями у молекулі, або його можна здійснити після модифікацій (модифікації включають в себе створення або подовження бічного ланцюга у Aa₁ і/або видалення захисних груп, і/або модифікацію замісників у амінокислот.

Так, спосіб можна проілюструвати наступною схемою:



де R' являє собою групу R-CO-, або її попередник, і де одна або більше з амінокислот може мати захисні групи, і де -COOH в Aa₃ і/або -NH₂ в Aa₄ можуть бути необов'язково захищені, активовані, або можуть бути одержані їх похідні. Такі процедури з використанням попередників, шляхом активації або одержання похідних самі по собі є абсолютно звичайними, і в їх деталізації немає необхідності при викладі способу згідно з винаходом.

Спосіб згідно з винаходом можна здійснити, виходячи з вихідних матеріалів енантіо- і стереоконтрольованим швидким способом, використовуючи переваги способу твердофазного синтезу, при якому молекула у конструкції зв'язана з нерозчинним носієм протягом всього процесу синтезу. Таким чином, надлишок реагентів та розчинних побічних продуктів можна легко видалити шляхом промивки молекул-на-смолі відповідними розчинниками. Тому можна використати великий надлишок розчинних реагентів для доведення реакції до завершення за короткий проміжок часу, при цьому уникаючи рацемізації (якщо вона можлива) та інших вторинних реакцій.

Видалення Fmoc групи здійснюють, використовуючи піперидин-ДМФ (2:8, об/об) (1x1хв, 3x5хв, 1x10хв). Реакцію сполучення Fmoc-, Alloc-Aaa-OH та R₁₁-COOH (5еквів.) здійснюють, використовуючи HATU-DIEA, див. [Carpino, L.A.; E1-Faham, A.; Minor, C.A.; Albericio, F. J. Chem. Soc, Chem. Commun. 1994, 201-203], (5:10) у ДМФ протягом 90 хвилин. Після реакції сполучення проводять нігдриновий тест, і, якщо він

виявляється позитивним, реакцію сполучення повторюють у тих самих умовах, в іншому випадку процес, продовжують. Промивки між стадіями видалення захисних груп, реакції сполучення і знову видалення захисних груп здійснюють у ДМФ (5х0,5хв) та CH₂Cl₂ (5х0,5хв), використовуючи кожний раз по 10мл розчинника на 1г смоли.

Включення Alloc-Aaa₆-OH (7екв.), якщо X₁=O, здійснюють, використовуючи еквімолярну кількість DIPCDI та 0,7екв. DMAP протягом 2 годин. Цю реакцію сполучення повторюють двічі.

Видалення Alloc групи здійснюють, використовуючи Pd(PPh₃)₄ (0,1екв.) у присутності PhSiH₃ (10екв.) в атмосфері Ar, див. [Gomez-Martinez, P.; Thieriet, N.; Albericio, R; Guibe, F. J. Chem. Soc. Perkin 11999, 2871-2874].

Дегідратацію здійснюють у твердій фазі, використовуючи EDC (розчинний у воді карбодіімід, 100екв.) у присутності CuCl (60екв.) в CH₂Cl₂-ДМФ (10:2) протягом 6 днів. EDC/CuCl був використаний у дегідратації у розчині залишку Thr у фрагменті Nisin. [Fukase, K.; Kitazawa, M.; Sano, A.; Shimbo, K.; Horimoto, S.; Fujita, H.; Kubo, A.; Wakamiya, T.; Shibe, A. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1992, 65, 2227-2240].

Здійснюють реакцію сполучення дипептиду Alloc-Aaa₄-Aaa₅-OH (5екв.), одержаного в розчині з Alloc-Aaa₄-OH і H-Aaa₅ (OH, H)-OtBu з EDC, з подальшою дегідратацією та обробкою TFA, з HATU-DIEA (5:10) протягом 16 годин, і повторне сполучення протягом 3 годин. Використання інших агентів у реакції сполучення на основі HOBT, таких як HBTU або DIPCDI-HOBT, призводить до неповного включення дипептиду.

Відщеплення захищеного дипептиду від смоли здійснюють, використовуючи TFA-CH₂Cl₂ (1:99) (5х30с).

Стадію циклізації здійснюють, використовуючи DIPCDI-HOBT (3:3 екв.) в CH₂Cl₂-ДМФ протягом 2 годин. Можна також використати і інші способи, такі як з використанням PyBOP/DIEA (3:6 екв.) у ДМФ.

Остаточне видалення захисних груп здійснюють, використовуючи TFA-H₂O (95:5) протягом 1 години.

Приклади винаходу

Скорочення

Скорочення, використані для амінокислот, і позначення пептидів відповідають правилам IUPAC-IUB [Commission of Biochemical Nomenclature in J. Biol Chem. 1972, 247, 977-983]. Використані такі скорочення: 4-AcBut-OH, 4-ацетоксимасляна кислота; AcButBut-OH, 4-(4-ацетоксибутаноїлокси)-масляна кислота; ACH, аціано-4-гідроксикорична кислота; Alloc, алілоксикарбоніл; Boc, трет-бутоксикарбоніл; t-Bu, трет-бутил; But-OH, масляна кислота; Cl-TrtCl-смола, 2-хлортритилхлорид-смола; Dap, 2,3-діамінопропанова кислота; 4-DiMeABut-OH, N,N-диметил-4-аміномасляна кислота; 3,3-DiMeBut-OH, 3,3-диметилмасляна кислота; DHB, 2,5-дигідроксibenзойна кислота; Z-Dhb, a,b-дидегідро-a-аміно-масляна кислота; DIEA, N,N-діізопропілетиламін; ДМФ, N,N-диметилформамід; EDC, 1-етил-3-(3'-диметиламінопропіл)карбодіімід гідрохлорид; Etg, етилгіцин; ESMS, мас-спектрометрія з розсіянням електронів; FABMS, мас-спектрометрія з бомбардуванням швидкими атомами; Fmoc, 9-флуоренілметоксикарбоніл; HATU, N-[(диметиламіно)-1H-1,2,3-триазоло-[4,5-b]піридин-1-іл-метиле]-N-метилметанаміній гексафторфосфат N-оксид; HBTU, N-[(1H-бензотриазол-1-іл)(диметиламіно)метиле]-N-метилметанаміній гексафторфосфат N-оксид; 2-Hedo-OH, 2,4-гексадієнова кислота; Her-OH, гептанова кислота; HOAc, оцтова кислота, HOAt, 1-гідрокс-7-азабензотриазол (3-гідрокси-3H-1,2,3-триазоло-[4,5-b]піридин); HOBT, 1-гідроксibenзотриазол; lBut-OH, ізомасляна кислота; 3-MeBut-OH, 3-метилмасляна кислота; 5-MeHex-OH, 5-метилгексанова кислота; MeOH, метанол; 4-MePen-OH, 4-метилпентанова кислота; NMM, N-метилморфолін; 4-HOBut, 4-гідроксибутил; (b-OH)Phe-OH, b-гідроксифенілаланін; Lit-OH, літохалева кислота; Pal, пальмітинова кислота; D-Phe-OH, a,b-дидегідрофенілаланін; PyAOP, 7-азабензотриазол-1-іл-N-окси-трис(піролідіно)фосфоній гексафторфосфат; PyBOP, бензотриазол-1-іл-N-окси-трис(піролідіно)фосфоній гексафторфосфат; SPS, твердофазний синтез; TFA, трифтороцтова кислота; Tico-OH, тетраїкозанова кислота. Символи амінокислот означають L-конфігурацію, якщо немає інших вказівок. Всі відношення розчинників дані в одиницях об'єм/об'єм, якщо немає інших вказівок.

Загальні процедури. Cl-TrtCl-смола, захищені похідні Fmoc-амінокислоти, HOBT, PyBOP, HATU одержані від PerSeptive Biosystems (Framingham, MA), Bachem (Bubendorf, Switzerland), NovaBiochem (Laufelfingen, Switzerland). Alloc-амінокислоти одержані практично за способом Dangles et al. див. [Dangles, O.; Guibe, F.; Balavoine, G.; Lavielle, S.; Marquet A.J. Org. Chem. 1987, 52, 4984-4993], і 5-MeHex-OH через синтез за допомогою малонового ефіру. DIEA, DIPCDI, EDC, піперидин, TFA одержані від Aldrich (Milwaukee, WI). ДМФ та CH₂Cl₂ від SDS (Peyrin, France). Ацетонітрил (BEPX очищений) одержаний у Scharlau (Barcelona, Spain). Всі комерційні реагенти та розчинники використовували у тому вигляді, в якому вони були одержані, за винятком ДМФ та CH₂Cl₂, через які пропускали азот для видалення летких домішок (ДМФ), і зберігали над активованими молекулярними ситами 4Å (Merck, Darmstadt, Germany) (ДМФ) або CaCl₂ (CH₂Cl₂). Реакції у розчинах здійснювали у круглодонних колбах. Екстракти органічних розчинників сушили над безводним MgSO₄, з подальшим видаленням розчинника при зниженому тиску та температурі <40°C.

Твердофазний синтез здійснювали у поліпропіленових шприцах (20, 10мл), забезпечених поліетиленовим пористим диском. Розчинники та розчинні реагенти видаляли шляхом відсмоктування. Видалення Fmoc груп здійснювали, використовуючи суміш піперидин-ДМФ (2:8, об/об) (1х1хв, 3х5хв, 1х10хв). Промивки між стадіями видалення захисних груп, реакції сполучення і знову видалення захисних груп здійснювали, використовуючи ДМФ (5х0,5хв) та CH₂Cl₂ (5х0,5хв), використовуючи кожний раз 10мл розчинника на 1г смоли. Перетворення пептидного синтезу та промивки здійснювали при 25°C. Синтез, здійснюваний у твердій фазі, контролювали за допомогою ВЕРХ в аліквотах проміжних сполук, одержаних після відщеплення з використанням TFA-H₂O (9:1) протягом 60хв (приблизно 10мг) з ВЕРХ-колонок з пептидил-смолою [Kromasil Cig (Умови A-F)/C4 (умови G,H)], колонки із оберненою фазою 4,6х250мм, 10мм) були від Akzo Nobel (Bohum, Sweden). Аналітичну ВЕРХ здійснювали на приладі Shimadzu, який містить два насоси для подачі розчинників (модель LC-6A), автоматичних інжектори (модель SIL-6B), детектор із змінною довжиною хвилі (модель SPD-6A), автоматичний регулятор системи (модель SCL-6B) та самопис (модель C-R6A). У Ф детектування здійснювали при 220нм, з лінійними градієнтами CH₃CN (+0,036% TFA) у H₂O (+0,045% TFA) при швидкості потоку 1,0мл/хв, починаючи з (умова А) 1:9 до 10:0 за 30хв; (умова В) 3:7 до 10:0 за 30хв; (умова С) 1:19 до 19:1 за 30хв; (умова D) 45:55 до 90:10 за 30хв; (умова E) 45:55 до 6:4 за 30хв; (умова F) ізокартично 1:1; (умова G) 3:7 до 1:0 за 30хв; (умова H) 1:1 до 1:0 за 30хв.

MALDI-TOF- та ES-MS аналізи пептидних зразків проводили на PerSeptive Biosystems Voyager DE RP, використовуючи CHCA або DHB матриці, і за допомогою Мікромас-спектрометра Micromass VG-quattro. Зразки пептид-смоли гідролізували у 12 н водній HCl-пропіоновій кислоті (1:1) при 155°C протягом 1-3 годин, і пептид-вільні зразки гідролізували у 6н водної HCl при 155°C протягом 1 години. Подальший аналіз амінокислот здійснювали за допомогою автоаналізатора Beckman System, 6300. Спектри ¹H ЯМР (500МГц, 200МГц) та ¹³C-NMR (50МГц) одержані на спектрометрах Bruker DMX-500 (11,7 T) і Varian Gemini 200 (4,7 T). Хімічні зсуви (δ) виражені в частинах на мільйон у слабке поле від сигналу TMS. Константи взаємодії виражені в герцах.

Кахалалід F (I)

Приклад 1

H-D-Val-O-TrtCl-смола

Cl-TrtCl-смола (1г, 1,35ммоль/г) вміщують у 20мл поліпропіленовий шприц, обладнаний дисковим фільтром з поліетилену. Потім смола промивають CH₂Cl₂ (5x0,5хв), і додають розчин Fmoc-D-Val-OH (92мг, 0,27ммоль, 0,2еквів.) та DIEA (471мл, 2,7ммоль, 2еквів.) у CH₂Cl₂ (2,5мл), і суміш перемішують протягом 1 години. Реакцію зупиняють внаслідок додавання MeOH (800мл), після перемішування протягом 15 хвилин. Fmoc-D-Val-O-TrtCl-смола піддають подальшій обробці промивками/обробкою CH₂Cl₂ (3x0,5хв), ДМФ (3x0,5хв), піперидин-CH₂Cl₂-ДМФ (1:9,5:9,5, 1x10хв), піперидин-ДМФ (1:4, 1x15хв), ДМФ (5x0,5хв), ізопропанолом (2x1хв), ДМФ (5x0,5хв), MeOH (2x1хв), і сушать у вакуумі. Вихід при розрахунку за допомогою AAA становить 0,15ммоль/м.

Приклад 2

Fmoc-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-Alloc)-D-allo-Ile-D-Val-O-TrtCl-смола

Fmoc-D-allo-Ile-OH (265мг, 0,75ммоль, 5еквів.), Fmoc-D-allo-Thr-OH (вільна гідроксильна група) (256мг, 0,75ммоль, 5еквів.), і Fmoc-D-allo-Ile-OH (265мг, 0,75ммоль, 5еквів.), додають послідовно до одержаної вище H-D-Val-O-TrtCl-смоли, використовуючи HATU (285мг, 0,75ммоль, 5еквів.) та DIEA (261мл, 1,5ммоль, 10еквів.) у ДМФ (2,5мл). У всіх випадках, після 90хв реакції сполучення, нінгідриновий тест був негативним. Видалення Fmoc-групи та промивки здійснюють за способом, викладеним у розділі «Загальні процедури». Здійснюють реакцію сполучення Alloc-Val-OH (211мг, 1,05ммоль, 7еквів.) з DIPCDI (163мг, 1,05ммоль, 7еквів.) у присутності DMAP (12,8мг, 0,105ммоль, 0,7еквів.). Цю реакцію сполучення повторюють в тих самих умовах двічі. Аліквоту пептидил-смоли обробляють TFA-H₂O (9:1) протягом 60хв, і за даними ВЕРХ (Умова А, t_R 25,9хв) для сирого продукту, одержаного після випаровування, ступінь чистоти становить >98%. ESMS. Розраховано для C₄₅H₆₃N₅O₁₁, 849,5. Знайдено: m/z 850,1 [M+H]⁺.

Приклад 3

5-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-Alloc)-D-allo-Ile-D-Val-O-TrtCl-смола

Fmoc-групу видаляють, і до вищезгаданої пептидил-смоли (Приклад 2) послідовно додають Fmoc-Orn(Boc)-OH (341мг, 0,75ммоль, 5еквів.), Fmoc-D-Pro-OH (253мг, 0,75ммоль, 5еквів.), Fmoc-D-Val-OH (255мг, 0,75ммоль, 5еквів.), Fmoc-Val-OH (255мг, 0,75ммоль, 5еквів.), Fmoc-Thr(tBu)-OH (298мг, 0,75ммоль, 5еквів.), Fmoc-D-Val-OH (255мг, 0,75ммоль, 5еквів.), та 5-MeHex-OH (98мг, 0,75ммоль, 5еквів.), використовуючи HATU (285мг, 0,75ммоль, 5еквів.) та DIEA (261мл, 1,5ммоль, 10еквів.) у ДМФ (2,5мл). У всіх випадках, після 90хв здійснення реакції сполучення нінгідриновий або хлораніловий (після включення D-Val) тести були негативними. Видалення Fmoc-груп та промивки здійснюють за способом, розкритим у розділі «Загальні процедури». Аліквоту пептидил-смоли обробляють TFA-H₂O (9:1) протягом 60хв, і за даними ВЕРХ (Умова В, t_R 17,2хв) для сирого продукту, одержаного після випаровування, ступінь чистоти становить >82%. ESMS. Розраховано для C₈₆H₁₁₆N₁₂O₁₇, 1348,9. Знайдено: m/z 1350,0 [M+H]⁺.

Приклад 4

5-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-Thr-Phe-Alloc)-D-allo-Ile-D-Val-O-TrtCl-смола

Alloc-групу видаляють за допомогою Pd(PPh₃)₄ (17,3мг, 0,015ммоль, 0,1еквів.) у присутності PhSiH₃ (185мкл, 1,5ммоль, 10еквів.) в атмосфері Ar. Fmoc-Thr-OH (вільна гідроксильна група) (256мг, 0,75ммоль, 5еквів.) та Alloc-Phe-OH (187мг, 0,75ммоль, 5еквів.) послідовно додають до вищезгаданої пептидил-смоли (Приклад 3), використовуючи HATU (285мг, 0,75ммоль, 5еквів.) та DIEA (261мл, 1,5ммоль, 10еквів.) у ДМФ (2,5мл). У всіх випадках після 90 хвилин здійснення реакції сполучення нінгідриновий тест був негативним. Видалення Fmoc-групи та промивки здійснюють за способом, розкритим у розділі «Загальні процедури». Аліквоту пептидил-смоли обробляють TFA-H₂O (9:1) протягом 60хв, і за даними ВЕРХ (Умова В, t_R 17,8хв) для сирого продукту, одержаного після випаровування, ступінь чистоти становить >70%. ESMS, розраховано для C₇₉H₁₃₂N₁₄O₂₀, 1597,0. Знайдено: m/z 1598,2 [M+H]⁺.

Приклад 5

5-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-Z-Dhb-Phe-H)-D-allo-Ile-D-Val-O-TrtCl-смола (у результаті дегідратації у твердій фазі)

Одержану вище пептидил-смола (Приклад 4) обробляють EDC (2,88г, 15ммоль, 100еквів.), CuCl (891мг, 9ммоль, 60еквів.) у CH₂Cl₂-ДМФ (10:2) (12мл) протягом 6 днів. Після інтенсивних промивок ДМФ, CH₂Cl₂, і ДМФ, Alloc-групу видаляють, використовуючи Pd(PPh₃)₄ (17,3мг, 0,015ммоль, 0,1еквів.) у присутності PhSiH₃ (185мкл, 1,5ммоль, 10еквів.) в атмосфері Ar. Кінцевий вихід, розрахований за допомогою AAA, становить 0,11ммоль/г (92% повний вихід). Аліквоту пептидил-смоли обробляють TFA-H₂O (9:1) протягом 60хв, і за даними ВЕРХ (Умова В, t_R 17,2хв) для сирого продукту, одержаного після випаровування, ступінь чистоти становить >70%. ESMS, розраховано для C₇₅H₁₂₆N₁₄O₁₇, 1495,0. Знайдено: m/z 1496,0 [M+H]⁺.

Приклад 6

5-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-Z-Dhb-Phe-H)-D-allo-Ile-D-Val-OH

Захищений пептид відщеплюють від смоли (0,5г, 55,9мкмоль), використовуючи TFA-CH₂Cl₂ (1:99) (5x30с). Об'єднані фільтрати випаровують досуху при зниженому тиску та ліофілізують, одержуючи 80,2мг (48,5мкмоль, 87% вихід) вказаної у заголовку сполуки зі ступенем чистоти >70%, за даними ВЕРХ (Умова В, t_R 25,7хв). ESMS, розраховано для C₈₄H₁₄₂N₁₄O₁₉, 1651,1. Знайдено: m/z 1652,3 [M+H]⁺.

Приклад 7
Кахалалід F (I).

Захищений пептид (Приклад 6) (40,0мг, 24мкмоль) розчиняють у ДМФ (25мл), і додають РувОР (37,8мг, 73мкмоль, Зеквів.) та DIEA (25мл, 145мкмоль, беквів.). Суміш перемішують протягом 1 години, потім розчинник видаляють, випаровуючи при зниженому тиску. Захищений циклічний пептид розчиняють у TFA-H₂O (19:1, 5мл), і суміш перемішують протягом 1 години. Розчинник видаляють, випаровуючи при зниженому тиску, і потім додають H₂O (5мл) та ліофілізують. Сирий продукт очищають за допомогою хроматографії середнього тиску (Vydac C₁₈ 15-20мкм, 300Å, 240x24мм), лінійний градієнт від 20% до 60% ацетонітрилу (+0,05% TFA) у воді (+0,05% TFA) протягом 5 годин (300мл кожного розчинника), 120мл/година, реєстрація при 220нм, у результаті одержують вказаний у заголовку продукт (5,0мг, 3,4мкмоль, вихід 14%). MALDI-TOF-MS, розраховано для C₇₅H₁₂₄N₁₄O₁₆, 1477,9. Знайдено: m/z 1478,7 [M+H]⁺, 1500,6 [M+Na]⁺, 1516,5 [M+K]⁺. Продукт спів-елюють, використовуючи ВЕРХ [Умову D (t_R 12,5хв), E (t_R 17,4хв), та F (t_R 12,1хв) з аутентичним зразком кахалаліду F. Спектр ¹H ЯМР (500МГц, d⁶-ДМСО) сполуки був ідентичний спектру природного продукту (результати представлені у таблиці I)

Таблиця I

Залишок	N-H	H _α	H _β	Інші характеристики
(Z)-Dhb	9,69 (с)	-	6,34 (кв., J=7,0Гц)	1,26 (д, J=7,5Гц, γ-CH ₃)
D-allo-Ile 1	8,82 (д, J=10,0Гц)	4,31	1,73	1,31, 1,02, 0,77 (γ-CH ₂ , γ-CH ₃ , δ-CH ₃)
L-Phe	8,79 (д, J=5,5Гц)	4,42	2,93 (м)	7,20 (1H Ar, м) 7,28 (4H Ar, м)
D-allo-Thr	8,56 (д, J=8,0Гц)	4,53	4,96 (м)	1,07 (δ, J=6,5Гц, γ-CH ₃)
D-Val 3	8,10(д, J=8,5Гц)	4,26	1,94	0,86 (2 γ-CH ₃)
L-Orn	7,95 (д, J=8,5Гц)	4,49	1,48 (2H)	1,67 (γ-CH ₂), 2,74 (bs, δ-CH ₂), 7,69 (ε-NH ₃ ⁺)
D-allo-Ile 2	7,90 (д)	4,37	1,69	1,30, 1,03, 0,77 (γ-CH ₂ , γ-CH ₃ , δ-CH ₃)
D-Val 5	7,88 (д)	4,23	1,96	0,84 (2γ-CH ₃)
L-Thr	7,82 (д, J=8,0Гц)	4,26	3,97 (м)	4,88 (д, J=5,0Гц, OH), 0,98 (д, J=6,5Гц, γ-CH ₃)
D-Val 2	7,62 (д, J=8,5Гц)	4,46	2,17	0,77 (γ-CH ₃), 0,62 (д, J=7,0Гц, γ-CH ₃)
L-Val 4	7,57 (д, J=8,5Гц)	4,28	1,98	0,80 (2γ-CH ₃)
L-Val 1	6,76 (д, J=9,0Гц)	3,86	1,39	0,62 (д, J=7,0Гц, γ-CH ₃), 0,58 (д, J=6,0Гц, γ-CH ₃)
D-Pro	-	4,36	2,03, 1,87, 1,79 (β-CH ₂ , γ-CH ₂), 3,76 (1H, м, 5-CH ₂), 3,53 (1H, м, **-CH ₂)	
5-MeHex	-	2,13 (2H)	1,47 (β-CH ₂ , δ-CH), 1,11 (γ-CH ₂), 0,82 (2 ε-CH ₃)	

Приклад 7біс

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Van.

Одержують як побічний продукт під час одержання (у процесі рацемізації на стадії циклізації) прикладу 7. Продукт охарактеризований за допомогою ВЕРХ (t_R 17,4хв. Умова В) і ESMS, розраховано для C₇₅H₁₂₄N₁₄O₁₆, 1477,9. Знайдено: m/z 1501,3 [M+Na]⁺, 1517,3 [M+K]⁺.

Кахалалід F (I)

Приклад 8

Alloc-Phe-Thr-OtBu

H-Thr-OtBu-HCl (3,1г, 15ммоль, 1,3еквів.) розчиняють у CH₂Cl₂ (30мл) і додають DIEA (2,9мл, 17ммоль, 1,5еквів.), і суміш перемішують протягом 30хв. Потім додають Alloc-Phe-OH (2,8г, 11ммоль, 1еквів.) та EDC (2,8г, 15ммоль, 1,3еквів.) у CH₂Cl₂ (35мл), і реакційну суміш перемішують протягом 18 годин. Органічну реакційну суміш промивають H₂O (3x25мл), сушать (MgSO₄) і концентрують у вакуумі. Одержане масло (4,12г) очищають за допомогою флеш-хроматографії [CHCl₃-MeOH-НОAc (9:1:0,2)], одержуючи вказану у заголовку сполуку (3,25г, 8ммоль, 71% вихід), яку характеризують за допомогою аналітичної ВЕРХ (t_R 20,9хв, ступінь чистоти >98%; Умова С); ESMS, розраховано для C₂₁H₃₀N₂O₆ 406,2. Знайдено: m/z 408,0 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (200МГц, CDCl₃): 7,1-7,3 (5H, м, Ar); 6,89 (1H, д, J=8,8Гц, NH); 5,7-5,9 (1H, м, CH аліл); 5,56 (1H, д, J=8,0Гц, OH); 5,2-5,3 (2H, м, CH₂ g-аліл); 4,52 (2H, д, J=5,4Гц, CH₂ a-аліл); 4,45 (1H, дд, J=8,4Гц, 2,8Гц, a-CH Thr); 4,22 (1H, дкв., J=6,2Гц, J=3,0Гц, b-CH Thr); 3,0-3,2 (2H, м, b-CH₂ Phe); 1,47 (9H, s, tBu); 1,15 (3H, д, J=6,6Гц, g-CH₃ Thr); ¹³C ЯМР (50МГц, CDCl₃): 172,2 (CO), 169,5 (CO); 156,0 (CO); 136,1 (Cq, Ar); 132,5 (CH, аліл); 129,3 (CH, Ar); 128,5 (CH, Ar); 126,9 (CH, Ar); 117,7 (CH₂, аліл); 82,7 (Cq, tBu); 68,5 (b-CH Thr); 65,9 (CH₂, аліл); 58,0 (a-CH Thr); 56,2 (a-CH Phe); 38,3 (b-CH₂ Phe); 28,0 (CH₃, tBu); 20,8 (g-CH₃ Thr).

Приклад 9

Alloc-Phe-Z-Dhb-OtBu

Alloc-Phe-Thr-OtBu (3,25г, 8,0ммоль), EDC (9,90г, 52ммоль, 6,5еквів.) і CuCl (2,14г, 22ммоль, 2,7еквів.) розчиняють у суміші CH₂Cl₂-безводний ДМФ (65мл, 12:1) в атмосфері N₂, і суміш перемішують протягом 2 днів в атмосфері N₂. Органічний розчинник видаляють у вакуумі, і залишок вміщують у насичений розчин EDTA (100мл), який екстрагують EtOAc (3x50мл). Об'єднані органічні розчини промивають розсоллом (3x60мл), сушать (MgSO₄) і концентрують у вакуумі, одержуючи тверду речовину блідо-жовтого кольору (2,8г), яку очищають за допомогою флеш-хроматографії [CHCl₃-MeOH-НОAc (9:1:0,1)], одержуючи вказану у заголовку сполуку (2,6г, 6,7ммоль, 84% вихід), яку характеризують за допомогою аналітичної ВЕРХ (t_R 23,1хв, ступінь чистоти >95%; Умова С); ESMS, розраховано для C₂₁H₂₈N₂O₅ 388,2. Знайдено: m/z 389,6 [M+H]⁺; ¹H ЯМР (200МГц, CDCl₃): 7,2-7,4 (5 H, м, Ar); 6,69 (1H, кв., J=7,4Гц, CH Dhb); 5,8-6,0 (1H, м, CH аліл); 5,2-5,3 (2H, м, CH₂ g-аліл); 4,5-4,6 (2H, м, a-CH₂ аліл); 3,1-3,3 (2H, м, b-CH₂ Phe); 1,67 (3H, д, J=7,2Гц, CH₃ Dhb); 1,47 (9H, s, tBu); ¹³C ЯМР (50МГц, CDCl₃): 168,9 (CO); 163,1 (CO); 156,0 (CO); 136,0 (Cq, Ar); 132,6, 132,3 (CH, аліл; b-CH Dhb); 129,3 (CH, Ar); 128,7 (CH, Ar); 127,0 (CH, Ar); 117,9 (CH₂, аліл); 81,7 (Cq, fHu); 66,0 (CH₂, аліл); 56,3 (a-CH Phe); 38,2 (b-CH₂ Phe); 28,0 (CH₃, tBu); 14,7 (CH₃ Dhb).

Приклад 10

Alloc-Phe-Z-Dhb-OH

Alloc-Phe-Z-Dhb-OtBu (2,6г, 6,7ммоль) розчиняють у суміші TFA-CH₂Cl₂-H₂O (90:8:2, 5,5мл), і цю суміш перемішують протягом 3 годин. Органічну реакційну суміш концентрують у вакуумі, одержуючи вказану у заголовку сполуку (2,2г, 6,6ммоль, 99% вихід), яку характеризують за допомогою аналітичної ВЕРХ (*t_R* 17,0хв, ступінь чистоти >95%; Умова С); ESMS, розраховано для C₁₇H₂₀N₂O₅ 332,1. Знайдено *m/z* 333,7 [M+H]⁺; ¹HЯМР (200МГц, CD₃OD): 7,2-7,3 (5H, м, Ar); 6,84 (1H, кв., J=7,2Гц, CH Dhb); 5,8-6,0 (1H, м, CH аліл); 5,1-5,3 (2H, м, CH₂ g-аліл); 4,4-4,5 (2H, м, α-CH₂ аліл); 3,2-3,3 (1H, м, b-CH₂ Phe); 1,66 (3H, д, J=7,4Гц, CH₃ Dhb); ¹³C ЯМР (50МГц, CD₃OD): 173,1 (CO); 138,5 (Cq, Ar); 136,7, 134,1 (CH, аліл; b-CH Dhb); 130,3 (CH, Ar); 129,4 (CH, Ar); 127,7 (CH, Ar); 117,4 (CH₂ аліл); 66,6 (CH₂ аліл); 57,8 (α-CHPhe); 39,1 (b-CH₂ Phe); 14,1 (CH₃ Dhb).

Приклад 11

5-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-Alloc)-D-allo-Ile-D-Val-O-TrtCl-смола Cl-TrtCl-смола (0,45г, 1,35ммоль/г) вміщують у 10мг поліпропіленовий шприц, обладнаний поліетиленовим дисковим фільтром. Пептидил-смола одержують тим самим способом, що і у прикладах 1-3, крім того, що у реакції сполучення першої амінокислоти (Fmoc-D-Val-OH) зі смолою використовують 0,3 еквівалента замість 0,2 еквівалентів. Початковий вихід при розрахунку за допомогою AAA становить 0,29ммоль/г. Після здійснення реакції сполучення амінокислот, аліквоту пептидил-смоли обробляють TFA-H₂O (9:1) протягом 60хв, і за даними ВЕРХ (Умова В, *t_R* 17,3хв) для сирого продукту, одержаного після випаровування, ступінь чистоти становить >80%. ESMS, розраховано для C₆₆H₁₁₆N₁₂O₁₇, 1348,9. Знайдено: *m/z* 1350,1 [M+H]⁺.

Приклад 12

5-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-Z-Dhb-Phe-Alloc)-D-allo-Ile-D-Val-O-TrtCl-смола [внаслідок включення дипептиду]

Пептидил-смола обробляють Pd(PPh₃)₄ (15,1мг, 0,013ммоль, 0,1еквів.) в присутності PhSiH₃ (161мкл, 1,3ммоль, 10еквів.) в атмосфері Ar, для видалення Alloc групи.

Alloc-Phe-Z-Phb-OH (217мг, 0,65ммоль, 5еквів.) та HATU (249мг, 0,65ммоль, 5еквів.) розчиняють у ДМФ (1,25мл) і додають до пептидил-смоли, потім додають DIEA (228мкл, 1,3ммоль, 10еквів.), і суміш перемішують протягом ночі. Після промивок, повторюють реакцію сполучення з тією самою кількістю реагентів протягом 3 годин, коли нігдринний тест стає негативним. Після промивок ДМФ та CH₂Cl₂, аліквоту пептидил-смоли обробляють TFA-H₂O (9:1) протягом 60хв, і за даними ВЕРХ (Умова В, *t_R* 18,3хв) для сирого продукту, одержаного після випаровування, ступінь чистоти становить >80%. MALDI-TOF-MS, розраховано для C₇₉H₁₃₀N₁₄O₁₉, 1597,0. Знайдено: *m/z* 1580,3 [M+H]⁺, 1602,2 [M+Na]⁺, 1618,2 [M+K]⁺.

Приклад 13

5-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-allo-Ile-D-allo-Thr(Val-Z-Dhb-Phe-H)-D-allo-Ile-D-Val-OH

Alloc групу з пептидил-смоли (Приклад 12) видаляють, використовуючи Pd(PPh₃)₄ (15,1мг, 0,013ммоль, 0,1еквів.) в присутності PhSiH₃ (161мкл, 1,3ммоль, 10еквів.) в атмосфері Ar. Кінцевий вихід, розрахований за допомогою AAA, становить 0,16ммоль/г (79% повний вихід). Захищений пептид відщеплюють від смоли (235мг, 37,5ммоль) за допомогою TFA-CH₂Cl₂ (1:99) (5х30с). Об'єднані фільтрати випаровують досуху при зниженому тиску та ліофілізують, одержуючи 40,5мг (24,5ммоль, 65%) вказаної у заголовку сполуки зі ступенем чистоти >80% за даними ВЕРХ (Умова В, *t_R* 24,3хв). MALDI-TOF-MS, розраховано для C₈₄H₁₄₂N₁₄O₁₉, 1651,1. Знайдено: *m/z* 1674,8 [M+Na]⁺, 1690,8 [M+K]⁺.

Приклад 14

Кахалалід F (I)

Захищений пептид (Приклад 13) (38,5мг, 23ммоль) розчиняють у ДМФ (25мл), і додають PyBOP (36,4мг, 70ммоль, 3еквів.) та DIEA (24мл, 140ммоль, 6еквів.). Суміш залишають при перемішуванні на 1 годину, а потім розчинник видаляють, випаровуючи його при зниженому тиску. Захищений циклічний пептид розчиняють у TFA-H₂O (19:1, 5мл) і суміш перемішують протягом 1 години. Розчинник видаляють, випаровуючи його при зниженому тиску, і потім додають H₂O (5мл) та ліофілізують. Сирий продукт очищають за способом прикладу 7, одержуючи вказану у заголовку сполуку (3,6мг, 2,4ммоль, 10% вихід), яка було ідентична сполуці, одержаній у прикладі 7.

5-MeHex-D-Val-Thr-D-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val) [структура приписана Кахалаліду F Goetz, G., et al. Tetrahedron, 1999, vol.55, pp.7739-7746]

Приклад 15

5-MeHex-D-Val-Thr-D-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dnb-Val) [в результаті дегідратації у твердій фазі]

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, за єдиним винятком в тому, що у прикладі 3 Fmoc-Val-OH включають у D-Pro-пептидил-смола, а потім після видалення Fmoc групи, включають Fmoc-D-Val-OH. Кінцевий вихід, розрахований за допомогою AAA, становить 0,106ммоль/г (87% повний вихід), вихід відщеплення становить 83%, і одержують 4,7мг вказаної у заголовку сполуки, яка являє собою 13% повний вихід стадій циклізації, видалення захисних груп та очищення. При обробці за допомогою ВЕРХ цей продукт елюється на 0,8-1,9хв пізніше, ніж аутентичний зразок кахалаліду F [Умова D (*t_R* 13,3 в порівнянні з 12,5хв), E (*t_R* 18,8 в порівнянні з 17,4хв), і F(*t_R* 14,0 в порівнянні з 12,1хв)]. MALDI-TOF-MS, Розраховано для C₇₅H₁₂₄N₁₄O₁₆ 1477,9. Знайдено: *m/z* 1478,7 [M+H]⁺, 1500,7 [M+Na]⁺, 1516,6 [M+K]⁺.

Спектр ¹H ЯМР (500МГц, d⁶-ДМСО) сполуки (таблиці II та III) відрізнений від спектра, одержаного для аутентичного зразка кахалаліду F. Найбільша відмінність полягає у тому, що одержана синтетичним шляхом сполука має дві конформації, зумовлені цис-транс рівновагою між L-Val-D-Pro залишками, не спостерігається ні в природному продукті, ні в ізомері, одержаному у прикладі 7.

Залишок	N-H	H α	H β	Інші характеристики
(Z)-Dhb	9,67 (с)	-	6,33 (кв.)	1,27 (д, J=7,0Гц, γ -CH ₃)
D-allo-Ile 1	8,80 (д)	4,31	1,73	1,32, 0,77 (γ -CH ₂ , γ -CH ₃ , δ -CH ₃)
L-Phe	8,78 (д, J=5,5Гц)	4,43	2,93 (м)	7,20 (1H Ar, м) 7,28 (4H Ar, м)
D-allo-Thr	8,58 (д, J=9,0Гц)	4,53	4,95 (м)	1,07 (д, J=6,5Гц, γ -CH ₃)
L-Val 3	7,97 (д, J=8,0Гц)	4,34	1,94	0,84 (2 γ -CH ₃)
L-Orn	7,77 (д, J=8,5Гц)	4,47	1,46 (2H)	1,66 (γ -CH ₂), 2,72 (bs, δ -CH ₂), 7,66 (ϵ -NH ₃ ⁺)

D-allo-Ile 2	7,87 (д, J=8,5Гц)	4,37	1,68	0,75 (δ -CH ₃ або d-CH ₃ та γ -CH ₃)
D-Val 5	7,90	4,22	1,95	0,85 (2 γ -CH ₃)
L-Thr	7,90 (д)	4,24	4,02	4,98 (OH), 1,02 (γ -CH ₃)
D-Val 2	7,63 (д, J=8,5Гц)	4,45	2,18	0,77 (γ -CH ₃), 0,62 (γ -CH ₃)
D-Val 4	7,56 (д, J=9,0Гц)	4,34	2,02	0,84 (γ -CH ₃), 0,79 (γ -CH ₃),
L-Val 1	6,75 (д)	3,86	1,39	0,62 (2 γ -CH ₃)
D-Pro	-	4,30	2,03, 1,81, 1,73 (β -CH ₂ , γ -CH ₂), 3,73 (1H, м, 5-CH ₂), 3,52 (1H, м, δ -CH ₂)	
5-MeHex	-	2,08 (1H) 2,15 (1H)	1,48 (β -CH ₂ , δ -CH), 1,11 (γ -CH ₂), 0,82 (2 ϵ -CH ₃)	

Таблиця III
(менший, цис-ізомер)

Залишок	N-H	H α	H β	Інші характеристики
(Z)-Dhb	9,63 (с)	-	6,33 (кв.)	1,28 (д, J=6,5Гц, γ -CH ₃)
D-allo-Ile 1	8,76 (д)	4,30	1,71	1,33, 0,76 (γ -CH ₂ , γ -CH ₃ , δ -CH ₃)

L-Phe	8,78 (д, J=5,5Гц)	4,43	2,93 (м)	7,20 (1H Ar, м) 7,28 (4H Ar, м)
D-allo-Thr	8,58 (д, J=9,0Гц)	4,53	4,95 (м)	1,00 (γ -CH ₃)
L-Val 3	8,06 (д, J=8,5Гц)	4,11	1,81	0,71 (γ -CH ₃), 0,60 (γ -CH ₃)
L-Orn	8,37 (д, J=9,0Гц)	4,62	1,52 (2H)	1,64 (γ -CH ₂), 2,78 (bs, δ -CH ₂), 7,66 (ϵ -NH ₃ ⁺)
D-allo-Ile 2	8,09 (д, J=9,0Гц)	4,42	1,64	0,77 (δ -CH ₃ або d-CH ₃ та γ -CH ₃)
D-Val 5	7,90	4,22	1,95	0,85 (2 γ -CH ₃)
L-Thr	7,88 (д)	4,23	3,99	4,93 (OH), 1,02 (γ -CH ₃)
D-Val 2	7,63 (д, J=8,5Гц)	4,45	2,18	0,77 (γ -CH ₃), 0,62 (γ -CH ₃)
D-Val 4	7,49(д, J=9,0Гц)	4,34	1,94	0,79 (γ -CH ₃), 0,73 (γ -CH ₃)
L-Val 1	6,72 (д)	3,84	1,38	0,62 (2 γ -CH ₃)
D-Pro	-	4,93	2,06, 1,89, 1,75 (β -CH ₂ , γ -CH ₂), 3,3 (м, δ -CH ₂)	
5-MeHex	-	2,08 (1H) 2,15 (1H)	1,48 (β -CH ₂ , δ -CH), 1,11 (γ -CH ₂), 0,82 (2 ϵ -CH ₃)	

Приклад 15бс

5-MeHex-D-Val-Thr-D-Val-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт під час одержання (в процесі рацемізації на стадії циклізації) прикладу 15. Продукт охарактеризований за допомогою ВЕРХ (t_R 17,6хв, Умова В) та MALDI-TOF-MS, Розраховано для C₇₅H₁₂₄N₁₄O₁₆, 1477,9. Знайдено: m/z 1479,3 [M+H]⁺, 1501,2 [M+Na]⁺, 1517,2 [M+K]⁺.

Приклад 16

5-MeHex-D-Val-Thr-D-Val-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Phb-Val) (у результаті включення дипептиду)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 8-14, за єдиним винятком в тому, що у прикладі 14 Fmoc-Val-OH включають у D-Pro-пептидил-смола, а потім після видалення Fmoc групи, включають Fmoc-P-Val-OH. Кінцевий вихід, розрахований за допомогою AAA, становить 0,106ммоль/г (79% повний вихід), вихід відщеплення становить 78%, і одержують 3,4мг вказаної у заголовку сполуки, яка являє собою 10% повний вихід зі стадій циклізації, видалення захисних груп та очищення. Очищений продукт ідентичний продукту, одержаному у прикладі 15.

Hamann et al. Кахалалід В [5-MeHex-Тур-цикло(D-Ser-Phe-D-Leu-Pro-Thr-Gly)]

Приклад 17

H-Thr(tBu)-O-TrtCl-CM-смола

Cl-TrtCl-смола (0,5г, 1,35ммоль/г) вміщують у 10мл поліпропіленовий шприц, забезпечений поліетиленовим фільтром-диском. Потім смола промивають CH₂Cl₂ (5х0,5хв), і додають розчин Fmoc-Thr(tBu)-OH (54мг, 0,135ммоль, 0,2еквів.) та DIEA (235мл, 1,35ммоль, 2еквів.) у CH₂Cl₂ (1,25мл), і одержану суміш перемішують протягом 1 години. Реакцію зупиняють, додаючи MeOH (400мл), після перемішування протягом 15хв. Fmoc-Thr(tBu)-O-TrtCl-смола піддають наступним промивкам/обробці: CH₂Cl₂ (3х0,5хв), ДМФ (3х0,5хв), піперидин-CH₂Cl₂-DMF (1:9,5:9,5, 1х10хв), піперидин-ДМФ (1:4, 1х15хв), ДМФ (5х0,5хв), ізопропанол (2х1хв), ДМФ (5х0,5хв), MeOH (2х1хв) і сушать у вакуумі. Вихід, розрахований за допомогою AAA, становить 0,15ммоль/м.

Приклад 18

5-MeHex-Тур-D-Ser(Gly-H)-Phe-D-Leu-Pro-Thr-OH

Fmoc-Pro-OH (178мг, 0,53ммоль, 7еквів.), Fmoc-D-Leu-OH (187мг, 0,53ммоль, 7еквів.), Fmoc-Phe-OH

(204мг, 0,53ммоль, 7еквів.), Fmoc-D-Ser-OH (вільна гідроксильна група) (173мг, 0,53ммоль, 7еквів.), Fmoc-Tyr(tBu)-OH (243мг, 0,53ммоль, 7еквів.), та 5-MeHex-OH (69мг, 0,53ммоль, 7еквів.) додають послідовно до одержаної вище H-Thr(tBu)-O-TrtCl-смоли, використовуючи DIPCDI (82мкл, 0,53ммоль, 7еквів.) та HOBt (81мг, 0,53ммоль, 7еквів.) у ДМФ (1,25 л). У всіх випадках, крім D-Ser, після 90 хвилин здійснення реакції сполучення, нігідринний тест був негативним. Fmoc-D-Ser-OH (173мг, 0,53ммоль, 7еквів.) знову поєднують з HATU (201мг, 0,53ммоль, 7еквів.) у присутності DIEA (184мкл, 1,06ммоль, 14еквів.) у ДМФ протягом 90хв. Видалення Fmoc групи та промивки здійснюють за способом, розкритим у розділі загальні процедури. Здійснюють реакцію сполучення Boc-Gly-OH (119мг, 0,68ммоль, 9еквів.) з DIPCDI (105мкл, 0,68ммоль, 9еквів.) у присутності DMAP (8,3мг, 68мкмоль, 0,9еквів.) протягом 2,5 години. Реакцію сполучення повторюють зі свіжими реагентами протягом 1,5 години. Кінцевий вихід становить 0,10ммоль/г, і відповідає 77% виходу синтезу. Незахищений пептид відщеплюють від смоли (525мг, 54ммоль) використовуючи TFA-H₂O (92:8) протягом 2 годин. Об'єднані фільтрати випаровують досуху при зниженому тиску, додають H₂O (5мл) і розчин ліофілізують, одержуючи 43,0мг (48,0мкмоль, 89% вихід) вказаної у заголовку сполуки зі ступенем чистоти >85% за даними ВЕРХ (Умова А, t_R 18,5хв). ESMS, розраховано для C₄₅H₆₅N₇O₁₂ 895,5. Знайдено: m/z 896,6 [M+H]⁺.

Приклад 19

Кахалалід В [5-MeHex-Tyr-цикло(D-Ser-Phe-D-Leu-Pro-Thr-Glv)]

Незахищений пептид (приклад 18) (40,5мг, 45мкмоль) розчиняють у ДМФ (48мл), і додають PyBOP (70мг, 0,135ммоль, 3еквів.) та DIEA (47мл, 0,271ммоль, 6еквів.). Суміш перемішують протягом 2 годин, і потім розчинник видаляють, випаровуючи при зниженому тиску, додають H₂O (5мл), і розчин ліофілізують. Сирий продукт очищають за допомогою хроматографії середнього тиску (Vydac C₁₈ 15-20мкм, 300А, 240х24мм), лінійний градієнт від 20% до 60% ацетонітрилу (+0,05% TFA) у воді (+0,05% TFA) протягом 5 годин (300мл кожного розчинника), 120мл/година, детектування на 220нм, одержуючи вказану у заголовку сполуку (8,7мг, 9,9мкмоль, 22% вихід). Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ (Умова А, t_R 21,6хв) та MALDI-TOF-MS, розраховано для C₄₅H₆₃N₇O₁₁, 877,5. Знайдено: m/z 878,7 [M+H]⁺, 900,6 [M+Na]⁺, 916,5 [M+K]⁺. AAA: Gly 1,02 (1), Thr 0,95 (1), Phe 0,99 (1), Ser 1,00 (1), Pro 1,20 (1), Leu 1,00 (1), Tyr 0,87 (1).

Приклад 20

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-P-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Etg-Van)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-4 та 6-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 4, Fmoc-Thr-OH замінюють на Fmoc-Etg-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ (t_R 16,8хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS, Розраховано для C₇₅H₁₂₆N₁₄O₁₆, 1479,0. Знайдено: m/z 1480,2 [M+H]⁺, 1502,2 [M+Na]⁺, 1518,0 [M+K]⁺.

Приклад 20b

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-D-Etg-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-4 та 6-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 4, Fmoc-Thr-OH замінюють на Fmoc-P-Etg-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ (t_R 17,0хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS, Розраховано для C₇₅H₁₂₆N₁₄O₁₆, 1479,0. Знайдено: m/z 1501,0 [M+Na]⁺, 1517,9 [M+K]⁺.

Приклад 20c

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-D-Thr-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-4 та 6-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 4, Fmoc-Thr(tBu)-OH замінюють на Fmoc-D-Thr(tBu)-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ (t_R 19,9хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS, Розраховано для C₇₅H₁₂₆N₁₄O₁₇, 1494,9. Знайдено: 1517,4 [M+Na]⁺, 1533,4 [M+K]⁺.

Приклад 20d

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-D-allo-Thr-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-4 та 6-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 4, Fmoc-Thr(tBu)-OH замінюють на Fmoc-P-allo-Thr-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ (t_R 18,0хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS, Розраховано для C₁₅H₁₂₆N₁₄O₁₇, 1494,9. Знайдено: 1496,6 [M+H]⁺, 1518,6 [M+Na]⁺, 1534,6 [M+K]⁺.

Приклад 20e

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-D-Dhe-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 4, Fmoc-Thr-OH замінюють на Fmoc-D/L-(b-OH)Phe-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ (t_R 22,2хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₈₀H₁₂₆N₁₄O₁₆, 1533,95. Знайдено: 1540,3 [M+H]⁺, 1562,4 [M+Na]⁺, 1578,3 [M+K]⁺.

Приклад 21

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло-(D-Dpa-P-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 2, Fmoc-D-allo-Thr-OH замінюють на Fmoc-D-Dpa(Alloc)-OH і перед включенням Alloc-Val-OH, який включають як інші захищені амінокислоти, Alloc групу з Dpa видаляють як вказано вище. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ та ESMS. Розраховано для C₇₄H₁₂₃N₁₅O₁₅, 1461,9. Знайдено: m/z 1463,3 [M+H]⁺.

Приклад 22

But-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(B-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val).

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex замінюють на But-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 14,7хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₇₂H₁₁₈N₁₄O₁₆, 1435,9. Знайдено: 1459,6 [M+Na]⁺, 1475,6 [M+K]⁺.

Приклад 22біс

But-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт під час одержання (під час рацемізації на стадії циклізації) продукту прикладу 22. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 16,0хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS.

Розраховано для $C_{72}H_{118}N_{14}O_{16}$, 1435,9. Знайдено: 1459,5 $[M+Na]^+$, 1475,5 $[M+K]^+$.

Приклад 23

3-MeBut-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло (D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на 3-MeBut-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 15,9хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{73}H_{120}N_{14}O_{16}$, 1449,9. Знайдено: 1473,2 $[M+Na]^+$, 1489,2 $[M+K]^+$.

Приклад 23 біс

3-MeBut-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло-(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт під час одержання (під час рацемізації на стадії циклізації) продукту прикладу 23. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 17,0хв. Умова В) та ESMS і розраховано для $C_{73}H_{120}N_{14}O_{16}$, 1449,9. Знайдено: 1473,3 $[M+Na]^+$, 1489,4 $[M+K]^+$.

Приклад 24

3,3-DiMeBut-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло-(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на 3,3-DiMeBut-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 16,3хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{74}H_{122}N_{14}O_{16}$, 1463,9. Знайдено: m/z 1487,4 $[M+Na]^+$, 1503,6 $[M+K]^+$.

Приклад 24біс

3,3-DiMeBut-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт під час одержання (під час рацемізації на стадії циклізації) продукту прикладу 24. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 17,6хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{74}H_{122}N_{14}O_{16}$, 1463,9. Знайдено: m/z 1487,3 $[M+Na]^+$, 1503,3 $[M+K]^+$.

Приклад 25

4-MePen-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Phb-Van)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на 4-MePen-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 16,5хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{74}H_{122}N_{14}O_{16}$, 1463,9. Знайдено: m/z 1487,7 $[M+Na]^+$, 1503,6 $[M+K]^+$.

Приклад 25біс

4-MePen-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт під час одержання (під час рацемізації на стадії циклізації) продукту прикладу 25. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 17,8хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано $C_{74}H_{122}N_{14}O_{16}$, 1463,9. Знайдено: m/z 1487,8 $[M+Na]^+$, 1503,6 $[M+K]^+$.

Приклад 26

Her-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на Her-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 17,5хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{75}H_{124}N_{14}O_{16}$, 1477,9. Знайдено: m/z 1501,4 $[M+Na]^+$, 1517,5 $[M+K]^+$.

Приклад 26біс

Her-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт під час одержання (під час рацемізації на стадії циклізації) продукту прикладу 26. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 18,9хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{75}H_{124}N_{14}O_{16}$, 1477,9. Знайдено: m/z 1501,6 $[M+Na]^+$, 1517,7 $[M+K]^+$.

Приклад 27

Pal-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на Pal-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 22,1хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{84}H_{142}N_{14}O_{16}$, 1603,1. Знайдено: m/z 1626,9 $[M+Na]^+$, 1642,9 $[M+K]^+$.

Приклад 27біс

Pal-D-Val-Thr-Val-P-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт під час одержання (під час рацемізації на стадії циклізації) продукту прикладу 27. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 23,2хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{84}H_{142}N_{14}O_{16}$, 1603,1. Знайдено: m/z 1626,8 $[M+Na]^+$, 1642,8 $[M+K]^+$.

Приклад 27а

4-DiMeBut-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Dhe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на 4-DiMeABut-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 12,0хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{74}H_{123}N_{15}O_{16}$, 1477,9. Знайдено: m/z 1478,6 $[M+H]^+$, 1500,6 $[M+Na]^+$, 1516,6 $[M+K]^+$.

Приклад 27b

2-Heao-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Dhe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на 2-Hedo-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 15,8хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{74}H_{118}N_{14}O_{16}$, 1458,9. Знайдено: m/z 1460,0 $[M+H]^+$, 1482,0 $[M+Na]^+$, 1497,9 $[M+K]^+$.

Приклад 27с

4-AcBut-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на 4-AcBut-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 18,2хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{74}H_{120}N_{14}O_{18}$, 1492,9. Знайдено:

m/z 1493,7 [M+H]⁺, 1515,8 [M+Na]⁺, 1531,7 [M+K]⁺.

Приклад 27d

4-HOBut-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Dhe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на 4-HOBut-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 16,6хв Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₇₂H₁₁₈N₁₄O₁₇, 1450,9. Знайдено: m/z 1451,6 [M+H]⁺, 1473,6 [M+Na]⁺, 1489,6 [M+K]⁺.

Приклад 27e

Ac-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на HOAc. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 17,0хв Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₇₀H₁₁₄N₁₄O₁₆, 1406,9. Знайдено: m/z 1407,8 [M+H]⁺, 1429,8 [M+Na]⁺.

Приклад 27f

TFA-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт під час одержання (у час трифторацетилювання на стадії циклізації) продукту прикладу 27e. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 14,7хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₇₀H₁₁₁F₃N₁₄O₁₆, 1460,8. Знайдено: m/z 1462,0 [M+H]⁺, 1484,1 [M+Na]⁺, 1500,0 [M+K]⁺.

Приклад 27g

AcButBut-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на AcButBut-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 14,1хв Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₇₈H₁₂₆N₁₄O₂₀, 1578,9. Знайдено: m/z 1581,2 [M+H]⁺, 1602,2 [M+Na]⁺, 1618,2 [M+K]⁺.

Приклад 27h

IBut-D-allo-Ile-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на Fmoc-D-allo-Ile-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 15,3хв Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₇₈H₁₂₉N₁₅O₁₇, 1548,0. Знайдено: m/z 1548,8 [M+H]⁺, 1570,8 [M+Na]⁺, 1586,8 [M+K]⁺.

Приклад 27i

Lit-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3, 5-MeHex, замінюють на Lit-OH. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 13,1хв Умова Н) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₉₂H₁₅₀N₁₄O₁₇, 1,7231. Знайдено: m/z 1724,6 [M+H]⁺, 1746,6 [M+Na]⁺, 1761,5 [M+K]⁺.

Приклад 27j

TFA-Lit-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт · під час одержання (у час трифторацетилювання на стадії циклізації) продукту прикладу 27i. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ (t_R 17,1хв. Умова Н) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₉₄H₁₅₉F₃N₁₄O₁₈, 1819,1. Знайдено: m/z 1820,6 [M+H]⁺, 1842,6 [M+Na]⁺, 1858,6 [M+K]⁺.

Приклад 27k

Tlco-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3 5-MeHex не включений. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 16,8хв Умова Н) та ES-MS. Розраховано для C₉₂H₁₅₈N₁₄O₁₆, 1715,2. Знайдено: m/z 858,2 [M+H]⁺72, 1171,8 [M+H]⁺.

Приклад 28

H-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, виходячи з 200мг смоли, за винятком того, що у прикладі 3 5-MeHex не включений. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 11,6хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₆₈H₁₁₂N₁₄O₁₅, 1364,8. Знайдено: m/z 1388,3 [M+Na]⁺, 1404,3 [M+K]⁺.

Приклад 28біс

H-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

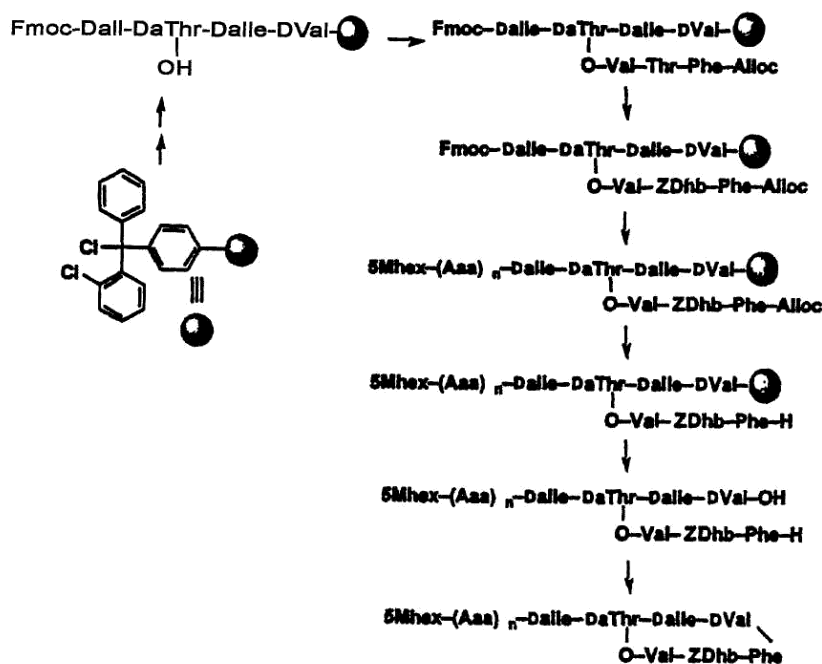
Одержують як побічний продукт під час одержання (у процесі рацемізації на стадії циклізації) продукту прикладу 28. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ (t_R 12,9хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для C₆₈H₁₁₂N₁₄O₁₅, 1364,8. Знайдено: m/z 1388,4 [M+Na]⁺, 1404,4 [M+K]⁺.

Приклад 29

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури практично відповідно до прикладів 1-7, але відповідно до схеми 2.

Scheme 2



Синтез починають, виходячи з 200 мг смоли, і Fmoc-Orn(Boc)-OH не включають. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ (t_R 23,9хв. Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{70}H_{114}N_{12}O_{15}$, 1362,9. Знайдено: m/z 1386,4 $[M+Na]^+$, 1402,4 $[M+K]^+$.

Приклад 29бс

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Одержують як побічний продукт під час одержання (у процесі рацемізації на стадії циклізації) продукту прикладу 29. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ та MALDI-TOF-MS.

Приклад 30

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Dhe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, але відповідно до схеми 2. Синтез починають, виходячи з 200мг смоли, і Fmoc-Orn(Boc)-OH та Fmoc-P-Pro-OH не включають. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 20,3хв Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{65}H_{107}N_{11}O_{14}$, 1265,8. Знайдено: m/z 1288,5 $[M+Na]^+$, 1304,5 $[M+K]^+$.

Приклад 31

5-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють практично за способом, описаним у прикладах 1-7, але відповідно до схеми 2. Синтез починають, виходячи з 200мг смоли, і Fmoc-Orn(Boc)-OH і Fmoc-P-Pro-OH і Fmoc-P-Val-OH не включають. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 20,0хв, Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{60}H_{98}N_{10}O_{13}$, 1166,7. Знайдено: m/z 1190,9 $[M+Na]^+$, 1206,9 $[M+K]^+$.

Приклад 32

5-MeHex-D-Val-Thr-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, але відповідно до схеми 2.

Синтез починають, виходячи з 200мг смоли, і Fmoc-Orn(Boc)-OH, Fmoc-D-Pro-OH, Fmoc-D-Val-OH, і Fmoc-Val-OH не включають. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 24,6хв Умова А) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{55}H_{89}N_9O_{12}$, 1067,7. Знайдено: m/z 1068,7 $[M+H]^+$, 1090,6 $[M+Na]^+$, 1106,5 $[M+K]^+$.

Приклад 33

5-MeHex-D-Val-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, але відповідно до схеми 2. Синтез починають, виходячи з 200мг смоли, і Fmoc-Orn(Boc)-OH, Fmoc-D-Pro-OH, Fmoc-D-Val-OH, Fmoc-Val-OH та Fmoc-Thr(tBu)-OH не включають. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 19,8хв, Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{51}H_{82}N_8O_{10}$, 966,6. Знайдено: m/z 990,7 $[M+Na]^+$, 1007,2 $[M+K]^+$.

Приклад 34

5-MeHex-D-allo-Ile-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, але відповідно до схеми 2. Синтез починають, виходячи з 200мг смоли, і Fmoc-Orn(Boc)-OH, Fmoc-D-Pro-OH, Fmoc-D-Val-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, і Fmoc-D-Val-OH не включають. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 22,0хв, Умова В) та MALDI-TOF-MS. Розраховано для $C_{46}H_{73}N_7O_9$, 867,6. Знайдено: m/z 890,6 $[M+Na]^+$, 906,6 $[M+K]^+$.

Приклад 35

5-MeHex-цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)

Експериментальні процедури здійснюють за способом, описаним у прикладах 1-7, але відповідно до схеми 2. Синтез починають, виходячи з 200мг смоли, і Fmoc-D-allo-Ile-OH, Fmoc-Orn(Boc)-OH, Fmoc-D-Pro-

ОН, Fmoc-D-Val-ОН, Fmoc-Val-ОН, Fmoc-Thr(tBu)-ОН, і Fmoc-D-Val-ОН не включають. Продукт характеризують за допомогою ВЕРХ, (t_R 17,1хв Умова В) та ESMS. Розраховано для $C_{40}H_{62}N_6O_8$, 754,5. Знайдено: m/z 755,7 $[M+H]^+$, 777,7 $[M+Na]^+$, 793,7 $[M+K]^+$.

Біоактивність

Біоактивність сполук згідно з винаходом продемонстрована на результатах наступних таблиць, причому результати ці одержані за способом [Berjeron et al., Biochem and Bioph Res. Comm., 1984, 121, 3, 848-854]. Клітинні лінії: Р388, мишача лімфома; А549, карцинома легень людини; НТ-29, карцинома ободової кишки людини; МЕL-28, меланома людини; РU-145, карцинома простати людини.

Таблиця

Сполуки, споріднені кахалаліду F

Сполука	Цикл	Ланцюг	МВ
27j	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: TFA-Lit-	1820
27i	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: літохіліл (Lit)	1724
27	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: пальмітоїл Palm	1604
27bis	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: пальмітоїл Palm	1604
27g	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 4-(4-ацетоксибутаноїлокси-бутирил (AcButBut-))	1579
27h	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	lBut-D-allo-Ile-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile	1548
20e	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-D-Phe-Val)-D-Phe: a, b-didehydro-phenylalanine	5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-Pro-L-Orn-D-allo-Ile	1539
20c	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Thr-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile	1495
27c	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 4-ацетоксибутирил (4-AcBut)	1493
20	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-L-Etg-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile	1479
20b	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-D-Etg-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile	1479
27a	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: N,N-диметил-4-амінобутирил (4-DiMeABut)	1478
(as Scheuer) 15	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-D-Val-L-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile	1477
15bis	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-D-Val-L-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile	1477
26	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-D-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: гептаноїл (Hep)	1477
26bis	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: гептаноїл (Hep)	1477
(Rinehart) 7	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile	1477
7bis	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile	1477
24	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 3,3-диметилбутирил (3,3-DiMeBut)	1463
24bis	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 3,3-диметилбутирил (3,3-DiMeBut)	1463
25	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 3-метилпентаноїл (4-MePen)	1463
25bis	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 3-метилпентаноїл (4-MePen)	1463
27f	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: трифторацетил (TFA)	1461
27b	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 2,4-гексادیєноїл (Hedo)	1459
27d	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 4-гідроксибутирил	1451
23	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 3-метилбутирил (3-MeBut)	1451
23b	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: 3-метилбутирил (3-MeBut)	1451
22	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: бутирил (But)	1435

22b	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: бутирил	1435
27c	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: ацетил	1407
28	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: без жирної кислоти	1365
28bis	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	кінцева група: без жирної кислоти	1365
29	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-D-allo-Ile	1363
29bis	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-D-allo-Ile	1363
31	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-allo-Ile-	1167
32	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-D-Val-L-Thr-D-allo-Ile-	1068
19	L-Phe-D-Leu-L-Pro- -Thr-Gly-D-Ser	5-MeHex-L-Tyr-	878
34	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-D-allo-Ile-	868
35	цикло(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val)	5-MeHex-	754

* * Сполуки, для яких у графі «Ланцюг» вказаний Термінал, мають такий самий ланцюг, що і сполука 7, але з вказаним заміщенням для 5-MeHex.

Таблиця

Цитотоксичність сполук, споріднених Кахалаліду F

Значення IC₅₀ (у молях) для похідних

Compound	A549M	DU145M	HT29M	MEL28M	p388M
27j	5,49E-08	5,49E-08	5,49E-08	5,49E-08	2,75E-06
27i	5,80E-07	5,80E-07	2,90E-08	1,45E-07	1,45E-06
27	1,56E-07	3,12E-08	6,23E-08	6,23E-08	3,12E-06
27bis	>3,12E-06	1,56E-06	6,23E-07	6,23E-07	>3,12E-06
27g	>6,33E-07	>6,33E-07	1,58E-06	3,17E-06	>3,17E-06
27h	NA	NA	NA	NA	NA
20e	3,25E-06	6,50E-07	NA	NA	NA
20c	NA	NA	NA	NA	NA
27e	NA	NA	6,70E-07	3,35E-06	NA
20	>3,38E-06	>3,38E-06	>3,38E-06	>3,38E-06	>3,38E-06
20b	>3,38E-06	3,38E-06	3,38E-06	>3,38E-06	>3,38E-06
27a	NA	NA	NA	NA	NA
(as Scheuer) 15	>3,39E-06	3,39E-06	3,39E-06	>3,39E-06	>3,39E-06

15 bis	>3,39E-06	>3,39E-06	>3,39E-06	>3,39E-06	>3,39E-06
26	3,39E-07	3,39E-08	6,77E-07	1,69E-06	3,39E-06
26 bis	>3,39E-06	>3,39E-06	3,39E-07	1,69E-06	>3,39E-06
(Rinehart) 7	3,39E-07	1,69E-07	3,39E-08	3,39E-07	>3,39E-06
7 bis	>3,39E-06	>3,39E-06	>3,39E-06	>3,39E-06	>3,39E-06
24	1,71E-06	3,42E-07	3,42E-07	3,42E-06	>3,42E-06
24 bis	>3,42E-06	>3,42E-06	3,42E-07	>3,42E-06	>3,42E-06
25	3,42E-07	3,42E-07	>3,42E-06	>3,42E-06	>3,42E-06
25 bis	>3,42E-06	>3,42E-06	>3,42E-06	>3,42E-06	>3,42E-06
27f	NA	3,42E-06	>3,42E-06	3,42E-06	3,42E-06
27b	3,43E-06	6,85E-07	3,43E-06	NA	NA
27d	NA	NA	NA	NA	NA
23	>3,45E-06	>3,45E-07	>3,45E-08	>3,45E-07	>3,45E-06
23b	>3,45E-06	>3,45E-06	>3,45E-06	>3,45E-06	>3,45E-06
22	>3,48E-06	1,74E-06	NA	NA	NA
22b	>3,48E-06	>3,48E-06	1,74E-06	>3,48E-06	>3,48E-06
27c	NA	>3,55E-06	>3,55E-06	>3,55E-06	>3,55E-06
28	>3,66E-06	>3,66E-06	>3,66E-06	>3,66E-06	>3,66E-06
28 bis	>3,66E-06	>3,66E-06	NA	NA	NA
29	>3,67E-06	>3,67E-06	>3,67E-06	>3,67E-06	>3,67E-06
29 bis	>3,67E-06	>3,67E-06	>3,67E-06	>3,67E-06	>3,67E-06
31	>4,28E-07	>4,28E-08	>4,28E-06	>4,28E-06	>4,28E-06
32	NA	NA	4,68E-08	4,68E-08	>4,68E-06
19	>5,69E-06	>5,69E-06	NA	NA	NA
34	NA	NA	>5,76E-06	>5,76E-06	>5,76E-06
35	>5,76E-06	>5,76E-06	>5,76E-06	>5,76E-06	>5,76E-06

Посилання

1. Hamann, M.T.; Scheuer, P.J. J. Am. Chem. Soc., 1993. «Kahalalide F: a Bioactive Depsipeptide from the Sacoglossan Mollusk Elysia rufescens and the Green Alga Bryopsis sp.», vol.115, pp.5825-5826.
2. Hamann, M.T., et al. J. Org. Chem., 1996. «Kahalalides: Bioactive Peptides from Marine Mollusk Elysia rufescens and its Algal Diet Bryopsis sp.» vol.61, pp.6594-6660,
3. Garcia-Rocha, M., et al. Cancer Lett., 1996. «The Antitumoral Compound Kahalalide F Acts on Cell Lysosomes», vol.99, pp.43-50.
4. Hamann, M.T., et al. J. Org. Chem., 1998. «Kahalalides: Bioactive Peptides from Marine Mollusk Elysia rufescens and its Algal Diet Bryopsis sp.» vol.63, p.485 (Correction of J. Org. Chem., 1996, vol.61, pp.6594-6660).
5. Lloyd-Williams, P., et al. Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins. CRC Press, Boca Raton (FL), 1997.
6. Goetz, G., et al. J. Nat Prod., 1997. «Two Acyclic Kahalalides from the Sacoglossan Mollusk Elysia rufescens», vol.60, pp.562-567.
7. Goetz, G., et al. Tetrahedron, 1999. The Absolute Stereochemistry of Kahalalide F, vol.55, pp.7739-7746.
8. Kan, Y., et al. J. Nat Prod., 1999, vol.62, pp.1169-1172.
9. Horgen, F.D. et al. J. Nat Prod., 2000, vol.63, pp.152-154.