

DOI: 10.30906/0023-1134-2019-53-5-40-44
© Коллектив авторов, 2019

Т. А. Сангулия, А. О. Антипова, С. В. Шкавров, Н. Б. Эпштейн*

ПОЛУЧЕНИЕ МЕЛАНОТАНА II И АМИДА ТИРОСЕРЛЕЙТИДА НА ТЯЖЕЛОМ МОНОМЕРНОМ НОСИТЕЛЕ (AJINPHASE)

Национальный исследовательский ядерный университет “МИФИ”, Россия, 115409, Москва.

* e-mail: NVEpshtejn@mephi.ru

Перспективные противоопухолевые пептиды — меланотан II и амид тирoserлейтида — впервые получены методом линейного пептидного синтеза на тяжелом мономерном носителе в граммовых количествах. Общий выход составил 72 и 50 % соответственно. Показана перспективность данного метода для производства пептидных веществ. Предлагаемые методики по удобству исполнения не уступают синтезам на полимерном носителе, а по расходу реагентов и легкости аналитического сопровождения — классическим синтезам в растворе.

Ключевые слова: пептидный синтез; меланотан II; тирoserлейтид; мономерный носитель; Fmoc-стратегия.

Существующие в настоящее время 3 основных способа получения олигопептидов — твердофазный, жидкофазный и биотехнологический — не являются оптимальными для всего разнообразия выпускаемых и разрабатываемых лекарственных препаратов, поэтому поиск и оптимизация методов пептидного синтеза весьма актуальны. Сравнительно недавно появился способ, объединяющий сильные стороны жидкофазного и твердофазного методов [1].

Методология, предложенная компанией Ajinomoto, заключается в применении защитной группы (например, схема 1), содержащей длинные алифатические заместители, обуславливающие нерастворимость всей молекулы в метаноле и ацетонитриле. Таким образом, объединяются ключевое преимущество твердофазного пептидного синтеза — легкость выделения полупродуктов — с полным ассортиментом реакций в растворах (например, каталитическим гидрированием), простотой аналитического сопровождения (начиная с

ТСХ) и стехиометрическими соотношениями реагентов, присущими синтезу в растворах. Для синтеза средних по размеру пептидов эта методология становится экономически более привлекательной.

Для проверки эффективности данного способа были проведены синтезы 2 перспективных пептидных веществ онкологического профиля — меланотана II и тирoserлейтида (амидная форма).

Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР ^1H регистрировали на приборах BRUKER DRX-600 (Германия) на частоте 600 МГц и BRUKER AM-360 (Германия) на частоте 360 МГц, соответственно. Хроматомасс-спектрометрический анализ проводили на приборе Applied Biosystems APE SCIEX 1500 (Канада), метод ионизации — электроспрей. Определение чистоты методом ВЭЖХ проводили на приборе SHIMADZU LC-2010 (Япония). ТСХ-анализ проводили на пластинах “Sorbfil” (сили-

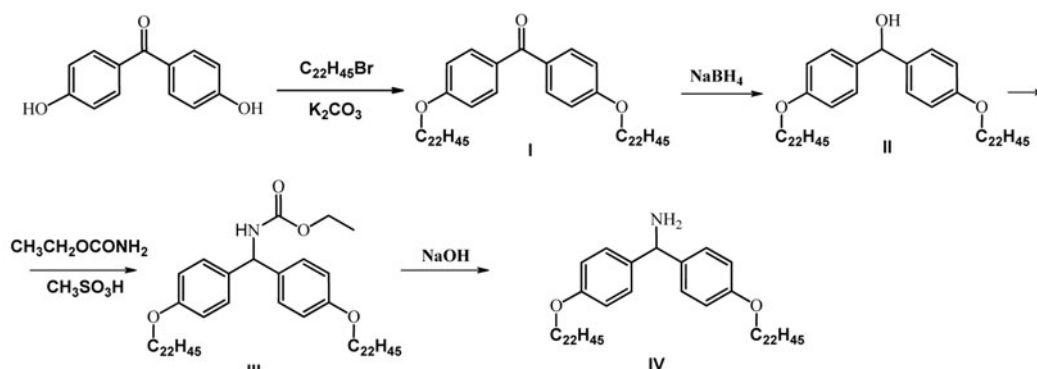


Схема 1. Синтез бис[4-(докосилокси)фенил]метиламина.

кагель). Все реактивы и растворители были коммерческими (99+ %) и использовались без дополнительной очистки.

Синтез носителя

4,4'-Дидоксоксибензофенон (I). В круглодонную колбу загружают 8,2 г (38 ммоль) 4,4'-диоксибензофенона, 31,3 г (80 ммоль) бромодокосана, 300 мл диметилформамида и 15,9 г (115 ммоль) карбоната калия. Смесь перемешивают при температуре 80 °С в течение 16 ч. После завершения реакции реакционную смесь охлаждают льдом и медленно при перемешивании прибавляют 300 мл 1 М раствора соляной кислоты и 150 мл воды. Суспензию фильтруют, полученный осадок промывают водой и метанолом, получают 30,2 г (36 ммоль, 95,0 %) 4,4'-дидоксоксибензофенона (I).

ЯМР ^1H (CDCl_3): 0,85 (т, 6H, 2 CH_3), 1 – 1,5 (м, 76 H, 38 CH_2), 1,8 (пентет, 4H, 2 CH_2), 4,0 (т, 4H, 2 OCH_2); 6,92 (д, 4H, 4 CH_{ar}), 7,8 (д, 4H, 4 CH_{ar}).

4,4'-Дидоксоксибензгидрол (II). В круглодонную колбу загружают 28,3 г (34 ммоль) соединения I, 300 мл тетрагидрофурана и 15 мл метанола. Смесь нагревают при перемешивании до 60 °С. К смеси медленно прибавляют 6,1 г (160 ммоль) боргидрида натрия, после чего перемешивают при той же температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждают льдом и по каплям прибавляют 80 мл 1 М раствора соляной кислоты. Тетрагидрофуран отгоняют, добавляют 200 мл воды и 1 М раствор соляной кислоты до pH 5 – 7. Суспензию фильтруют, полученный осадок промывают водой и метанолом, получают 28,3 г (33,8 ммоль, 99,0 %) 4,4'-дидоксоксибензгидрола (II). ЯМР ^1H (CDCl_3): 0,85 (т, 6H, 2 CH_3), 1,2 – 1,6 (м, 76 H, 38 CH_2), 1,75 (пентет, 4H, 2 CH_2), 2,0 (с, 1H, OH), 3,9 (т, 4H, 2 OCH_2); 5,7 (с, 1H, CHON), 6,8 (д, 4H, 4 CH_{ar}), 7,2 (д, 4H, 4 CH_{ar}).

Этил[бис-(4-доксоксифенил)метил]карбамат (III). В круглодонную колбу загружают 28,5 г (34 ммоль) соединения II, 350 мл толуола, 6,1 г (68 ммоль) этилкарбамата и 0,7 г (7,2 ммоль) метансульфоновой кислоты. Смесь перемешивают при 110 °С в течение 3 ч. После перемешивания реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, добавляют 1,1 г (10 ммоль) карбоната натрия. Смесь упаривают, остаток кристаллизуют из 400 мл метанола, получают 30,5 г (33,8 ммоль, 99,0 %) этил[бис-(4-доксоксифенил)метил]карбамата (III). ЯМР ^1H (CDCl_3): 0,85 (т, 6H, 2 CH_3), 1,2 – 1,6 (м, 79H, 38 CH_2 + OCH_2CH_3), 1,75 (пентет, 4H, 2 CH_2), 3,9 (т, 4H, 2 OCH_2), 4,1 (кв, 2H, OCH_2CH_3), 5,1 (с, 1H, NH), 5,8 (с, 1H, CHNH), 6,8 (д, 4H, 4 CH_{ar}), 7,1 (д, 4H, 4 CH_{ar}).

бис[4-(Доксоксилокси)фенил]метиламин (Dpm($\text{C}_{22}\text{H}_{45}$)) (IV). В круглодонную колбу загружают 32,1 г (35,5 ммоль) соединения III, 300 мл толуола, 200 этанола и 9,8 г (245 ммоль) натрия гидроксида. Смесь нагревают с обратным холодильником при перемешивании при 100 °С в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, прибавляют 300 мл воды, 200 мл гексана и 200 мл этилацетата. Слои разделяют, водный слой отбрасывают, а органи-

ческий слой промывают водой дважды порциями по 300 мл. После этого органический слой упаривают и к остатку прибавляют 150 мл воды и 150 мл ацетонитрила. Выпадает осадок, суспензию отфильтровывают, промывают дважды водой порциями по 200 мл, а затем ацетонитрилом дважды порциями по 100 мл. Получают 28,1 г (33,8 ммоль, 95 %) бис[4-(доксоксилокси)фенил]метиламина (IV). ЯМР ^1H (CDCl_3): 0,85 (т, 6H, 2 CH_3), 1,2 – 1,5 (м, 76H, 38 CH_2), 1,6 (шир.с., 2H, NH_2), 1,75 (пентет, 4H, 2 CH_2), 3,9 (т, 4H, 2 OCH_2), 5,1 (с, 1H, CHNH_2), 6,8 (д, 4H, 4 CH_{ar}), 7,2 (д, 4H, 4 CH_{ar}).

Синтез амида тиросерлейгида

Удлинение цепи. Fmoc-Leu-Dpm($\text{C}_{22}\text{H}_{45}$)₂ (V). В колбу загружают 1,5 г (4,2 ммоль) Fmoc-Leu-OH и 1,10 г (7,2 ммоль) гидрата 1-гидроксибензотриазола ($\text{HOBT} \cdot \text{H}_2\text{O}$), приливают 60 мл дихлорметана и устанавливают на магнитную мешалку. В колбу приливают минимальное количество диметилформамида (~7,5 мл) и выдерживают содержимое колбы до полного растворения (контроль визуальный). К раствору в колбе приливают 1,14 мл (0,91 г, 4,2 ммоль) DIC и перемешивают в течение 30 мин.

По окончании времени выдержки в колбу загружают 3,00 г (3,6 ммоль) соединения IV. Реакционную массу в колбе выдерживают при перемешивании в течение 30 мин. Затем приливают 1,33 мл (0,93 г, 7,2 ммоль) диизопропилэтиламина (DIPEA) и перемешивают в течение 3 ч. Упаривают содержимое колбы при температуре бани 40 °С и остаточном давлении от 20 до 30 мм рт. ст. К остатку приливают 60 мл ацетонитрила, перемешивают до образования однородной суспензии в течение 5 – 10 мин. Затем суспензию выгружают на фильтр Шотта и отжимают под вакуумом. Осадок промывают дважды по 60 мл ацетонитрилом и дважды по 60 мл метанолом. Чистоту полупродукта контролируют методом ТСХ (подвижная фаза — хлороформ: этилацетат: метанол (6:3:1) ПФ).

Осадок сушат на ротаторном испарителе при 40 °С и давлении 20 – 30 мм рт. ст. до постоянной массы. Ввиду сложности регистрации ПМР-спектра достаточным основанием для введения полупродукта в следующую стадию являлось соотношение дублетов и триплетов в ароматической части 3:1 (группы Fmoc и Dpm).

Снятие защитной группы. Leu-Dpm($\text{C}_{22}\text{H}_{45}$)₂ (VI). В колбу с Fmoc-Leu-Dpm($\text{C}_{22}\text{H}_{45}$)₂ приливают 60 мл 10 об. % раствора 4-метилпиперидина в дихлорметане и перемешивают на магнитной мешалке в течение 2 ч. Окончание реакции контролируют по ТСХ (подвижная фаза — ПФ). По окончании реакции упаривают смесь при температуре бани 40 °С и 20 – 30 мм рт. ст. К остатку в колбе приливают 60 мл ацетонитрила, перемешивают до образования однородной суспензии в течение 5 – 10 мин. Затем суспензию выгружают на фильтр Шотта и отжимают под вакуумом. Осадок промывают дважды по 60 мл ацетонитрилом и дважды по 60 мл метанолом. Чистоту полупродукта определяют методом ТСХ (подвижная фаза — ПФ). Осадок с фильтра сушат в колбе при температуре бани 40 °С и давлении 20 – 30 мм рт. ст. до

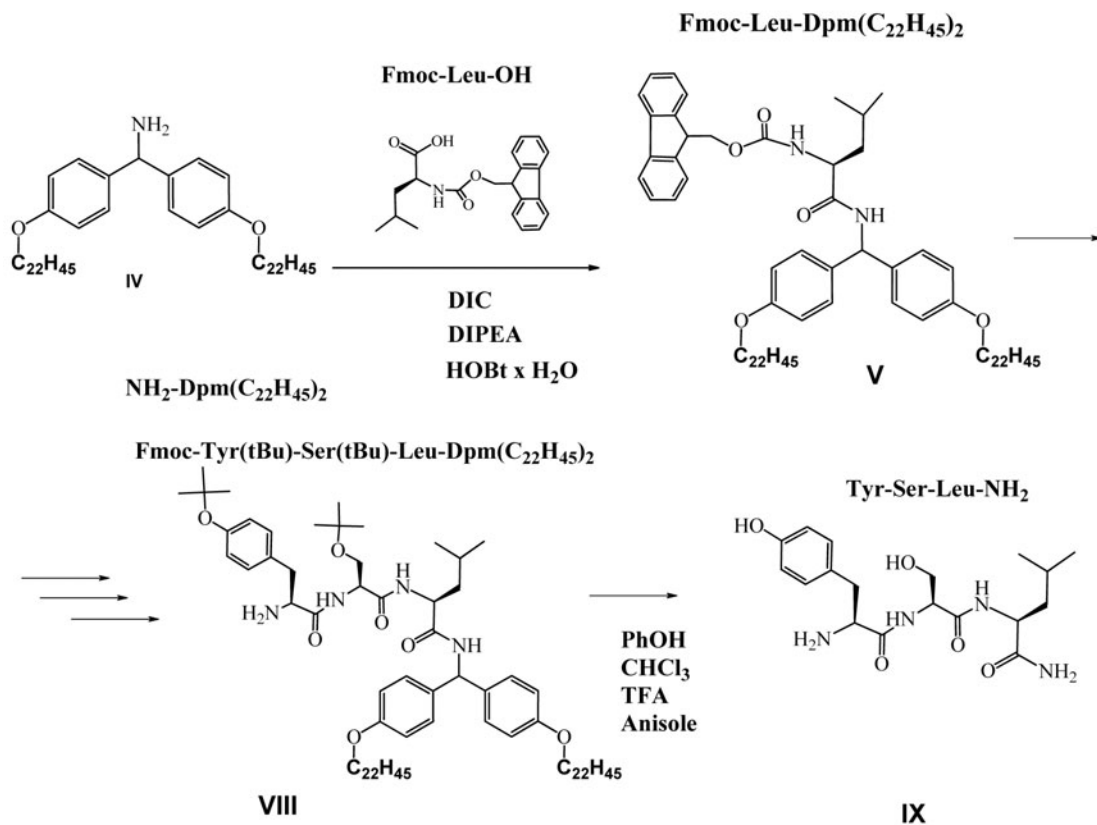


Схема 2. Синтез амида тиросерлейтида.

постоянной массы. Выход $\text{Leu-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$ составляет 3,122 г (91,5 % в пересчете на $\text{Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$). LC-MS: $(\text{M}+1)^+$ 945.

Ser(tBu)-Leu-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (VII). Получают, повторяя стадии удлинения цепи и снятия защитной группы, аналогично VI. Ход реакции контролируют по ТСХ (Фмос — содержащее соединение флуоресцирует), после снятия защитной группы — LC-MS-контроль. Выход $\text{Ser}(\text{tBu})\text{-Leu-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$ составляет 3,347 г (93,0 % в пересчете на $\text{Leu-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$). LC-MS: $(\text{M}+1)^+$ 1088.

Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Leu-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (VIII). Получают аналогично VI. Выход $\text{Tyr}(\text{tBu})\text{-Ser}(\text{tBu})\text{-Leu-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$ составляет 3,621 г (90,0 % в пересчете на $\text{Ser}(\text{tBu})\text{-Leu-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$). LC-MS: $(\text{M}+1)^+$ 1307.

Tyr-Ser-Leu-NH₂ (IX). В колбу загружают 18 мл хлороформа, 2,70 г фенола, 2,70 г анизоль, 2,70 мл воды и 63,90 мл трифторуксусной кислоты. Смесь в колбе тщательно перемешивают и охлаждают до температуры в массе 5 – 7 °С. Охлажденную смесь приливают в колбу с $\text{Tyr}(\text{tBu})\text{-Ser}(\text{tBu})\text{-Leu-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$. Реакционную массу перемешивают в течение 2,5 ч, затем упаривают при температуре бани 40 °С и давлении 20 – 30 мм рт. ст. К остатку в колбе приливают 150 мл ацетонитрила, перемешивают до образования однородной суспензии в течение 5 – 10 мин. Затем выгружают на фильтр Шотта и отжимают под вакуумом. Осадок промывают дважды по 30 мл ацетонитрилом. К фильтрату приливают 150 мл диэтилового

эфира, перемешивают до образования однородной суспензии в течение 5 – 10 мин. Осадок отфильтровывают и промывают 5 раз по 90 мл диэтилового эфира.

Осадок сушат при температуре бани 35 °С и давлении 20 – 30 мм рт. ст. до постоянной массы. Выход Tyr-Ser-Leu-NH_2 составляет 0,998 г (95,0 % в пересчете на $\text{Tyr}(\text{tBu})\text{-Ser}(\text{tBu})\text{-Leu-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$ и 72,5 % в пересчете на $\text{Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$). LC-MS: $(\text{M}+1)^+$ 381, $(2\text{M}+1)^+$ 761; чистота ВЭЖХ (AUC) 92 %.

Синтез меланотана II

Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (X). Получают аналогично VI. Из 3,0 г $\text{Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$ получают 3,52 г (92,0 %) $\text{Lys}(\text{Boc})\text{-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$, LC-MS $(\text{M}+1)^+$ 1060.

Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (XI). Получают аналогично VI 4,4 г (90,5 %) $\text{Trp}(\text{Boc})\text{-Lys}(\text{Boc})\text{-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$, LC-MS $(\text{M}+1)^+$ 1346.

Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (XII). Аналогично VI получают 5,77 г (91,0 %) $\text{Arg}(\text{Pbf})\text{-Trp}(\text{Boc})\text{-Lys}(\text{Boc})\text{-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$. LC-MS $(\text{M}+1)^+$ 1722.

D-Phe-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (XIII). Аналогично VI получают 6,12 г (89,0 %) $\text{D-Phe-Arg}(\text{Pbf})\text{-Trp}(\text{Boc})\text{-Lys}(\text{Boc})\text{-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$. LC-MS $(\text{M}+1)^+$ 1875.

His(Trt)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (XIV). Аналогично VI получают 7,43 г (90,0 %) $\text{His}(\text{Trt})\text{-D-Phe-Arg}(\text{Pbf})\text{-Trp}(\text{Boc})\text{-Lys}(\text{Boc})\text{-Dpm}(\text{C}_{22}\text{H}_{45})_2$. LC-MS $(\text{M}+1)^+$ 2224.

Asp(OtBu)-His(Trt)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (XV). Аналогично VI получают

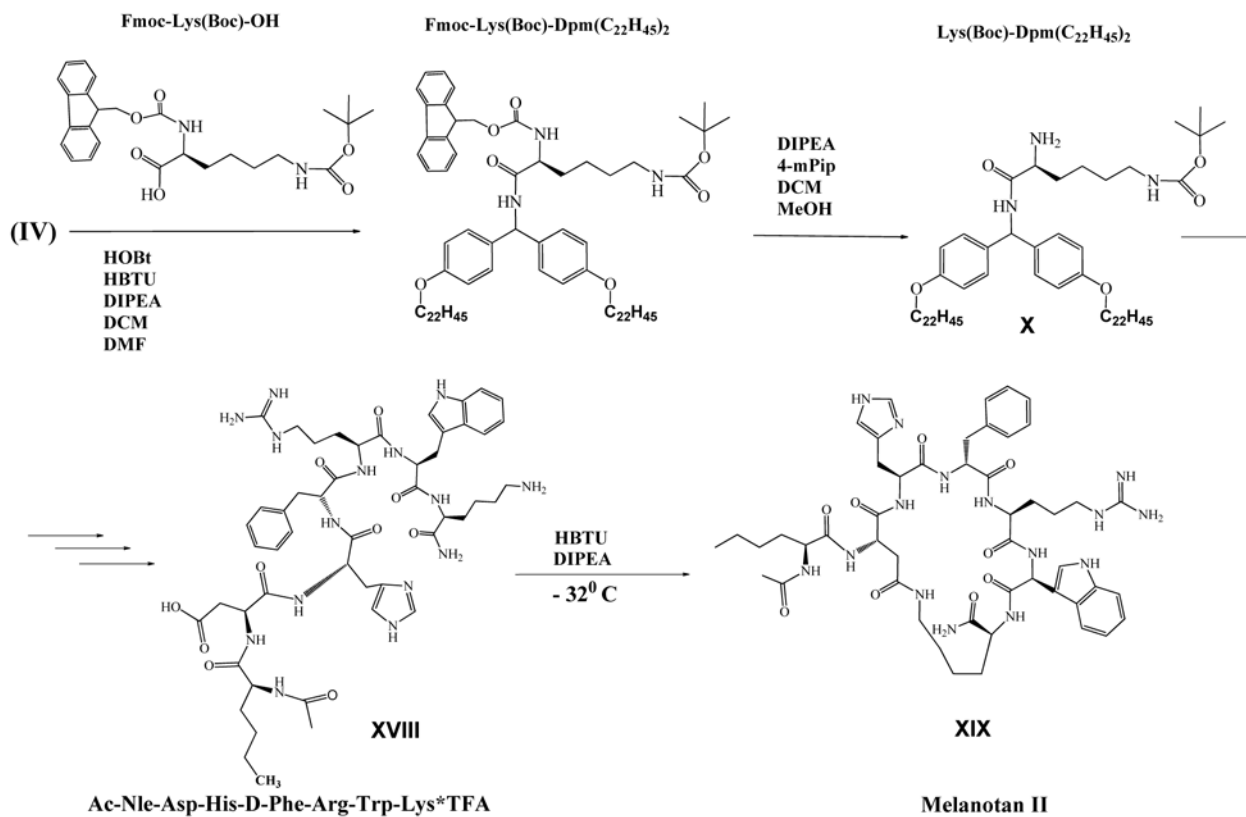


Схема 3. Синтез меланотана II.

7,99 г (90,0 %) Asp(OtBu)-His(Trt)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂. LC-MS (M+1)⁺ 2395.

Nle-Asp(OtBu)-His(Trt)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (XVI). Аналогично VI получают 8,08 г (89,0 %) Nle-Asp(OtBu)-His(Trt)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂. LC-MS (M+1)⁺ 2508.

Ac-Nle-Asp(OtBu)-His(Trt)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂ (XVII). В колбу к 8,08 г соединения XVI приливают 100 мл дихлорметана. Смесь перемешивают до растворения и прибавляют 0,59 мл (6 ммоль) уксусного ангидрида и 1,2 мл DIPEA. Перемешивают еще в течение 15 мин. Затем упаривают при температуре бани 40 °С и давлении 20 – 30 мм рт. ст. К остатку в колбе приливают 100 мл метанола, перемешивают до образования однородной суспензии в течение 5 – 10 мин. Осадок промывают дважды по 50 мл метанолом. Проводят анализ полупродукта методом ТСХ (ПФ-1). Осадок сушат при температуре бани 40 °С и давлении 20 – 30 мм рт. ст. до постоянной массы, получают 8,55 г (90,0 %) Ac-Nle-Asp(OtBu)-His(Trt)-D-Phe-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Dpm(C₂₂H₄₅)₂. LC-MS (M+1)⁺ 2550.

Ac-Nle-Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Lys·TFA (XVIII). В стакан наливают 20 мл хлороформа и 80 мл трифторуксусной кислоты. К раствору прибавляют по 3,0 г фенола, этандиола, тиоанизола, триизопропилсилана и воды. Смесь выдерживают при перемешивании на магнитной мешалке в течение 10 мин, а затем охлаждают до – 5 °С. Охлажденный раствор приливают в

колбу, содержащую 8,55 г соединения XVII. Реакционную массу выдерживают при перемешивании на магнитной мешалке в течение 3 ч при комнатной температуре. Смесь упаривают при температуре бани 40 °С и давлении 20 – 30 мм рт. ст. К остатку в колбе приливают 100 мл ацетонитрила, перемешивают до образования однородной суспензии в течение 5 – 10 мин. Отфильтровывают носитель, промывают его дополнительно 20 мл ацетонитрила. Фильтрат, содержащий синтезируемый пептид, упаривают на роторном испарителе. Упаривание ведут при температуре бани 40 °С и давлении 20 – 30 мм рт. ст. К остатку в колбе приливают 50 мл эфира, перемешивают в течение 1 ч. Осадок отфильтровывают под вакуумом и промывают трижды по 20 мл эфира. Проводят анализ полупродукта методом ТСХ (подвижная фаза — ПФ).

Сушку ведут до постоянной массы, получают 3,32 г (90,0 %) Ac-Nle-Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Lys·TFA (XVIII). LC-MS (M+1)⁺ 1043.

Получение **меланотана II. Ac-Nle-cyclo[Asp-His-D-Phe-Arg-Trp-Lys]-NH₂ (XIX).**

Раствор 1. Раствор 0,27 мл соляной кислоты в 930 мл дихлорметана перемешивают и охлаждают до температуры – 32 °С.

Раствор 2. Раствор 4,0 г DIPEA и 2,72 г (71 ммоль) гексафторфосфата О-гидроксibenзотриазолил-*N,N,N',N'*-тетраметилмочевины (HBTU) в 200 мл дихлорметана перемешивают и охлаждают до температуры – 32 °С.

В колбу емкостью 2 л, содержащую 3,32 г соединения XVIII, прибавляют раствор 1 и раствор 2. Реакци-

онную массу перемешивают на магнитной мешалке в течение 10 мин и помещают на 1 сут в морозильную камеру при температуре $-32\text{ }^{\circ}\text{C}$, затем в течение 5 дней выдерживают при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, взбалтывая каждый день.

Затем упаривают порциями в колбе на 100 мл при температуре бани $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ и давлении 20 – 30 мм рт. ст. К остатку в колбе приливают 50 мл этилацетата, перемешивают до образования однородной суспензии в течение 1 ч. Осадок промывают трижды по 30 мл этилацетатом. Проводят анализ продукта методом ТСХ (ПФ-1). Затем сушат в вакууме 1 – 2 мм рт. ст. и температуре $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ до постоянной массы, получают 1,85 г (50,0 %) **меланотана II** Ac-Nle-cyclo[Asp-His- D-Phe-Arg-Trp-Lys]-NH₂. LC-MS (M+1)⁺ 1025, (M+2)²⁺ 513. Чистота (AUC) 90 %.

Таким образом, общий выход пептидов составляет 72 и 50 %, соответственно. Предлагаемые методики по удобству исполнения не уступают синтезам на полимерном носителе, а по расходу реагентов и легкости аналитического сопровождения — классическим синтезам в растворе.

Результаты и их обсуждение

Синтез амида тиросерлейтида (схема 2), антипролиферативная активность которого показана на клеточных линиях [2, 3], проводили по стандартной Fmoc-tBu схеме и контролировали методами ТСХ и ВЭЖХ-МС. Общий выход по носителю составил 72,8 %, что является хорошим результатом даже для жидкофазных методик [4]. Применяемый избыток реагентов составлял на стадии удлинения цепи 0,2 экв, на стадии снятия защитной группы — 1 экв, что невозможно для твердофазных синтезов. Однако затраты на производство носителя делают сомнительными преимущества синтеза этого трипептида, несмотря на простоту методик и легкость масштабирования.

Синтез меланотана II (схема 3), противоопухолевая активность которого является предметом интенсивных исследований [5 – 7], проводился также в рамках Fmoc-tBu стратегии с циклизацией в разбавленном растворе после отделения от носителя. Применяемый избыток реагентов на всех стадиях, кроме ацетилирования и циклизации, составлял те же 20 %, что и в синтезе амида тиросерлейтида. Циклизация, вопреки нашим ожиданиям, прошла с приемлемым выходом, обеспечив 50 % общий выход технической субстан-

ции. Единственный описанный в литературе жидкофазный синтез [8] завершился лишь с 2,6 % выходом, типичный выход твердофазного синтеза — 25 % [9], при этом выход стадии циклизации — 30 % [10]. Таким образом, в части получения технической субстанции меланотана метод Ajiphase, с нашей точки зрения, обладает неоспоримыми преимуществами. Полученная субстанция достаточно чиста (более 90 % по данным ВЭЖХ-МС) для финальной очистки методом препаративной хроматографии [11]. Следует также отметить, что кроме упомянутой противоопухолевой активности, меланотан II является широким и мощным стимулятором меланокортиновой системы [12 – 14], эффективным для стимуляции пигментации (загара), профилактики меланомы, усиления иммунитета и либидо, избавления от лишнего веса. Таким образом, широкий спектр биологической активности позволяет считать данный пептид перспективным для промышленного производства.

ЛИТЕРАТУРА

1. D. Takahashi, T. Yamamoto, *Tetrahedron Let.*, **53**, 1936 – 1939 (2012).
2. R. Lu, J. Jia, L. Bao, et al., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **57**, 248 – 256 (2006).
3. W. Ding, J. Zhang, Z. Yao, et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **12**(18), 4989 – 4994 (2004).
4. S. Peng, M. Zhao, C. Wang, *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu*, патент Китая, 1513871 A(2004).
5. S. R. Doering, A. Todorovic, C. Haskell-Luevano, *ACS Medicinal Chemistry Letters*, **6**(2), pp. 123 – 127 (2015).
6. S. R. Tala, S. M. Scnell, C. Haskell-Luevano, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **25**(24), 5708 – 5711 (2015).
7. C. Testa, M. Scrima, M. Grimaldi, A. M. et al., *J. Med. Chem.*, **57**(22), 9424 – 9434 (2014).
8. V. V. Ryakhovskiy, G. A. Khachiyani, N. F. Kosovova, et al., *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, v. **4**(39), DOI:10.3762 / bjoc.4.39 (2008).
9. W. Wang, H. Xu, *Faming Zhuanli Shenqing*, патент Китая 102260327 (2011).
10. F. Al-Obeidi, A. M. de L. Castrucci, M. E. Hadley, V. J. Hruby, *Journal of Medicinal Chemistry*, **32**(12), pp. 2555 – 2561 (1989).
11. H. Xu, J. Qin, *Jingguo Faming Zhuanli Shenqing*, патент Китая, 105037488 A (2015).
12. R. T. Dorr, R. Lines, N. Levine, et al., *Life Sci.*, **58**(20), pp. 1777 – 1784 (1996).
13. D. Bevec, F. Cavalli, V. Cavalli, G. Bacher. Европатент WO2009033712 (2009).
14. F. Giuliano, P. Clément, S. Droupy, et al., *Neuroscience*, **138**(1), pp. 293 – 301 (2006).

Поступила 17.03.19

SYNTHESES OF MELANOTAN II AND YSL AMIDE BY AJIPHASE METHODOLOGY

T. A. Sanguliya, A. O. Antipova, S. V. Shkavrov, and N. B. Epshtein*

National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute), 115409, Moscow, Russia

* e-mail: NBEpshtein@mephi.ru

Anti-tumor peptides – Melanotan II and YSL amide – were synthesized for the first time in 50 and 72% yields, respectively, by Ajiphase methodology via bis-docosyl substituted benzhydrylamine. TLC reaction control and 20% excess of coupling reagents were sufficient for obtaining 90% purity of end products. The proposed methods are comparable with polymer-carrier based synthesis in convenience of the reaction stages and with classical synthesis in solution in respect of the consumption of reagents and simplicity of analytical procedures.

Keywords: peptide synthesis; Melanotan II; YSL amide; Ajiphase methodology; Fmoc chemistry.