

Предшествующий уровень техники

Синтаза жирных кислот.

Жирные кислоты имеют три основные роли в физиологии клеток. Во-первых, они являются строительными блоками биологических мембран. Во-вторых, производные жирных кислот служат в качестве гормонов и внутриклеточных мессенджеров. В-третьих, и что представляет особую важность для настоящего изобретения, жирные кислоты являются топливными молекулами, которые могут храниться в жировой ткани в виде триацилглицеридов, которые известны также как нейтральные жиры.

Существует четыре основных фермента, вовлеченные в путь синтеза жирных кислот: синтаза жирных кислот (FAS), алкинил-КоА-карбоксилаза (ACC), малат-дегидрогеназа и цитрат-лиаза. Главный фермент FAS катализирует NADPH-зависимую конденсацию предшественников малонил-КоА и алкинил-КоА с продуцированием жирных кислот. NADPH представляет собой восстановитель, который обычно служит в качестве важного донора электронов в двух точках реакционного цикла FAS. Три других фермента (т.е. ACC, малат-дегидрогеназа и цитрат-лиаза) продуцируют необходимые предшественники. В синтез жирных кислот вовлечены также другие ферменты, например ферменты, продуцирующие NADPH.

FAS имеет определенный Комиссией по ферментам (Е.С.) № 2.3.1.85 и известна также как синтетаза жирных кислот, лигаза жирных кислот, а также имеет ее систематическое название ацил-КоА:малонил-КоА С-ацилтрансфераза (декарбоксилирование, оксоацил- и еноил-восстановление и гидролиз сложного тиоэфира). Существует семь различных ферментов, или каталитических доменов, вовлеченных в катализируемый FAS синтез жирных кислот: алкинилтрансцилаза, малонилтрансцилаза, бета-кетоацилсинглетаза (конденсирующий фермент), бета-кетоацилпредуктаза, бета-гидроксиацилдегидраза, еноилпредуктаза и тиоэстераза (Wakil, S. J., Biochemistry, 28: 4523-4530, 1989).

Все семь из указанных ферментов вместе образуют FAS.

Хотя катализируемый FAS синтез жирных кислот подобен у низших организмов, например, таких как бактерии, и высших организмов, например, таких как микобактерии, дрожжи и люди, однако имеются некоторые существенные различия. У бактерий семь ферментативных реакций осуществляются семью отдельными полипептидами, которые являются несвязанными. Они относятся к классу FAS II типа. И наоборот, ферментативные реакции у микобактерии, дрожжей и людей осуществляются многофункциональными полипептидами. Так, например, дрожжи имеют комплекс, состоящий из двух отдельных полипептидов, тогда как у микобактерии и людей все семь реакций осуществляются одним полипептидом. Они относятся к классу FAS I типа.

Ингибиторы FAS.

Было показано, что различные соединения ингибируют синтазу жирных кислот (FAS). Ингибиторы FAS могут быть идентифицированы по способности соединения ингибировать ферментативную активность очищенной FAS. Активность FAS может быть определена измерением включения меченного радиоактивным изотопом предшественника (т.е. алкинил-КоА или малонил-КоА) в жирные кислоты или спектрофотометрическим измерением окисления NADPH (Dils, et al., Methods Enzymol., 35: 74-83).

В табл. 1 перечислены некоторые ингибиторы FAS.

Таблица 1

Типичные ингибиторы ферментов, участвующих в пути синтеза
жирных кислот

<u>Ингибиторы синтазы жирных</u>	
<u>кислот:</u>	
1, 3 -дигромпропанон	церуленин
реагент Эллмана (5, 5' -	фенилцеруленин
дитиобис (2 -нитробензойная	меларсопрол
кислота), DTNB)	иодацетат
4 - (4' -хлорбензилокси) бензил	фениларсиноксид
никотинат (KCD-232)	пентостам
	мелиттин
	тиолактомицин
4 - (4' -хлорбензилокси) бензойная	
кислота (MII)	
2 - (5 - (4 -хлорфенил) пентил)	
оксиран-2 -карбоксилат (POCA)	
и его КоA производное	
ангидрид этоксимуравьиной	
кислоты	

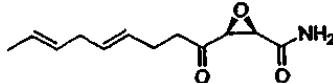
<u>Ингибиторы цитрат-лиазы</u>	<u>Ингибиторы малат-дегидрогеназы</u>
(-) гидроксицитрат (R, S)-S-(3, 4-дикарбокси-3-гидрокси-3-метилбутил) -КоА S-карбоксиметил-КоА	окисленный периодатом 3-амино пиридинаденин динуклеотидфосфат 5, 5'-дитиобис (2-нитробензойная кислота) п-гидроксимеркурбензоат N-этилмалеимид сложные эфиры оксалилтиола, такие как S-оксалилглутатион госсипол фенилглиоксаль 2, 3-бутандион бромпируват прегненолон
<u>Ингибиторы алкинил КоA</u>	
<u>карбоксилазы</u>	9-деценил-1-пентендиовая кислота
сетоксидим	деканил-2-пентендиовая кислота
галоксифоп и его сложный КоA	деканил-1-пентендиовая кислота
эфир	(S)-ибупрофенил-КоА
диклофоп и его сложный КоA	(R)-ибупрофенил-КоА
эфир	флуазифоп и его сложный КоA эфир
клетодим	клофоп
аллоксидим	5-(тетрадециклокси)-2-
трифоп	фуранкарбоновая кислота
клофибриновая кислота	бета, бета'-тетраметил-
2, 4-D-мекопроп	гексадекандиовая кислота
далапон	тралкоксидим
2-алкилглутарат	свободная бета, бета прим-
2-тетрадеканилглутарат (TDG)	метилзамещенная
2-октилглутаровая кислота	гексадекандиовая кислота
циклический 3', 5'-моноfosфат	(MEDICA 16) или ее сложный
N6, 02-дибутирилденозина	монотиоэфир
циклический 3', 5'-моноfosфат	альфа-циано-4-гидроксициннамат
N2, 02-дибутирилгуанозина	S-(4-бром-2, 3-диоксобутил) -КоА
КоА производное 5-(тетрадецилокси)-2-фуранкарбоновой кислоты (TOFA)	п-гидроксимеркурий-бензоат (PHMB)
2, 3, 7, 8-тетрахлордибензо-п-диоксин	циклический 3', 5' моноfosфат N6, 02-дибутирилденозина

Из четырех ферментов, участвующих в пути синтеза жирных кислот, FAS является предпочтительной мишенью для ингибирования вследствие того, что она действует только в пути синтеза жирных кислот, тогда как три других фермента вовлечены в другие клеточные функции. Поэтому ингибирование одного из трех других ферментов, вероятно, оказывает влияние на нормальные клетки. Из семи ферментативных стадий, осуществляемых FAS, стадия, катализируемая конденсирующим ферментом (т.е. бета-кетоацил-синтетазой) и еноилредуктазой, является наиболее простым кандидатом для ингибиторов, которые замедляют или останавливают синтез жирных кислот. Конденсирующий фермент комплекса FAS полностью охарактеризован с точки зрения структуры и функции. Активный центр конденсирующего фермента содержит критический цистеиниол, который является мишенью антилипидемических реаген-

тов, например, таких как ингибитор церуленин.

Предпочтительные ингибиторы конденсирующего фермента включают широкий диапазон химических соединений, включающих алкилирующие реагенты, окислители и реагенты, способные подвергаться дисульфидному обмену. Связующий карман фермента предпочитает Е, Е диены с длинной цепью.

В принципе эффективным ингибитором конденсирующего фермента может быть реагент, содержащий диен в боковой цепи и группу, которая проявляет химическую активность к анионам тиолата. Примером такого соединения является церуленин [(2S,3R)-2,3-эпокси-4-оксо-7,10-додекадиеноиламид]



Церуленин ковалентно связывается с критической цистеинтиольной группой в активном центре конденсирующего фермента синтазы жирных кислот, инактивируя указанную ключевую ферментативную стадию (Funabashi, et al., J. Biochem., 105: 751-755, 1989). Хотя отмечалось, что церуленин обладает и другими активностями, однако они проявляются или у микроорганизмов, которые не могут быть релевантными моделями человеческих клеток (например, ингибирование синтеза холестерина в грибах, Omura (1976), Bacteriol. Rev., 40: 681-697, или ослабленный синтез РНК (RNA) у вирусов, Perez, et al. (1991), FEBS, 280: 129-133); происходят в основном при повышенных концентрациях лекарственного средства (ингибирование вирусной HIV протеазы при 5 мг/мл, Moelling, et al. (1990), FEBS, 261: 373-377) или могут быть прямым результатом ингибирования эндогенного синтеза жирных кислот (ингибирование процессинга антигена в В-лимфоцитах и макрофагах, Falo et al. (1987), J. Immunol., 139: 3918-3923). В некоторых данных предполагается, что церуленин не ингибирует специфически миристоилирование белков (Simon, et al., J. Biol. Chem., 267: 3922-3931, 1992).

Еще несколько ингибиторов FAS раскрыты в заявке на патент США № 08/096908 и ее СИР, поданной 24 января 1994 г., описания которых включены в данный патент посредством ссылки. Включены ингибиторы синтазы жирных кислот, цитрат-лиазы, КоA-карбоксилазы и малат-дегидрогеназы.

Tomoda и сотрудники (Tomoda et al., Biochim. Biophys. Act. 921: 595-598, 1987; Omura et al., J. Antibiotics 39:1211-1218, 1986) описывают триаксин С (иногда называемый WS-1228A), природный ингибитор ацил-КоА-сингтетазы, который является продуктом Streptomyces sp. SK-1894. Химическая структура триаксина С: 1-гидрокси-3-(E,E,E-2',4',7'-ундекатриенилдиин)триазен. Триаксин С при концентрации 8,7 мкМ вызывает 50% ингибирование ацил-КоА-сингтетазы печени крыс; родственное соединение триаксин А ингибирует ацил-КоА-сингтетазу посредством механизма, который является конкурентным жирным кислотам с длинной цепью. Ингибирование ацил-КоА-сингтетазы является токсичным для клеток животных. Tomoda et al. (Tomoda et al., J. Biol. Chem. 266: 4212-4219, 1991) утверждают, что триаксин С при концентрации 1,0 мкМ вызывает ингибирование роста клеток Раджи (Raji) и, кроме того, как было показано, ингибирует рост клеток Веро (Vero) и Хела (Hela). Tomoda et al. также утверждают, что ацил-КоА-сингтетаза оказывает существенное влияние на клетки животных и что ингибирование фермента оказывает летальное действие.

В патенте США № 5981575 (описание которого включено в данное изобретение посредством ссылки) показано семейство соединений (гамма-замещенные-альфа-метилен-бета-карбокси-гамма-бутиrolактоны), ингибирующих синтез жирных кислот и рост опухолевых клеток и вызывающих снижение веса. Соединения, раскрытые в патенте '575, имеют несколько преимуществ по сравнению с природным продуктом церуленином при терапевтических применениях: (1) не содержат высокоактивную эпоксидную группу церуленина; (2) являются стабильными и растворимыми в водном растворе; (3) могут быть получены двухстадийной реакцией синтеза и поэтому легко получаются в больших количествах и (4) легко метятся тритием для получения высокой специфической активности в биохимических и фармакологических анализа. Синтез данного семейства соединений, которые являются ингибиторами синтазы жирных кислот, их применение в качестве средств для лечения опухолевых клеток, экспрессирующих FAS, и их применение в качестве средств для снижения веса описано в патенте США '575. В патенте '575 раскрыто также применение ингибиторов синтазы жирных кислот для системного снижения массы адипоцитов (числа адипоцитов или их размера) и в качестве средства для снижения веса.

Основными центрами синтеза жирных кислот у мышей и людей являются печень (см. Roncari, Can. J. Biochem., 52: 221-230, 1974; Triscari et al., 1985, Metabolism, 34: 580-7; Barakat et al., 1991, Metabolism, 40: 280-5), молочные железы (см. Thompson, et al., Pediatr. Res., 19: 139-143, 1985) и жировая ткань (Goldrick et al., 1974, Clin. Sci. Mol. Med., 46:469-79).

Ингибиторы синтеза жирных кислот в качестве антимикробных средств.

Церуленин был первоначально выделен в качестве потенциального противогрибкового антибиотика из культурального бульона *Cephalosporium caeruleum*. Структурно церуленин охарактеризован как амид (2R,3S)-эпокси-4-оксо-7,10-транс, трансдодекановой кислоты. Было показано, что механизм его действия включает ингибирование за счет необратимого связывания бета-кетоацил-АСР-сингтазы, являющейся конденсирующим ферментом, необходимым для биосинтеза жирных кислот. Церуленин характеризуется, прежде всего, как противогрибковое средство, обладающее активностью против *Candida* и *Saccharomyces* sp. Кроме того, была показана его активность *in vitro* против бактерий, актиномицетов и

микобактерий и отсутствие таковой против *Mycobacterium tuberculosis*. Активность ингибиторов синтеза жирных кислот, и церуленина в частности, не оценивалась против простейших, таких как *Toxoplasma gondii*, или других инфекционных эукариотических патогенных организмов, таких как *Pneumocystis carinii*, *Giardia lamblia*, *Plasmodium* sp., *Trichomonas vaginalis*, *Cryptosporidium*, *Trypanosoma*, *Leishmania* и *Schistosoma*.

Инфекционные заболевания, которые являются особенно восприимчивыми к лечению, представляют собой заболевания, вызывающие повреждения на наружных доступных поверхностях инфицированного животного. Наружные доступные поверхности включают все поверхности, которые могут быть достигнуты неинвазивными средствами (без разреза или прокола кожи), включающие саму кожную поверхность, слизистые оболочки, такие, которые покрывают назальную, ротовую, желудочно-кишечную или мочеполовую поверхности, и легочные поверхности, такие как альвеолярные мешочки. Восприимчивые к лечению заболевания включают: (1) кожные микозы или дерматомикозы, в особенности вызванные *Microsporum*, *Trichophyton*, *Epidemophyton* или *Mucocutaneus candidiasis*; (2) грибковые кератиты, в особенности вызванные *Aspergillus*, *Fusarium* или *Candida*; (3) амебоидный кератит, в особенности вызванный *Acanthamoeba*; (4) желудочно-кишечные заболевания, в особенности вызванные *Giardia lamblia*, *Entamoeba*, *Cryptosporidium*, *Microsporidium* или *Candida* (наиболее часто у иммунологически «скомпрометированных» животных); (5) мочеполовые инфекции, в особенности вызванные *Candida albicans* или *Trichomonas vaginalis*, и (6) легочные заболевания, в особенности вызванные *Mycobacterium tuberculosis*, *Aspergillus* или *Pneumocystis carinii*. Вызывающие инфекцию микроорганизмы, которые являются восприимчивыми к обработке ингибиторами синтеза жирных кислот, включают *Mycobacterium tuberculosis*, в особенности полирезистентные к лекарственным средствам штаммы и простейшие, такие как *Toxoplasma*.

Для ингибирования роста микробных клеток может быть использовано любое соединение, которое ингибирует синтез жирных кислот. Однако вводимые больному соединения не должны быть в равной степени токсичными для больного и целевых микробных клеток. Соответственно, выгодно выбрать ингибиторы, которые только или предпочтительно воздействуют на целевые микробные клетки.

Эукариотические микробные клетки, которые зависят от их собственных эндогенно синтезируемых жирных кислот, будут экспрессировать FAS I типа. Это доказывается как тем фактом, что ингибиторы FAS являются ингибиторами роста, так и тем фактом, что экзогенно добавленные жирные кислоты могут защищать от ингибиторов FAS нормальные клетки больного, но не указанные микробные клетки. Поэтому для лечения инфекций могут быть использованы средства, предотвращающие синтез жирных кислот клетками. В эукариотах жирные кислоты синтезируются с участием FAS I типа и с использованием в качестве субстратов алкинил-КоА, малонил-КоА и NADPH. Таким образом, другие ферменты, которые могут использовать субстраты на указанном пути, могут также оказывать влияние на скорость синтеза жирных кислот и поэтому являются значимыми для микробов, которые зависят от эндогенно синтезируемых жирных кислот. Ингибирование экспрессии или активности любого из указанных ферментов будет оказывать влияние на рост микробных клеток, зависящих от эндогенно синтезируемых жирных кислот.

Продукт FAS I типа в различных организмах является разным. Так, например, в грибах *S.cerevisiae* продукты предпочтительно представляют собой пальмитат и стеарат, стереофицированные в кофермент A. В *Mycobacterium smegmatis* продукты представляют собой КоA эфиры насыщенных жирных кислот, углеродная цепь которых содержит от 16 до 24 атомов углерода. Указанные липиды часто дополнитель но перерабатываются для пополнения клеток, нуждающихся в различных липидных компонентах.

Можно ожидать, что ингибирование ключевых стадий при последующей переработке или утилизации жирных кислот будет ингибировать клеточную функцию в любом случае: зависит ли клетка от эндогенных жирных кислот или утилизируется жирная кислота, поступающая с внешней поверхности клеток, и поэтому ингибиторы указанных последующих "даунстрим" стадий не могут быть достаточно избирательными для микробных клеток, зависимых от эндогенных жирных кислот. Однако было обнаружено, что введение ингибитора синтазы жирных кислот I типа в такие микробы делает их более восприимчивыми к ингибированию ингибиторами последующего процессинга и/или утилизации жирных кислот. Введение ингибитора синтеза жирных кислот в комбинации с одним или более ингибиторами последующих стадий биосинтеза липидов и/или утилизации будет оказывать, вследствие синергизма, избирательное действие на микробные клетки, зависимые от эндогенно синтезируемых жирных кислот. Предпочтительные комбинации включают ингибитор FAS и алкинил-КоА-карбоксилазы или FAS и ингибитор MAS.

Когда установлено, что млекопитающее инфицировано клетками организма, которые экспрессируют FAS I типа или если FAS найдена в биологической жидкости больного, млекопитающее или больной могут быть подвергнуты лечению введением ингибитора синтеза жирных кислот (патент США № 5614551).

Ингибирование нейропептида-Y для подавления аппетита и стимуляции снижения веса раскрыто в международной патентной заявке № PCT/US01/05316, описание которой включено в данный патент посредством ссылки. Однако в указанной заявке не описывается или не раскрывается какое-либо из соеди-

нений, раскрытых в настоящем изобретении.

Стимулирование карнитинпальмитоилтрансферазы-1 (CPT-1) для стимуляции снижения веса раскрыто в заявке на патент США № 60/354480, которая включена в данное описание посредством ссылки. В указанной заявке не описывается или не раскрывается какое-либо из соединений, раскрытых в данной заявке.

Применение ингибиторов FAS для ингибирования роста раковых клеток раскрыто в патенте США № 5759837, описание которого включено в данное изобретение посредством ссылки. В указанном патенте не описывается или не раскрывается какое-либо из соединений, раскрытых в данном описании.

Сущность изобретения

Обнаружены новые соединения - производные тиофен-2-она, имеющие множество терапевтически ценных свойств, включающих, например, ингибирование FAS, ингибирование NPY, стимуляцию CPT-1, способность вызывать снижение веса и проявляющих противораковые свойства.

Другой объект данного изобретения относится к фармацевтическим композициям, содержащим фармацевтический разбавитель и производное тиофен-2-она.

Еще один объект изобретения относится к способам лечения рака у животных и людей введением фармацевтической композиции, содержащей фармацевтический разбавитель и производное тиофен-2-она.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 показывает схему синтеза для получения тиолактамицина.

Фиг. 2 показывает схему синтеза для получения некоторых соединений в соответствии с изобретением.

Фиг. 3 показывает схему синтеза для получения некоторых соединений в соответствии с изобретением.

Фиг. 4 показывает схему синтеза для получения некоторых соединений в соответствии с изобретением.

Фиг. 5 показывает схему синтеза для получения некоторых соединений в соответствии с изобретением.

Фиг. 6 показывает схемы синтеза для получения некоторых соединений в соответствии с изобретением.

Фиг. 7 показывает схему синтеза для получения соединения в соответствии с изобретением.

Фиг. 8 показывает схему синтеза для получения некоторых соединений в соответствии с изобретением.

Фиг. 9 показывает две схемы синтеза для получения некоторых соединений в соответствии с изобретением.

Фиг. 10 показывает схему синтеза для получения некоторых соединений в соответствии с изобретением.

Фиг. 11 показывает результаты тестирования *in vivo* некоторых соединений в соответствии с изобретением на их способность снижать вес.

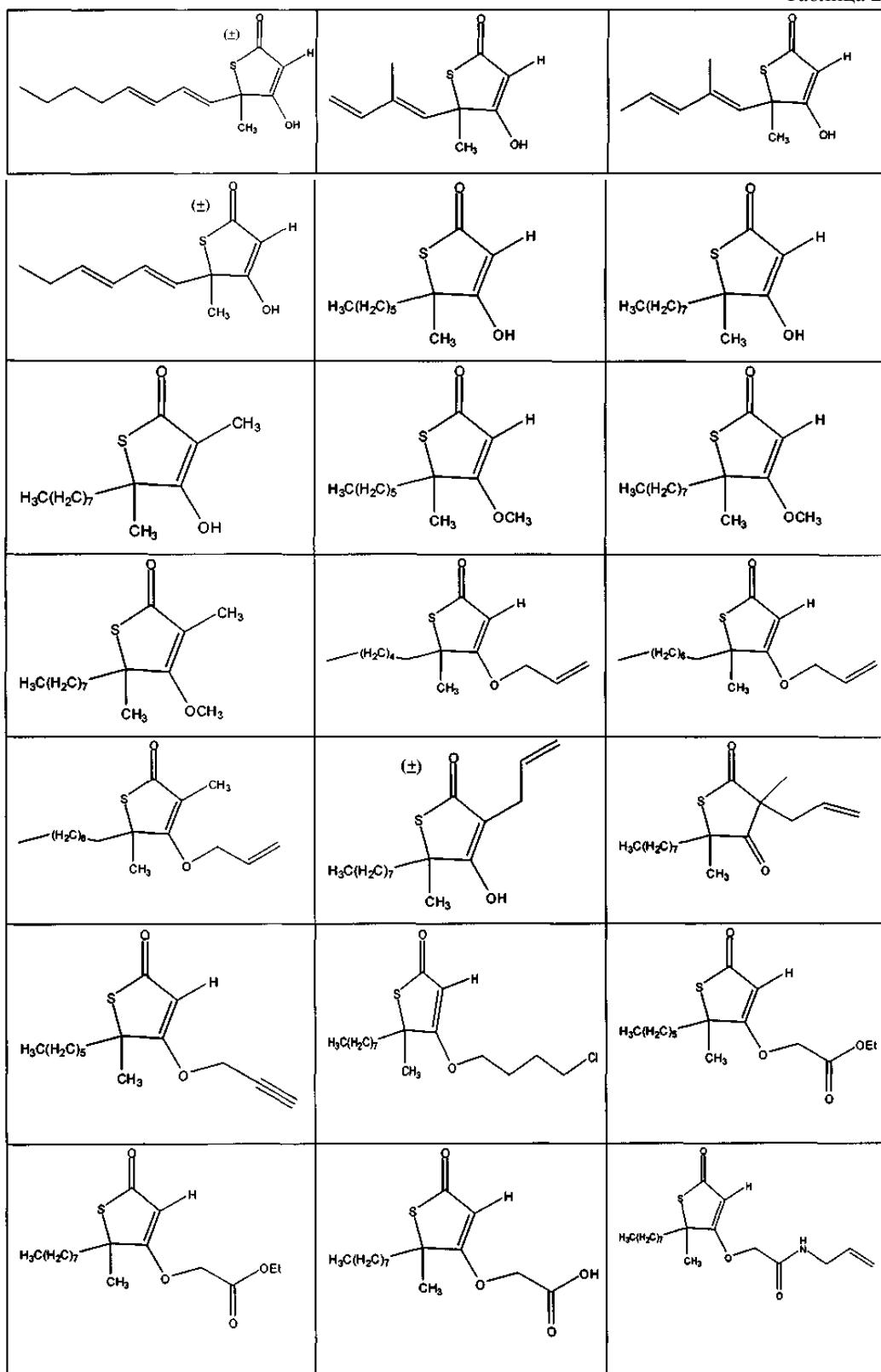
Фиг. 12 показывает результаты тестирования *in vivo* соединения в соответствии с изобретением на противораковую активность.

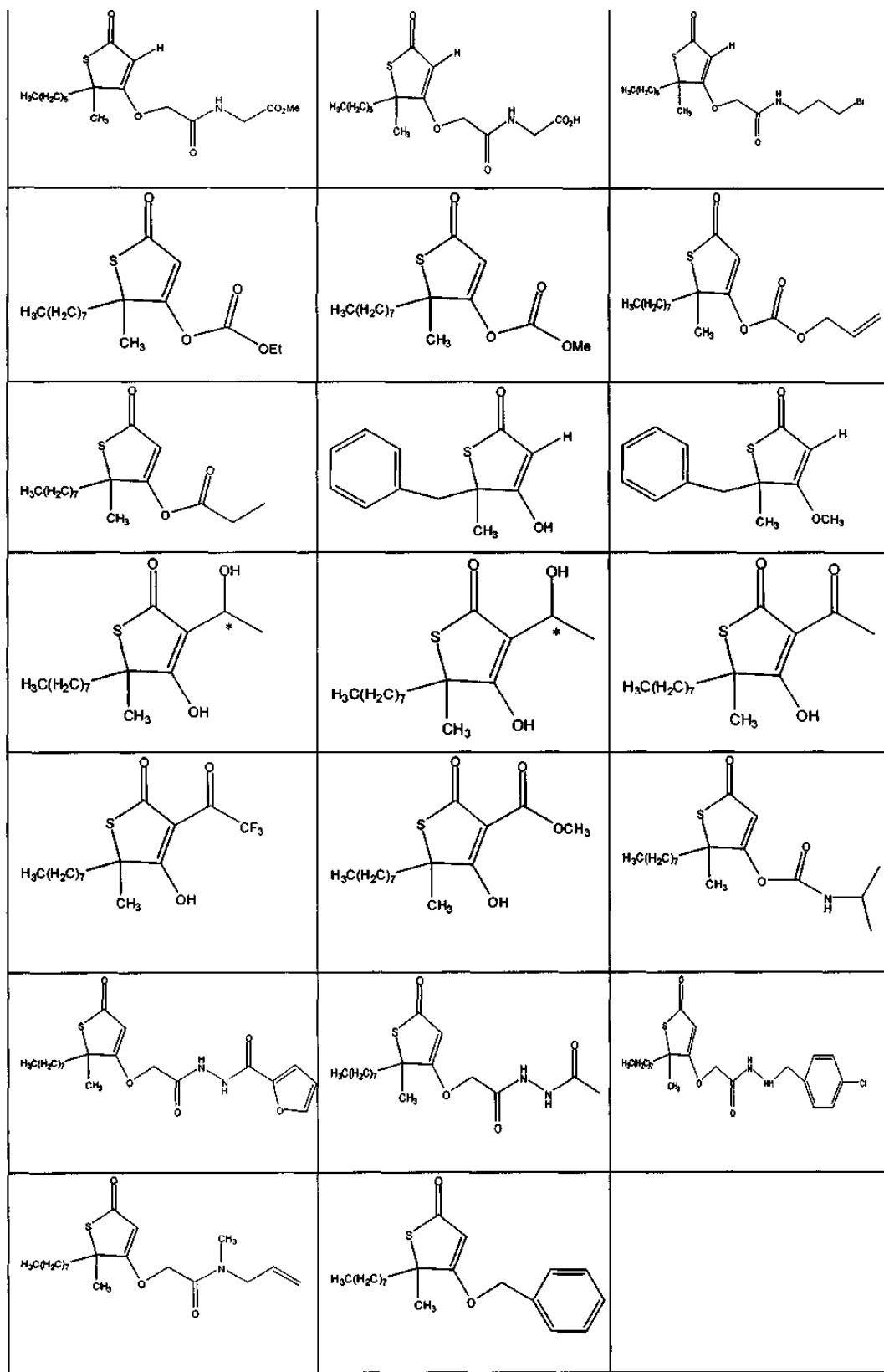
Подробное описание изобретения

Соединения изобретения могут быть получены традиционными способами. Синтез ряда соединений описан в примерах. Соединения могут быть применены для лечения рака.

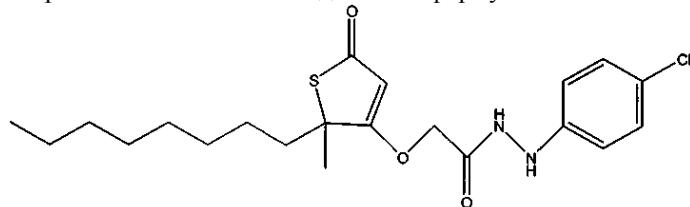
Один вариант изобретения представлен соединениями, выбранными из следующей группы.

Таблица 2

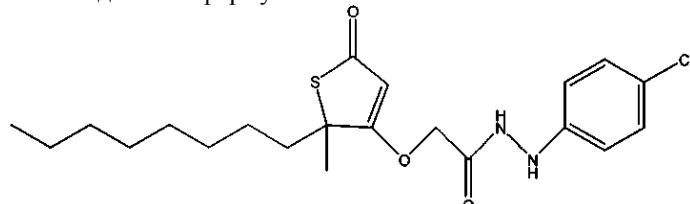




Другой вариант изобретения относится к соединению формулы

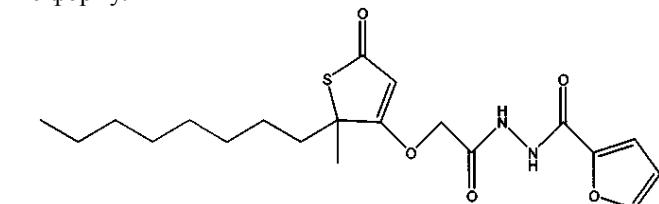


Следующий вариант изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей фармацевтический разбавитель и соединение формулы



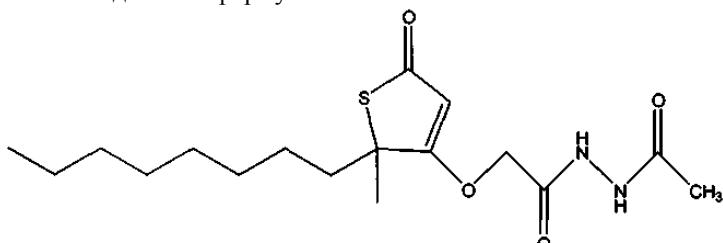
Следующий вариант настоящего изобретения относится к способу лечения рака, включающему введение пациенту, нуждающемуся в этом, вышеуказанной фармацевтической композиции.

Изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей фармацевтический разбавитель и соединение формулы



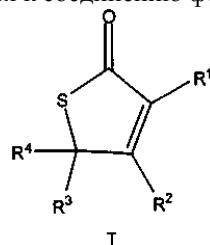
а также способу лечения рака, включающему введение пациенту, нуждающемуся в этом, такой фармацевтической композиции.

Следующий вариант изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей фармацевтический разбавитель и соединение формулы



а также к способу лечения рака путем введения пациенту, нуждающемуся в этом, указанной фармацевтической композиции.

Другой вариант изобретения относится к соединению формулы I



где R¹ представляет собой H;

R² представляет собой OCH₂C(O)NHR⁵, где R⁵ представляет собой C₁-C₁₀-арил, содержащий атом галогена;

R³ представляет собой -CH₃;

R⁴ представляет собой -n-C₆-C₈-алкил.

Следующий вариант настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей фармацевтический разбавитель и соединение формулы I.

Кроме того, изобретение касается способа лечения рака, включающего введение пациенту, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, содержащей фармацевтический разбавитель и соединение формулы I.

Композиции настоящего изобретения могут быть представлены для введения людям и другим животным в виде единичных дозированных форм, таких как таблетки, капсулы, пилюли, порошки, гранулы, стерильные парентеральные растворы или суспензии, пероральные растворы или суспензии, эмульсии типа «масло-в-воде» и типа «вода-в-масле», содержащие подходящие количества соединения, суппозитории и суспензии или растворы в текучей среде. Используемые в данном описании термины «фармацевтический разбавитель» и «фармацевтический носитель» имеют одно и то же значение. Для перорального введения могут быть получены либо твердые, либо жидкые единичные дозированные формы. Для приготовления твердых композиций, таких как таблетки, соединение может быть смешано с традиционными ингредиентами, такими как тальк, стеарат магния, дикальцийфосфат, алумосиликат магния, сульфат кальция, крахмал, лактоза, акация, метилцеллюлоза, и функционально подобными материалами, используемыми в качестве разбавителей или носителей. Капсулы получают смешиванием соединения с инертным фармацевтическим разбавителем и заполнением смеси в твердые желатиновые капсулы соответствующего размера. Мягкие желатиновые капсулы получают механическим включением суспензии соединения с приемлемым растительным маслом, вазелиновым маслом или другим инертным маслом в желатиновую капсулу.

Могут быть получены жидкые единичные дозированные формы для перорального введения, такие как сиропы, эликсиры и суспензии. Эти формы могут быть растворены в водном наполнителе вместе с сахаром, ароматическими корригентами и консервантами с образованием сиропа. Суспензии с водным наполнителем могут быть получены с помощью супспендирующего средства, такого как акация, трагакант, метилцеллюлоза и подобных соединений.

Жидкие единичные дозированные формы для парентерального введения могут быть получены с использованием соединения и стерильного наполнителя. При получении растворов соединение может быть растворено в воде для инъекций и затем стерилизовано с помощью фильтра перед заполнением раствора в подходящий сосуд или ампулу, которые герметически запаивают. В наполнителе могут быть растворены адьюванты, такие как местный анестетик, консервант и буферные вещества. После заполнения в сосуд композиция может быть заморожена, и под вакуумом удалена вода. Затем лиофилизованный порошок может быть отвшен в сосуд и восстановлен перед использованием.

Рассматриваемые для соединений изобретения клинические терапевтические показания включают (1) инфекции, обусловленные инвазивными микроорганизмами, такими как *staphylococci* и *enterococci*; (2) рак, возникающий во многих тканях, клетки которых избыточно экспрессируют синтазу жирных кислот; и (3) ожирение, обусловленное потреблением продуктов с избыточным количеством калорий. Определение доз и продолжительность лечения будут зависеть от множества факторов, включающих (1) возраст больного, массу тела и функционирование органов (например, функционирование печени и почек); (2) природу заболевания и степень распространения подвергаемого лечению болезненного процесса, а также любой имеющийся значимый сопутствующий патологический процесс и осуществляющую сопутствующую лекарственную терапию и (3) параметры, зависящие от лекарственного средства, такие как путь введения, частота и продолжительность дозирования, необходимые для осуществления лечения, и терапевтический индекс лекарственного средства. Обычно дозы выбирают таким образом, чтобы достичь уровней в сыворотке от 1 до 100 нг/мл с целью получения эффективных концентраций в целевом участке, равных примерно от 1 до 10 мкг/мл.

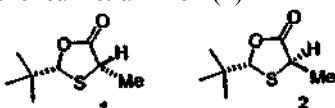
Примеры

Изобретение проиллюстрировано, но при этом не ограничено, следующими примерами.

Ряд соединений в соответствии с изобретением синтезировали, как описано ниже. Биологическую активность некоторых соединений профилировали следующим образом. Каждое соединение тестировали на (1) ингибирование очищенной человеческой FAS; (2) ингибирование активности синтеза жирных кислот в целых клетках и (3) цитотоксичность против культивируемых клеток карциномы человеческой молочной железы MCF-7, которые, как известно, обладают высокими уровнями FAS и активностью синтеза жирных кислот, с использованием кристаллического фиолетового и анализов XTT. Затем выбранные соединения с низкими уровнями цитотоксичности тестировали на снижение веса у мышей Balb/C. Кроме того, типичное соединение из группы, которая показывала значительное снижение веса и низкие уровни цитотоксичности, тестировали на его действие на окисление жирных кислот и активность в отношении карнитин-пальмитоилтрансферазы-1 (CPT-1), а также гипоталамическую экспрессию NPY нозерн-анализом мышей Balb/C. Некоторые соединения тестировали также на активность против грамположительных и/или грамотрицательных бактерий.

Химический синтез соединений.

(2S,5R)-2-трет-Бутил-5-метил-1,3-оксатиолан-4-он (1)¹



К раствору (S)-тиомолочной кислоты¹ (4,0 г, 37,7 ммоль) в пентане (24 мл) добавляли триметилалкинилальдегид (4,5 мл, 41,5 ммоль) и трифторуксусную кислоту (TFA) (48 мкл). Раствор кипятили с обратным холодильником в течение 20 ч с использованием ловушки Дина-Старка. После охлаждения удаляли растворитель с получением смеси цис:транс-изомеров (2,5:1) соединений 1 и 2 (6,4 г, 99%). В результате перекристаллизации (смесь пентан/Et₂O (8:1), -78°C) получали чистое соединение 1.

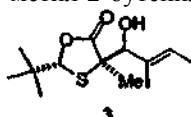
$[\alpha]_D^{24} = -38$ (с 0,4, CHCl₃).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) цис-изомер: δ 0,99 (с, 9Н), 1,53 (д, J=7 Гц, 3Н), 3,94 (кв., J=7 Гц, 1Н), 5,17 (с, 1Н).

Рацемическое соединение 1 получали также из (±)-тиомолочной кислоты.

Общая методика А.

(2S,5R)-2-(трет-Бутил)-5-(1-гидрокси-2-метил-2-бутенил)-5-метил-1,3-оксатиолан-4-он (3)



К смеси дизопропиламина (0,6 мл, 4,6 ммоль) в ТГФ (THF) (8,0 мл) при -78°C добавляли n-BuLi (3,3 мл, 1,4 М в н-гексане) и образовавшийся раствор перемешивали в течение 30 мин при 0°C и затем охлаждали до -78°C. Затем с помощью канюли при -78°C добавляли по каплям соединение 1 (800 мг, 4,6 ммоль) в ТГФ и полученный раствор перемешивали при -78°C в течение 30 мин. При -78°C добавляли через канюлю транс-2-метил-2-бутеналь (0,4 мл, 4,6 ммоль) в ТГФ (1,4 мл). После перемешивания при -78°C в течение 1,5 ч добавляли 1н. HCl (25 мл) и раствор экстрагировали Et₂O (3×30 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали. В результате фланш-хроматографии (смесь 10% EtOAc/гексан, r_f=0,1) получали соединение 3 (955 мг, 81%) в виде смеси диастереоизомеров 1,6:1.

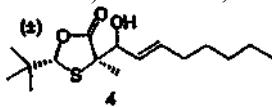
¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) основной диастереоизомер: δ 0,99 (с, 9Н), 1,40 (с, 3Н), 1,63 (д, J=6,7 Гц, 3Н), 1,69 (м, 3Н), 4,36 (с, 1Н), 5,25 (с, 1Н), 5,60-5,65 (м, 1Н); второстепенный диастереоизомер: 0,98 (с, 9Н), 1,59 (с, 3Н), 1,63 (д, J=6,7 Гц, 3Н), 1,72 (м, 3Н), 4,25 (с, 1Н), 5,07 (с, 1Н), 5,60-5,64 (м, 1Н);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) основной диастереоизомер: δ 12,5, 13,2, 24,3, 24,8, 60,7, 81,8, 87,9, 126,3, 133,8, 178,3.

ИК (ATR) 3466, 1743 см⁻¹.

Вычислено для C₁₃H₂₂O₃S: С, 60,4; Н, 8,58. Найдено С, 60,4; Н, 8,60.

(±)-2-(трет-Бутил)-5-(1-гидрокси-2-октененил)-5-метил-1,3-оксатиолан-4-он (4)



Из (±) соединения 1 (800 мг, 4,59 ммоль) и 2-трансоктеналя (0,58 мл, 5,1 ммоль), следуя общей методике А, после фланш-хроматографии (смесь 10% EtOAc/гексан) получали соединение 4 (1,1 г, 81%) в виде смеси диастереоизомеров 1,2:1.

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) основной диастереоизомер: δ 0,85 (т, J=7,2 Гц, 3Н), 0,97 (ш.с, 9Н), 1,18-1,35 (с, 6Н), 1,56 (с, 3Н), 2,00-2,08 (м, 2Н), 2,38 (д, J=5 Гц, 1Н), 4,15-4,19 (м, 1Н), 5,13 (с, 1Н), 5,45-5,59 (дд, J=7,14 Гц, 1Н), 5,72-5,77 (м, 1Н);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,7, 22,3, 24,7, 28,5, 31,3, 32,1, 35,2, 60,6, 78,8, 87,4, 127,2, 136,5, 175,7;

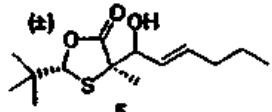
¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) второстепенный диастереоизомер: δ 0,85 (т, J=7,2 Гц, 3Н), 0,97 (с, 9Н), 1,18-1,35 (м, 6Н), 1,40 (с, 3Н), 2,00-2,07 (м, 2Н), 2,31 (д, J=5 Гц, 1Н), 4,25-4,30 (м, 1Н), 5,27 (с, 1Н), 5,45-5,59 (дд, J=7,14 Гц, 1Н), 5,79-5,83 (м, 1Н);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,7, 22,3, 23,9, 24,8, 28,5, 31,2, 32,1, 35,3, 61,1, 78,3, 87,8, 127,2, 137,2, 177,0;

ИК (NaCl) 2959, 1765 см⁻¹.

Вычислено для C₁₆H₂₈O₃S: С, 63,9; Н, 9,39. Найдено С, 63,9; Н, 9,41.

(±)-2-(трет-Бутил)-5-(1-гидрокси-2-гексенил)-5-метил-1,3-оксатиолан-4-он (5)



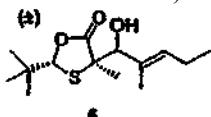
Из (\pm) соединения 1 (800 мг, 4,59 ммоль) и 2-трансгексеналя (0,58 мл, 5,1 ммоль), следуя общей методике А, после фланш-хроматографии (смесь 10% EtOAc/гексан) получали соединение 5 (813 мг, 65%) в виде смеси диастереоизомеров 2:4:1.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,87 (т, $J=7,3$ Гц, 3Н), 0,99 (с, 9Н), 1,38-1,45 (м, 2Н), 1,41 (с, 3Н), 2,02 (кв., $J=7$ Гц, 2Н), 4,26-4,31 (м, 1Н), 5,27 (с, 1Н), 5,45-5,63 (м, 1Н), 5,74-5,83 (м, 1Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 13,6, 21,6, 24,1, 24,9, 35,2, 37,2, 61,2, 78,5, 87,9, 127,3, 137,3, 179,1; ИК (NaCl) 2960, 1765 cm^{-1} .

Вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{S}$: С, 61,7; Н, 8,88. Найдено С, 61,74; Н, 8,89.

(\pm)-2-(трет-Бутил)-5-(1-гидрокси-2-метил-2-пентенил)-5-метил-1,3-оксатиолан-4-он (6)



Из (\pm) соединения 1 (800 мг, 4,59 ммоль) и 2-метил-2-пентеналя (0,58 мл, 5,0 ммоль), следуя общей методике А, после фланш-хроматографии (смесь 10% EtOAc/гексан) получали соединение 6 (884 мг, 71%) в виде смеси диастереоизомеров 1:8:1.

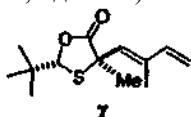
^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,93-0,99 (м, 12Н), 1,40 (с, 3Н), 1,68 (с, 3Н), 2,01-2,06 (м, 2Н), 4,33 (д, $J=6,9$ Гц, 1Н), 5,24 (с, 1Н), 5,48-5,54 (м, 1Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 12,6, 13,8, 20,9, 21,1, 24,8, 35,4, 60,6, 81,8, 87,9, 132,6, 133,9, 178,3; ИК (NaCl) 2961, 1767 cm^{-1} .

Вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{S}$: С, 61,7; Н, 8,88. Найдено С, 61,6; Н, 8,90.

Общая методика В.

(2S,5R)-2-(трет-Бутил)-5-(2-метил-бута-1,3-диенил)-5-метил-1,3-оксатиолан-4-он (7)



К раствору соединения 3 (3,23 г, 12,5 ммоль) в $\text{Cl}(\text{CH}_2)_2\text{Cl}$ (115 мл), охлажденному до 0°C, добавляли NEt_3 (4,2 мл, 30 ммоль) и 2,4-динитробензилсульфенилхлорид (6,6 г, 28,2 ммоль). Раствор нагревали до комнатной температуры в течение 30 мин или до тех пор, пока ТСХ (смесь 10% EtOAc/гексан, $r_f=0,55$ основной, $r_f=0,48$ второстепенный) не покажет завершение образования диастереоизомерных сложных эфиров сульфеновой кислоты. Затем смесь кипятили с обратным холодильником при 90°C в течение 4 ч или до тех пор, пока ТСХ не покажет завершение конверсии сложного эфира сульфеновой кислоты. После охлаждения до 0°C добавляли пентан (50 мл) и образовавшуюся смесь фильтровали через рыхлый слой целита и выпаривали. В результате фланш-хроматографии (смесь 2% EtOAc/гексан, $r_f=0,4$) получали чистое соединение 7 (2,3 г, 75%).

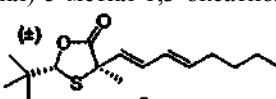
$[\alpha]_D^{24}=+237$ (с 1,0, CHCl_3).

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 1,98 (с, 9Н), 1,72 (с, 3Н), 1,86 (с, 3Н), 5,06 (д, $J=10,7$ Гц, 1Н), 5,18 (с, 1Н), 5,24 (д, $J=17,3$ Гц, 1Н), 5,70 (с, 1Н), 6,24-6,33 (дд, $J=10,7$ Гц, 17,3 Гц, 1Н);

^{13}C ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 12,5, 25,1, 26,6, 34,9, 53,7, 87,4, 113,7, 132,6, 137,8, 140,9, 176,3.

Вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{S}$: С, 64,9; Н, 8,38. Найдено С, 63,8; Н, 8,28.

(\pm)-2-(трет-Бутил)-5-(окта-1,3-диенил)-5-метил-1,3-оксатиолан-4-он (8)



Из (\pm) соединения 4 (306 мг, 1,00 ммоль), следуя общей методике В, после фланш-хроматографии (смесь 2% EtOAc/гексан) получали соединение 8 (212 мг, 75%, транс:цис 4:1).

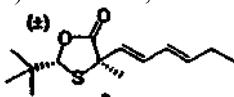
^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) транс-изомер: δ 0,84-0,89 (м, 3Н), 1,01 (с, 9Н), 1,22-1,38 (м, 4Н), 1,61 (с, 3Н), 2,04-2,11 (м, 2Н), 5,03 (с, 1Н), 5,58 (д, $J=15$ Гц, 1Н), 5,64-5,78 (м, 1Н), 0,96-6,05 (м, 1Н), 6,19 (дд, $J=10,1, 15,1$ Гц, 1Н).

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) транс-изомер: δ 13,6, 22,0, 22,5, 25,2, 31,2, 32,1, 35,6, 55,9, 87,0, 128,5, 129,6, 130,2, 137,2, 174,7;

ИК (NaCl) 2959, 1772 cm^{-1} ;

HRMS (EI) m/z вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{S}$ (M^+) 282,1653, найдено 282,1681.

(\pm)-2-(трет-Бутил)-5-(гекса-1,3-диенил)-5-метил-1,3-оксатиолан-4-он (9)



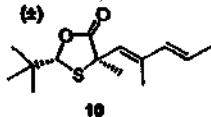
Из (\pm) соединения 5 (690 мг, 2,53 ммоль), следуя общей методике В, после фланш-хроматографии (смесь 2% EtOAc/гексан) получали соединение 9 (461 мг, 72%, транс:цис 4:1).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,95-1,01 (м, 12H), 1,61 (с, 3H), 2,07-2,12 (м, 2H), 5,05 (с, 1H), 5,58 (д, J=15 Гц, 1H), 5,81 (дт, J=6,15 Гц, 1H), 6,00-6,05 (м, 1H), 6,15-6,24 (дд, J=10, 15,2 Гц, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,3, 24,8, 25,3, 25,7, 34,5, 56,1, 87,2, 127,4, 129,4, 130,0, 138,9, 175,1; ИК (NaCl) 2966, 1771 см⁻¹;

HRMS (ES) m/z вычислено для C₁₄H₂₂O₂SNa⁺ (M+Na⁺) 277,1232, найдено 277,1237.

(±)-2-(трет-Бутил)-5-(2-метилпента-1,3-диенил)-5-метил-1,3-оксатиолан-4-он (10)



10

Из (±) соединения 6 (500 мг, 2,51 ммоль), следуя общей методике В, после фланш-хроматографии (смесь 2% EtOAc/гексан) получали соединение 10 (342 мг, 73%, транс:цик 14:1).

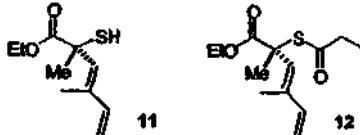
¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 1,00 (с, 9H), 1,70 (с, 3H), 1,75 (д, J=6,6 Гц, 3H), 1,85 (с, 3H), 5,18 (с, 1H), 5,57 (с, 1H), 5,75 (д.кв., J=6,6, 16 Гц, 1H), 5,97 (д, J=16 Гц, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,0, 18,0, 25,2, 27,4, 34,8, 53,8, 87,4, 125,4, 129,3, 135,5, 137,8, 176,3; ИК (NaCl) 2961, 1770 см⁻¹;

HRMS (EI) m/z вычислено для C₁₄H₂₂O₂S (M⁺) 254,1341, найдено 254,1309.

Общая методика С.

Сложный этиловый эфир 2-(R)-2,4-диметил-2-тиопропионилгекса-3,5-диеновой кислоты (12)



11

12

Непосредственно к раствору соединения 7 (250 мг, 1,0 ммоль) в EtOH (3,9 мл) добавляли карбонат цезия (332 мг, 1,0 ммоль). Через 20 мин смесь вливали в смесь NH₄Cl (насыщенный)/1н. HCl (15 мл, 3:1) и экстрагировали Et₂O (3×20 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали с получением неочищенного соединения 11. К соединению 11 добавляли CH₂Cl₂ (7,5 мл) и раствор охлаждали до 0°C. Добавляли NEt₃ (0,14 мл, 1,0 ммоль) и пропионилхлорид (0,09 мл, 1,0 ммоль) и раствор перемешивали при 0°C. Через 40 мин добавляли NH₄Cl (насыщенный) (20 мл) и образовавшуюся смесь экстрагировали CH₂Cl₂ (3×15 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали. После фланш-хроматографии (смесь 5% EtOAc/гексан, r_f=0,4) получали чистое соединение 12 (261 мг, 72%).

[α]_D²³=+4,2 (с 0,9, CHCl₃);

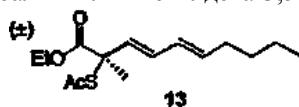
¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 1,11 (т, J=7,4 Гц, 3H), 1,23 (т, J=7,0 Гц, 3H), 1,83 (с, 3H), 1,85 (с, 3H), 2,48 (кв., J=7,5 Гц, 2H), 4,18 (кв., J=6,09 Гц, 2H), 5,02 (д, J=10,7 Гц, 1H), 5,18 (д, J=17,3 Гц, 1H), 5,73 (с, 1H), 6,24-6,34 (дд, J=10,7, 17,3 Гц, 1H);

¹³C ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 9,43, 12,9, 13,9, 26,1, 36,5, 55,2, 61,9, 113,1, 131,4, 138,2, 141,4, 172,1, 198,9;

ИК (NaCl) 2981, 1735, 1694 см⁻¹;

HRMS (EI) m/z вычислено для C₁₃H₂₀O₃S (M⁺) 256,1133, найдено 256,1127.

Сложный этиловый эфир (±)-2-тиоалкинил-2-метилдека-3,5-диеновой кислоты (13)



13

Из соединения 8 (200 мг, 0,71 ммоль) и алкинилхлорида (55 мкл, 0,78 ммоль), следуя общей методике С, после фланш-хроматографии (смесь 5% EtOAc/гексан) получали соединение 13 (119 г, 59%).

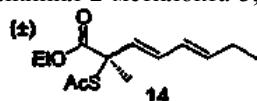
¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,84-0,89 (м, 3H), 1,23 (т, J=7,1 Гц, 3H), 1,28-1,38 (м, 4H), 1,71 (с, 3H), 2,01-2,08 (м, 2H), 2,23 (с, 3H), 4,18 (кв., J=7,1 Гц, 2H), 5,66-5,76 (м, 2H), 5,89-6,03 (м, 1H), 6,20 (дд, J=10,3, 15,3 Гц, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,8, 13,9, 22,2, 22,8, 29,9, 31,2, 32,3 56,1, 61,9, 128,4, 129,2, 132,2, 137,1, 171,6, 194,6;

ИК (NaCl) 2930, 1737, 1694 см⁻¹;

HRMS (ES) m/z вычислено для C₁₅H₂₄O₃SNa⁺ (M+Na⁺) 307,1338, найдено 307,1339.

Сложный этиловый эфир (±)-2-тиоалкинил-2-метилокта-3,5-диеновой кислоты (14)



14

Из соединения 9 (353 мг, 1,39 ммоль) и алкинилхлорида (98 мл, 1,39 ммоль), следуя общей методике С, после фланш-хроматографии (смесь 5% EtOAc/гексан) получали соединение 14 (142 г, 40%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,83 (т, J=7,3 Гц, 3H), 1,24 (т, J=7,1 Гц, 3H), 1,72 (с, 3H), 2,03-2,17 (м,

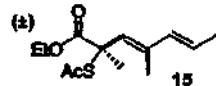
2H), 2,25 (с, 3H), 4,17 (кв., J=7,1 Гц, 2H), 5,72-5,81 (м, 2H), 5,95-6,04 (дд, J=10, 15 Гц, 1H) 6,18-6,27 (дд, J=10, 15 Гц, 1H);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 13,2, 13,9, 22,8, 25,6, 30,2, 56,1, 61,9, 128,2, 128,4, 132,1, 138,5, 171,6, 194,8;

ИК (NaCl) 2929, 1736, 1693 cm^{-1} ;

HRMS (ES) m/z вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{SNa}^+$ ($M+\text{Na}^+$) 279,1025, найдено 279,1032.

Сложный этиловый эфир (\pm)-2-тиоалкинил-2,4-диметилгепта-3,5-диеновой кислоты (15)



Из соединения 10 (369 мг, 1,46 ммоль) и алкинилхлорида (103 мкл, 1,46 ммоль), следуя общей методике С, после фланш-хроматографии (смесь 5% EtOAc/гексан) получали соединение 15 (271 г, 77%).

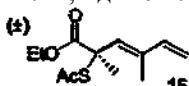
^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 1,26 (т, J=7,1 Гц, 3H), 1,74 (д, J=6,6 Гц, 3H), 1,81 (с, 3H), 1,85 (с, 3H), 2,25 (с, 3H), 4,17 (кв., J=7,1 Гц, 2H), 5,56 (с, 1H), 5,65-5,73 (д.кв., J=6,6, 16 Гц, 1H), 5,99 (д, J=16 Гц, 1H);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 13,8, 14,1, 18,2, 26,2, 30,5, 55,6, 62,0, 125,2, 128,3, 135,7, 138,5, 172,2, 194,8;

ИК (NaCl) 2926, 1737, 1694 cm^{-1} ;

HRMS (EI) m/z вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{S}$ (M^+) 256,1133, найдено 256,1118.

Сложный этиловый эфир (\pm)-2-тиоалкинил-2,4-диметилгекса-3,5-диеновой кислоты (16)



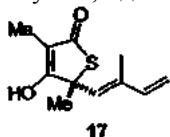
Из (\pm)-соединения 7 (380 мг, 1,56 ммоль) и алкинилхлорида (110 мкл, 1,56 ммоль), следуя общей методике С, после фланш-хроматографии (смесь 5% EtOAc/гексан) получали соединение 16 (230 г, 61%).

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 1,25 (т, J=7,1 Гц, 3H), 1,84 (с, 3H), 1,87 (с, 3H), 2,24 (с, 3H), 4,21 (кв., J=7,1 Гц, 2H), 5,03 (д, J=10,6 Гц, 1H), 5,21 (д, J=17,3 Гц, 1H), 5,74 (с, 1H), 6,26-6,35 (дд, J=10,6, 17,3 Гц, 1H);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 12,9, 13,9, 25,9, 30,1, 55,8, 62,0, 113,3, 131,3, 138,3, 141,3, 182,3, 194,6; ИК (NaCl) 2982, 1735, 1692 cm^{-1} .

Общая методика D.

5-(R)-4-Гидрокси-3,5-диметил-5-(2-метилбута-1,3-диенил)-5-H-тиофен-2-он (17) (тиолактамицин)



К соединению 12 (315 мг, 1,23 ммоль) в ТГФ (18,5 мл) при -78°C добавляли LiHMDS (3,1 мл, 3,1 ммоль, 1,0 М в ТГФ) и раствору давали возможность медленно нагреваться до -5°C. Затем раствор вливали в 1н. HCl (25 мл) и экстрагировали EtOAc (3×15 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO_4), фильтровали и выпаривали. Полученную неочищенную смесь переносили в NaHCO_3 (насыщенный, 15 мл) и экстрагировали Et_2O (3×10 мл). Затем водный слой подкисляли до pH 3 (рН бумаги) 1н. HCl и экстрагировали Et_2O (3×10 мл) и EtOAc (2×10 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO_4), фильтровали и выпаривали с получением чистого соединения 17 (182 мг, 70%, 96%, энант. избыток). После перекристаллизации из смеси гексан/ацетон (3:1) получали оптически обогащенное соединение 17.

$[\alpha]_D^{24}=+174$ (с 0,6, MeOH),

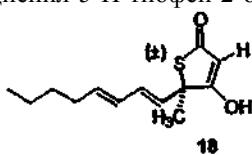
Т.пл. 119,5-121°C (лит. данные $[\alpha]_D^{20}+176$ (с 1,0, MeOH), Т.пл. 120°C)².

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 1,72 (с, 3H), 1,76 (с, 3H), 1,91 (с, 3H), 5,05 (д, J=10,7 Гц, 1H), 5,23 (д, J=17,3 Гц, 1H), 5,58 (с, 1H), 6,23-6,33 (дд, J=10,7, 17,3 Гц, 1H);

^{13}C ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 7,60, 12,0, 29,8, 55,3, 110,6, 113,9, 129,1, 140,3, 140,7, 179,2, 196,7; ИК (NaCl) 3422, 1607 cm^{-1} .

Вычислено для $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{S}$: C, 62,8; H, 6,71. Найдено C, 62,1; H, 6,71.

(\pm)-4-Гидрокси-5-метил-5-окта-1,3-диенил-5-H-тиофен-2-он (18)



Из соединения 13 (62 мг, 0,22 ммоль), следуя общей методике D, получали соединение 18 (21 мг, 41%).

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) кетотаутомер: δ 0,88 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,19-1,41 (м, 4H), 1,75 (с, 3H), 2,03-

2,19 (м, 2H), 3,22 (д, J=21 Гц, 1H), 3,51 (д, J=21 Гц, 1H), 5,67 (д, J=15 Гц, 1H), 5,80 (дт, J=7,17 Гц, 1H), 6,02 (дд, J=10, 15 Гц, 1H), 6,37 (дд, J=10, 15 Гц, 1H);

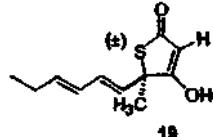
¹Н ЯМР (300 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 0,97-1,03 (м, 3H), 1,36-1,53 (м, 4H), 1,87 (с, 3H), 2,15-2,22 (м, 2H), 5,78 (д, J=15 Гц, 1H), 5,82-5,90 (м, 1H), 6,10-6,19 (м, 1H), 6,38 (дд, J=10,3, 15,4 Гц, 1H);

¹³C (75 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 14,4, 23,3, 25,2, 32,6, 33,4, 60,9, 102,1 (м), 130,7, 131,7, 137,5, 188,9, 196,9;

ИК (NaCl) 2927, 1588 см⁻¹;

HRMS (ES) вычислено для C₁₃H₁₈O₂Sn⁺ (M+Na⁺) 261,0911, найдено 261,0912.

(±)-4-Гидрокси-5-метил-5-гекса-1,3-диенил-5-Н-тиофен-2-он (19)



19

Из соединения 14 (364 мг, 0,46 ммоль), следуя общей методике D, получали соединение 19 (180 мг, 60%).

¹Н (300 МГц, CDCl₃) существует в виде смеси кето:енольный таутомер 2,3:1) кетотаутомер: δ 1,00 (т, J=7,4 Гц, 3H), 1,76 (с, 3H), 2,09-2,16 (м, 2H), 3,21 (д, J=21 Гц, 1H), 3,52 (д, J=21 Гц, 1H), 5,70 (д, J=15 Гц, 1H), 5,86 (дт, J=15, 6 Гц, 1H), 6,02 (дд, J=10, 15 Гц, 1H), 6,38 (дд, J=15,10 Гц, 1H);

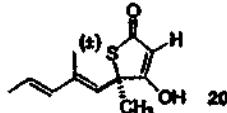
¹Н ЯМР (300 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 1,09 (т, J=7,4 Гц, 3H), 1,87 (с, 3H), 2,14-2,29 (м, 2H), 5,78 (д, J=15 Гц, 1H), 5,87 (дт, J=15, 6,57 Гц, 1H), 6,09-6,18 (м, 1H), 6,38 (дд, J=10,2, 15 Гц, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 14,1, 25,2, 26,9, 61,0, 101 (м), 129,7, 131,7, 132,7, 138,9, 188,9, 197,1;

ИК (NaCl) 2965, 1592 см⁻¹;

HRMS (ES) m/z вычислено для C₁₁H₁₄O₂Sn⁺ (M+Na⁺) 233,0607, найдено 233,0626.

(±)-4-Гидрокси-5-метил-5-(2-метилпента-1,3-диенил)-5-Н-тиофен-2-он (20)



20

Из соединения 15 (226 мг, 0,9 ммоль), следуя общей методике D, получали соединение 20 (95 мг, 49%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) кетотаутомер: δ 1,75 (с, 3H), 1,77 (д, J=3,2 Гц, 3H), 1,84 (с, 3H), 3,42 (д, J=1,5 Гц, 2H), 5,43 (д, J=21 Гц, 1H), 5,66 (ш.с, 1H), 5,78 (дд, J=6,22 Гц, 1H), 6,04 (д, J=15 Гц, 1H);

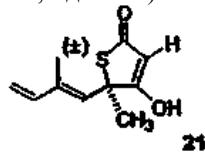
¹Н ЯМР (300 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 1,80-1,85 (м, 6H), 1,90 (с, 3H), 5,59 (с, 1H), 5,80-5,95 (м, 1H), 6,17 (д, J=15 Гц, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 13,4, 18,4, 30,7, 59,2, 101,2 (м), 126,2, 128,4, 136,9, 140,6, 190,2, 197,6;

ИК (NaCl) 2929, 1593 см⁻¹;

HRMS (ES) m/z вычислено для C₁₁H₁₄O₂Sn⁺ (M+Na⁺) 233,0607, найдено 233,0597.

(±)-4-Гидрокси-5-метил-5-(2-метилбута-1,3-диенил)-5-Н-тиофен-2-он (21)



21

Из соединения 16 (181 мг, 0,75 ммоль), следуя общей методике D, получали соединение 21 (66 мг, 45%).

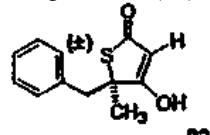
¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) кетотаутомер: δ 1,78 (с, 3H), 1,86 (с, 3H), 3,43 (д, J=5,6 Гц, 2H), 5,12 (д, J=10,6 Гц, 1H), 5,27 (д, J=17,3 Гц, 1H), 5,83 (с, 1H), 6,27-6,37 (дд, J=10,6, 17,3 Гц, 1H);

¹Н ЯМР (300 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 1,79 (с, 3H), 1,84 (с, 3H), 5,04 (д, J=10,7 Гц, 1H), 5,25 (д, J=17,3 Гц, 1H), 5,66 (с, 1H), 6,36 (дд, J=10,7, 17,3 Гц, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, MeOD) δ 12,6, 30,4, 59,0, 102 (м), 116,9, 131,4, 140,6, 142,3, 189,9, 197,3;

HRMS (EI) m/z вычислено для C₁₀H₁₂O₂S⁺ (M⁺) 196,0552, найдено 196,0552.

(±)-5-Бензил-4-гидрокси-5-метил-5-Н-тиофен-2-он (22)



22

Из соединения 31 (1,4 мг, 5,0 ммоль), следуя общей методике D, получали соединение 22 (500 мг,

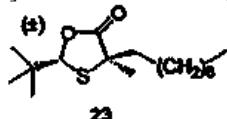
45%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 1,71 (с, 3H), 2,89 (аб кв., J=22 Гц, 2H), 3,17 (аб кв., J=14 Гц, 2H), 7,26 (м, 5H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 26,2, 46,6, 48,5, 67,9, 127,7, 128,6, 130,6, 134,9, 195,3, 207,3.

Общая методика Е.

(±)-2-трет-Бутил-5-метил-5-октил-[1,3]-оксатиолан-4-он (23)



К смеси LiHMDS (6,2 мл, 6,20 ммоль, 1 М в ТГФ) в ТГФ (9,7 мл) при -78°C добавляли по каплям с помощью канюли (±)-соединение 1 (1,00 г, 5,75 ммоль) в ТГФ (9,60 мл) и образовавшийся раствор перемешивали в течение 30 мин при -78°C. Затем при -78°C добавляли через канюлю октилтрифлат (1,63 г, 6,20 ммоль) в ТГФ (4 мл). После перемешивания при -78°C в течение 2 ч добавляли 1н. HCl (10 мл) и раствор экстрагировали Et₂O (3×15 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали. После фланш-хроматографии (смесь 2% EtOAc/гексан) получали чистое соединение 23 в виде смеси отдельных диастереоизомеров 2:1-6:1 (1,33 г, 81%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=6,5 Гц, 3H), 0,99 (с, 9H), 1,24-1,26 (м, 12H), 1,54 (с, 3H), 1,72-1,84 (м, 2H), 5,13 (с, 1H);

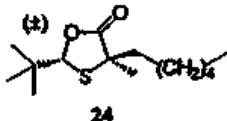
¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,9, 22,6, 24,9, 25,1, 25,9, 29,2, 29,3, 29,5, 31,8, 35,2, 41,2, 55,3, 86,7, 177,7;

ИК (NaCl) 3443, 2929, 1829, 1769 cm^{-1} .

Вычислено для C₁₆H₃₀O₂S: C, 67,0; H, 10,6. Найдено C, 66,3; H, 10,5.

HRMS (EI) m/z вычислено для C₁₆H₃₀O₂S⁺ (M⁺) 286,1967, найдено 286,1669.

(±)-2-трет-Бутил-5-метил-5-гексил-[1,3]-оксатиолан-4-он (24)



Из (±)-соединения 1 (500 мг, 2,87 мл) и гексилтрифата (738 мг, 2,87 ммоль), следуя общей методике Е, получали соединение 24 (557 мг, 75%) в виде смеси отдельных диастереоизомеров 2:1-6:1.

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,87 (т, J=6,5 Гц, 3H), 0,99 (0, 9H), 1,24-1,29 (м, 8H), 1,54 (с, 3H), 1,72-1,80 (м, 2H), 5,13 (с, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,9, 22,5, 24,9, 24,9, 25,1, 25,9, 29,1, 31,6, 41,2, 55,3, 86,7, 177,8;

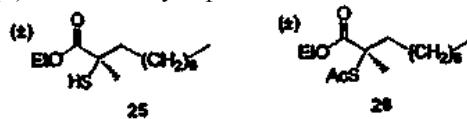
ИК (NaCl).

Вычислено для C₁₄H₂₆O₂S: C, 65,1; H, 10,1. Найдено C, 64,5; H, 10,1.

HRMS (EI) m/z вычислено для C₁₄H₂₆O₂S⁺ (M⁺) 258,1654, найдено 286,1653.

Общая методика F.

Сложный этиловый эфир (±)-2-алкинилсульфанил-2-метилдекановой кислоты (26)



К соединению 23 (650 мг, 2,27 ммоль) в EtOH (14,1 мл) добавляли NaOEt (2,1M) (2,16 мл, 4,54 ммоль) (свежеполученный с использованием металлического Na (200 мг, 8,3 ммоль) в EtOH (4,0 мл) и раствору давали возможность перемешиваться при комнатной температуре. Через 2 ч раствор вливался в NH₄Cl (насыщенный)/1н. HCl (25 мл, 3:1) и полученную смесь экстрагировали Et₂O (3×20 мл). Затем объединенные органические слои промывали H₂O (3×25 мл), сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали с получением неочищенного соединения 25. К растворенному в CH₂Cl₂ (26 мл) соединению 25 при 0°C добавляли NEt₃ (0,5 мл, 3,49 ммоль) и алкинилхлорид (0,3 мл, 3,49 ммоль). Через 40 мин при 0°C добавляли NH₄Cl (насыщенный) (30 мл) и раствор экстрагировали CH₂Cl₂. Объединенные органические слои сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали. После фланш-хроматографии (смесь 5% EtOAc/гексан) получали чистое соединение 26 (542 мг, 79%).

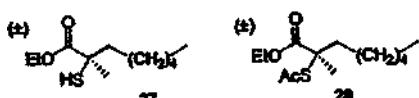
¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,87 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,22-1,27 (м, 15H), 1,61 (с, 3H), 1,75-1,84 (м, 2H), 2,26 (с, 3H), 4,18 (кв., J=7,1 Гц, 2H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,9, 14,1, 22,6, 23,4, 24,4, 29,1, 29,2, 29,6, 30,3, 31,8, 38,3, 55,8, 61,5, 173,1, 195,8;

ИК (NaCl) 3430, 1868, 1693, 1644 cm^{-1} ;

Вычислено для C₁₅H₂₈O₃S: C, 62,5; H, 9,78. Найдено C, 62,6; H, 9,83.

Сложный этиловый эфир (±)-2-алкинилсульфанил-2-метилоктановой кислоты (28)



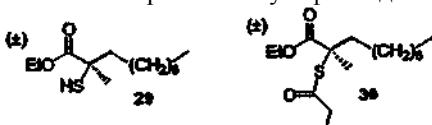
Из соединения 24 (940 мг, 3,63 ммоль) и алкинилхлорида (0,3 мл, 3,63 ммоль), следуя общей методике F, после фланш-хроматографии (смесь 5% EtOAc/гексан) получали соединение 28 (727 мг, 77%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,22-1,27 (м, 11H), 1,61 (с, 3H), 1,75-1,79 (м, 2H), 2,25 (с, 3H), 4,17 (кв., J=7 Гц, 2H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,9, 14,1, 22,4, 23,4, 24,4, 29,3, 30,3, 31,5, 38,4, 55,7, 61,5, 173,0, 194,7; ИК (NaCl) 3449, 1736, 1694 см⁻¹.

Вычислено для $C_{13}H_{21}O_3S$: С 59.9; Н 9.29. Найдено С 60.6; Н 9.44.

Сложный этиловый эфир (\pm) -2-метил-2-пропионилсульфанилдекановой кислоты (30)



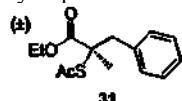
Из соединения 23 (613 мг, 2,14 ммоль) и пропионилхлорида (0,19 мл, 2,14 ммоль), следуя общей методике E, после фланж-хроматографии (смесь 5% EtOAc/тексан) получали соединение 30 (484 мг, 75%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,84 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,10 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,19-1,24 (м, 15H), 1,58 (с, 3H), 1,72-1,77 (м, 2H), 2,48 (кв., J=7,5 Гц, 2H), 4,17 (кв., J=7 Гц, 2H).

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 9,45, 14,1, 14,1, 22,6, 23,5, 24,5, 29,1, 29,3, 29,7, 31,8, 36,9, 38,5, 55,5, 61,4, 173,2, 199,2.

Вычислено для C₁₆H₃₀O₃S: C, 63,5; H, 10,0. Найдено C, 63,7; H, 10,0.

Сложный этиловый эфир (\pm)-2-алкинилсульфанил-2-метил-3- фенилдекановой кислоты (31)



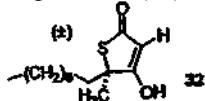
Из 5-бензил-2-трет-бутил-5-метил-[1,3]-оксатиолан-4-она¹ (1,2 г, 4,7 ммоль), следуя общей методике F, после фланш-хроматографии (смесь 5% EtOAc/гексан) получали соединение 31 (954 мг, 76%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 1,19 (т, J=7 Гц, 3H), 1,55 (с, 3H), 2,26 (с, 3H), 3,13 (кв., J=13 Гц, 2H), 4,13 (кв., J=7 Гц, 2H), 7,1 (м, 2H), 7,2 (м, 3H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 14,0, 23,1, 30,3, 43,6, 56,3, 61,7, 127,2, 128,1, 130,7, 135,4, 172,8, 194,8.

Общая методика G.

(\pm)-4-Гидрокси-5-метил-5-октил-5-Н-тиофер-2-он (32)



К соединению 26 (500 мг, 1,7 ммоль) в толуоле (27 мл) при -78°C добавляли LiHMDS (4,3 мл, 4,3 ммоль, 1,0 М в ТГФ) и раствору давали возможность медленно нагреваться до -5°C. Раствор затем вливали в 1н. HCl (40 мл) и экстрагировали EtOAc (3×25 мл). Объединенные органические слои сушили ($MgSO_4$), фильтровали и выпаривали. После флэш-хроматографии (смесь 20% EtOAc/2% CH_3CO_2H /гексан) получали соединение 32 (308 мг, 73%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) кетогатаутомер: δ 0,86 (т, J=6 Гц, 3H), 1,19-1,24 (м, 10H), 1,48-1,53 (м, 2H), 1,65 (с, 3H), 1,77-1,85 (м, 1H), 1,94-2,01 (м, 1H), 3,36 (с, 2H);

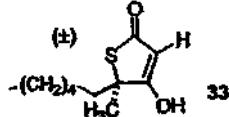
¹Н ЯМР (300 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 0,87-0,89 (м, 3H), 1,29 (м, 10H), 3,29 (с, 3H), 1,81-1,87 (м, 2H);

¹³C ЯМР (75 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 14,7, 23,8, 26,4, 27,1, 30,5, 30,6, 30,8, 33,2, 39,8, 61,3, 103,1 (m), 189,8, 197,8;

ИК (NaCl) 3422, 1593 cm^{-1} ;

Вычислено для C₁₃H₂₂O₂S: C, 64,4; H, 9,15. Найдено C, 64,3; H, 9,10.

(\pm)-4-Гидрокси-5-метил-5-гексил-5-Н-тиофен-2-он (33)



Из соединения 28 (715 мг, 2,75 ммоль), следуя общей методике G, после флэш-хроматографии (смесь 20% EtOAc/2% CH₃CO₂H/гексан) получали соединение 33 (402 мг, 69%).

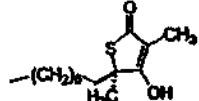
¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) кетотаутомер: δ 0,86 (т, J=7 Гц, 3H), 1,27 (ш.с, 8H), 1,68 (с, 3H), 1,94-2,26 (м, 2H), 3,35 (с, 2H);

¹H ЯМР (300 МГц, MeOD) енольный таутомер: δ 0,89 (т, J=6,5 Гц, 3H), 1,21-1,36 (м, 7H), 1,46-1,54 (м, 1H), 1,64 (с, 3H), 1,80-1,90 (м, 2H);

¹³C ЯМР (75 МГц, MeOD) δ 14,6, 23,8, 26,3, 27,1, 30,5, 32,9, 39,8, 61,3, 103,5 (м), 189,8, 197,8.

Вычислено для C₁₁H₁₈O₂S: C, 61,6; H, 8,47. Найдено C, 61,7; H, 8,67.

(±)-4-Гидрокси-3,5-диметил-5-октил-5-Н-тиофен-2-он (34)



34

Из соединения 30 (469 мг, 1,55 ммоль) и NaHMDS (3,87 мл, 3,87 ммоль, 1,0 М в ТГФ), следуя общей методике G, получали соединение 34 (397 мг, 70%).

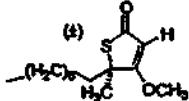
¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) енольный таутомер: δ 0,86 (т, J=6,8 Гц, 3H), 1,23 (с, 11H), 1,30-1,45 (м, 1H), 1,59 (с, 3H), 1,74 (с, 3H), 1,84-1,88 (м, 2H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 7,48, 14,0, 22,6, 25,2, 25,9, 29,2, 29,4, 29,6, 31,8, 38,5, 58,2, 110,5, 180,9, 198,0;

ИК (NaCl) 2927, 1601 см⁻¹.

Общая методика H.

(±)-4-Метокси-5-метил-5-октил-5-Н-тиофен-2-он (35)



35

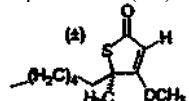
К соединению 32 (70 мг, 0,27 ммоль) в ДМФА (DMF) (1,1 мл), охлажденному до -40°C, добавляли NaN (14 мг, 0,35 ммоль, 60% в минеральном масле) и раствору давали возможность нагреваться и перемешиваться при 0°C в течение 30 мин. Затем непосредственно добавляли диметилсульфат (50 мкл, 0,55 ммоль) и смеси давали возможность нагреваться и перемешиваться при комнатной температуре в течение 2,5 ч. Добавляли смесь NH₄Cl (насыщенный)/1н. HCl (3:1, 10 мл) и раствор экстрагировали Et₂O (3×10 мл). Объединенные органические слои промывали H₂O (3×15 мл), сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали. В результате фланш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан) получали чистое соединение 35 (59 мг, 80%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,85 (т, J=7 Гц, 3H), 1,07-1,18 (м, 1H), 1,23 (с, 10H), 1,43-1,49 (м, 1H), 1,61 (с, 3H), 1,74-1,81 (м, 2H), 3,81 (с, 3H), 5,29 (с, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 14,0, 22,6, 25,1, 26,4, 29,1, 29,3, 29,5, 31,8, 38,8, 59,3, 59,4, 101,3, 187,3, 193,8.

Вычислено для C₁₄H₂₄O₂S: C, 65,6; H, 9,50. Найдено C, 65,8; H, 9,50.

(±)-4-Метокси-5-метил-5-гексил-5-Н-тиофен-2-он (36)



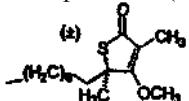
36

Из соединения 33 (40,3 мг, 0,19 ммоль) и диметилсульфата (35 мкл, 0,37 ммоль), следуя общей методике H, после фланш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан) получали соединение 36 (25 мг, 58%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=6,7 Гц, 3H), 1,08-1,13 (м, 1H), 1,24 (с, 6H), 1,35-1,39 (м, 1H), 1,61 (с, 3H), 1,75-1,82 (м, 2H), 3,81 (с, 3H), 5,30 (с, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 14,0, 22,5, 25,1, 26,4, 29,2, 31,5, 38,9, 59,4, 101,3, 187,3, 193,8.

(±)-4-Метокси-3,5-диметил-5-октил-5-Н-тиофен-2-он (37).



37

Из соединения 34 (40 мг, 0,16 ммоль), KN (27 мг, 0,20 ммоль, 30% в минеральном масле) и диметилсульфата (30 мкл, 0,31 ммоль), следуя общей методике H, получали соединение 37 (30 мг, 71%).

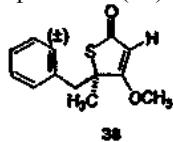
¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=7 Гц, 3H), 1,06-1,09 (м, 1H), 1,24 (с, 10H), 1,41-1,48 (м, 1H), 1,55 (с, 3H), 1,71-1,79 (м, 2H), 1,98 (с, 3H), 4,09 (с, 3H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 9,59, 14,1 22,6, 25,2, 26,5, 29,2, 29,4, 29,6, 31,8, 38,9, 58,7, 59,8, 111,3, 180,2, 195,7;

ИК (NaCl) 2927, 1676, 1631, 1582 cm^{-1} .

Вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{S}$: С, 66,6; Н, 9,69. Найдено С, 66,5; Н, 9,67.

(\pm)-5-Бензил-4-метокси-5-метил-5Н-тиофен-2-он (38)

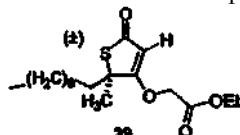


Из соединения 22 (50 мг, 0,23 ммоль) и диметилсульфата (44 мкл, 0,45 ммоль), следуя общей методике Н, получали соединение 38 (38 мг, 74%).

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 1,65 (с, 3Н), 3,1 (кв., $J=7$ Гц, 2Н), 3,84 (с, 3Н), 5,19 (с, 1Н), 7,21 (м, 5Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 26,0, 45,0 59,3, 59,9, 101,9, 127,2, 128,0, 130,4, 135,9, 186,5, 192,9.

Сложный этиловый эфир (\pm)-5-метил-5-октил-2-оксотиофен-4-илоксикусной кислоты (39)



Из соединения 32 (39 мг, 0,16 ммоль) и этилбромацетата (36 мкл, 0,32 ммоль), следуя общей методике Н, после фланш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан) получали соединение 39 (39 мг, 73%).

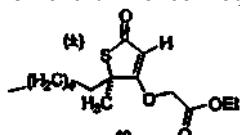
^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=6$ Гц, 3Н), 1,24 (с, 11Н), 1,29 (т, $J=7$ Гц, 3Н), 1,47-1,48 (м, 1Н), 1,68 (с, 3Н), 1,85-1,88 (м, 2Н), 4,25 (кв., $J=7$ Гц, 2Н), 4,54 (с, 2Н), 5,20 (с, 1Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 14,1, 14,1, 22,6, 25,1, 26,4, 29,2, 29,3, 29,5, 31,8, 38,8, 59,7, 61,9, 67,9, 102,3, 166,2, 185,3, 193,4;

ИК (NaCl) 2928, 1762, 1682, 1612 cm^{-1} .

Вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{S}$: С, 62,2; Н, 8,59. Найдено С, 62,2; Н, 8,67.

Сложный этиловый эфир (\pm)-5-метил-5-октил-2-оксотиофен-4-илоксикусной кислоты (40)



Из соединения 33 (20 мг, 0,09 ммоль) и этилбромацетата (20 мкл, 0,2 ммоль), следуя общей методике Н, после фланш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан) получали соединение 40 (18 мг, 67%).

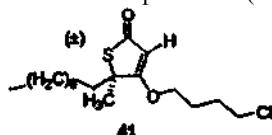
^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=6,8$ Гц, 3Н), 1,24-1,27 (м, 7Н), 1,32 (т, $J=7$ Гц, 3Н), 1,47-1,48 (м, 1Н), 1,68 (с, 3Н), 1,84-1,88 (м, 2Н), 4,25 (кв., $J=7$ Гц, 2Н), 4,54 (с, 2Н), 5,21 (с, 1Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 14,1, 14,1, 22,5, 25,1, 26,4, 29,2, 31,6, 38,9, 59,7, 61,9, 68,0, 102,3, 166,2, 185,3, 193,3;

ИК (NaCl) 2932, 1762, 1682, 1612 cm^{-1} .

Вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{S}$: С, 59,9; Н, 8,05. Найдено С, 59,9; Н, 8,08.

(\pm)-4-(4-Хлорбутокси)-5-метил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (41)



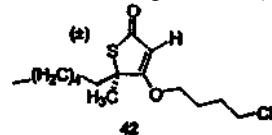
Из соединения 32 (47 мг, 0,18 ммоль) и 3-йод-1-хлорбутана (40 мкл, 0,36 ммоль), следуя общей методике Н, после фланш-хроматографии (смесь 20% EtOAc/гексан) получали соединение 41 (46 мг, 85%).

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=7$ Гц, 3Н), 1,07-1,27 (м, 1Н), 1,24 (с, 10Н), 1,48-1,51 (м, 1Н), 1,62 (с, 3Н), 1,75-1,82 (м, 2Н), 1,89-1,98 (м, 4Н), 3,59 (т, $J=5,9$ Гц, 2Н), 3,95-3,98 (м, 2Н), 5,28 (с, 1Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 14,1, 22,6, 25,1, 26,0, 26,5, 29,0, 29,2, 29,3, 29,5, 29,7, 31,8, 44,1, 59,6, 71,7, 101,6, 186,1, 193,8;

Вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{ClO}_2\text{S}$: С, 61,3; Н, 8,78. Найдено С, 61,9; Н, 9,01.

(\pm)-4-(4-Хлорбутокси)-5-метил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (42)



Из соединения 33 (36 мг, 0,17 ммоль) и 3-йод-1-хлорбутана (40 мкл, 0,34 ммоль), следуя общей методике Н, после фланш-хроматографии (смесь 20% EtOAc/гексан) получали соединение 42 (32 мг, 75%).

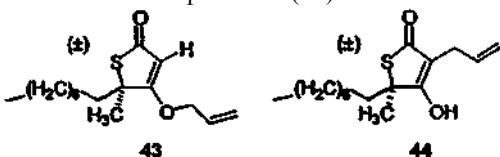
^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=5,1$ Гц, 3Н), 1,09-1,14 (м, 1Н), 1,25 (с, 6Н), 1,44-1,53 (м, 1Н), 1,63 (с, 3Н), 1,77-1,85 (м, 2Н), 1,90-2,00 (м, 4Н), 3,59 (т, $J=4,5$ Гц, 2Н), 3,95-3,99 (м, 2Н), 5,28 (с, 1Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 13,7, 22,3, 25,1, 26,1, 26,4, 29,1, 29,1, 31,5, 39,0, 43,9, 59,5, 71,6, 101,5, 185,9, 192,9;

ИК (NaCl) 2927, 1683, 1607 cm^{-1} .

Вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{ClO}_2\text{S}$: С, 59,1; Н, 8,27. Найдено С, 59,3; Н, 8,39.

(\pm)-4-Аллилокси-5-метил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (43)



Из соединения 32 (31 мг, 0,12 ммоль) и аллилбромида (21 мкл, 0,25 ммоль), следуя общей методике Н, получали смесь соединений 43 и 44, 3:1 (26 мг, 74%), которая могла быть разделена и очищена с использованием фланш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан).

(43) О-алкилированный продукт.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=6,3$ Гц, 3Н), 1,12-1,17 (м, 1Н), 1,24 (с, 10Н), 1,45-1,49 (м, 1Н), 1,64 (с, 3Н), 1,77-1,84 (м, 2Н), 4,47 (д, $J=5,6$ Гц, 2Н), 5,29 (с, 1Н), 5,31 (д, $J=11$ Гц, 1Н), 5,39 (д, $J=17$ Гц, 1Н), 5,90-5,99 (ddd, $J=5,6, 11, 17$ Гц, 1Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 14,1, 22,6, 25,1, 26,4, 29,2, 29,3 29,5, 31,8, 38,9, 59,7, 72,8, 102,0, 119,5, 130,8, 185,8, 193,8;

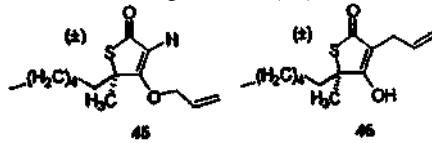
ИК (NaCl) 3441, 1681, 1609 cm^{-1} .

Вычислено для $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{S}$: С, 68,0; Н, 9,20. Найдено С, 68,1; Н, 9,34.

(44) С-алкилированный продукт.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=6,5$ Гц, 3Н), 1,25 (м, 12Н), 1,54 (с, 3Н), 1,79-1,84 (м, 2Н), 2,43-2,47 (м, 2Н), 5,05-5,11 (м, 2Н), 5,57-5,69 (1Н).

(\pm)-4-Аллилокси-5-метил-5-гексил-5Н-тиофен-2-он (45)



Из соединения 33 (270 мг, 1,3 ммоль) и аллилбромида (0,2 мл, 2,52 ммоль), следуя общей методике Н, получали смесь соединения 45 и соединения 46 2,3:1 (205 мг, 58%), которая могла быть разделена и очищена с использованием фланш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан).

(45) О-алкилирование.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,84 (т, $J=7$ Гц, 3Н), 1,09-1,17 (м, 1Н), 1,23 (с, 6Н), 1,40-1,51 (м, 1Н), 1,62 (с, 3Н), 1,73-1,83 (м, 2Н), 4,46 (д, $J=5,6$ Гц, 2Н), 5,33 (д, $J=10$ Гц, 1Н), 5,38 (д, $J=17$ Гц, 1Н), 5,28 (с, 1Н), 5,87-5,98 (ddd, $J=5,6, 10, 17$ Гц, 1Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 14,0, 22,5, 25,1, 26,5, 29,2, 31,6, 38,9, 59,7, 72,8, 101,9, 119,6, 130,7, 185,8, 193,9.

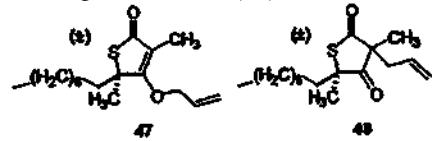
Вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_2\text{S}$: С, 66,10; Н, 8,72. Найдено С, 66,04; Н, 8,72.

(46) С-алкилирование.

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=7$ Гц, 3Н), 1,24 (ш.с, 8Н), 1,54 (с, 3Н), 1,81-1,84 (м, 2Н), 2,42-2,48 (м, 2Н), 5,05-5,10 (м, 2Н), 5,56-5,67 (м, 1Н).

(\pm)-4-Аллилокси-3,5-диметил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (47).

(\pm)-Аллил-3,5-диметил-5-октилтиофен-2,4-дион (48).



Из соединения 34 (70 мг, 0,27 ммоль) и аллилбромида (47 мкл, 0,55 ммоль), следуя общей методике Н, получали смесь соединений 47 и 48, 2,3:1 (данные С-алкилирования не показаны) (67 мг, 82%), которая могла быть разделена и очищена с использованием фланш-хроматографии (смесь 20% EtOAc/гексан).

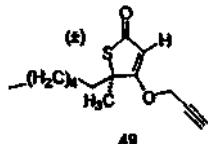
(47) ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=7$ Гц, 3Н), 1,06-1,48 (м, 12Н), 1,58 (с, 3Н), 1,71-1,82 (м, 2Н), 1,94 (с, 3Н), 4,80-4,82 (м, 2Н), 5,28-5,46 (м, 2Н), 5,89-5,03 (м, 1Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 9,65, 14,0, 22,6, 25,2, 26,6, 29,2, 29,3 29,6, 31,8, 39,2, 57,5, 72,5, 118,2, 119,5, 132,6, 179,4, 193,8;

ИК (NaCl) 2855, 1676, 1580 cm^{-1} .

(48) ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=7$ Гц, 3Н), 1,16-1,47 (м, 15Н), 1,57 (с, 3Н), 1,74-1,96 (м, 2Н), 2,42-2,46 (м, 2Н), 5,04-5,10 (м, 2Н), 5,53-5,67 (м, 1Н).

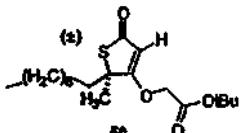
(±)-5-Метил-5-гексил-4-проп-2-инилокси-5Н-тиофен-2-он (49)



Из соединения 33 (45 мг, 0,21 ммоль) и пропаргилбромида (37 мкл, 0,21 ммоль), следуя общей методике Н, получали соединение 49 (21 мг, 40%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=7 Гц, 3Н), 1,11-1,20 (м, 1Н), 1,24 (с, 6Н), 1,41-1,49 (м, 1Н), 1,63 (с, 3Н), 1,76-1,86 (м, 2Н), 2,59 (т, J=2,5 Гц, 1Н), 4,62 (д, J=3,7 Гц, 1Н), 4,63 (д, J=3,7 Гц, 1Н), 5,43 (с, 1Н).

Сложный трет-бутиловый эфир (±)-5-метил-5-октил-2- оксотиофен-4-илоксиуксусной кислоты (50)



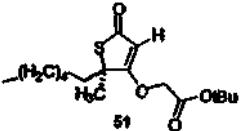
Из соединения 32 (60 мг, 0,25 ммоль) и трет-бутилбромацетата (73 мкл, 0,49 ммоль), следуя общей методике Н, после фланш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан) получали соединение 50 (62 мг, 70%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=7 Гц, 3Н), 1,24 (с, 12Н), 1,49 (с, 9Н), 1,68 (с, 3Н), 1,83-1,86 (м, 2Н), 4,43 (с, 2Н), 5,19 (с, 1Н);

¹³С ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 14,0, 22,6, 25,2, 26,3, 28,1, 29,2, 29,3 29,5, 31,8, 38,9, 59,7, 68,5, 83,4, 102,1, 165,2, 185,5, 193,4.

Вычислено для C₁₉H₃₂O₄S: С, 64,0; Н, 9,05. Найдено С, 64,1; Н, 9,08.

Сложный трет-бутиловый эфир (±)-5-метил-5-гексил-2-оксотиофен-4-илоксиуксусной кислоты (51)

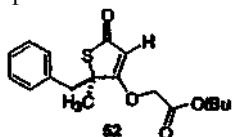


Из соединения 33 (169 мг, 0,79 ммоль) и трет-бутилбромацетата (0,23 мл, 1,58 ммоль), следуя общей методике Н, после фланш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан) получали соединение 51 (206 мг, 80%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,82 (т, J=6,8 Гц, 3Н), 1,21 (с, 8Н), 1,47 (с, 9Н), 1,64 (с, 3Н), 1,78-1,83 (м, 2Н), 4,41 (с, 2Н), 5,15 (с, 1Н);

¹³С ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 14,0, 22,5, 25,1, 26,3, 28,0, 29,1, 31,5, 38,9, 59,6, 68,4, 83,4, 102,1, 165,2, 185,5, 193,4.

Сложный трет-бутиловый эфир (±)-5-фенил-5-метил-2- оксотиофен-4-илоксиуксусной кислоты (52)



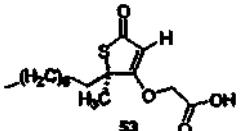
Из соединения 22 (150 мг, 0,68 ммоль) и трет-бутилбромацетата (0,20 мл, 1,36 ммоль), следуя общей методике Н, после фланш-хроматографии (смесь 20% EtOAc/гексан) получали соединение 52 (159 мг, 74%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 1,49 (с, 9Н), 1,69 (с, 3Н), 3,17 (с, 2Н), 4,44 (кв., J=8 Гц, 2Н), 5,13 (с, 1Н), 7,24 (м, 5Н);

¹³С ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 25,8, 28,1, 45,0, 60,1, 68,4, 83,6, 102,6, 127,2, 128,1, 130,5, 135,9, 165,3, 184,9, 192,8.

Общая методика I.

(±)-5-Метил-5-октил-2-оксотиофен-4-илоксиуксусная кислота (53)



К соединению 50 (65 мг, 0,18 ммоль), растворенному в CH₂Cl₂ (1,4 мл), добавляли трифтормуксусную кислоту (TFA) (0,7 мл) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Выпаривали растворители и неочищенную смесь подвергали хроматографии (смесь 20% EtOAc/2% CH₃CO₂H/гексан) с получением чистого соединения 53 (48 мг, 89%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=6,9 Гц, 3Н), 1,24 (с, 11Н), 1,47-1,48 (м, 1Н), 1,68 (с, 3Н), 1,84-

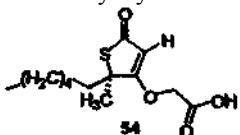
1,88 (м, 2H), 4,62 (с, 2H), 5,31 (с, 1H);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 14,1, 22,6, 25,1, 26,1, 29,2, 29,3 29,5, 31,8, 38,9, 60,1, 67,7, 102,4, 169,8, 185,8, 195,4;

ИК (NaCl) 3442, 1645 cm^{-1} .

Вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{S}$: С, 59,9; Н, 8,05. Найдено С, 60,0; Н, 8,09.

(\pm)-5-Метил-5-гексил-2-оксотиофен-4-илоксикусная кислота (54)

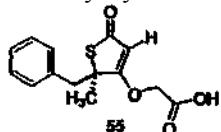


Из соединения 51 (177 мг, 0,54 ммоль) и трифторуксусной кислоты (TFA) (2,61 мл), следуя общей методике I, после флэш-хроматографии (смесь 20% EtOAc/2% $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ /гексан) получали соединение 54 (144 мг, 98%).

^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,85 (т, $J=6,8$ Гц, 3H), 1,24 (с, 7H), 1,44-1,47 (м, 1H), 1,68 (с, 3H), 1,84-1,91 (м, 2H), 4,62 (с, 2H), 5,33 (с, 1H);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 14,1, 22,6, 25,1, 26,1, 29,2, 31,6, 38,9, 60,3, 67,7, 102,4, 169,8, 185,9, 196,1.

(\pm)-5-Фенил-5-метил-2-оксотиофен-4-илоксикусная кислота (55)

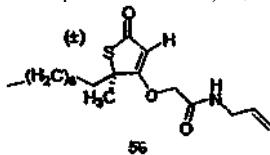


Из соединения 52 (117 мг, 0,35 ммоль) и трифторуксусной кислоты (TFA) (1,4 мл), следуя общей методике I, после флэш-хроматографии (смесь 30% EtOAc/2% $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ /гексан) получали соединение 55 (68 мг, 70%).

^1H ЯМР (300 МГц, MeOD) δ 1,63 (с, 3H), 3,11 (дд, $J=6,8$ Гц, 13,6 Гц, 2H), 4,59 (с, 2H), 5,21 (с, 1H), 7,1 (м, 5H);

^{13}C ЯМР (75 МГц, MeOD) δ 26,7, 45,7, 61,9, 67,1, 103,9, 128,3, 129,1, 131,8, 137,5, 169,3, 187,3, 195,8.

(\pm)-N-аллил-(5-метил-5-октил-2-оксотиофен-4-илокси)ацетамид (56)



К охлажденному раствору (0°C) соединения 53 (64 мг, 0,21 ммоль) в CH_2Cl_2 (1,1 мл) добавляли гидрохлорид 1-[3-диметиламино]пропил]-3-этилкарбодиимида (EDC) (49 мг, 0,25 ммоль), DMAP (3 мг, 0,02 ммоль) и аллиламин (18 мкл, 0,25 ммоль) и смеси давали возможность нагреваться до комнатной температуры и перемешиваться в течение 12 ч. Раствор вливали в раствор 1н. HCl (насыщенный) (1:3) и экстрагировали Et_2O (3×10 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO_4), фильтровали и выпаривали с получением неочищенного соединения 56. После флэш-хроматографии (смесь 50% EtOAc/гексан) получали чистое соединение 56 (50 мг, 66%).

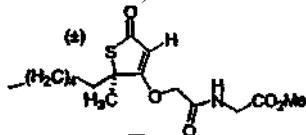
^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 0,86 (т, $J=7$ Гц, 3H), 1,12-1,22 (м, 1H), 1,24 (с, 10H), 1,41-1,51 (м, 1H), 1,68 (с, 3H), 1,82-1,87 (м, 2H), 3,98 (кажд., $J=6$ Гц, 2H), 4,50 (с, 2H), 5,20 (д, $J=10$ Гц, 1H), 5,22 (д, $J=17,3$ Гц, 1H), 5,35 (с, 1H), 5,80-5,90 (ддд, $J=6, 10, 17$ Гц, 1H), 6,19 (ш.с, 1H);

^{13}C ЯМР (75 МГц, CDCl_3) δ 14,0, 22,6, 25,3, 26,5, 29,2, 29,4, 29,5, 31,8, 39,1, 41,6, 59,3, 70,3, 103,4, 117,2, 133,2, 165,3, 183,9, 192,8.

Вычислено для $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{O}_3\text{S}$: С, 63,7; Н, 8,61. Найдено С, 63,4; Н, 8,67.

Общая методика J.

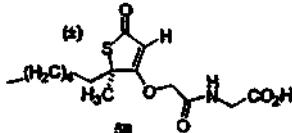
(\pm)-(5-Метил-5-гексил-2-оксотиофен-4-илокси)алкинилметилглицинат (57)



К раствору соединения 54 (42,4 мг, 0,15 ммоль) в CH_3CN (0,86 мл) добавляли трис-(2-оксо-3-оксазолинил)fosфиноксид³ (91 мг, 0,20 ммоль), гидрохлорид метилглицинат (19,7 мг, 0,16 ммоль) и NEt_3 (43 мкл, 0,31 ммоль) и раствору давали возможность перемешиваться при комнатной температуре в течение 20 мин, смесь вливали в раствор смеси NH_4Cl (насыщенный)/1н. HCl (10 мл) и экстрагировали Et_2O (3×10 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO_4), фильтровали, выпаривали и подвергали хроматографии (смесь 40-50% EtOAc/гексан) с получением чистого соединения 57 (43 мг, 80%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,85 (т, J=6,8 Гц, 3H), 1,23-1,26 (м, 7H), 1,49-1,55 (м, 1H), 1,65 (с, 3H), 1,84-1,90 (м, 2H), 3,79 (с, 3H), 4,11 (д, J=5 Гц, 1H), 4,12 (д, J=5 Гц, 1H), 4,47 (с, 2H), 5,36 (с, 1H), 6,76 (ш.с, 1H).

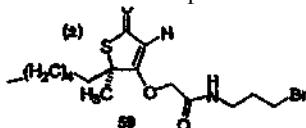
(±)-(5-Метил-5-гексил-2-оксотиофен-4-илокси)алкинилглицинат (58)



К соединению 57 (22 мг, 0,06 ммоль), растворенному в смеси ТГФ/H₂O (0,5 мл, 3:1) и охлажденному до 0°C, добавляли LiOH (3 мг, 0,07 ммоль) и полученному раствору давали возможность перемешиваться в течение 45 мин. Затем смесь вливали в раствор HCl (10 мл, 1н.) и экстрагировали Et₂O (3×10 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали с получением неочищенного соединения 58. После флэш-хроматографии (смесь 50% EtOAc/2% CH₃CO₂H/гексан) получали чистое соединение 58 (19 мг, 86%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,85 (т, J=6,7 Гц, 3H), 1,25 (с, 7H), 1,48-1,52 (м, 2H), 1,68 (с, 3H), 2,08-2,10 (м, 2H), 4,05 (с, 2H), 4,56 (с, 2H), 5,41 (с, 1H).

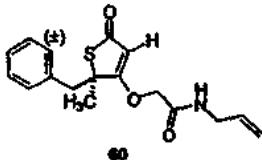
(±)-N-(4-Бромбутил)-(5-метил-5-гексил-2-оксотиофен-4-илокси)ацетамид (59)



Из соединения 54 (61 мг, 0,22 ммоль) и гидробромида 1-аминопропанола (50 мг, 0,23 ммоль), следуя общей методике J, после флэш-хроматографии (смесь 50% EtOAc/гексан) получали соединение 59 (65 мг, 74%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,12-1,15 (м, 1H), 1,23-1,28 (с, 6H), 1,46-1,53 (м, 1H), 1,69 (с, 3H), 1,82-1,88 (14, 2H), 2,14 (квинт. J=6 Гц, 2H), 3,42 (м, 2H), 3,54 (кв., J=6,3 Гц, 2H), 4,43 (с, 2H), 5,35 (с, 1H), 6,45 (ш.с, 1H).

(±)-N-Аллил-(5-фенил-5-метил-2-оксотиофен-4-илокси)ацетамид (60)



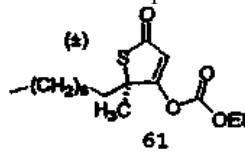
Из соединения 55 (72 мг, 0,26 ммоль) и аллиламина (21 мкл, 0,28 ммоль), следуя общей методике J, после флаш-хроматографии (градиент 10-50% EtOAc/гексан) получали соединение 60 (39 мг, 47%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 1,73 (с, 3H), 3,17 (с, 2H), 3,93 (м, 2H), 4,41 (с, 2H), 5,22 (м, 2H), 5,24 (с, 1H), 5,80 (м, 1H), 5,83 (с, 1H), 7,24 (м, 5H).

¹³С ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 26,0, 41,6, 45,4, 59,7, 70,3, 103,9, 117,1, 127,5, 128,3, 130,2, 133,3, 135,6, 165,3, 183,4, 192,0.

Общая методика K.

(±)-4-Оксикарбоксиэтил-5-метил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (61)



К раствору соединения 32 (95 мг, 0,39 ммоль) в ТГФ (1,8 мл), охлажденному до -78°C, добавляли LiHMDS (0,58 мл, 0,58 ммоль, 1 М в ТГФ) и раствору давали возможность перемешиваться при -78°C в течение 30 мин. Затем добавляли этилхлорформиат (60 мкл, 0,62 ммоль) и смесь переносили в баню с льдом и давали возможность медленно нагреваться до комнатной температуры. Через 1 ч смесь вливали при комнатной температуре в раствор смеси HCl (1н.)/NH₄Cl (насыщенный) (10 мл) и экстрагировали Et₂O (3×10 мл). Объединенные органические слои сушили (MgSO₄), фильтровали, выпаривали и хроматографировали (смесь 20% EtOAc/гексан) с получением чистого соединения 61 (111 мг, 91%).

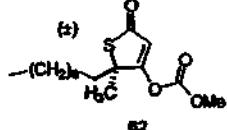
¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,85 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,12-1,17 (м, 11H), 1,38 (т, J=7 Гц, 3H), 1,42-1,50 (м, 1H), 1,67 (с, 3H), 1,82 (д, J=9 Гц, 1H), 1,85 (д, J=9 Гц, 1H), 4,33 (кв., J=7 Гц, 2H), 6,38 (с, 1H);

¹³С ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 14,0, 14,0, 22,6, 25,2, 25,8, 29,1, 29,2, 20,4, 31,8, 38,4, 60,1, 66,0, 112,8, 150,2, 175,6, 193,9;

ИК (NaCl) 2928, 1782, 1690, 1625 см⁻¹.

Вычислено для C₁₆H₂₆O₄S: C, 61,1; H, 8,33. Найдено C, 61,5; H, 8,32.

(±)-4-Оксикарбоксиметил-5-метил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (62)



Из соединения 32 (73 мг, 0,30 ммоль) и метилхлорформиата (37 мкл, 0,48 ммоль), следуя общей методике К, после флэш-хроматографии (смесь 20% EtOAc/гексан) получали соединение 62 (63 мг, 70%).

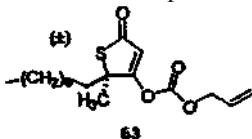
¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,85 (т, J=7 Гц, 3H), 1,15-1,21 (м, 1H), 1,22 (с, 10H), 1,41-1,51 (м, 1H), 1,66 (с, 3H), 1,81 (д, J=9 Гц, 1H), 1,83 (д, J=9 Гц, 1H), 3,92 (с, 3H), 6,39 (с, 1H);

¹³С ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 14,1, 22,6, 25,2, 25,9, 29,2, 29,3, 29,4, 31,8, 38,4, 56,2, 60,2, 112,9, 150,9, 175,5, 194,1;

ИК (NaCl) 3382, 1626, 1560, 1542 см⁻¹.

Вычислено для C₁₅H₂₄O₄S: С, 59,9; Н, 8,05. Найдено С, 60,3; Н, 8,10.

(±)-4-Оксикарбоксиаллил-5-метил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (63)



Из соединения 32 (51,5 мг, 0,21 ммоль) и аллилхлорформиата (33 мкл, 0,32 ммоль), следуя общей методике К, после флэш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан) получали соединение 63 (46,3 мг, 67%).

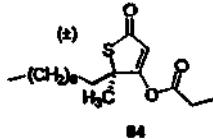
¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,85 (т, J=7,3 Гц, 3H), 1,16-1,23 (ш.с, 10H), 1,41-1,51 (м, 2H), 1,67 (с, 3H), 1,81-1,87 (м, 2H), 4,74 (кажд.дт, J=6,13 Гц, 2H), 5,37 (кажд.д.кв., J=10,3, 1,02 Гц, 1H), 5,44 (кажд.д.кв., J=15,9, 1,02 Гц, 1H), 5,90-6,0 (м, 1H), 6,39 (с, 1H);

¹³С ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 14,0, 22,6, 25,2, 25,8, 29,1, 29,2, 29,4, 31,8, 38,4, 60,1, 70,2, 112,9, 120,6, 130,23, 150,0, 175,5, 193,7.

ИК (NaCl) 2927, 1782, 1691, 1606 см⁻¹.

Вычислено для C₁₇H₂₆O₄S: С, 62,5; Н, 8,03. Найдено С, 62,6; Н, 8,07.

(±)-4-Пропионил-5-метил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (64)



Из соединения 32 (40 мг, 0,17 ммоль) и пропионилхлорида (20 мкл, 0,22 ммоль), следуя общей методике К, после флэш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан) получали соединение 64 (23,1 мг, 47%).

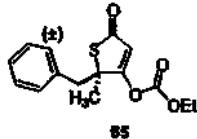
¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,85 (т, J=7 Гц, 3H), 1,12-1,25 (м, 13H), 1,42-1,49 (м, 2H), 1,64 (с, 3H), 1,78-1,84 (м, 2H), 2,57 (кв., J=7,5 Гц, 2H), 6,39 (с, 1H);

¹³С ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 8,71, 14,0, 22,6, 25,1, 25,9, 27,9, 29,1, 29,3, 29,5, 31,8, 38,6, 60,4, 113,8, 169,1, 177,0, 179,9;

ИК (NaCl) 2928, 1787, 1688 см⁻¹.

Вычислено для C₁₆H₂₆O₃S: С, 64,4; Н, 8,78. Найдено С, 64,3; Н, 8,89.

(±)-4-Оксикарбоксиэтил-5-фенил-5-метил-5Н-тиофен-2-он (65)

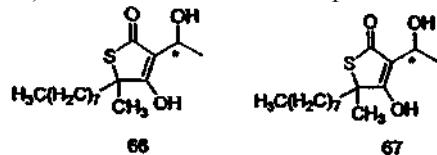


Из соединения 22 (50 мг, 0,23 ммоль) и этилхлорформиата (35 мкл, 0,36 ммоль), следуя общей методике К, получали соединение 65 (67 мг, 88%).

¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 1,31 (т, J=7 Гц, 3H), 1,69 (с, 3H), 3,15 (с, 2H), 4,36 (кв., J=7 Гц, 2H), 6,33 (с, 1H), 7,18-7,27 (м, 5H);

¹³С ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 14,1, 25,3, 44,6, 60,6, 66,2, 113,2, 127,4, 128,2, 130,3, 135,4, 150,1, 175,1, 193,3.

4-Гидрокси-3-(1-гидроксиэтил)-5-метил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (66, 67)



К соединению 32 (247 мг, 1,02 ммоль), растворенному в гексане, добавляли триэтиламин (0,23 мл, 1,68 ммоль) и триметилсилилхлорид (0,21 мл, 1,64 ммоль) и раствору давали возможность перемешиваться при комнатной температуре в течение 4 ч, смесь фильтровали через рыхлый слой целита и выпаривали с получением 5-метил-5-октил-4-триметилсиланилокси-5Н-тиофен-2-она. К раствору $TiCl_4$ (0,7 мл, 0,7 ммоль) в CH_2Cl_2 (1,95 мл) при -78°C добавляли ацетальдегид (54 мкл, 0,97 ммоль) и полученному раствору давали возможность перемешиваться при -78°C в течение 5 мин. Затем с помощью канюли в раствор смеси $TiCl_4$ /ацетальдегид добавляли 5-метил-5-октил-4-триметилсиланилокси-5Н-тиофен-2-он, растворенный в CH_2Cl_2 (0,4 мл), с получением при этом смеси ярко-оранжевого цвета. Образовавшейся смеси давали возможность нагреваться и перемешиваться в течение 20 мин при 0°C, смесь вливали в NH_4Cl (насыщенный) (15 мл) и экстрагировали CH_2Cl_2 (3×15 мл). Органические слои объединяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и выпаривали. После фланш-хроматографии (смесь 10% EtOAc/гексан) получали чистые соединение 66 (34 мг) и соединение 67 (24 мг) (50%).

(66) 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 0,86 (т, $J=6$, 9 Гц, 3Н), 1,05-1,08 (м, 1Н), 1,24 (ш.с, 11Н), 1,49 (д, $J=6,5$ Гц, 3Н, ротамер), 1,55 (д, $J=5,2$ Гц, 3Н, ротамер), 1,62 (с, 3Н), 1,78-1,82 (м, 2Н), 4,68 (кв., $J=6,5$ Гц, 1Н, ротамер), 5,04 (кв., $J=5,2$, 1Н, ротамер).

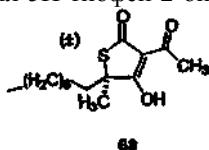
HRMS (ES) m/z вычислено для $C_{16}H_{28}O_3SNa^+$ ($M+CH_2+Na^+$) 323,1660, найдено 323,1660.

(67) 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 0,85 (т, $J=6,9$ Гц, 3Н), 1,24 (ш.с, 12Н), 1,47 (д, $J=6,6$ Гц, 3Н, ротамер), 1,54 (д, $J=5,4$ Гц, 3Н, ротамер), 1,59 (с, 3Н), 1,76-1,82 (м, 2Н), 4,65 (кв., $J=6,3$ Гц, 1Н), 5,06 (кв., $J=5,4$ Гц, 1Н).

HRMS (ES) m/z вычислено для $C_{16}H_{28}O_3SNa^+$ ($M+CH_2+Na^+$) 323,1660, найдено 323,1660.

Общая методика L.

3-Алкинил-4-гидрокси-5-метил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (68)



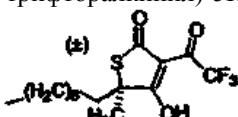
К соединению 32 (94 мг, 0,38 ммоль) в CH_2Cl_2 (1,9 мл) при 0°C добавляли NEt_3 (58 мкл, 0,42 ммоль), диметиламинопиридин (DMAP) (19 мг, 0,15 ммоль) и уксусный ангидрид (43 мкл, 0,47 ммоль). Раствор перемешивали при 0° в течение 15 мин, затем давали возможность нагреваться и перемешиваться при комнатной температуре в течение 2-14 ч или до тех пор, пока ТСХ не покажет завершение реакции, смесь вливали в смесь NH_4Cl (насыщенный)/ HCl (1н.) (3:1, 8 мл) и экстрагировали CH_2Cl_2 (3×10 мл). Органические слои объединяли, сушили ($MgSO_4$), фильтровали и выпаривали с получением неочищенного соединения 68. После фланш-хроматографии (смесь 30% EtOAc/2% AcOH/гексан) ($r_f=0,44$) получали чистое соединение 68 (83 мг, 78%).

1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 0,84 (м, 3Н), 1,22 (ш.с, 10Н), 1,48 (м, 2Н), 1,65 (с, 3Н), 1,77-1,92 (м, 2Н), 2,55 (с, 3Н);

^{13}C ЯМР (75 МГц, $CDCl_3$) δ 13,9, 22,6, 23,8, 25,1, 26,3, 29,1, 29,2, 29,5, 31,7, 39,4, 59,7, 109,7, 190,5, 195,5, 204,9.

HRMS (EI) m/z вычислено для $C_{15}H_{24}O_3S^+$ (M^+) 284,1441, найдено 284,1414.

4-Гидрокси-5-метил-5-октил-3-(2,2,2-трифторалкинил)-5Н-тиофен-2-он (69)

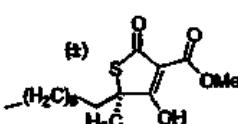


Из соединения 32 (90 мг, 0,37 ммоль), ангидрида трифтормуксусной кислоты (114 мкл, 0,81 ммоль), диметиламинопиридина (DMAP) (18 мг, 0,15 ммоль) и NEt_3 (108 мкл, 0,77 ммоль), следуя общей методике L, после фланш-хроматографии (смесь 40% гексан/10% ТГФ/2% AcOH/EtOAc) получали соединение 69 (107 мг, 86%).

1H ЯМР (300 МГц, MeOD) δ 0,85 (т, $J=6,9$ Гц, 3Н), 1,09 (м, 1Н), 1,21 (ш.с, 11Н), 1,38 (с, 3Н), 1,51-1,60 (м, 1Н), 1,65-1,71 (м, 1Н).

HRMS (EI) m/z вычислено для $C_{15}H_{21}F_3O_3S^+$ (M^+) 338,1158, найдено 338,1171.

Сложный метиловый эфир 4-гидрокси-5-метил-5-октил-2-оксо-2,5-дигидротиофен-3-карбоновой кислоты (70)



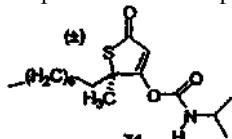
Из соединения 32 (91 мг, 0,37 ммоль), метилхлорформиата (63 мкл, 0,81 ммоль), диметиламинопиридина (DMAP) (23 мг, 0,18 ммоль) и NEt₃ (108 мкл, 0,77 ммоль), следуя общей методике L, после фланш-хроматографии (30% EtOAc/2% AcOH/тексан - 10% ТТФ/2% AcOH/EtOAc) получали соединение 70 (66 мг, 59%, 79% в расчете на извлеченные исходные продукты).

¹H ЯМР (300 МГц, MeOD) δ 0,86 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,20 (ш.с, 12H), 1,35 (с, 3H), 1,55 (м, 1H), 1,71-1,75 (м, 1H), 3,59 (с, 3H);

¹³C ЯМР (75 МГц, MeOD) δ 13,3, 21,8, 24,4, 27,0, 28,5, 28,6, 29,0, 30,2, 31,0, 50,4, 58,3, 124,6, 168,1, 187,7, 196,7.

HRMS (EI) m/z вычислено для C₁₅H₂₄O₄S⁺ (M⁺) 300,1389, найдено 300,1375.

2-Метил-2-октил-5-оксо-2,5-дигидротиофен-3-иловый эфир изопропилкарбаминовой кислоты (71)



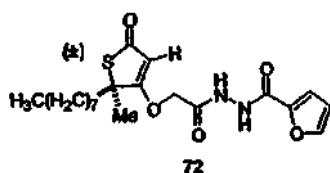
К соединению 32 (46 мг, 0,19 ммоль), растворенному в гексане, добавляли триэтиламин (43 мкл, 0,31 ммоль) и триметилсилилхлорид (36 мкл, 0,29 ммоль) и раствору давали возможность перемешиваться при комнатной температуре в течение 4 ч, смесь фильтровали через рыхлый слой целита и выпаривали с получением 5-метил-5-октил-4-триметилсиланилокси-5Н-тиофен-2-она, который повторно растворяли в CH₂Cl₂ (0,4 мл). К полученной смеси добавляли изопропилизоцианат (19,2 мл, 0,19 ммоль) и раствору давали возможность перемешиваться при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли NH₄Cl (насыщенный) (5 мл) и смесь экстрагировали CH₂Cl₂ (3×10 мл). Органические слои объединяли, сушили (MgSO₄), фильтровали и выпаривали с получением неочищенного соединения 71. После фланш-хроматографии (смесь 20% EtOAc/2% AcOH/тексан) получали чистое соединение 71 (35 мг, 60%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,85 (т, J=7,0 Гц, 3H), 1,14-1,24 (м, 17H), 1,45 (м, 1H), 1,63 (с, 3H), 1,76-1,79 (м, 2H), 3,81-3,88 (м, 1H), 5,16 (д, J=7 Гц, 1H), 6,33 (с, 1H);

¹³C ЯМР (75 МГц, CDCl₃) δ 13,9, 20,4, 22,5, 22,8, 25,1, 25,9, 29,1, 29,3, 29,5, 31,8, 38,7, 44,0, 60,2, 111,6, 149,7, 176,2, 194,5.

Общая методика M.

N'-(2-Фуранкарбонил)гидразид (±)-(5-метил-5-октил-2-оксотиофен-4-илокси)уксусной кислоты (72).

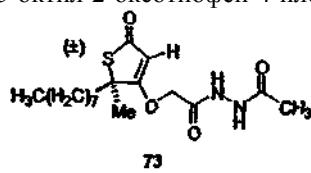


К охлажденному раствору (0°C) соединения 53 (100 мг, 0,33 ммоль) в CH₂Cl₂ (1/61 мл) добавляли гидрохлорид 1-[3-диметиламино]пропил]-3-этоксикарбодиимида (EDC) (128 мг, 0,43 ммоль), DMAP (6,0 мг, 0,05 ммоль) и гидразид 2-фуранкарбоновой кислоты (54 мг, 0,43 ммоль). Образовавшуюся смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин, затем ей давали возможность нагреваться до комнатной температуры и перемешиваться в течение 12 ч. Раствор вливали в NH₄Cl (10 мл, насыщенный) и экстрагировали CH₂Cl₂ (3×10 мл). Объединенные органические слои сушили (Na₂SO₄), фильтровали и выпаривали с получением неочищенного соединения 72. После фланш-хроматографии (смесь 10% EtOAc/тексан) получали чистое соединение 72 (91 мг, 68%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 0,84 (т, J=6,6 Гц, 3H), 1,21 (м, 11H), 1,43-1,47 (м, 1H), 1,66 (с, 3H), 1,81-1,86 (м, 2H), 4,64 (с, 2H), 5,42 (с, 1H), 6,47 (дд, J=1,6, 3,6 Гц, 1H), 7,16 (д, J=4 Гц, 1H), 7,45 (м, 1H), 9,32 (д, J=4 Гц, 1H), 9,44 (д, J=4 Гц, 1H);

¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 14,0, 22,6, 25,3, 26,0, 29,2, 29,3, 29,5, 31,7, 38,8, 59,7, 69,1, 103,0, 112,3, 116,5, 145,1, 145,4, 156,4, 164,2, 184,8, 193,9.

N'-Ацетилгидразид (±)-(5-метил-5-октил-2-оксотиофен-4-илокси)уксусной кислоты (73)

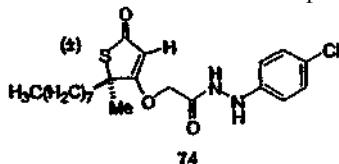


Из соединения 53 (100 мг, 0,33 ммоль) и уксусного гидразида (26,8 мг, 0,36 ммоль), следуя общей методике M, после фланш-хроматографии (смесь 2% AcOH/EtOAc) получали соединение 73 (70,4 мг, 60%).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 0,85 (т, J=7,2 Гц, 3H), 1,23 (м, 11H), 1,48-1,52 (м, 1H), 1,67 (с, 3H), 1,84-1,86 (м, 2H), 2,07 (с, 3H), 4,64 (с, 2H), 5,42 (с, 1H);

¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 14,1, 20,6, 22,6, 25,2, 26,0, 29,2, 29,3, 29,5, 31,8, 38,8, 59,8, 68,9, 102,9, 163,1, 168,1, 184,9, 194,2.

N'-⁽⁴-Хлорфенил)гидразид (±)-(5-метил-5-октил-2-оксотиофен-4-илокси)уксусной кислоты (74)



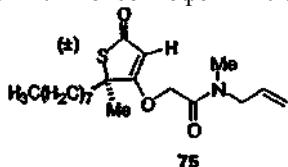
Из соединения 53 (100 мг, 0,33 ммоль) и гидрохлорида 4-хлорфенилгидразина (76,8 мг, 0,43 ммоль), следуя общей методике M, после фланш-хроматографии (смесь 50% EtOAc/гексан) получали соединение 74 (74 мг, 53%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=6 Гц, 3H), 1,24 (м, 11H), 1,46-1,54 (м, 1H), 1,71 (с, 3H), 1,82-1,90 (м, 2H), 4,57 (с, 2H), 5,39 (с, 1H), 6,75 (д, J=8,8 Гц, 2H), 7,18 (д, J=8,8 Гц, 2H), 7,38 (с, 1H), 8,09 (с, 1H);

¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 14,1, 22,6, 25,3, 26,1, 29,2, 29,3, 29,5, 31,8, 38,8, 59,7, 69,7, 103,2, 114,7, 126,4, 145,8, 129,2, 165,9, 184,3, 193,5;

ИК (NaCl) 2957, 1695, 1658, 1609 см⁻¹.

(±)-N-Аллил-N-метил-(5-метил-5-октил-2-оксотиофен-4-илокси)ацетамид (75)

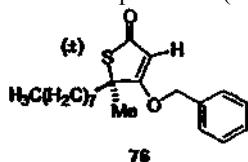


Из соединения 53 (83 мг, 0,28 ммоль) и N-метил-N-аллиламина (29 мкЛ, 0,30 ммоль), следуя общей методике M, после фланш-хроматографии (смесь 40% EtOAc/гексан) получали соединение 75 (51 мг, 52%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,83 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,22 (м, 11H), 1,43-1,47 (м, 1H), 1,67 (с, 3H), 1,82-1,86 (м, 2H), ротамер 1: 2,91 (с, 3H), ротамер 2: 2,95 (с, 3H), ротамер 1: 3,84 (д, J=4,8 Гц, 2H), ротамер 2: 3,98 (д, J=6 Гц, 2H), ротамер 1: 4,62 (с, 2H), ротамер 2: 4,65 (с, 2H), 5,12-5,28 (м, 2H), ротамер 1: 5,18 (с, 1H), ротамер 2: 5,25 (с, 1H), 5,65-5,81 (м, 1H);

¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 14,0, 22,5, 25,1, 26,2, 29,1, 29,3, 29,4, 31,7, 33,4 (ротамер 2: 33,9), 38,8, 50,2 (ротамер 2: 51,0), 59,7, 69,0 (ротамер 2: 69,3), 102,3, 117,4 (ротамер 2: 118,2), 131,6 (ротамер 2: 131,8), 164,5 (ротамер 2: 164,9), 185,5 (ротамер 2: 185,6), 193,4.

(±)-4-Бензилокси-3,5-диметил-5-октил-5Н-тиофен-2-он (76)



Из соединения 32 (50 мг, 0,21 ммоль) и бензилбромида (37 мл, 0,31 ммоль), следуя общей методике H, после фланш-хроматографии (смесь 15% EtOAc/гексан) получали соединение 76 (49 мг, 75%).

¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 0,86 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,24 (м, 11H), 1,41-1,48 (м, 1H), 1,66 (с, 3H), 1,79-1,86 (м, 2H), 4,98 (с, 2H), 5,39 (с, 1H), 7,31-7,42 (м, 5H);

¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 14,1, 22,6, 25,0, 26,4, 29,1, 29,3, 29,4, 31,8, 38,8, 59,7, 74,0, 102,2, 127,6, 128,8, 128,8, 134,3, 185,8, 194,1;

ИК (NaCl) 2928, 1681, 1610 см⁻¹.

Ссылки

- Strijtveen, B.; Kellogg, R.M. Tetrahedron, 1987, 43, 5039-5054.
- Sasaki, H.; Oishi, H.; Hayashi, T.; Matsuura, I.; Ando K.; Sawada, M. J. Antibiotics, 1982.
- Kunieda, T.; Nagamatsu, T.; Higuchi, T.; Hirobe, M. Tetrahedron Lett. 1988, 29, 2203-2206.

Биологические и биохимические методы

Очистка FAS от клеток карциномы человеческой молочной железы ZR-75-1.

Человеческую FAS очищали от культивированных клеток карциномы человеческой молочной железы ZR-75-1, полученных из Коллекции американских типовых культур. В методике, применяемой Linn et al., 1981 и Kuhajda et al., 1994, используется гиптонический лизис, последовательные осаждения полиэтиленгликолем (ПЭГ) и анионообменная хроматография. Клетки ZR-75-1 выращивали при 37°C в культуральной среде RPMI, содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки, пенициллин и стрептомицин, в атмосфере, содержащей 5% CO₂.

Десять колб Т150 со слитыми клетками лизировали с использованием 1,5 мл лизирующего буфера (20 мМ трис-HCl, pH 7,5, 1 мМ ЭДТК (EDTA), 0,1 мМ фенилметансульфонилфторида (PMSF), 0,1% Igepal Ca-630) и образованную смесь гомогенизировали на льду, применяя 20 усилий. Лизат центрифугировали в роторе JA-20 (Beckman) со скоростью 20000 об/мин в течение 30 мин при 4°C и супернатант контактировали с 42 мл лизирующего буфера. К супернатанту медленно добавляли раствор 50% ПЭГ (PEG) 8000 в лизирующем буфере до получения конечной концентрации 7,5%. После встряхивания в течение 60 мин при 4°C раствор центрифугировали в роторе JA-20 (Бекман) со скоростью 15000 об/мин в течение 30 мин при 4°C. Затем к супернатанту добавляли твердый ПЭГ 8000 до получения конечной концентрации 15%. После повторения встряхивания и центрифугирования, как указывалось выше, осадок после центрифугирования ресуспенсировали на протяжении ночи при 4°C в 10 мл буфера A (20 мМ K₂HPO₄, pH 7,4). После отфильтровывания 0,45 мкМ белковый раствор помещали на анионообменную колонку Mono Q 5/5 (Pharmacia). Колонку промывали в течение 15 мин буфером A со скоростью 1 мл/мин и связанное вещество элюировали с 60 мл линейным градиентом в течение 60 мин до получения 1 М KCl. FAS (MM (MW) ~270 kD) обычно вымывается при концентрации KCl 0,25 M в трех 0,5 мл фракциях, как было установлено с использованием 4-15% SDS-PAGE и красителя Кумасси G-250 (Bio Rad). Концентрация белка в FAS определялась с использованием реагента для анализа белка + реагент Кумасси (Pierce) в соответствии с инструкциями производителя и использованием в качестве стандарта BSA (альбумина бычьей сыворотки). В результате осуществления данной методики получали, по существу, чистые препараты FAS (>95%), как было установлено с помощью окрашенных красителем Кумасси гелей.

Измерение ферментативной активности FAS и определение IC₅₀ соединений.

Активность FAS измеряли путем непрерывного спектрофотометрического контроля, зависимого от малонил-КоА окисления NADPH в 96-луночных планшетах при OD₃₄₀ (Dils et al. и Arslanian et al., 1975). Каждая лунка содержала 2 мкг очищенной FAS, 100 мМ K₂HPO₄, pH 6,5, 1 мМ дитиотреита (Sigma) и 187,5 мкМ β-NADPH (Sigma). Приготавливали исходные растворы ингибиторов в ДМСО с концентрациями 2, 1 и 0,5 мг/мл, которые обеспечивали конечные концентрации 20, 10 и 5 мкг/мл, когда в лунку добавляли 1 мкл исходного раствора. В каждом эксперименте использовали церуленин (Sigma) в качестве положительного контроля, а также ДМСО контроль, ингибиторы и бланки (фермент FAS отсутствовал) (слепой опыт), причем все из них использовали в двух повторах.

Анализ осуществляли на масс-спектрометре и спектрофотометре фирмы Molecular Devices. Планшет, содержащий FAS, буфера, ингибиторы и контроли, помещали в спектрофотометр, нагретый до 37°C. С использованием протокола кинетики в лунки (в двух повторах) помещали бланки, содержащие 100 мкл 100 мМ K₂HPO₄, pH 6,5, и осуществляли считывание планшета при OD₃₄₀ в течение 5 мин с 10-секундными интервалами для измерения независимого от малонил-КоА окисления NADPH. Планшет удаляли из спектрофотометра и в каждую лунку, кроме бланков, добавляли малонил-КоА (конечная концентрация в лунке 67,4 мкМ) и алкинил-КоА (конечная концентрация в лунке 61,8 мкМ). Для измерения зависимого от малонил-КоА окисления NADPH планшет опять считывали, как указывалось выше, с использованием протокола кинетики. Разница между ΔOD₃₄₀ для зависимого от малонил-КоА и независимого от малонил-КоА окисления NADPH представляла собой специфическую активность FAS. Вследствие чистоты препарата FAS, независимое от малонил-КоА окисление NADPH являлось незначительным.

IC₅₀ соединений изобретения против FAS определялась построением графика зависимости ΔOD₃₄₀ от каждой тестируемой концентрации ингибитора, проведением линейной регрессии и вычислением линии наибольшего соответствия, значений r² и 95% доверительных интервалов. Концентрация соединения, дающая 50% ингибирование FAS, представляла собой IC₅₀. Строили графики зависимости ΔOD₃₄₀ от времени, используя компьютерное обеспечение SOFT макс. PRO (Molecular Devices), для каждой концентрации соединения. Компьютеризацию линейной регрессии, линии наибольшего соответствия, r² и 95% доверительных интервалов осуществляли с использованием версии 3.0 Prism (компьютерное обеспечение Graph Pad).

Анализ роста клеток с использованием кристаллического фиолетового.

Анализ с использованием кристаллического фиолетового определяет рост клеток, но не цитотоксичность. В данном анализе применялось окрашивание кристаллическим фиолетовым фиксированных в 96-луночных планшетах клеток с последующей солюбилизацией и измерением OD₃₄₀ на спектрофотометре. OD₃₄₀ соответствует росту клеток в единицу времени измерения. Клетки обрабатывали представляющими интерес соединениями или контрольным наполнителем и вычисляли IC₅₀ для каждого соединения.

Для измерения цитотоксичности отдельных соединений против клеток карциномы, 5×10⁴ клеток карциномы человеческой молочной железы MCF-7, полученных из Коллекции американских типовых культур, высевали в ячейки 24-ячеекных пластин в DMEM среду, содержащую 10% фетальную телячью сыворотку, пенициллин и стрептомицин. После инкубирования в течение ночи при 37°C в атмосфере, содержащей 5% CO₂, в ячейки (в трех повторах) объемом 1 мкл добавляли подлежащие тестированию соединения, растворенные в ДМСО, имеющие следующие концентрации: 50, 40, 30, 20 и 10 мкг/мл. В

случае необходимости тестировали дополнительные концентрации. В ячейки (в трех повторах) добавляли 1 мкл контрольного наполнителя ДМСО. В качестве положительных контролей использовали С75 с концентрациями 10 и 5 мкг/мл (в трех повторах).

Через 72 ч инкубирования клетки окрашивали 0,5 мл красителя кристаллического фиолетового (0,5% в 25% метаноле) в каждой ячейке. Через 10 мин ячейки промывали, сушили на воздухе и затем солюбилизировали с использованием 0,5 мл 10% додецилсульфата натрия при встряхивании в течение 2 ч. После переноса 100 мкл из каждой ячейки в 96-луночные планшеты осуществляли считывание планшета при OD₃₄₀ на масс-спектрометре и спектрофотометре фирмы Molecular Devices. Вычисляли средние значения OD₃₄₀ с использованием компьютерного обеспечения SOFT макс. Pro (Molecular Devices) и определяли значения IC₅₀ методом линейной регрессии с использованием компьютерной версии 3.02 Prism (компьютерное обеспечение Graph Pad, Сан-Диего).

Анализ цитотоксичности XTT.

Анализ цитотоксичности XTT является нерадиоактивной альтернативой анализу цитотоксичности с высвобождением [⁵¹Cr]. XTT является тетразолиевой солью, которая восстанавливается до формазанового красителя под воздействием только метаболически активных, жизнеспособных клеток. Восстановление XTT определяли спектрофотометрически в виде OD₄₉₀-OD₆₅₀.

Для измерения цитотоксичности отдельных соединений против клеток карциномы, 9×10³ клеток карциномы человеческой молочной железы MCF-7, полученных из Коллекции американский типовых культур, высевали в лунки 96-луночных планшетов в DMEM среду, содержащую 19% фетальную телячьи сыворотку, инсулин, пенициллин и стрептомицин. После инкубирования при 37°C в атмосфере, содержащей 5% CO₂, в лунки (в трех повторах) объемом 1 мкл добавляли подлежащие тестированию соединения, растворенные в ДМСО, имеющие следующие концентрации: 80, 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25 и 0,625 мкг/мл. В случае необходимости тестировали дополнительные концентрации. В лунки (в трех повторах) добавляли 1 мкл ДМСО, который представлял собой контрольный наполнитель. В качестве положительных контролей использовали С75 с концентрациями 40, 20, 10, 15, 12,5, 10 и 5 мкг/мл в трех повторах. Через 72 ч инкубирования клетки инкубировали в течение 4 ч с XTT реагентом в соответствии с инструкциями производителя (комплект II (XTT) для пролиферации клеток, Roche). Планшеты считывали при OD₄₉₀ и OD₆₅₀ на масс-спектрометре и спектрофотометре фирмы Molecular Devices. Три лунки, содержащие XTT реагент без клеток, служили в качестве планшетного бланка. Данные представляли в виде OD₄₉₀-OD₆₅₀. Средние значения и стандартную ошибку среднего вычисляли с использованием компьютерного обеспечения SOFT макс. Pro (Molecular Devices).

IC₅₀ соединений определялась как концентрация лекарственного средства, приводящая к уменьшению OD₄₉₀ - OD₆₅₀ на 50% по сравнению с контролями. OD₄₉₀-OD₆₅₀ вычисляли с использованием компьютерного обеспечения SOFT макс. Pro (Molecular Devices) для каждой концентрации соединения. IC₅₀ рассчитывали линейной регрессией, построением графика зависимости активности FAS, выраженной в виде процента относительно значения для контроля, от концентрации лекарственного средства. Линейную регрессию, линию наибольшего соответствия, значения r² и 95% доверительные интервалы определяли с использованием версии 3.0 Prism (компьютерное обеспечение Graph Pad).

Измерение включения [¹⁴C] ацетата в общие липиды и определение IC₅₀ соединений.

В данном анализе определялось включение [¹⁴C] ацетата в общие липиды, которое является мерой активности пути синтеза жирных кислот *in vitro*. Он использовался для измерения ингибирования синтеза жирных кислот *in vitro*.

Культивированные, как указывалось выше, клетки карциномы человеческой молочной железы MCF-7 высевали в ячейки 24-ячеекных пластин при концентрации 5×10⁴ клеток в ячейке. После инкубирования в течение ночи подлежащие тестированию соединения, солюбилизированные в ДМСО, добавляли в ячейки при концентрациях 5, 10 и 20 мкг/мл, причем в трех повторах, при этом в случае необходимости тестировали более низкие концентрации. В лунки (в трех повторах) добавляли ДМСО, который представлял собой контрольный наполнитель. В качестве положительных контролей использовали С75 с концентрациями 5 и 10 мкг/мл в трех повторах. Через 4 ч инкубирования в каждую ячейку добавляли 0,25 мкКи [¹⁴C] ацетата (объем 10 мкл).

Через 2 ч дополнительного инкубирования из ячеек удаляли отсасыванием среду и в каждую ячейку добавляли 800 мкл смеси хлороформ:метанол (2:1) и 700 мкл 4 mM MgCl₂. Содержимое каждой ячейки переносили в пробирки Эппendorфа объемом 1,5 мл и на полной скорости врашали в течение 2 мин в высокоскоростной микрокентрифуге Эппendorфа 5415D. После удаления водного (верхнего) слоя в каждую пробирку дополнительно добавляли 700 мкл смеси хлороформ:метанол (2:1) и 500 мкл 4 mM MgCl₂ и затем центрифугировали, как указывалось выше, в течение 1 мин. Водный слой удаляли пипеткой Пастера и отбрасывали. В каждую пробирку дополнительно добавляли 400 мкл смеси хлороформ:метанол (2:1) и 200 мкл 4 mM MgCl₂, затем центрифугировали и отбрасывали водный слой. Нижнюю (органическую) фазу переносили в сцинтилляционную пробирку и сушили при 40°C под N₂ газом. После сушки добавляли 3 мл сцинтиллятора (APB № NBC 5104) и осуществляли количественное определение ¹⁴C в пробирках. С использованием сцинтилляционного счетчика Бекмана рассчитывали средние значения

срт для трех повторов.

IC_{50} соединений определялась как концентрация лекарственного средства, приводящая к 50% уменьшению включения [^{14}C] ацетата в липиды по сравнению с контролями. Она определялась построением графика зависимости среднего значения срт от каждой тестируемой концентрации ингибитора, осуществлением линейной регрессии и вычислением линии наибольшего соответствия, значений r^2 и 95% доверительных интервалов. Средние значения срт вычисляли с помощью сцинтилляционного счетчика Бекмана (модель LS 6500) для каждой концентрации соединения. Компьютеризацию линейной регрессии, линии наибольшего соответствия, r^2 и 95% доверительных интервалов осуществляли с использованием версии 3.0 Prism (компьютерное обеспечение Graph Pad).

Анализ карнитинпальмитоилтрансферазы-1 (CPT-1).

CPT-1 катализирует АТФ-зависимый перенос длинноцепочечных жирных кислот из ацил-КоА в ацилкарнитин, который ингибируется малонил-КоА. Поскольку для активности CPT-1 требуется митохондриальная мембрана, ферментативная активность измерялась в способных к пропусканию клетках или митохондриях. В данном анализе способные к пропусканию клетки использовались для измерения переноса [метил- ^{14}C] L-карнитина в органически растворимое производное ацилкарнитина.

Клетки MCF-7 высевали на 24-ячеичные пластины в DMEM среду с 10% фетальной сывороткой при концентрации 10^6 клеток, взятые в трех повторах: для контролей, лекарственных средств и малонил-КоА. За 2 ч до завершения анализа добавляли лекарственные средства при указанных концентрациях, полученных из исходных растворов в ДМСО с концентрацией 10 мг/мл, контрольный наполнитель, состоящий из ДМСО и не содержащий лекарственного средства. Поскольку малонил-КоА не может поступать в интактные клетки, его добавляли к клеткам только в используемом для анализа буфере, которые не были предварительно инкубированы с лекарственными средствами. После инкубирования в течение ночи при 37°C среду удаляли и заменяли 700 мкл используемого в анализе буфера, состоящего из 50 мМ имидазола, 70 мМ KCl, 80 мМ сахарозы, 1 мМ EGTA, 2 мМ MgCl₂, 1 мМ DTT, 1 мМ KCN, 1 мМ АТФ, 0,1% бычьего сывороточного альбумина, не содержащего жирных кислот, 70 мкМ пальмитоил-КоА, 0,25 мКи [метил- ^{14}C] L-карнитина, 40 мкг дигитонина с лекарственным средством, контрольного наполнителя ДМСО или 20 мкМ малонил-КоА. Концентрации лекарственных средств и ДМСО в используемом для анализа буфере являются такими же, как те, которые использовались при 2-часовом предварительном инкубировании. После инкубирования в течение 6 мин при 37°C реакцию прекращали добавлением 500 мкл охлажденной льдом 4 М перхлорной кислоты. Затем клетки собирали и центрифугировали при 13000×g в течение 5 мин. Осадок после центрифугирования опять промывали 500 мкл охлажденной льдом перхлорной кислоты и центрифугировали. Образованный осадок ресуспенсировали в 800 мкл dH₂O и экстрагировали 150 мкл бутанола. Бутанольную fazу, представляющую собой производное ацилкарнитина, определяли количественно с помощью жидкостной сцинтилляции.

Проверка новых ингибиторов FAS на их способность к снижению веса.

Для проверки новых ингибиторов на их способность к снижению исходного веса использовали мышей Balb/C (Jackson Labs). Животных поселяли в отапливаемые помещения с 12-часовым циклом чередования дня и ночи и мышам давали корм и воду без ограничения. Для каждого тестируемого соединения с контрольным наполнителем в трех повторах в эксперименте использовали трех мышей. При проведении экспериментов трех мышей для каждого тестируемого соединения помещали отдельно в клетку. Соединения разбавляли в ДМСО до концентрации 10 мг/мл и вводили внутрибрюшинно дозу 60 мг/кг примерно в 100 мкл ДМСО или только наполнитель. Мышей наблюдали и ежедневно взвешивали; вычисляли средние массы и стандартные ошибки с использованием программного обеспечения Excel (Microsoft). Эксперимент продолжали до тех пор, пока обработанные животные достигали своего веса до обработки.

Выбранные соединения тестировали на животных, помещенных в метаболические клетки. Дозирование животным было идентично дозированию животным в экспериментах по проверке ингибиторов, в которых трех животных помещали в одну метаболическую клетку. Ежедневно измеряли вес животных, потребление ими пищи и воды и продуцирование мочи и фекалий. Результаты тестирования соединений 21 и 44 показаны на фиг. 11.

Антимикробные свойства.

Для оценки антимикробной активности соединений использовали анализ микроразбавления бульона. Соединения тестировали при двукратных последовательных разбавлениях и концентрации, ингибирующие видимый рост (OD₆₀₀ при 10% контроля), определяли как МС. Тестируемые микроорганизмы включали *Staphylococcus aureus* (ATCC № 29213), *Enterococcus faecalis* (ATCC № 29212), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC № 27853) и *Escherichia coli* (ATCC № 25922). Анализ осуществляли в двух питательных средах: бульон Мюллера-Хинтона и триптиказо-соевый бульон.

Чашку или пластину с кровяным агаром (Т-соја (Tsoy)/5% крови овцы) засевали замороженной биомассой, сохраняемой в Т-соевом бульоне, содержащем 10% глицерина, и инкубировали всю ночь при 37°C. Колонии сусpendingировали в стерильном бульоне с тем, чтобы помутнение соответствовало помутнению 0,5 стандарта Mc Farland. Инокулят разбавляли стерильным бульоном (Мюллер-Хинтон или

триптиказо-соевый) при соотношении 1:10 и 195 мкл распределяли по лункам 96-луночных планшетов. Подлежащие тестированию соединения, растворенные в ДМСО, добавляли в лунки (в двух повторах) в объеме 5 мкл при следующих концентрациях: 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,56 и 0,78 мкл/мл. В случае необходимости тестировали дополнительные концентрации. В лунки (в двух повторах) добавляли 5 мкл ДМСО, который представлял собой контрольный наполнитель. В каждый опыт включали последовательные разбавления положительных контрольных соединений: ванкомицина (*E. faecalis* и *S. aureus*) и тобрамицина (*E. coli* и *P. aeruginosa*).

Через 24 ч инкубирования при 37°C осуществляли считывание пластиин при OD₆₀₀ на массспектрометре и спектрофотометре фирмы Molecular Devices. Вычисляли средние значения OD₆₀₀ с использованием компьютерного обеспечения SOFT макс. Pro (Molecular Devices) и определяли значения MIC методом линейной регрессии с использованием компьютерной версии 3.02 Prism (компьютерное обеспечение Graph Pad, Сан-Диего). MIC определялась как концентрация соединения, необходимая для получения показания OD₆₀₀, эквивалентного показанию для 10% контрольного наполнителя.

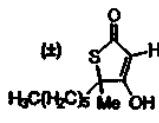
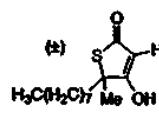
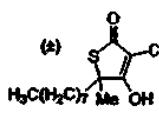
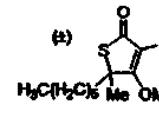
Тестирование противоопухолевой активности *in vivo*.

Результаты данного эксперимента показаны на фиг. 12. Для исследования противоопухолевых действий соединения 36 *in vivo* использовали расположенные сбоку у мышей-самок (Harlan) подкожные ксенотранспланты линии человеческих клеток рака ободочной кишки НСТ-116. Все эксперименты, проводимые на животных, выполнялись в соответствии с руководством по уходу за животными, помещенными в ветеринарную лечебницу. 10⁷ Клеток НСТ-116 (~0,1 мл клеточной массы) ксенотрансплантировали из культуры в DMEM, дополненной 10% FBS, 10 бестимусным мышам (не имеющим вилочковой железы). Обработка начиналась в то время, когда через 4 дня после инокуляции развивались поддающиеся измерению опухоли. Соединение 36 (10 мг/кг) разбавляли в 20 мкл ДМСО и вводили внутрибрюшинно (i.p.). Пять животных получали JMM-II-265 внутрибрюшинно в дни, указанные стрелками на фиг. 11, и пять получали контрольный ДМСО. Опухоли измеряли в указанные дни. Отклонения в результатах представляли собой стандартную ошибку среднего.

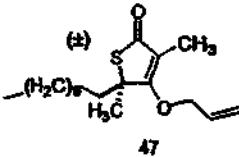
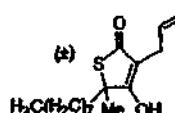
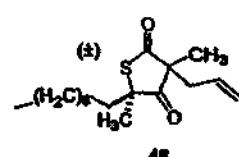
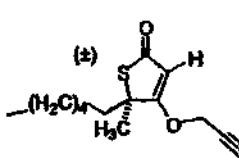
Результаты биологического тестирования (табл. 3).

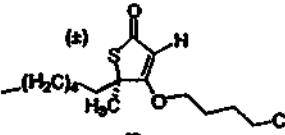
Таблица 3

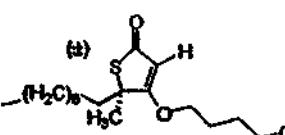
	FAS (IC ₅₀) 71.2 мкг/мл	¹⁴ C (IC ₅₀) 17.3 мкг/мл	XTT (IC ₅₀) >80 мкг/мл	Кр. фиол. (IC ₅₀) >50 мкг/мл
17				
CPT I Стимул.		Снижение веса		
Не тестировался		60 мг/кг 4.1% (день 1)		
SA/MH (MIC) 52 мкг/мл	SA/Tsoy (MIC) 87 мкг/мл	PSAE/MH (MIC) незначительный	PSAE/T soy (MIC) незначительный	
EF/MH (MIC) незначительный	EF/Tsoy (MIC) незначительный	EcoI/MH (MIC) незначительный	EcoI/Tsoy (MIC) незначительный	
	FAS (IC ₅₀) 50.0 мкг/мл	¹⁴ C (IC ₅₀) 16.9 мкг/мл	XTT (IC ₅₀) >80 мкг/мл	Кр. фиол. (IC ₅₀) >50 мкг/мл
19				
CPT I Стимул.		Снижение веса		
Не тестировался		60 мг/кг 3.2% (день 5)		
SA/MH (MIC) 202 мкг/мл	SA/Tsoy (MIC) 85 мкг/мл	PSAE/MH (MIC) незначительный	PSAE/T soy (MIC) незначительный	
EF/MH (MIC) 186 мкг/мл	EF/Tsoy (MIC) незначительный	EcoI/MH (MIC) 225 мкг/мл	EcoI/Tsoy (MIC) незначительный	
	FAS (IC ₅₀) 5.8 + 0.07 мкг/мл	¹⁴ C (IC ₅₀) 40.3 + 11.5 мкг/мл	XTT (IC ₅₀) >80 мкг/мл	Кр. фиол. (IC ₅₀) >50 мкг/мл
21				
CPT I Стимул. 95% контроль ат 20 мкг/мл (MCF7)		Снижение веса 60 мг/кг 7.8% (день 3)		
SA/MH (MIC) 235 мкг/мл		SA/Tsoy (MIC) 102 мкг/мл		
PSAE/MH (MIC) незначительный		PSAE/T soy (MIC) незначительный		
EF/MH (MIC) 220 мкг/мл		EF/Tsoy (MIC) незначительный		
EcoI/MH (MIC) 290 мкг/мл		EcoI/Tsoy (MIC) незначительный		
	FAS (IC ₅₀) 8.6 + 1.7 мкг/мл	¹⁴ C (IC ₅₀) 25.7 мкг/мл	XTT (IC ₅₀) 59.4 + 6.4 мкг/мл	Кр. фиол. (IC ₅₀) 43.9 + 4.8 мкг/мл
18				
CPT I Стимул. 115% контроль ат 20 мкг/мл (MCF7)		Снижение веса 60 мг/кг 11% (день 6)		
SA/MH (MIC) незначительный		SA/Tsoy (MIC) 55 мкг/мл		
PSAE/MH (MIC) незначительный		PSAE/T soy (MIC) незначительный		
EF/MH (MIC) 78 мкг/мл		EF/Tsoy (MIC) 42 мкг/мл		
EcoI/MH (MIC) незначительный		EcoI/Tsoy (MIC) 263 мкг/мл		

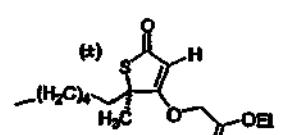
 33	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	16.5 ± 3.8 мкг/мл	>80 мкг/мл	>50 мкг/мл
	СРТ/Стимул.	Снижение веса		
	Не тестировался	60 мг/кг: 3 из 3 умерло (день 4)		
	SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAЕ/MH (MIC)	PSAЕ/Tsoy(MIC)
	48 мкг/мл	31 мкг/мл	незначительный	незначительный
	EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/T soy(MIC)
	98 мкг/мл	43 мкг/мл	незначительный	незначительный
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	4.5 мкг/мл	12.6 ± 4.4 мкг/мл	17.6 ± 0.1 мкг/мл	28.7 мкг/мл
 32	СРТ/Стимул.	Снижение веса		
	Не тестировался	60 мг/кг: 2% и 0.3% (день 1), 30 мг/кг: 4.8% (день 3)		
	SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAЕ/MH (MIC)	PSAЕ/Tsoy(MIC)
	незначительный	47 мкг/мл	незначительный	незначительный
	EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/T soy(MIC)
	16.9 мкг/мл	3.3 мкг/мл	незначительный	278 мкг/мл
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	49.2 ± 1.9 мкг/мл	16.5 ± 5.7 мкг/мл	43.0 ± 1.4 мкг/мл	29.4 ± 4.3 мкг/мл
	СРТ/Стимул.	Снижение веса		
	Не тестировался	60 мг/кг: 0% (день 1), 30 мг/кг: +1% (день 1)		
 34	SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAЕ/MH (MIC)	PSAЕ/Tsoy(MIC)
	45 ± 2 мкг/мл	23.5 ± 0.4 мкг/мл	незначительный	незначительный
	EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/T soy(MIC)
	44 мкг/мл	105 мкг/мл	незначительный	290 мкг/мл
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	14.0 ± 2.8 мкг/мл	9.4 ± 1.5 мкг/мл	26.3 мкг/мл
	СРТ/Стимул.	Снижение веса		
	Не тестировался	60 мг/кг: 3 из 3 умерло (день 1), 30 мг/кг: 8.7% (день 1)		
		10 мг/кг (многократ. дозы): 1% (день 3)		
	SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAЕ/MH (MIC)	PSAЕ/Tsoy(MIC)
 36	45 мкг/мл	48 мкг/мл	незначительный	незначительный
	EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/T soy(MIC)
	43 мкг/мл	126 мкг/мл	незначительный	264 мкг/мл
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)

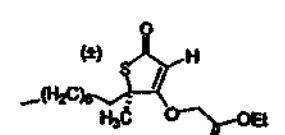
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиолет. (IC ₅₀)
(+) H ₂ C(H ₂ C) ₇ Me OMe 35	незначительный	11.0 мкг/мл	16.4 + 2.3 мкг/мл	21.4 мкг/мл
CPT I Стимул.	Снижение веса			
Не тестировался	60 мг/кг; 6.1% (день), не получали ; 30 мг/кг; 0 и 5.7% (день4)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
252 мкг/мл	67 мкг/мл	незначительный	незначительный	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
72 мкг/мл	незначительный	незначительный	незначительный	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиолет. (IC ₅₀)
(+) H ₂ C(H ₂ C) ₇ Me OMe 37	незначительный	63.8 мкг/мл	173 + 5.9 мкг/мл	15.9 + 1.9 мкг/мл
CPT I Стимул.	Снижение веса			
Не тестировался	Не тестировался			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
132 мкг/мл	106 мкг/мл	незначительный	незначительный	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
208 мкг/мл	94 мкг/мл	незначительный	незначительный	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиолет. (IC ₅₀)
(+) -(H ₂ C) ₄ -CH ₂ -S-C(=O)-CH ₂ -O-CH=CH ₂ 45	незначительный	незначительный	9.0 + 1.1 мкг/мл	8.1 мкг/мл
CPT I Стимул.	Снижение веса			
Не тестировался	60 мг/кг; 2 of 3 умерло (день2); 30 мг/кг; 8.8% (день2)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
73 мкг/мл	54 мкг/мл	незначительный	незначительный	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
незначительный	158 мкг/мл	незначительный	незначительный	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиолет. (IC ₅₀)
(+) -(H ₂ C) ₄ -CH ₂ -S-C(=O)-CH ₂ -O-CH=CH ₂ 43	незначительный	незначительный	14.5 + 1.5 мкг/мл	11.0 мкг/мл
CPT I Стимул.	Снижение веса			
Не тестировался	60 мг/кг; 3 of 3 умерло (день2); 30 мг/кг; 4.7% и 3% (день1); 15 мг/кг; 2.5% (день1)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
127 мкг/мл	85 мкг/мл	незначительный	незначительный	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
238 мкг/мл	108 мкг/мл	незначительный	незначительный	

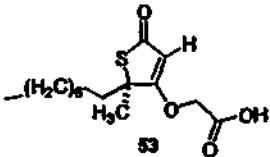
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиолет. (IC ₅₀)
	Не тестировался	незначительный	Не тестировался	15.1 мкг/мл
CPT I Стимул.		Снижение веса		
Не тестировался		Не тестировался		
	SA/MH (MIC)	SA/Tzoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tzoy (MIC)
	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался
	EF/MH (MIC)	EF/Tzoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tzoy (MIC)
	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиолет. (IC ₅₀)
	незначительный	23.1 ± 17.4 мкг/мл	55.0 ± 2.0 мкг/мл	22.3 мкг/мл
CPT I Стимул.		Снижение веса		
125% контроль		60 мг/кг; 7.9% и 8.0% (день 1)		
при 20 мкг/мл (MCF7)				
	SA/MH (MIC)	SA/Tzoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tzoy (MIC)
	незначительный	98 мкг/мл	незначительный	незначительный
	EF/MH (MIC)	EF/Tzoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tzoy (MIC)
	незначительный	169 мкг/мл	незначительный	незначительный
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиолет. (IC ₅₀)
	незначительный	14.9 мкг/мл	50.4 ± 4.7 мкг/мл	>50 мкг/мл
CPT I Стимул.		Снижение веса		
Не тестировался		Не тестировался		
	SA/MH (MIC)	SA/Tzoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tzoy (MIC)
	незначительный	97 мкг/мл	незначительный	незначительный
	EF/MH (MIC)	EF/Tzoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tzoy (MIC)
	133 мкг/мл	91 мкг/мл	незначительный	незначительный
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиолет. (IC ₅₀)
	незначительный	21.9 ± 14.4 мкг/мл	8.9 ± 2.3 мкг/мл	12.1 ± 1.5 мкг/мл
CPT I Стимул.		Снижение веса		
Не тестировался		60 мг/кг; 3 of 3 умерло (день 2); 30 мг/кг; 5.9% (день 3)		
	SA/MH (MIC)	SA/Tzoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tzoy (MIC)
	53 мкг/мл	80 мкг/мл	незначительный	незначительный
	EF/MH (MIC)	EF/Tzoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tzoy (MIC)
	незначительный	83 мкг/мл	203 мкг/мл	незначительный

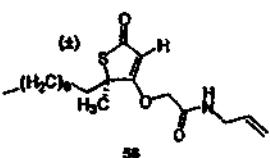
	FAS (IC ₅₀) незначительный	¹⁴ C (IC ₅₀) 8.6 мкг/мл	XTT (IC ₅₀) 20.8 + 0.9 мкг/мл	Кр. фиол. (IC ₅₀) 16.3 мкг/мл
(+)- 	CPT I стимул. не тестировался	Снижение веса не тестировался		
	SA/MH (MIC) 164 мкг/мл	SA/Tzoy (MIC) 50 мкг/мл	PSAE/MH (MIC) незначительный	PSAE/Tzoy (MIC) незначительный
	EF/MH (MIC) 117 мкг/мл	EF/Tzoy (MIC) 165 мкг/мл	Ecoi/MH (MIC) незначительный	Ecoi/Tzoy (MIC) незначительный

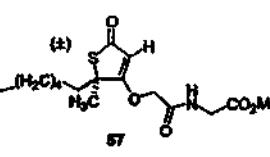
	FAS (IC ₅₀) незначительный	¹⁴ C (IC ₅₀) 6.8 мкг/мл	XTT (IC ₅₀) 35.3 + 2.2 мкг/мл	Кр. фиол. (IC ₅₀) 10.3 + 0.3 мкг/мл
(+)- 	CPT I стимул. не тестировался	Снижение веса не тестировался		
	SA/MH (MIC) 115 мкг/мл	SA/Tzoy (MIC) 134 мкг/мл	PSAE/MH (MIC) незначительный	PSAE/Tzoy (MIC) незначительный
	EF/MH (MIC) 64 мкг/мл	EF/Tzoy (MIC) незначительный	Ecoi/MH (MIC) незначительный	Ecoi/Tzoy (MIC) незначительный

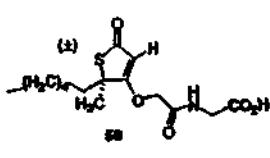
	FAS (IC ₅₀) незначительный	¹⁴ C (IC ₅₀) 14.2 + 0.2 мкг/мл	XTT (IC ₅₀) 39.6 + 2.2 мкг/мл	Кр. фиол. (IC ₅₀) 17.0 мкг/мл
(+)- 	CPT I не тестировался	Снижение веса не тестировался		
	SA/MH (MIC) незначительный	SA/Tzoy (MIC) 129 мкг/мл	PSAE/MH (MIC) незначительный	PSAE/Tzoy (MIC) незначительный
	EF/MH (MIC) 21.3 мкг/мл	EF/Tzoy (MIC) незначительный	Ecoi/MH (MIC) незначительный	Ecoi/Tzoy (MIC) 281 мкг/мл

	FAS (IC ₅₀) незначительный	¹⁴ C (IC ₅₀) 10.8 + 5.8 мкг/мл	XTT (IC ₅₀) 35.3 + 10.4 мкг/мл	Кр. фиол. (IC ₅₀) 17.9 + 5.1 мкг/мл
(+)- 	CPT I стимул. не тестировался	Снижение веса 60 мг/кг: 1.8% и 3.6% (день 1); 30 мг/кг: 4.5% (день 1)		
	SA/MH (MIC) незначительный	SA/Tzoy (MIC) 83 мкг/мл	PSAE/MH (MIC) незначительный	PSAE/Tzoy (MIC) незначительный
	EF/MH (MIC) 86 мкг/мл	EF/Tzoy (MIC) незначительный	Ecoi/MH (MIC) незначительный	Ecoi/Tzoy (MIC) незначительный

	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	13.8 ± 1.1 мкг/мл	50.3 ± 2.8 мкг/мл	33.7 мкг/мл
CPT I стимул. не тестировался			Снижение веса не тестировался	
SA/MH (MIC) 98 мкг/мл	SA/Tsoy(MIC) 60 мкг/мл	PSAЕ/MH (MIC) незначительный	PSAЕ/Tsoy (MIC) незначительный	
EF/MH (MIC) 77 мкг/мл	EF/Tsoy(MIC) 164 мкг/мл	Ecoli/MH (MIC) незначительный	Ecoli/Tsoy (MIC) незначительный	

	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	незначительный	12.1 ± 0.6 мкг/мл	10.4 мкг/мл
CPT I стимул. не тестировался			Снижение веса 30 кг/кг: 1.8% (день-2); 15 кг/кг: 0% (день-1)	
SA/MH (MIC) 28 мкг/мл	SA/Tsoy(MIC) 31 мкг/мл	PSAЕ/MH (MIC) незначительный	PSAЕ/Tsoy (MIC) незначительный	
EF/MH (MIC) не тестировался	EF/Tsoy(MIC) не тестировался	Ecoli/MH (MIC) не тестировался	Ecoli/Tsoy (MIC) не тестировался	

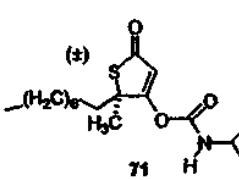
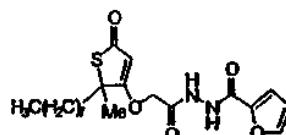
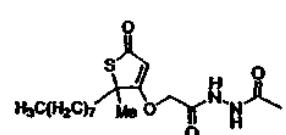
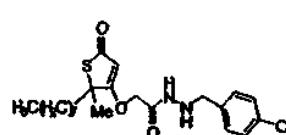
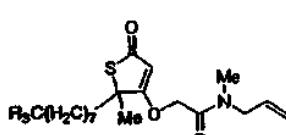
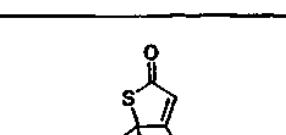
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	9.8 мкг/мл	40.5 ± 5.1 мкг/мл	32.5 ± 11.7 мкг/мл
CPT I стимул. не тестировался			Снижение веса не тестировался	
SA/MH (MIC) 69 мкг/мл	SA/Tsoy(MIC) 111 мкг/мл	PSAЕ/MH (MIC) незначительный	PSAЕ/Tsoy (MIC) незначительный	
EF/MH (MIC) незначительный	EF/Tsoy(MIC) незначительный	Ecoli/MH (MIC) 156 мкг/мл	Ecoli/Tsoy (MIC) незначительный	

	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	6.6 мкг/мл	>80 мкг/мл	>50 мкг/мл
CPT I стимул. не тестировался			Снижение веса 60 кг/кг: 3.5% (день-2)	
SA/MH (MIC) 78 мкг/мл	SA/Tsoy(MIC) 225 мкг/мл	PSAЕ/MH (MIC) незначительный	PSAЕ/Tsoy (MIC) незначительный	
EF/MH (MIC) 121 мкг/мл	EF/Tsoy(MIC) 173 мкг/мл	Ecoli/MH (MIC) незначительный	Ecoli/Tsoy (MIC) 235 мкг/мл	

FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
незначительный	6.7 мкг/мл	21.2 ± 1.1 мкг/мл	12.6 ± 3.7 мкг/мл
CPT I Симул.			Снижение веса
Не тестировался			Не тестировалось
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)
147 мкг/мл	237 мкг/мл	незначительный	незначительный
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)
99 мкг/мл	121 мкг/мл	незначительный	293 мкг/мл
(±) 58			
FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
3.0 ± 0.8	14.5 ± 6.9 мкг/мл	15.1 ± 2.6 мкг/мл	31.4 ± 5.7 мкг/мл
CPT I Симул.			Снижение веса
150% контроль	60 мкг/мл: 6.9% и 5.7% (день2); 30 мкг/мл: 1.3% (день4)		
ат 20 мкг/мл (MCPT)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)
45 мкг/мл	69 мкг/мл	незначительный	незначительный
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)
97 мкг/мл	62 мкг/мл	незначительный	незначительный
(±) 61			
FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
1.8 мкг/мл	10.7 мкг/мл	21.6 ± 0.2 мкг/мл	41.1 ± 14.1 мкг/мл
CPT I Симул.			Снижение веса
Не тестировался		60 мкг/мл: 7.65% (день1)	
(±) 62			
FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
5.5 мкг/мл	14.2 мкг/мл	34.9 ± 10.0 мкг/мл	35.8 мкг/мл
CPT I Симул.			Снижение веса
Не тестировался		60 мкг/мл: 6.2% (день2); 30 мкг/мл: 1% (день2)	
(±) 63			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)
57 мкг/мл	28 мкг/мл	незначительный	незначительный
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)
79 мкг/мл	75 мкг/мл	82 мкг/мл	87 мкг/мл

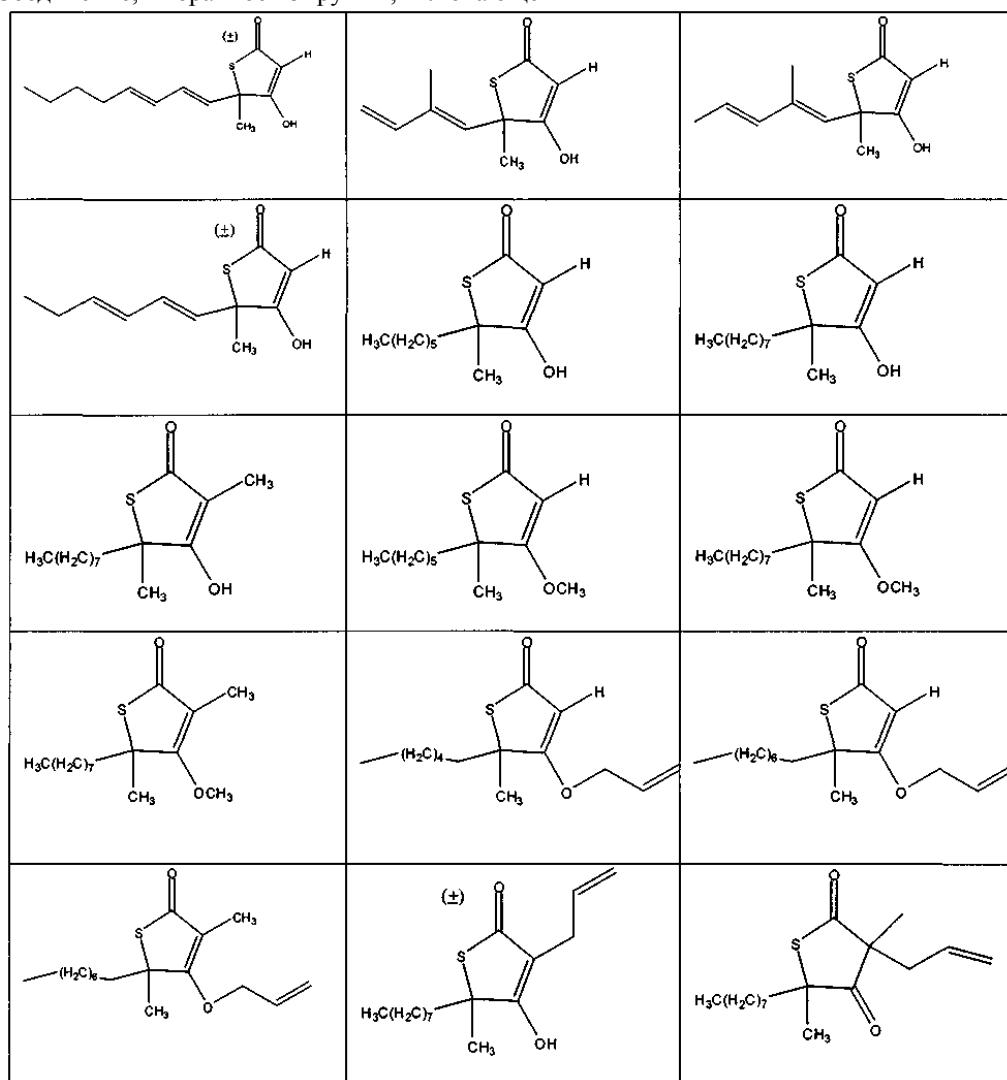
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
незначительный	22.6 мкг/мл	26.8 ± 0.6 мкг/мл	38.6 мкг/мл	
(±)	CPT I Стимул.			
Не тестировался	Снижение веса			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
58 мкг/мл	62 мкг/мл	незначительный	незначительный	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
102 мкг/мл	147 мкг/мл	незначительный	незначительный	
64				
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
незначительный	незначительный	>80 мкг/мл	>50 мкг/мл	
(±)	CPT I Стимул.			
Не тестировался	Снижение веса			
	60 мкг/мл: 1.6% (день2)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
57 мкг/мл	67 мкг/мл	незначительный	незначительный	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
128 мкг/мл	незначительный	незначительный	299 мкг/мл	
22				
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
незначительный	не тестировался	61.3 ± 3.9 мкг/мл	20.9 мкг/мл	
(±)	CPT I Стимул.			
Не тестировался	Снижение веса			
	Не тестировался			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
83 мкг/мл	129 мкг/мл	незначительный	незначительный	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
170 мкг/мл	189 мкг/мл	незначительный	незначительный	
38				
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
2.8 мкг/мл	21.7 мкг/мл	21.0 ± 2.9 мкг/мл	23.2 мкг/мл	
(±)	CPT I Стимул.			
Не тестировался	Снижение веса			
	30 мкг/мл: 0.2% (день2)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
53.0 ± 2.1 мкг/мл	16.2 ± 3.8 мкг/мл	незначительный	незначительный	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy (MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
77 мкг/мл	25 мкг/мл	незначительный	249 мкг/мл	
66				

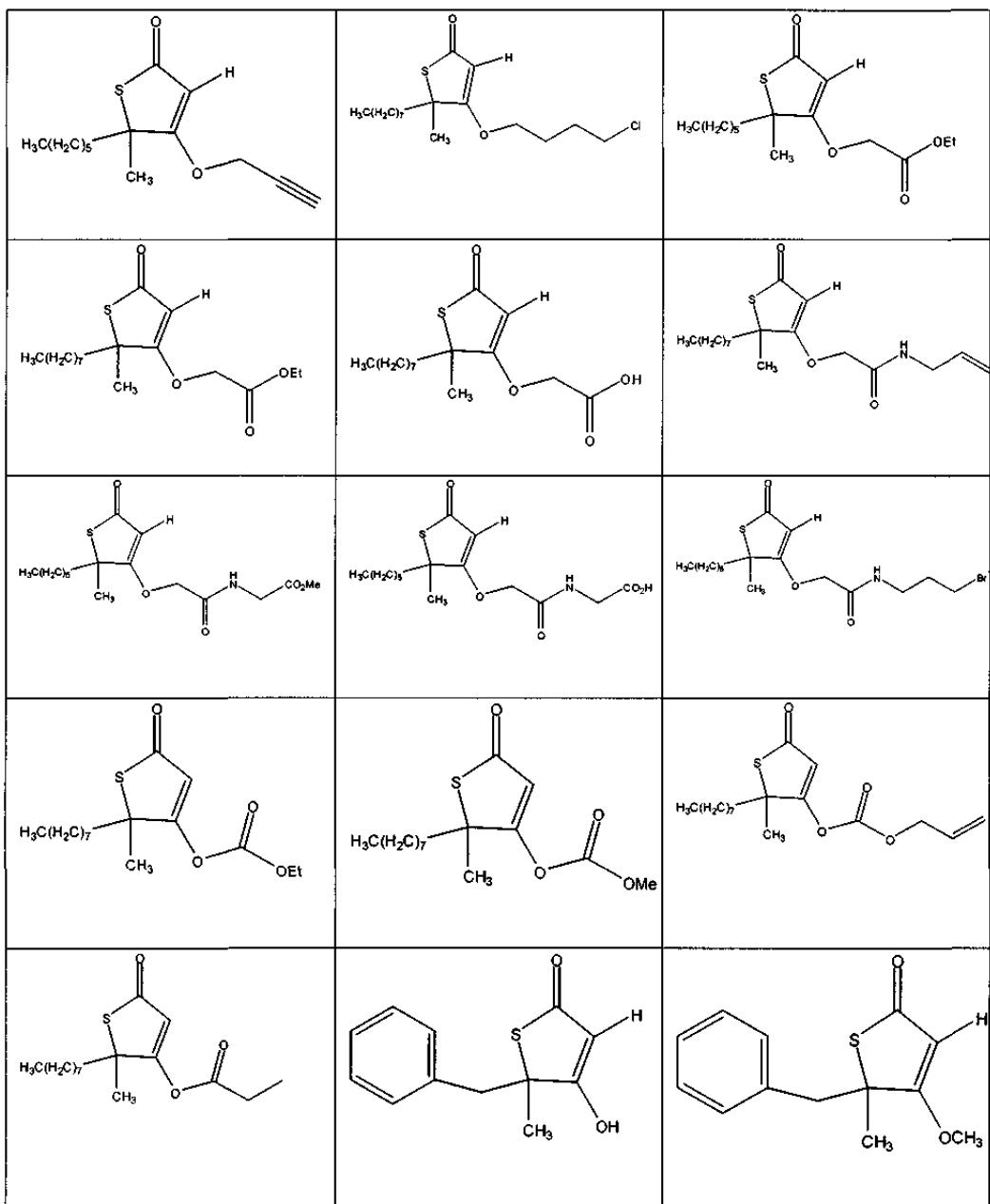
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	3.3 мкг/мл	17.6 мкг/мл	23.9 ± 2.9 мкг/мл	19.5 мкг/мл
67	CPT I Синтук.			Снижение веса
Не тестировался	Не тестировался			
SA/MH (MIC)	SA/Tzou (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tzou (MIC)	
53.1 ± 0.5 мкг/мл	12.0 ± 0.5 мкг/мл	незначительный	незначительный	
E. coli/MH (MIC)	E. coli/Tzou (MIC)	E. coli/MH (MIC)	E. coli/Tzou (MIC)	
66 мкг/мл	21 мкг/мл	незначительный	незначительный	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	12.1 ± 0.1 мкг/мл	12.5 ± 0.7 мкг/мл	8.4 мкг/мл
68	CPT I Синтук.			Снижение веса
Не тестировался	60 мкг/мл: 8.2% (день 2)			
SA/MH (MIC)	SA/Tzou (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tzou (MIC)	
3.4 мкг/мл	1.4 мкг/мл	незначительный	незначительный	
E. coli/MH (MIC)	E. coli/Tzou (MIC)	E. coli/MH (MIC)	E. coli/Tzou (MIC)	
2.5 мкг/мл	2.0 мкг/мл	незначительный	177 мкг/мл	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	41.0	14.7 мкг/мл	18.4 ± 2.7 мкг/мл	45.3 мкг/мл
69	CPT I Синтук.			Снижение веса
Не тестировался	Не тестировался			
SA/MH (MIC)	SA/Tzou (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tzou (MIC)	
54 мкг/мл	65 мкг/мл	незначительный	незначительный	
E. coli/MH (MIC)	E. coli/Tzou (MIC)	E. coli/MH (MIC)	E. coli/Tzou (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XTT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался
70	CPT I Синтук.			Снижение веса
Не тестировался	Не тестировался			
SA/MH (MIC)	SA/Tzou (MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tzou (MIC)	
Не тестировался	23 мкг/мл	незначительный	незначительный	
E. coli/MH (MIC)	E. coli/Tzou (MIC)	E. coli/MH (MIC)	E. coli/Tzou (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	

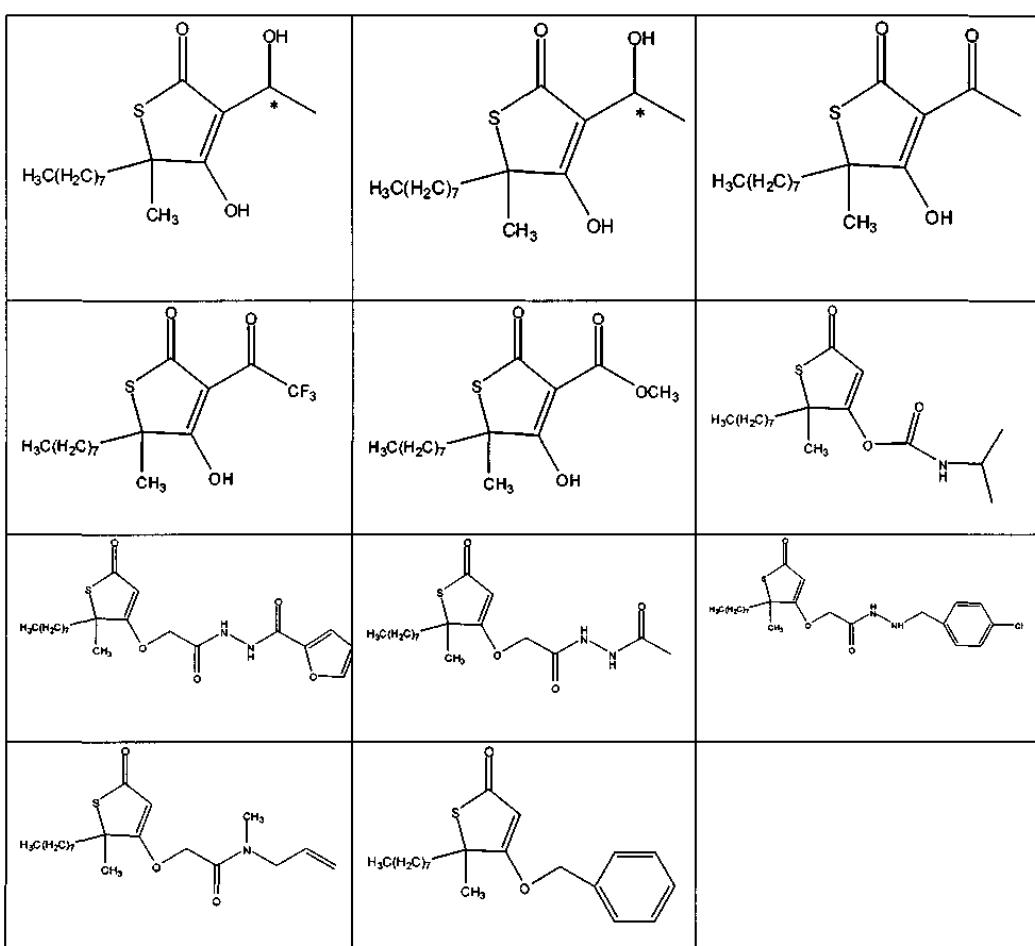
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
(+)	80.6 мкг/мл	23.1 ± 13.2 мкг/мл	45.7 ± 25.9 мкг/мл	22.5 мкг/мл
				
CPT I Синтез.	Снижение веса			
Не тестировался	Не тестировался			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
32 мкг/мл	39 мкг/мл	незначительный	незначительный	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
60 мкг/мл	64 мкг/мл	незначительный	незначительный	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	16.4 мкг/мл	26.4 ± мкг/мл (M)	26.3 мкг/мл
			21.3 мкг/мл (OV)	
				
CPT I Синтез.	Снижение веса			
Не тестировался	60 кг/кг: 6.3% (день 4)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	11.5 мкг/мл	25.3 ± мкг/мл (M)	28.7 мкг/мл
			16.0 мкг/мл (OV)	
				
CPT I Синтез.	Снижение веса			
Не тестировался	60 кг/кг: 5.9% (день 4)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	10.5 ± 2.6 мкг/мл	6.7 ± мкг/мл (M)	<5 мкг/мл
			8.8 мкг/мл (OV)	
				
CPT I Синтез.	Снижение веса			
Не тестировался	60 кг/кг: 1.4% (день 2)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	25.7 мкг/мл	9.2 ± 2.0 мкг/мл (M)	9.0 мкг/мл
				
CPT I Синтез.	Снижение веса			
Не тестировался	60 кг/кг: 1.5% (день 3)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
	FAS (IC ₅₀)	¹⁴ C (IC ₅₀)	XIT (IC ₅₀)	Кр. фиол. (IC ₅₀)
	незначительный	известн. (синтез.)	29.2 ± мкг/мл (M)	9.5 мкг/мл
			27.8 мкг/мл (OV)	
				
CPT I Синтез.	Снижение веса			
Не тестировался	60 кг/кг: 5.2% (день 3)			
SA/MH (MIC)	SA/Tsoy(MIC)	PSAE/MH (MIC)	PSAE/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	
EF/MH (MIC)	EF/Tsoy(MIC)	Ecoli/MH (MIC)	Ecoli/Tsoy (MIC)	
Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	Не тестировался	

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

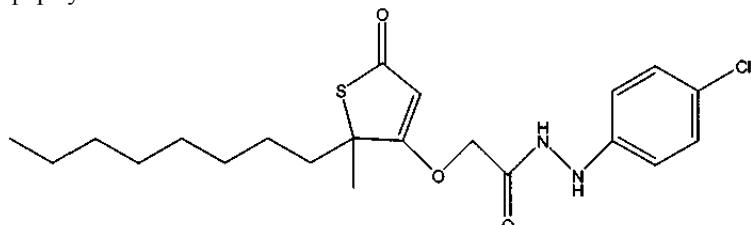
1. Соединение, выбранное из группы, включающей







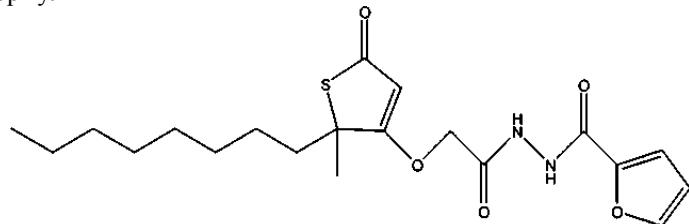
2. Соединение формулы



3. Фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтический разбавитель и соединение по п.2.

4. Способ лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, композиции по п.3.

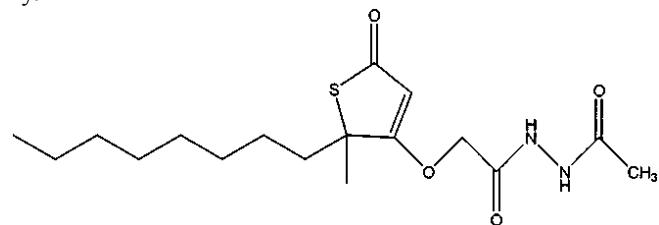
5. Соединение формулы



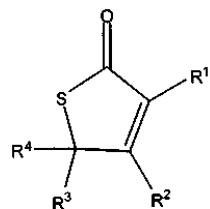
6. Фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтический разбавитель и соединение по п.5.

7. Способ лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, композиции по п.6.

8. Соединение формулы



9. Фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтический разбавитель и соединение по п.8.
 10. Способ лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, композиции по п.9.
 11. Соединение формулы I



I

где R¹ представляет собой H;

R² представляет собой -OCH₂C(O)NHR⁵, где R⁵ представляет собой C₁-C₁₀-арил, содержащий атом галогена;

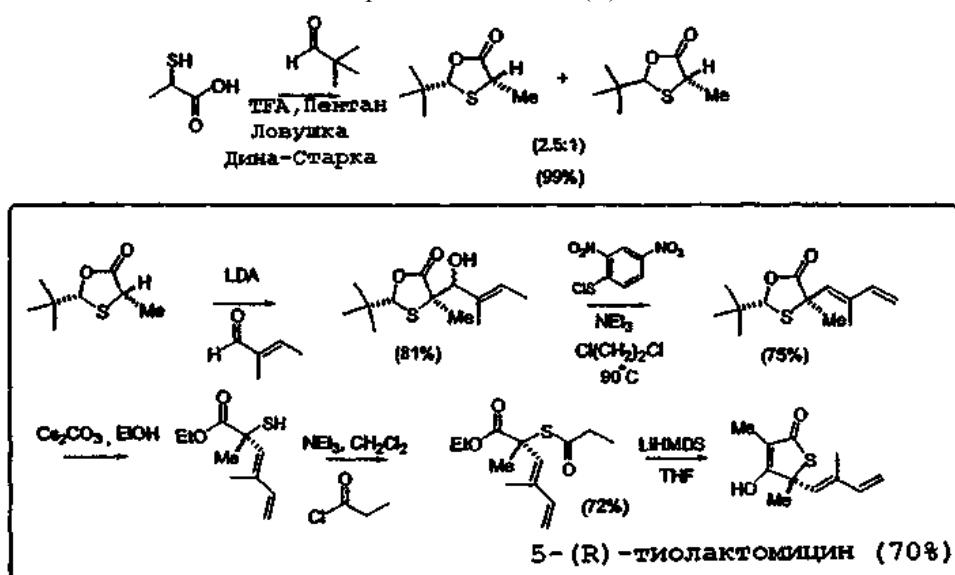
R³ представляет собой -CH₃;

R⁴ представляет собой -n-C₆-C₈-алкил.

12. Фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтический разбавитель и соединение по п.11.

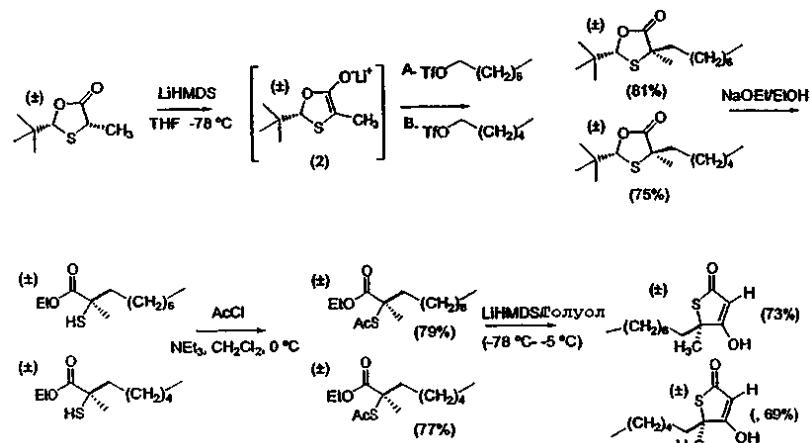
13. Способ лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, композиции по п.12.

Схема 1
Асимметрический синтез 5-(R)-тиолактомицина



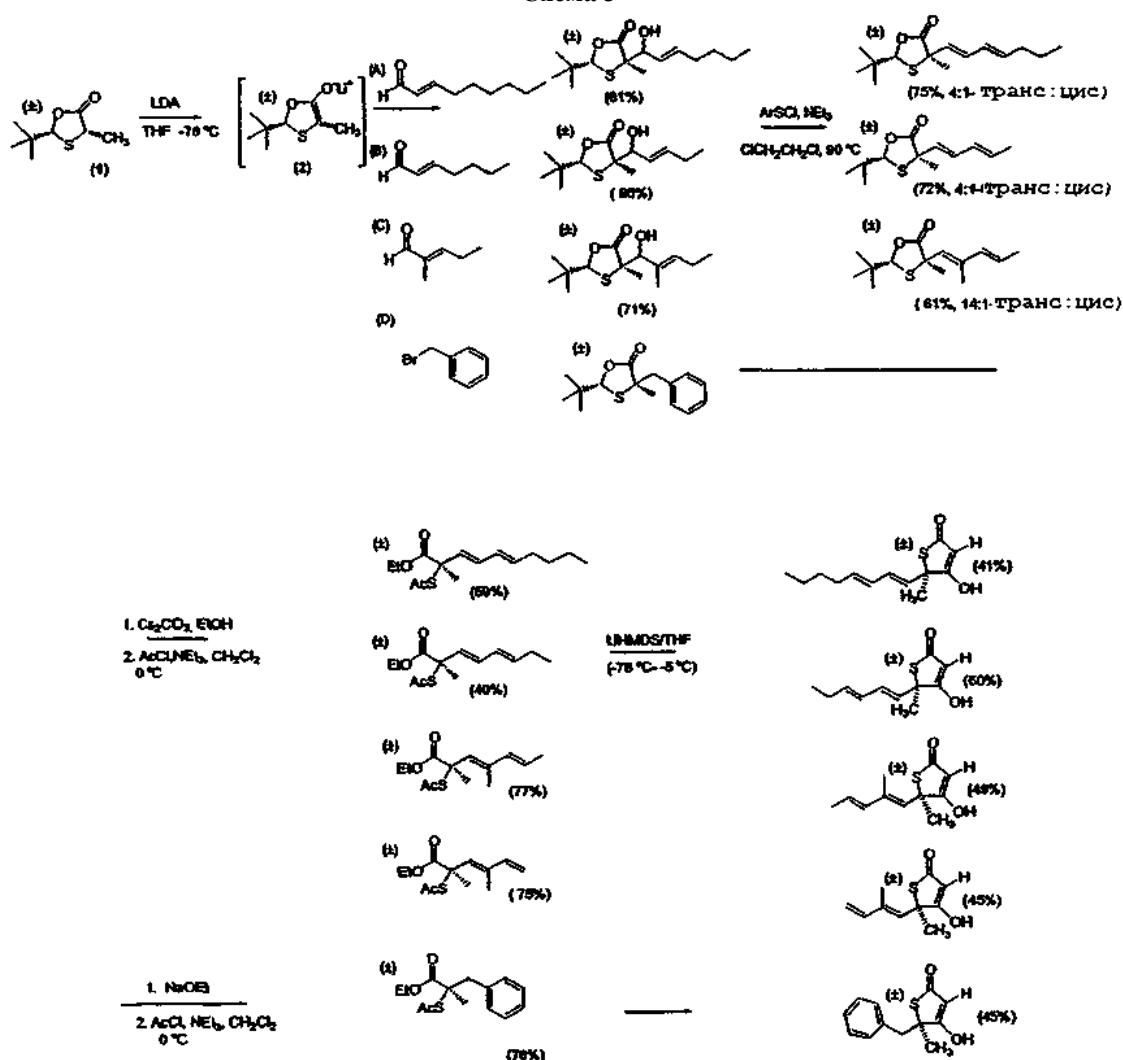
Фиг. 1

Схема 2



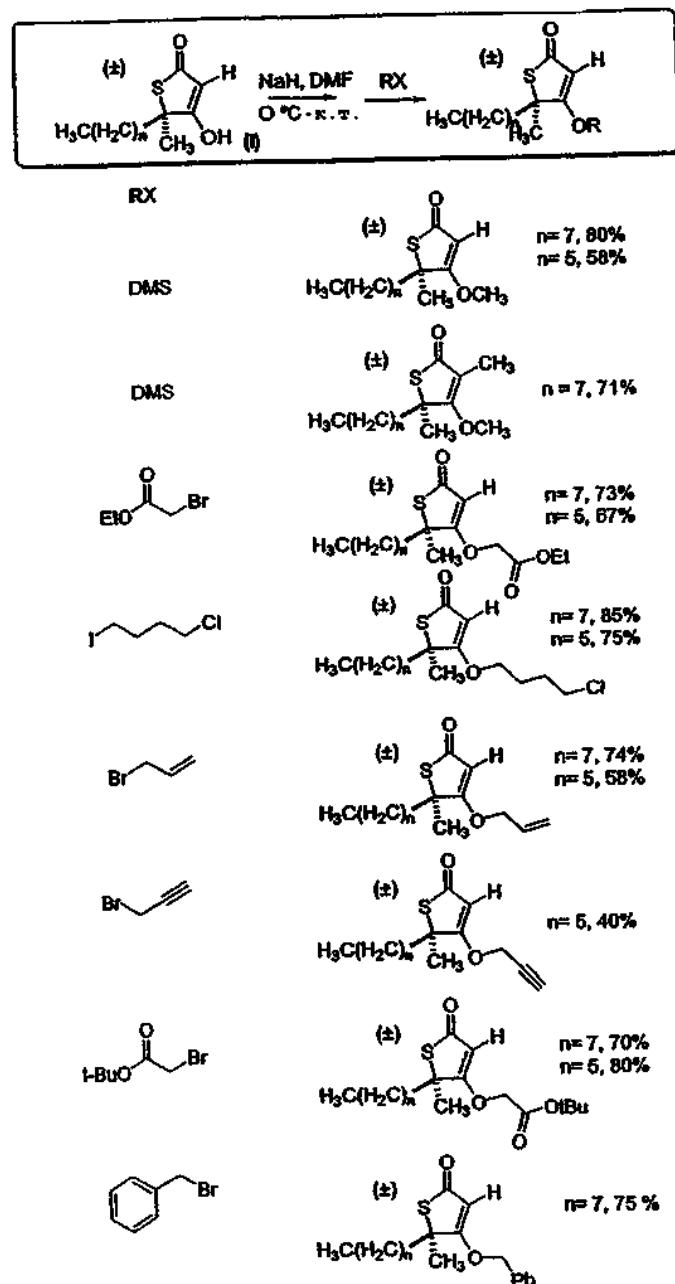
Фиг. 2

Схема 3



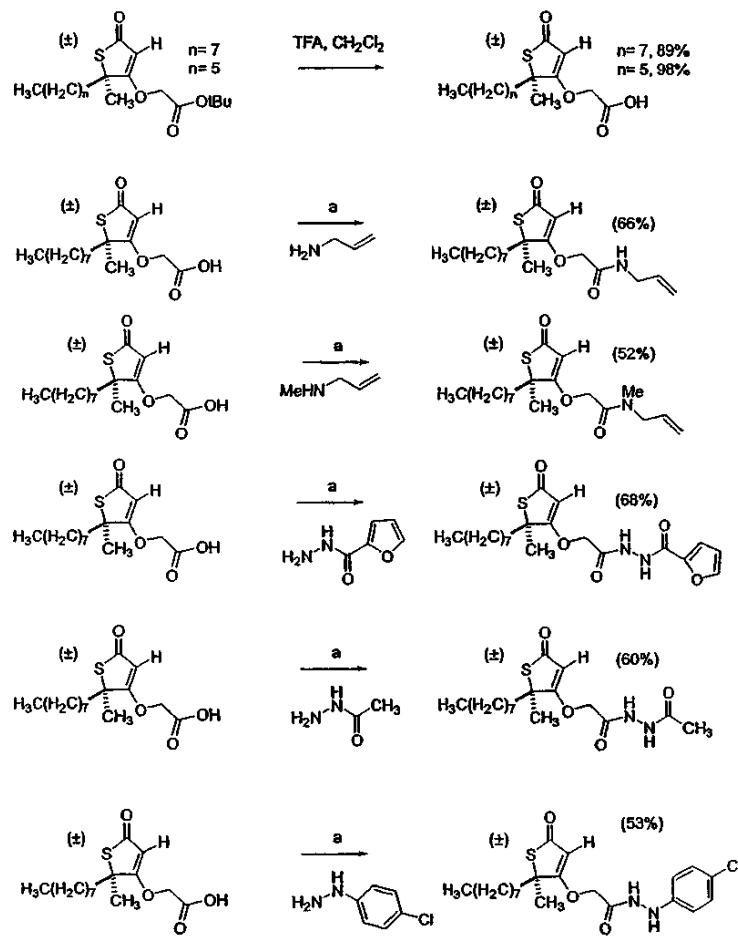
Фиг. 3

Схема 4



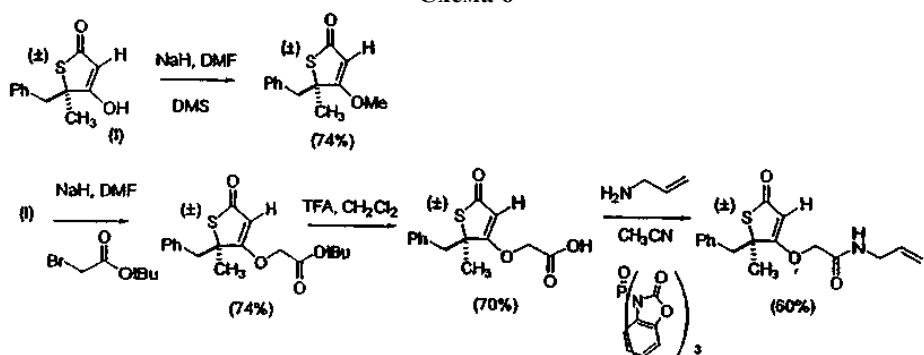
ФИГ. 4

Схема 5



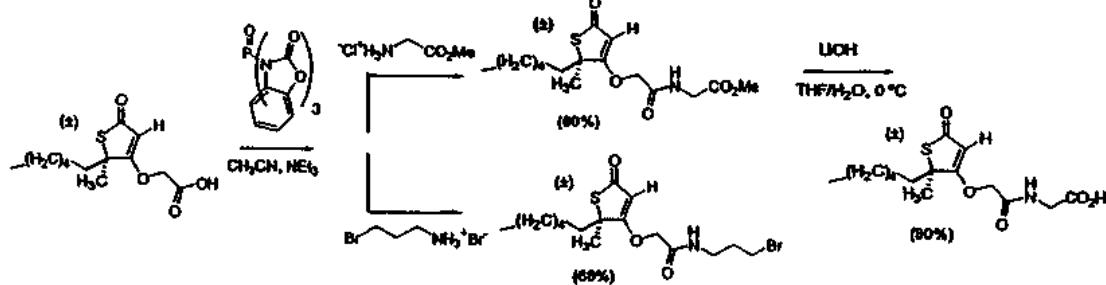
ФИГ. 5

Схема 6



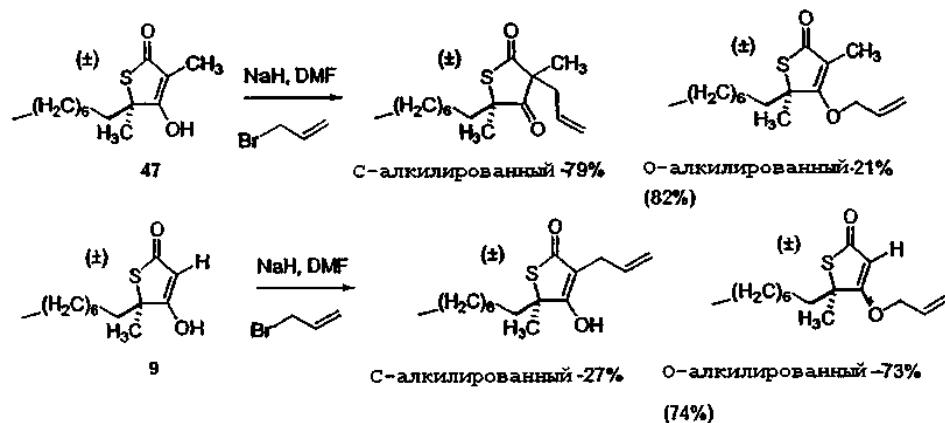
ФИГ. 6

Схема 7



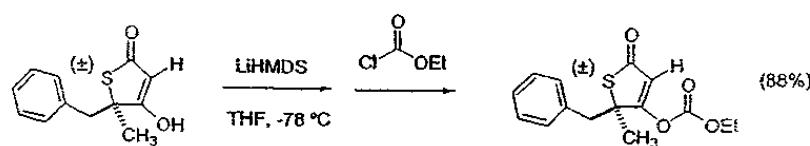
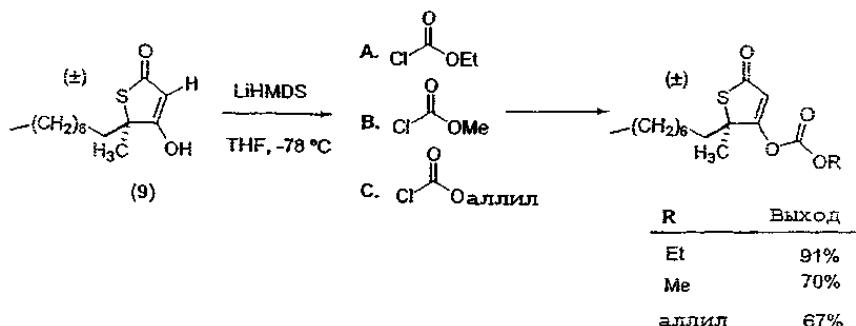
Фиг. 7

Схема 8



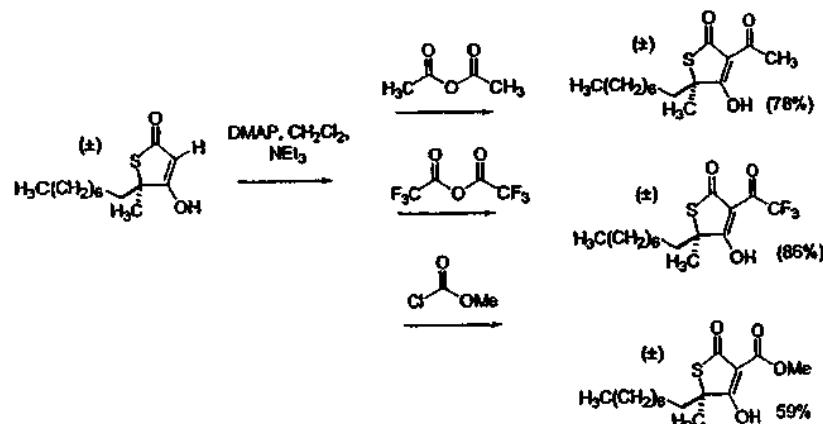
Фиг. 8

Схема 9

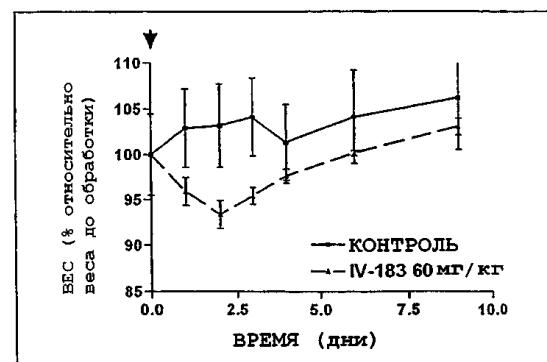
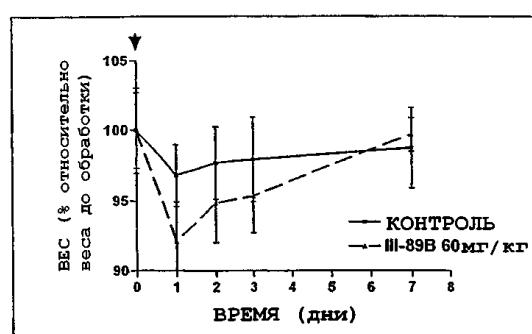


Фиг. 9

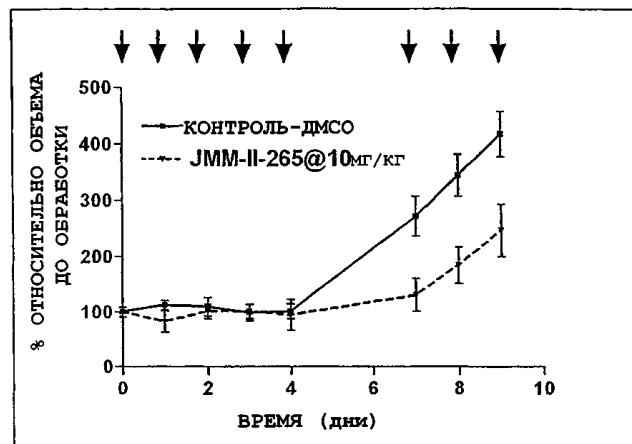
Схема 10



Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12



Евразийская патентная организация, ЕАПО

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2