

Priprava i biološka aktivnost depsipectida

Vlahov, Josipa

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnoški fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:375184>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-02**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Nutricionizam

JOSIPA VLAHOV

7254/N

PRIPRAVA I BIOLOŠKA AKTIVNOST DEPSIPEPTIDA

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Organska kemija

Mentor: Doc. dr. sc. Monika Kovačević

Zagreb, 2019

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam
Zavod za kemiju i biokemiju
Laboratorij za organsku kemiju
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

PRIPRAVA I BIOLOŠKA AKTIVNOST DEPSIPEPTIDA

Josipa Vlahov, 7254/N

Sažetak: Peptidi čine skupinu spojeva koji se zbog određenih nepovoljnih farmakoloških i biomedicinskih karakteristika, ne mogu koristiti u terapeutske svrhe. Kako bi se poboljšala njihova svojstva u tom smislu, s ciljem kliničke primjene, nastala je skupina spojeva koji se nazivaju peptidomimetici, a oponašaju fizikalna i biokemijska svojstva peptida. Depsipeptidi spadaju u skupinu peptidomimetika, a karakterizira ih zamijena peptidne veze sa esterskom. Osim što se mogu izolirati iz prirodnih organizama kao što su gljive, bakterije i morski organizmi, depsipeptidi se mogu i sintetizirati. Dva načina sinteze koja se najčešće koriste su sinteza u otopini i sinteza na čvrstoj fazi. Depsipeptidi su sve važniji izvor farmakološki aktivnih spojeva koji se koriste za razvoj novih sintetički dobivenih lijekova. Pokazuju široki spektar bioloških aktivnosti, a najveći potencijal pokazali su kao antitumorski i antimikrobni agensi.

Ključne riječi: bioaktivni peptidi, depsipeptidi, peptidomimetici, sinteza

Rad sadrži: 24 stranice, 7 slika, 33 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u: Knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: doc.dr.sc. Monika Kovačević

Datum obrane: 09. srpnja 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Nutrition
Department of Chemistry and Biochemistry
Laboratory for Organic Chemistry
Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Nutrition

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL APPLICATION OF DEPSIPEPTIDES

Josipa Vlahov, 7254/N

Abstract: Peptide molecules usually can not be used for therapeutic purposes, due to their unfavourable pharmacological and biomedical characteristics. In order to improve their properties, with intention to provide their therapeutic application, a group of peptidomimetic compounds was created, which mimic the physical and biochemical features of the peptides. Depsipeptides are characterized by the amide-to-ester bond substitution and can be isolated from natural organisms such as fungi, bacteria and marine organisms. Depsipeptides can be synthesized; two methods that are most commonly used are total solution synthesis and solidphase synthesis. Depsipeptides are an increasingly important source of pharmacologically active compounds used to develop new synthetically obtained drugs. They have a wide range of biological activities, and have shown the greatest potential as antitumor and antimicrobial agents.

Keywords: bioactive peptides, depsipeptides, peptidomimetics, synthesis

Thesis contains: 24 pages, 7 figures, 33 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Ph. D. Monika Kovačević, Assistant Professor

Defence date: July 9th 2019

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. PROTEINI	2
2.2. DEPSIPEPTIDI	4
2.3. SINTEZA.....	6
2.3.1. <i>Postupak zaštite</i>	<i>7</i>
2.3.2. <i>Produljenje lanca</i>	<i>8</i>
2.3.3. <i>Metode deprotekcije</i>	<i>9</i>
2.3.4. <i>Sinteza u otopini (Total solution synthesis)</i>	<i>10</i>
2.3.5. <i>Sinteza na čvrstoj fazi (Solidphase synthesis)</i>	<i>12</i>
2.4. PRIMJER DEPSIPEPTIDA	15
2.4.1. <i>Romidepsin (NSC-630176, Isodax)</i>	<i>15</i>
2.4.2. <i>Teixobactin</i>	<i>16</i>
2.4.3. <i>Didemnin B</i>	<i>17</i>
3. ZAKLJUČAK.....	20
4. POPIS LITERATURE.....	21

1. UVOD

Proteini su makromolekule građene od aminokiselina koje su međusobno povezane peptidnim vezama. Mogu se povezivati u kraće ili duže peptidne lance, nerazgranate polipeptidne lance, proteine. Funkcija proteina, odnosno peptida ovisi o njihovoj građi tj. o vrsti aminokiselina od kojih su građeni [1].

Peptidi imaju brojne važne biološke funkcije, pa tako mogu djelovati kao neurotransmiteri, neuromodulatori, hormoni, antigeni, antibiotici, a poremećaji u njihovoj funkciji mogu dovesti do razvoja kroničnih ili infektivnih oboljenja. Unatoč tome što imaju raznovrsna biološka djelovanja u organizmu nisu pogodni za primjenu u terapijske svrhe zbog čitavog niza farmaceutskih i biofarmaceutskih osobina. Razna istraživanja se provode radi poboljšanja svojstava peptida u tom smislu, a kao rezultat toga nastala je heterogena skupila spojeva peptidomimetici, kojima je zajedničko obilježje oponašanje fizikalnih i biokemijskih svojstava peptida [2].

Različite skupine peptidomimetika kreću se od jednostavne supstitucije aminokiselina do modifikacije raznih peptidnih dijelova. Svrha modifikacija je *(i)* povećati selektivnost i potentnost u aktivnom mjestu, *(ii)* povećati dugovječnost spoja smanjenjem vjerojatnosti degradacije, *(iii)* povećati lipofilnost spoja radi lakše apsorpcije u biološki sustav [3].

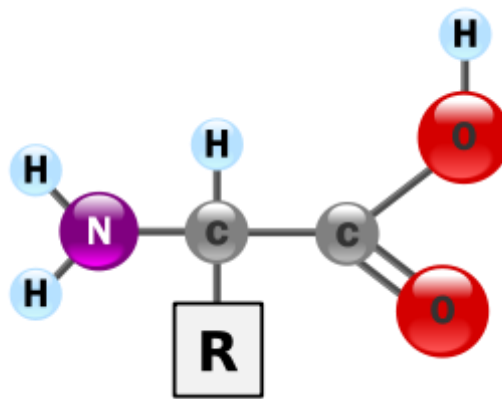
Depsipeptidi čine jednu skupinu peptidomimetika gdje dolazi do funkcionalne zamijene amidne veze sa esterskom vezom. Najznačajnija razlika među njima je izostanak donora vodikove veze kod estera, te smanjena sposobnost karbonilnog kisika da djeluje kao akceptor vodikove veze [3].

Cilj ovog rada bio je dati pregled mogućih sintetskih putova za pripravu depsipeptida [4]. Depsipeptidi predstavljaju važan izvor farmakološki aktivnih spojeva, odnosno perspektivnih struktura za razvoj novih sintetički dobivenih lijekova što također obuhvaća temu ovog završnog rada.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Proteini

Proteini su složene makromolekule građene od aminokiselina međusobno povezane amidnom vezom. Postoji 20 različitih vrsta aminokiselina koje se mogu kombinirati kako bi se dobili proteini [5]. Aminokiseline su molekule koje se sastoje od bazične amino skupine ($-NH_2$), kisele karboksilne skupine ($-COOH$) i organske R skupine (bočnog lanca) koja je jedinstvena za svaku aminokiselinu (slika 1) [6].



Slika 1. Struktura aminokiselina [7]

Peptidi su kratki lanci aminokiselinskih monomera vezanih peptidnom (amidnom) vezom. Kovalentne kemijske veze nastaju kada karboksilna skupina jedne aminokiseline reagira s amino skupinom druge aminokiseline. Najkraći peptidi su dipeptidi koji se sastoje od dvije aminokiseline spojene s jednom peptidnom vezom, nakon čega slijede tripeptidi, tetrapeptidi, itd. Polipeptid je dugi, kontinuirani i nerazgranati peptidni lanac. Peptidi se razlikuju od proteina na temelju veličine, a kao proizvoljna referentna vrijednost razdvajanja peptida od proteina uzima se podatak da peptidi sadrže približno 50 ili manje aminokiselina.

Proteini se sastoje od jednog ili više polipeptida raspoređenih na biološki funkcionalan način. Dok se aspekti laboratorijskih tehnika primijenjenih na peptide u odnosu na polipeptide i proteine razlikuju (npr. specifičnosti elektroforeze, kromatografije itd.), granice veličine koje razlikuju peptide od polipeptida i proteina nisu apsolutne. Dugi peptidi, kao što je β -amiloid, nazivaju se proteini, a manji proteini kao što je inzulin smatraju se peptidima [8].

Slijed aminokiselina određuje jedinstvenu trodimenzionalnu strukturu svakog proteina i njegovu specifičnu funkciju. Pojedini polipeptidni lanac tvori protein iako se mnogi proteini sastoje od višestrukih međusobno povezanih polipeptidnih podjedinica.

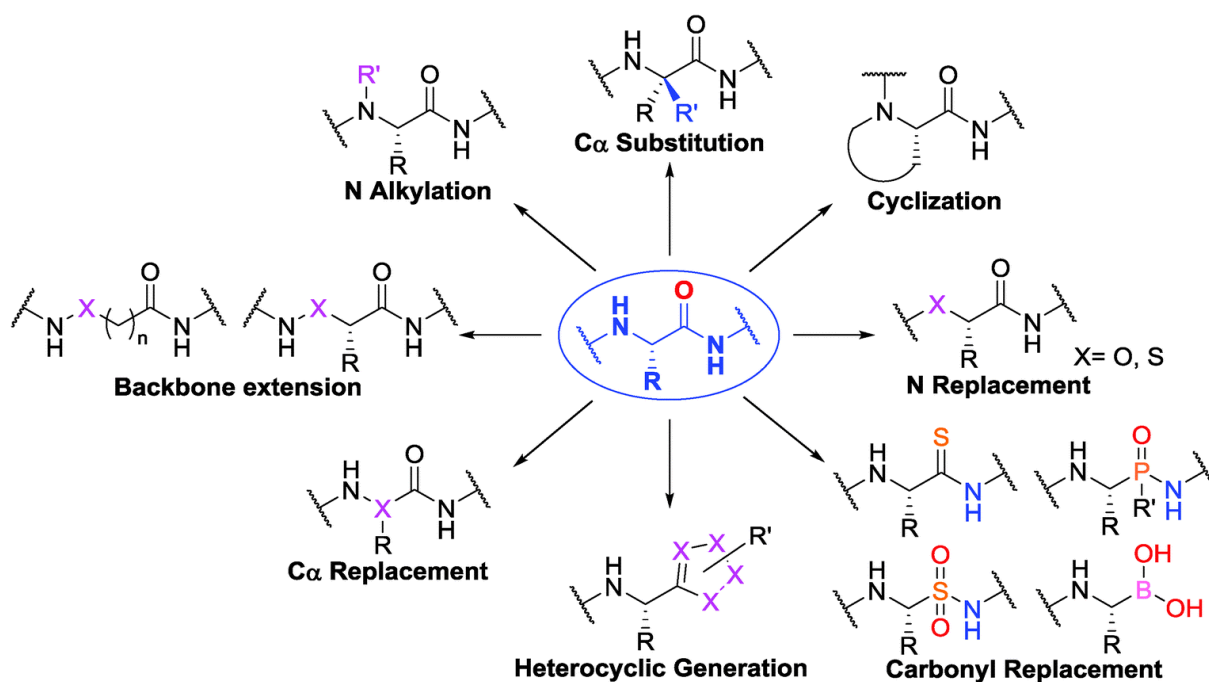
Primarna struktura peptida određena je slijedom aminokiselina koje su u polipeptidnom lancu vezane peptidnom vezom. Sekundarna i tercijarna struktura proteina označuju prostorni odnos susjednih ili udaljenih aminokiselinskih ostataka u linearnom slijedu aminokiselina, a granica je između tih dvaju strukturnih obilježja proizvoljna. Dvije pravilne opetovane konformacije polipeptidnog lanca sekundarne strukture, koje u kratkim odsječcima nalazimo u mnogim proteinima, a podržane su vodikovim vezama između CO- i NH-skupina, su α -uzvojnica i β -nabrana ploča. Tercijarna struktura opisuje prostorni odnos udaljenih aminokiselinskih ostataka (dijelovi polipeptidnog lanca koji su u linearnom slijedu udaljeni jedan od drugog njegovim se smatanjem mogu približiti). Kvaterna struktura odnosi se na proteine koji se sastoje od najmanje dva polipeptidna lanca, a opisuje njihovu relativnu orijentaciju.

Proteini unutar organizma obavljaju razne bitne funkcije te se nalaze u svakoj stanici i važni su za život. Obavljaju većinu aktivnosti u stanicama te su potrebni za strukturu, funkciju i regulaciju tjelesnih stanica, tkiva i organa. Također su bitne komponente mišića, kože, kostiju i tijela u cjelini. Primjeri proteina uključuju čitave klase važnih molekula među kojima su najznačajniji enzimi, hormoni i antitijela. Isto tako predstavljaju jednu od tri vrste hranjivih tvari koje tijelo koristi kao izvor energije dok su druge dvije ugljikohidrati i masti.

Poznato je da svaki protein posjeduje jedinstvenu funkciju koja je određena njegovom strukturom, pa primjerice proteini kataliziraju metaboličke reakcije u stanicama, čine transportne molekule unutar stanice i kroz organizam, neophodni su za replikaciju DNA, sudjeluju u imunološkom odgovoru, itd. [6, 9-10].

2.2. Depsipeptidi

Peptidomimetici su spojevi koji imitiraju strukturu i/ili biološki učinak peptida (slika 2) neovisno o kemijskoj strukturi te ih treba odvojiti od skupine modificiranih peptida. U skupinu peptidomimetika spadaju spojevi depsipeptida gdje dolazi do funkcionalne zamjene amidne veze sa esterskom vezom [2].



Slika 2. Modifikacija peptidne veze [11]

Depsipeptidi su spojevi koji se mogu pronaći u mnogim prirodnim organizmima kao što su gljive, bakterije i morski organizmi. Čine važan izvor farmakološki aktivnih spojeva, odnosno inicijalnih struktura za razvoj novih sintetički dobivenih lijekova. Pojava rezistentnih patogena na razne lijekove i ubrzana potražnja za novim potencijalnim antimikrobnim komponentama smješta depsipeptide u centar pažnje za razvoj novih antimikrobnih agenasa.

Ciklički depsipeptidi i njihovi derivati pokazuju široki spektar bioloških aktivnosti uključujući insekticidno, antivirusno, antimikrobno, antitumorsko, protuupalno te imunosupresivno djelovanje. Međutim, najveći terapijski potencijal pokazali su kao antitumorski i posebno antimikrobni agensi [4].

Peptidi zbog svojih karakteristika kao što su kratko vrijeme poluživota, brzi metabolizam, slaba oralna bioraspodjelivost čine spojeve koji se ne mogu koristiti kao lijekovi *per se*, zbog toga se provode modifikacije koje poboljšavaju farmakološka svojstva peptida. Peptidomimetičke modifikacije ili ciklizacija linearnih peptida koristi se kao metoda koja

osigurava konformacijska ograničenja peptida što ih čini stabilnijima i bioaktivnijima [4]. Također, amidne grupe peptida podliježu proteolitičkoj hidrolizi enzima koji ih cijepaju i tako uništavaju njihovu strukturu čime peptidi u potpunosti gube svoju funkciju. Zamjena amidnih grupa sa esterskim grupama može dovesti do dužeg djelovanja takvih spojeva koji nisu toliko skloni proteolizi. Takve modifikacije potencijalno poboljšavaju metaboličku stabilnost peptida i čine prirodno prisutne cikličke depsipeptide, koji sadrže jednu ili više esterskih veza uz amidne veze, obećavajućim spojevima za korštenje u obliku lijekova [4].

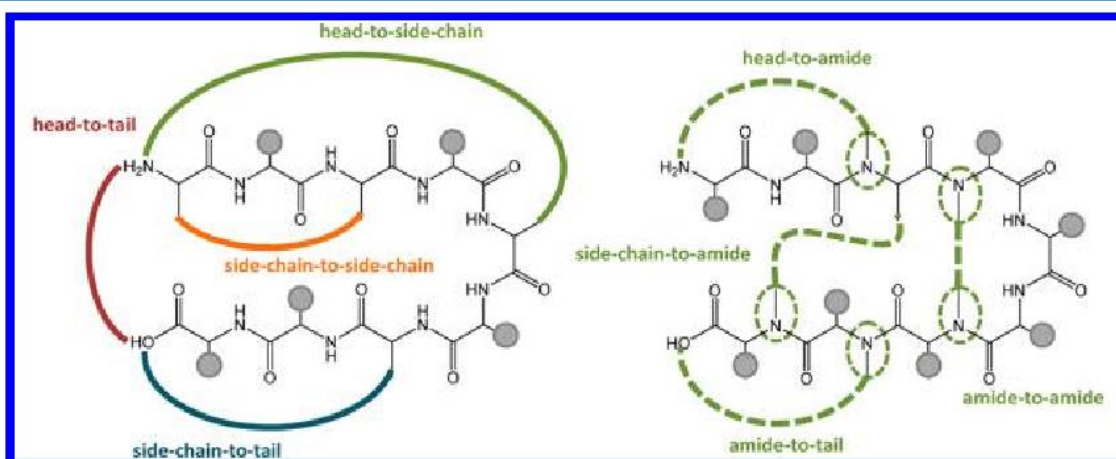
Procesi izolacije i pročišćavanja prirodno prisutnih depsipeptida mogu biti komplicirani i izazivati razne poteškoće što onda značajno usporava njihovu eksploataciju kao glavnih komponenti za razvoj novih lijekova. Kako bi se riješio taj problem i omogućilo dobivanje depsipeptida u većim količinama krenulo se sa njihovom sintezom. Sintezom depsipeptida omogućeno je bolje shvaćanje odnosa između strukture i aktivnosti depsipeptida, ali isto tako su otvorene razne mogućnosti pronalaska novih potencijalnih komponenti ove klase. Sinteza cikličkih depsipeptida predstavlja izazovan sintetski zadatak zbog strukturne raznolikosti i složenosti depsipeptida [4].

2.3. Sinteza

Općenito sinteza depsipetida može se opisati kao:

1. sinteza neuobičajenih građevnih blokova (amonikiseline, lipidi, šećeri itd.)
2. ugradnja tih građevnih blokova unutar peptidnog lanca tradicionalnim metodama sinteze peptida
3. ciklizacija u otopini ili na čvrstoj podlozi putem makrolaktamizacije (formiranje amidne veze) ili makrolaktonizacije (formiranje esterske veze) [4].

Metode ciklizacije mogu se klasificirati kao ciklizacija glava-rep (tip A) (slika 3, *lijevo*) i ciklizacija bočnog lanca do bočnog lanca (side chain to side chain) (tip B) (slika 3, *desno*).



Slika 3. Metode ciklizacije peptida [12]

Prva metoda označava formiranje amidne veze između *N*-terminalnih i C-terminalnih aminokiselinskih ostataka. Druga metoda uključuje stvaranje disulfidnih mostova između dva ω -tio aminokiselinska ostatka (cistein, homocistein), formiranje laktamskih mostova između ostataka glutaminske/ asparaginske kiseline i lizina, stvaranje laktonskih ili tiolaktonskih mostova između aminokiselinskih ostataka koji sadrže karboksilne, hidroksilne ili merkaptio funkcionalne skupine, formiranje mostova tioetera ili etera između aminokiselina koje sadrže hidroksilne ili merkaptio funkcionalne skupine te druge metode. Obe vrste ciklizacija ovise o dostupnosti zaštićenih linearnih prekursora [13].

Iako sinteza i ugradnja neobičnih građevnih blokova u peptidni lanac nije jednostavna i vrlo često predstavlja izazov, ključni korak u sintezi cikličkih depsipeptida je zatvaranje prstena te ono predstavlja odlučujući korak hoće li sinteza biti uspješna. Na primjer, slaba

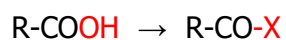
povezanost prstena može dovesti do slabije brzine ciklizacije čime se onda olakšavaju sporedne reakcije kao što su dimerizacija, oligomerizacija i/ili epimerizacija C-terminalnog ostatka [4]. U novijoj metodologiji sinteze peptida, a time i depsipeptida, postoje dva postupka koja se koriste: onaj koji se temelji na sintezi u otopini te drugi koji se temelji na sintezi na čvrstoj podlozi (čvrsta faza), pri čemu se oba postupka se temelje na istim načelima [14].

2.3.1. Postupak zaštite

Kontrolirano formiranje dipeptida u otopini zahtijeva spajanje dviju aminokiselina, jednu zaštićenu na svom *N*- kraju, a drugu na *C*- kraju. Nakon nastanka amidne veze, zaštićeni dipeptid se izolira, pročisti i karakterizira. Nakon deprotekcije *N*-zaštitne skupine, dobiveni dipeptidni amin se zatim spaja s drugom aminokiselinom zaštićenom na njegovom *N*-amino kraju. Stoga se, da bi se dobila željena peptidna, α -amino ili karboksilna funkcija i funkcionalne skupine bočnog lanca, trebaju zaštititi odgovarajućom zaštitnom skupinom.

Zaštita *C*- kraja je glavna razlika između sinteze peptida u čvrstoj fazi i sinteze peptida u otopini. Kod prvog, netopiva polimerna podloga može se smatrati zaštitnom skupinom *C*- kraja, dok se u sintezi peptida u otopini koriste uobičajenije zaštitne skupine. *C*-kraj je najčešće zaštićen kao alkil ili aril-ester. Hidrazidi ili zaštićeni hidrazidi također su *C*-terminalne zaštitne skupine. Ovi hidrazidi su važni u klasičnoj sintezi peptida u otopini jer se pretvaraju u peptidil-azide za reakciju vezanja segmenta [14].

Stvaranje peptidne veze zahtijeva aktivaciju karboksilne skupine amino kiseline:



gdje je X atom ili skupina koja privlači elektrone. Reaktivni međuprodukti karboksilnih kiselina, kiselinskih klorida i kiselinskih anhidrida poznati su i korišteni u pripravi amida mnogo prije pojave sinteze peptida, ali zaštita amino skupine i karboksilne skupine koja nije bila namijenjena da bude dio amida ostatala je problematična dugo vremena. Prvi sintetizirani derivati peptida nosili su zaštitne skupine koje se nisu mogle ukloniti bez uništenja novoformirane peptidne veze. Postalo je očigledno da sinteza peptida zahtijeva lako uklonjive zaštitne skupine. Važno otkriće prema rješenju ovog problema bilo je otkrivanje benziloksikarbonilne (Z) skupine od strane Bergmanna i Zervasa 1932. godine. Ova zaštitna skupina mogla se ukloniti katalitičkom hidrogenacijom na sobnoj temperaturi i

uobičajenom tlaku, proces koji je omogućio očuvanje peptidne veze kao i to da različite funkcije bočnog lanca ostanu nepromijenjene [15].

2.3.2. Produljenje lanca

Kombinacija stupnjeviti produljenja lanca i strategije kondenzacije segmenta može se koristiti kada se molekule peptida sintetiziraju u otopini. Kemijske metode korištene u oba ova tipa spajanja su uglavnom slične.

- **METODA AKTIVACIJE U STUPNJEVITOM PRODULJENJU LANCA**

Vrlo je važno izbjeći racemizaciju tijekom sinteze peptida. Stupnjevito produljenje od COOH-terminusa s jednom aminokiselinom, u isto vrijeme pomoću aminokiselina zaštićenih od uretana kao što je benziloksikarbonilna aminokiselina, tertbutiloksikarbonil aminokiselina, ima prednost u izbjegavanju racemizacije tijekom reakcije peptidnog vezanja. Postupak postepenog produljenja djelotvoran je za sintezu malih peptida i za pripremu peptidnih segmenata za konstrukciju većih peptida i proteina. Kod ovakve metode produljenja lanca za stvaranje peptidne veze koriste se spojevi kao što su karbodiimidini, miješani anhidridi, aktivirani esteri te reagensi fosfonija i uronija [14].

- **METODA AKTIVACIJE KONDENZACIJOM SEGMENTA**

Za sintezu većih peptida ili proteina metodom sinteze u otopini, kondenzacija peptidnih segmenata je zanimljiva strategija. Odvajanje produkta od skraćenih ili izbranih sekvenci je znatno olakšano. Glavni nedostatak ove metode leži u jednostavnoj racemizaciji karboksilnog segmenta C-terminalnog ostatka kada ostatak nije glicin ili prolin. Ova racemizacija se odvija prvenstveno preko oksazolonskog intermedijera reakcijom pretposljednog ostatka na terminalno aktiviranom karboksilatu. Prema tome, najvažniji zahtjev za spajanje koji se primjenjuje kod formiranja amidne veze između dva zaštićena peptidna segmenta je redukcija racemizacije C-terminalne aminokiselinske karboksilne komponente na minimum. Najčešće korištena metoda kondenzacije segmenta su: postupak preko azida, DCC metoda pomoću kiselih aditiva, metode aktivnih estera i metode mješanih anhidrida [14].

2.3.3. Metode deprotekcije

Završna faza sinteze peptida je reakcija deprotekcije pri čemu se uklanjaju sve zaštitne skupine. Svaka zaštitna skupina na α -amino ili karboksilnoj funkciji ili bočnom lancu aminokiseline ima određenu ulogu prilikom sinteze peptida. Kombinacijom zaštitnih skupina i selekcijom aktivacijske metode na karbonilnoj skupini, zaštićeni peptidi mogu se sintetizirati postupcima sinteze u otopini i sinteze na čvrstoj fazi postupkom stupnjevitog produljenja lanca ili kondenzacijom segmenta. Metoda sinteze u otopini omogućuje pročišćavanje produkta reakcije nakon svakog koraka spajanja. Prema tome, ovom metodom mogu se dobiti zaštićeni peptidi s visokim stupnjem čistoće. U završnom koraku uklanjanja zaštite, sve zaštitne skupine trebaju biti potpuno uklonjene. Izbor reagensa koji se koristi u završnom koraku uklanjanja zaštite određuje glavnu strategiju sinteze peptida. Konačni postupci uklanjanja zaštite su uglavnom:

- 1) katalitička hidrogenacija u prisutnosti paladija,
- 2) tretiranje natrijem u tekućem amonijaku tijekom 10 do 15 sekundi, ponavljano tijekom 30 minuta,
- 3) tretiranje trifluorooctenom kiselinom na sobnoj temperaturi tijekom 1 h,
- 4) HF tretman na 0 ° C tijekom 1 h (pogodniji za pripravu velikih peptida i proteina, ali zahtijeva posebnu opremu),
- 5) postupak „tvrda-meka kiselina-baza“ [14].

2.3.4. Sinteza u otopini (*Total solution synthesis*)

Sinteza u otopini je metoda koja se prva koristila kao metoda sinteze peptida. Kemija same sinteze peptida razvijena je pomoću sljedećih kemijskih pristupa: (i) izbor zaštitnih skupina za aminokiseline te njihovo uklanjanje po završetku sinteze; i (ii) formacija peptidne veze [14].

Metoda sinteze u otopini je korištena za sintezu malih peptida sastavljenih od samo nekoliko aminokiselinskih ostataka. Glavna prednost ove tehnike je u tome što intermedijarni produkti mogu biti izolirani i pročišćeni nakon svakog koraka sinteze, mogu se deprotektirati i rekombinirati kako bi se dobili veći peptidi željenog slijeda [16]. Obje vrste sinteze, SPPS (engl. *Solidphase Protein Synthesis*, sinteza na čvrstoj fazi) i sinteza peptida u otopini, zahtijevaju zaštićene sekvence kako bi se omogućilo da dvije funkcionalne skupine pravilno reagiraju te kako bi tada došlo do stvaranja željene amidne veze. Priroda ovih zaštitnih skupina doprinosi povećanju hidrofobnosti sekvence i može izazvati interakcije koje pogoduju netopljivosti peptida. Općenito, peptidi koji stvaraju sekundarne strukture α -uzvojnice u otopini su topljivi u vodi, dok su konformacije β -nabrane ploče netopljive zbog njihove sposobnosti da djeluju hidrofobnim interakcijama, gdje dolazi do stvaranja agregata [17].

Jako bitan segment kod sinteze u otopini je izbor otapala jer ono utječe na tijek sinteze. Zbog toga se provode ispitivanja kako bi se istražilo koja su najpogodnija otapala za provođenje sinteze. *N,N*-dimetilformamid (DMF) je dipolarno otapalo koje se uobičajeno koristi kod sinteze u otopini, ali isto tako i kod sinteze na čvrstoj fazi. Skupina otapala koja se opsežno proučavaju i koriste se za otapanje peptida u otopini su fluorirani alkoholi, od kojih se najčešće koriste 2,2,2-trifluoroetanol (TFE), 1,1,1,3,3,3- heksafluor-2-propanol (HFIP) i 1-fenil-2,2,2-trifluoroetanol (PhTFE). Za razliku od ne-fluoriranih alkohola, glavna karakteristika fluoriranih spojeva je njihov jak kapacitet donora vodikove veze, svojstvo koje ih čini pogodnim za ometanje sekundarne strukture peptida [17].

Na topljivost peptida u otopini utječe i temperatura tako što njeno povećanje narušava sekundarnu strukturu molekula što može povećati njihovu topljivost u otopini. Učinak temperature na odmotavanje peptida ovisi o prijelazu sekundarne strukture iz jedne u drugu za svaki peptid posebno. Dakle, modifikacija karakteristične strukture β -nabrane ploče u α -uzvojnici utjecajem temperature koristi se kao sredstvo pomoću kojeg se događa prijelaz između netopljivih u topljive peptide [17].

Iako se dugo koristila kao jedina metoda sinteze, sinteza u otopini sadrži niz nedostataka. Raznim ispitivanjima pokušavalo se unaprijediti provođenje sinteze, međutim i dalje ostaju neki neriješeni problemi, koji uključuju:

1) nedostatak kiralnog integriteta u stvaranju peptidne veze: aktivacija α -COOH zaštićenog peptidnog lanca dovodi do racemizacije C-terminalne aminokiseline u osnovnim uvjetima korištenim za kondenzaciju s drugim nukleofilnim peptidnim segmentom,

2) nemogućnost pročišćavanja i karakterizacije zaštićenih peptida: teško je učinkovito pročitati i karakterizirati potpuno zaštićene segmente peptida; višestruke rekristalizacije nisu bile dovoljne da osiguraju homogenost reakcijskih produkata i bilo je potrebno provoditi deprotekciju očišćenih segmenata peptida kako bi se analitički okarakterizirali,

3) slaba topljivost: najveći problem kod sinteze u otopini; mnogi potpuno zaštićeni segmenti peptida imali su ograničenu topljivost čak i u snažnim organskim otapalima; posljedične niske koncentracije reagirajućih peptidnih segmenata dovode do sporih i nepotpunih reakcija vezanja. Ograničena topljivost i drugi problemi s maksimalno zaštićenim segmentima peptida nikada nisu potpuno prevladani, iako je određeni broj proteina uspješno sintetiziran klasičnim metodama u otopini. Štoviše, sofisticirani kemijski postupci koji se koriste u metodama sinteze peptida zahtijevaju iznimno visoku razinu vještine kemičara, a sinteze koje se provode su prilično teške što zahtijeva da timovi stručnih kemičara učinkovito izvode takve postupke [18].

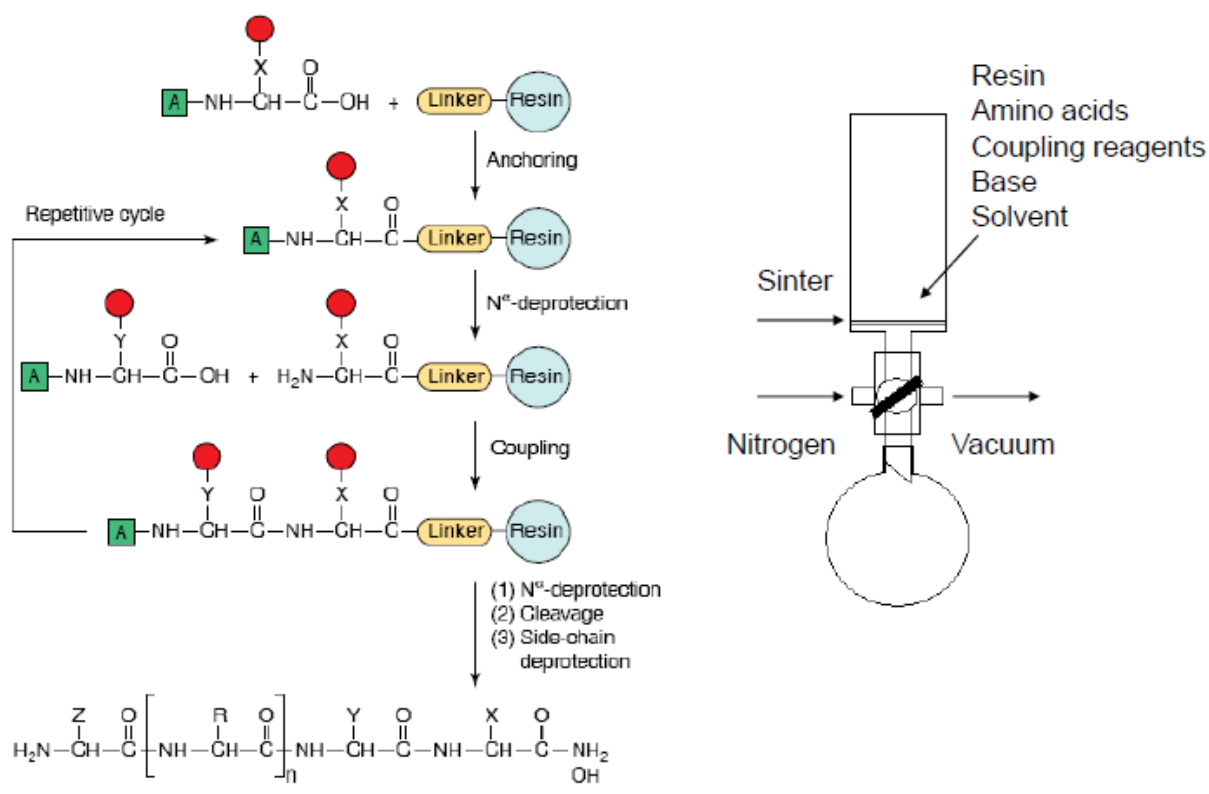
Bilo je nekoliko zanimljivih pokušaja da se moderna sinteza peptida u otopini učini manje dugotrajnom nego konvencionalni „klasični“ pristup, dok se u isto vrijeme zadržava jedna od prednosti ove metode, a to je mogućnost kemičara da prati sintezu u bilo kojoj fazi. Općenito, glavna metoda za postizanje ovog cilja bila je provođenje stupnjevite sinteze iz C-terminalne aminokiseline i u velikoj mjeri oslobađanja od pročišćavanja i karakterizacije sintetskih intermedijera, budući da je to aspekt koji najviše troši vrijeme klasične sinteze u otopini [19].

Sinteza depsipeptida je također pogodna za provođenje u otopini. Njihova prednost u odnosu na peptide kod sinteze u otopini je ta što sadrže estersku vezu te ona ometa kontinuitet vodikovih veza koje nastaju između atoma koji sudjeluju u stvaranju amidne veze i time sprečava nastajanje β -nabrane ploče, čime sprječava i proces agregacije. Također, zbog uvođenja esterske veze nije potrebna ugradnja dodatne zaštitne skupine u sintezi. Na kraju sinteze, nakon kiselog cijepanja depsipeptida, nezaštićena primarna amino skupina depsi jedinice je protonirana, tako da ne dolazi do intramolekulskog napada amino skupine na karbonilni ester i moguće je dobiti stabilan depsipeptid u otopini. Kako bi se postigla nativna peptidna sekvenca, kada se peptid oslobodi sa smole i deprotektira, u posljednjem koraku dolazi do pomaka *O-N*-acila koji se događa pri blagim bazičnim uvjetima u vodenom

mediju. Prema tome, O-N raspored se odvija preko petočlanog intermedijera u prstenu kontroliranjem pH [17].

2.3.5. Sinteza na čvrstoj fazi (*Solidphase synthesis*)

Sinteza na čvrstoj fazi je metoda u kojoj se molekule međusobno kovalentno vežu na čvrstom materijalu te se sintetiziraju korak po korak koristeći selektivne zaštitne skupine (slika 4). Prednosti u odnosu na sintezu u otopini uključuju jednostavnost sinteze, brzina postupka te visoka učinkovitost [20].



Slika 4. Sinteza na čvrstoj fazi [21]

Njemački kemičar Emil Fisher proveo je prvo uspješno spajanje dviju aminokiselina davne 1903. godine. Sinteza je napravljena pomoću acil-klorida, međutim u to vrijeme nisu postojale prikladne amino-zaštite skupine za sintezu dužih peptida. Daljnjim istaživanjima i razvojem znanosti te tijekom sastavljanja dužih peptida ili malih proteina, utvrđeno je da su ponavljajući postupci spajanja, deprotekcija *N*-terminalne amino-zaštitne skupine, izolacija i pročišćavanje intermedijera vrlo naporni i dugotrajni postupci sinteze, kada se provode u

otopini. Štoviše, problemi topljivosti često sprječavaju produljenje samog peptidnog lanca. Zbog svega toga, metoda koju je zamislio američki biokemičar Robert Merrifield imala je ogroman utjecaj na daljnji razvoj sinteze peptida. Metoda je obuhvaćala sakupljanje peptida na čvrstu fazu, a sam znantvenik je za ovo otkriće dobio Nobelovu nagradu za kemiju 1984 godine. Sinteza peptida na čvrstoj fazi (SPPS) nudi važne prednosti u odnosu na sintezu u otopini koje se očituju u tome što se reakcije spajanja mogu provesti brže i gotovo do završetka uporabom viška aktiviranog derivata aminokiselina koji se uklanja na kraju reakcije jednostavnom operacijom ispiranja.

Tijekom sinteze peptida potrebno je zaštititi terminalne dijelove lanca, za što se koriste različite odgovarajuće skupine. Za privremenu zaštitu *N*-terminalne amino skupine, Boc-grupa (*tert*-butiloksikarbonil) je prikladna jer njena struktura pomaže minimizirati epimerizaciju aktiviranih aminokiselina, a deprotekcija se može postići upotrebom različitih kiselih sredstava u relativno blagim uvjetima. Za trajnu zaštitu bočnih lanaca tijekom spajanja koriste se zaštitne skupine benzilnog tipa koje se cijepaju jakim kiselinama, poželjno fluorovodičnom kiselinom (HF). Daljnjim poboljšanjem procesa sinteze koriste se i nove zaštitne skupine bočnih lanaca kao što su Asn/Gln (Trt), Lys (Dde), Lys (Aloc), His (Trt), Arg (Pbf), Trp (Boc). Značajna postignuća su također napravljena u kemiji tvorbe peptidnih veza. Iako su tradicionalne metode spajanja, kao što su aktivacija na bazi diimida, povezivanja posredovana anhidridom i preaktivirani esteri uspješno primijenjeni, reagensi za vezanje kao što su strukture na bazi fosfonija ili uronija/guanidiniuma danas se najčešće primjenjuju, posebno kod automatiziranih SPPS.

Sinteza "teških sekvenci", kao što su depsi-peptidi, može se poboljšati korištenjem polarnih otapala i intermedijarnih stupnjeva ispiranja kiselinom, ali se bolji rezultati postižu primjenom reverzibilnih modifikacija na peptidnu osnovicu. Kod depsi-peptida, sklonost agregaciji smanjuje se prekidom regularnog obrasca amidnih veza s esterskim vezama, koje se uvode na razini Ser/Thr ostataka proširenjem peptidnog lanca preko β -hidroksilne funkcije. Depsi-peptidne jedinice se skupljaju preko *O*-acilacije izravno na peptid vezan smolom ili prikladnije inkorporiraju spajanjem prethodno oblikovanih depsi-dipeptidnih blokova od kojih su neki komercijalno dostupni. U ovom slučaju, spajanje se najbolje izvodi preko karbodiimida u nepolarnim otapalima. Tijekom spajanja depsi-peptida, posebna pozornost se mora posvetiti za vrijeme uklanjanja Fmoc skupine (9-fluorenilmetiloksikarbonil) iz drugog aminokiselinskog ostatka nakon esterske veze na *N*-terminalnoj strani, gdje može doći do nastanka diketopiperazina (DKP) [22]. Reakcija nastanka diketopiperazina je kinetički i termodinamički preferirana, a dolazi do intramolekulskog vezanja slobodne amino skupine dipeptida s *C*-terminalnom skupinom te nastaje ciklički peptid [19]. Fmoc skupina koristi se

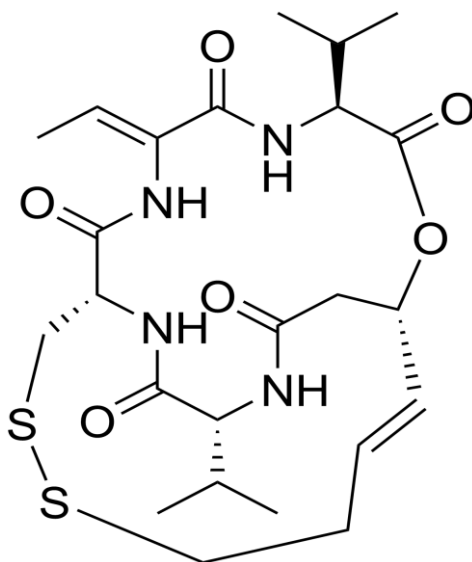
kao zaštitna grupa amina u sintezi peptida i srodnih spojeva zbog svoje stabilnosti na kiseline i labilnosti na baze [23]. Kako se povećava dužina peptidnog lanca procesi nepotpune deprotekcije i reakcije vezanja postaju izraženije. Neuspjeh ovih ključnih koraka može predstavljati nepremostive prepreke, međutim i tada sinteza u otopini ne predstavlja praktičnu alternativu za velike peptide, budući da je spora, iziskuje intenzivan rad, a problem predstavlja i slaba topljivost sintetskih intermedijera [19]. Na kraju sinteze, čitavi depsipeptidi se odcijepuju sa čvrstog nosača s TFA komponentom. U usporedbi s ciljanim peptidom, odgovarajući izomer depsipeptida je topljiviji u vodenom mediju, zbog prisutnosti dodatne ionizirajuće skupine koju daje depsipeptidna jedinica, te se stoga može lakše pročistiti. Konačna tvorba depsipeptida u amidnu formu se postiže nakon pročišćavanja peptida u slabo alkalnim uvjetima [22].

Metoda sinteze na čvrstoj fazi je revolucionirala kemijsku sintezu peptida. Vezivanje rastućeg zaštićenog lanca peptida na nosač smole uvelike je prevladalo probleme s topljivošću i tako omogućilo korištenje standardiziranih protokola za ukupnu kemijsku sintezu peptida. To je omogućilo rutinsku kemijsku sintezu peptidnih lanaca od trideset aminokiselinskih ostataka ili više i učinilo sintezu peptida široko dostupnom laboratorijima širom svijeta [18].

2.4. Primjer depsipeptida

2.4.1. Romidepsin (*NSC-630176*, *Isodax*)

Romidepsin je biciklički depsipeptid (slika 5) prvi puta izoliran iz bakterije *Cromobacterium violaceum* iz uzorka tla s područja Yamagata, molekulske formule $C_{24}H_{36}N_4O_6S_2$ [24]. Utvrđeno je da ima malo ili nikakvo antibakterijsko djelovanje, ali je pokazao snažno citotoksično djelovanje na nekoliko ljudskih staničnih linija raka, bez utjecaja na normalne stanice [26].



Slika 5 . Struktura romidepsina [25]

Studija koja je provedena s ciljem proučavanja romidepsina kao antitumorskog agensa pokazala je da je intraperitonealna primjena romidepsina produljila životni vijek miševa kojima su bili implantirani tumori kao što su P388, L1210 leukemija te B16 melanom. Također je pokazano da je intravenozna injekcija spoja inhibirala rast tumorskih stanica ksenotransplantacijskih tumora i kod miša (kolon 38 karcinom, M0076 retikulum stanični sarkom, Meth A fibrosarkom) i čovjeka (Lu-65 i LC-6-JCK karcinomi pluća velikih stanica, SC-6 adenokarcinom želuca). Ovaj biciklički depsipeptid pokazuje snažno antitumorsko djelovanje na P388 stanice koje su otporne na više lijekova uključujući mitomicin C, ciklofosamid, vinkristin te 5-fluorouracil [24].

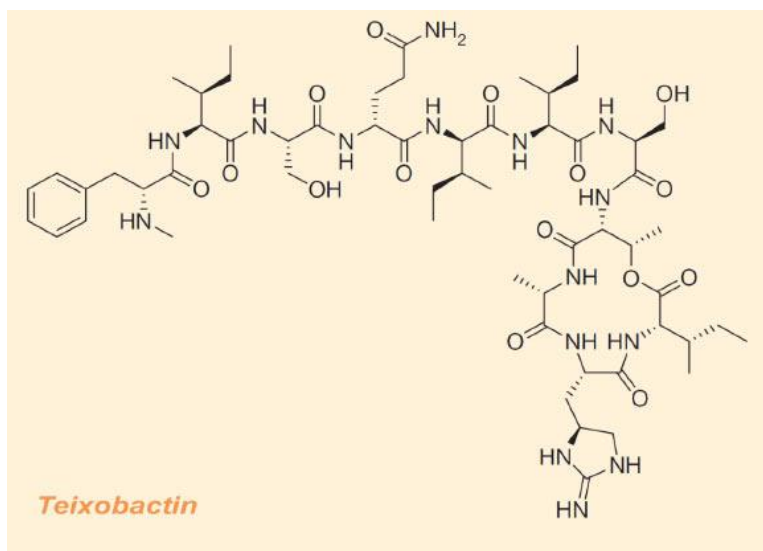
Romidepsin isto tako djeluje i kao predlijevak tako što dolazi do redukcije disulfidne veze u stanici što dovodi do oslobođenja tiola koji veže cink. Oslobođeni tiol veže se na atom

cinka u veznom mjestu Zn-ovisne histon deacetilaze, blokira njegovu aktivnost i tako djeluje kao HDAC inhibitor. Mnogi HDAC inhibitori, zbog sposobnosti epigenetičkog obnavljanja normalne ekspresije tumor supresijskih gena što dovodi do zastoja staničnog ciklusa, diferencijacije i apoptoze, predstavljaju potentne komponente u borbi protiv raka [26].

Romidepsin je intravenozno primijenjen inhibitor histonske deacetilaze i antineoplastični agens koji je odobren za uporabu u refraktornim ili relapsiranim kožnim i perifernim limfomima T stanica. Također, odobren je za liječenje bolesnika s kožnim limfomom T-stanica koji su već liječeni barem još jednom vrstom sistemske terapije te bolesnika s perifernim limfomom T-stanica koji su već liječeni barem jednom vrstom druge terapije. Isto tako se proučava u liječenju drugih vrsta raka [22]. Nije poznato izlučuje li se romidepsin u majčino mlijeko. Zbog potencijalnih ozbiljnih nuspojava u dojenčadi, preporuka je da se odluči da li je bolje prekinuti dojenje ili prekinuti uzimanje lijeka, uzimajući u obzir važnost liječenja za majku [27].

2.4.2. Teixobactin

Teixobactin predstavlja prvog člana novije klase antibiotika koji djeluje na inhibiciju sinteze stanične stijenke bakterija (slika 6). On veže više prekursora stanične stijenke i tako inhibira sintezu peptidoglikana i teikoične kiseline koji čine građevne elemente stanične stijenke.



Slika 6. Struktura teixobactina [28]

Razvoj rezistencije bakterija na antibiotike glavna je prijetnja zdravlja ljudi. Potreban je stalan razvoj novih antibiotika kako bi se održao korak s pojavom i širenjem rezistencije na antibiotike kod patogenih bakterija.

Jedan od pristupa otkrivanju novih antibiotika je poboljšanje naših sposobnosti kod uzgoja mikroorganizama koji proizvode komponente koje mogu djelovati baktericidno. Kod jednog takvog organizma *Eleftheria terrae* (prethodno nekultivirana gram-negativna betaproteobakterija), pronađeno je da proizvodi depsipeptid teixobactin koji se može koristiti kao antibiotik. On inhibira biosintezu stanične stijenke bakterija i predstavlja novu klasu antibiotika.

Bakterijska stanična stijenka sadrži slojeve peptidoglikana, umrežen matriks linearnih glikanskih lanaca. U gram-pozitivnim bakterijama teikoična kiselina je također glavna komponenta stanične stijenke. TA kiselina ima važnu ulogu u bakterijskoj fiziologiji, a inhibicija njene biosinteza važna je metoda za razvoj antibiotika.

Dokazano je da teixobactin veže lipid II, prekursor biosinteze peptidoglikana i lipid III, prekursor biosinteze teikoične kiseline. Zanimljivo teixobactin je sposoban za superiornu baktericidnu i bakteriolitičku aktivnost u usporedbi s drugim antibioticima koji djeluju na stijenku bakterijskih stanica, beta-lactam oxacilin ili glikopeptid vancomycin. Također, u brojnim *in vitro* studijama nije otkrivena rezistencija bakterija na ovaj spoj. Pokazala se sposobnost sintergističnog efekta teixobactina gdje istodobno inhibira sintezu peptidoglikana i teikoične kiseline, što rezultira povećanim oštećenjem stanične stijenke, delokalizacijom, kasnijom autolizom i staničnom smrću.

Teixobactin je pokazao da ima izvrsnu baktericidnu aktivnost na *S. aureus*. Izlaganje teixobactinu dovodi do kolapsa stanične stijenke, dok je, primjerice, oštećenje stanične stijenke uzrokovano djelovanjem vancomicina puno manje [29].

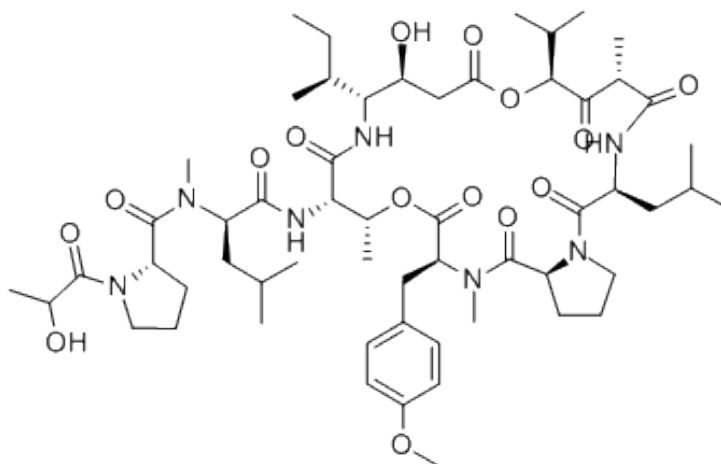
2.4.3. Didemnin B

Skupina spojeva didemnini čini grupu blisko povezanih depsipeptida dobivenih iz *Trididemnum solidum* (Karibski plaštenjak), iz obitelji *Didemnidae* koja je član roda *Trididemnum*. Rinehart i suradnici tijekom istraživanja prirodnih produkata prikupljenih iz plaštenjaka primjetili su da metanolno-toluenski ekstrakt omotača plaštenjaka pokazuje snažan inhibitorni učinak na rast herpes simplex virusa tipa 1 u uzgojenim CV-1 stanicama iz

tkiva bubrega majmuna. Ekstrakt je također pokazao inhibitornu aktivnost protiv DNA i RNA virusa [30].

Prvo izvješće o imunosupresivnoj aktivnosti didemnina *in vitro* i *in vivo* objavljeno je od strane Montgomery i suradnika. Jedno od brojnih njihovih istraživanja koja su uključivala didemnin B je i ovo koje ispituje didemnin B kao imunosupresivni agens (slika 7). Blastogeneza limfocita, kada je prethodno stimulirana mitogenim agensima, bila je značajno inhibirana didemninom B kada je lijek odmah primijenjen. Nakon aktivacije aloantigenom, direktno liječenje didemninom B snažno inhibira aktivaciju limfocita ($IC_{90} = 10 \text{ pg / ml}$), međutim kada je lijek dodan 72 sata nakon mitogenog stimulusa, potentnost inhibicije je pala za dva do tri reda veličine. Ovaj rezultat sugerira da didemnin B može djelovati na stanice u ranim fazama aktivacije limfocita [30].

Među skupinom spojeva *Didemnin*, didemnin B ima najjaču antitumorsku aktivnost te je pokazao antiproliferativno djelovanje na ljudske stanične linije karcinoma prostate, a osim toga inhibira i sintezu RNA, DNA i proteina. Znatni dokazi o aktivnosti u predkliničkim modelima s profilom ovisnog o dozi i profilom tolerantnim toksičnostima doveli su do kliničkih ispitivanja I. faze, što čini ovaj depsipeptid prvim morskim prirodnim proizvodom koji se ocjenjuje u kliničkim ispitivanjima [32].



Slika 7. Struktura didemnin B [31]

Didemnin depsipeptidi pokazuju citotoksično djelovanje na stanične linije raka inhibicijom sinteze proteina *in vitro*. Predloženo je da se sinteza proteina može inhibirati vezanjem *Didemnina* na kompleks ribosoma-EF-1 α , budući da postoji korelacija između inhibicije sinteze proteina u staničnim lizatima i humanih stanica adenokarcinoma MCF-7 [32].

Didemnin B je i biološki i klinički interesantan jer djeluje na sposobnost preživljavanja stanica raka *in vitro* i *in vivo* mehanizmom koji se, iako nije dobro shvaćen, jasno razlikuje od drugih poznatih antineoplastičnih sredstava. Kemoterapeutska aktivnost didemnina B je prvi put okarakterizirana kod leukemije, a analogu dehidrodidemnin B odobren je status lijeka za lijekove kod liječenja akutne limfoblastične leukemije (ALL), iako se čini da njegova terapijska korist nije ograničena na hematološke malignosti.

Kroz identifikaciju i karakterizaciju multilinijskih tumorskih staničnih linija koje značajno odgovaraju na didemnin B, otkrilo se da spoj snažno inducira apoptozu u identificiranoj podgrupi staničnih linija ljudskog raka, kroz dvostruku inhibiciju palmitoil-protein tioesteraze 1 (PPT1) i eukariotski faktor elongacije translacije 1 alfa 1 (EEF1A1) [33].

3. ZAKLJUČAK

- Depsipeptidi čine jednu podvrstu peptidomimetika gdje dolazi do funkcionalne zamijene amidne veze sa esterskom vezom.
- Depsipeptidi su spojevi koji se mogu pronaći u mnogim prirodnim organizmima kao što su gljive, bakterije i morski organizmi. Čine važan izvor farmakološki aktivnih spojeva, odnosno inicijalnih struktura za razvoj novih sintetički dobivenih lijekova.
- Sintezom depsipeptida omogućeno je bolje shvaćanje odnosa između strukture i aktivnosti depsipeptida, ali isto tako su otvorene razne mogućnosti pronalaska novih potencijalnih komponenti ove klase.
- Romidepsin je biciklički depsipeptid, odobren je za liječenje bolesnika s kožnim limfomom T-stanica.
- Teixobactin predstavlja prvog člana novije klase antibiotika koji djeluje na inhibiciju sinteze stanične stijenke bakterija.
- Kemoterapeutska aktivnost didemnina B je prvi put okarakterizirana kod leukemije, a analogu dehidrodidemnin B odobren je status lijeka za lijekove kod liječenja akutne limfoblastične leukemije (ALL), iako se čini da njegova terapijska korist nije ograničena na hematološke malignosti.
- Sinteza i izolacija raznih vrsta depsipeptida pruža veliki potencijal za daljnji razvoj i unapređenje biološki aktivnih spojeva.

4. POPIS LITERATURE

- [1] Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. (2002) *Biochemistry*, 5. izd. str. 5
- [2] Jerić I. (2004) Peptidni mimetici: zašto i kako? *Kem. Ind.* **53**: 495 - 504.
- [3] Ahn J. M., Boyle N. A., MacDonald M. T., Janda K. D. (2002) Peptidomimetics and Peptide Backbone Modifications. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* **2**: 463 - 473.
- [4] Stawikowski M. J., Cudic P. (2007) *Peptide Characterization and Application Protocols*, 1. izd., Springer. str. 321 - 339.
- [5] Genetics Home Reference (2019) What are proteins and what do they do?, <<https://ghr.nlm.nih.gov/primer/howgeneswork/protein>> Pristupljeno 9. travnja 2019.
- [6] Encyclopedia Britannica (2018) Amino acid CHEMICAL COMPOUND, <<https://www.britannica.com/science/amino-acid>> Pristupljeno 9. travnja 2019.
- [7] Yassine Mrabet (2007) Structure générale d'un acide aminé, <https://en.wikipedia.org/wiki/Amino_acid#/media/File:AminoAcidball.svg> Pristupljeno 9. travnja 2019.
- [8] Ross N. T., Katt W. P., Hamilton A. D. (2010) Synthetic mimetics of protein secondary structure domains. *Philosophical Transactions of The Royal Society A Mathematical Physical and Engineering Sciences* **368**: 989-1008.
- [9] Sciente Notes (2017) What Are Proteins? Protein Definition, Funcions, Examples <<https://sciencenotes.org/what-are-proteins/>> Pristupljeno 9. travnja 2019.
- [10] MedicineNet (2018) Definition of Proteins <<https://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=15380>> Pristupljeno 9. travnja 2019.
- [11] Avan I., Hall C.D., Katritzky A.R. (2014) Peptidomimetics via modifications of amino acids and peptide bonds. *Chemical Society Reviews* **43**: 3575.
- [12] Góngora-Benítez M., Tulla-Puche J., Albericio F. (2014) Multifaceted Roles of Disulfide Bonds. Peptides as Therapeutics. *Chemical Reviews* **114(2)**: 901 – 926.
- [13] Jiang S., Li Z., Ding K., Roller P.P. (2008) Recent Progress of Synthetic Studies to Peptide and Peptidomimetic Cyclization. *Current Organic Chemistry* **12**: 1502 - 1542.

- [14] Okada Y. (2001) Synthesis of Peptides by Solution Methods. *Current Organic Chemistry* **5**: 1 - 43.
- [15] Bodanszky M.(1984) Principles of Peptide Synthesis, 1. izd., str. 1-2.
- [16] Guzmán F., Barberis S., Illanes A. (2007) Peptide synthesis: chemical or enzymatic. *Electronic Journal of Biotechnology* **10**: 279-314.
- [17] Paradis-Bas M., Tulla-Puche J., Albericio F. (2016) The road to the synthesis of "difficult peptides". *Chemical Society Reviews* **45**: 631 - 654.
- [18] Kent S.B.H. (2008) Total chemical synthesis of proteins. *Chemical Society Reviews* **38**: 338 - 351.
- [19] Lloyd-Williams P., Albericio F., Giralt E. (1997) Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, 1. izd. str. 123.
- [20] Merrifield B. (1986) Solid phase Synthesis. *Science* **232 (4748)**: 341-347.
- [21] Jerić I., Powerpoint prezentacija s predavanja „Peptidomimetici“
- [22] Coin I., Beyermann M., Bienert M. (2007) Solid-phase peptide synthesis: from standard procedures to the synthesis of difficult sequences. *Nature Protocols* **2**: 3247 - 3256.
- [23] Stigers K. D., Koutroulis M. R., Chung D. M., Nowick J.S. (2000) Fmoc*: A More Soluble Analogue of the 9-Fluorenylmethoxycarbonyl Protecting Group. *The Journal of Organic Chemistry* **65**: 3858 – 3869.
- [24] Kitagakia J., Shic G., Miyauchia S., Murakamia S., Yangd Y. (2015) Cyclic depsipeptides as potential cancer therapeutics. *Anti-Cancer Drugs* **26**: 259 – 271.
- [25] Li K. W., Wu J., Xing W., Simon J. A. (1996) Total synthesis of the antitumor depsipeptide FR-901 228. *Journal of the American Chemical Society* **118 (30)**: 7237–8
- [26] Ueda H., Nakajima H., Hori Y., et al. (1994) "FR901228, a novel antitumor bicyclic depsipeptide produced by *Chromobacterium violaceum* Taxonomy, fermentation, isolation, physico-chemical and biological properties, and antitumor activity". *Journal of Antibiotics* **47 (3)**: 301–310.
- [27] PubChem (2006)
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5352062>> Pristupljeno 23. travnja 2019.

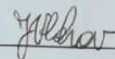
- [28] SCI NEWS (2015), Teixobactin: Powerful New Antibiotic Kills Drug-Resistant Bacteria <<http://www.sci-news.com/medicine/science-teixobactin-new-antibiotic-drug-resistant-bacteria-02392.html>> Pristupljeno 23. travnja 2019.
- [29] Homma T., Nuxoll A., Gandt A.B., Ebner P., Engels I., Schneider T., Götz F., Lewis K., Conlon B.P. (2016) Dual targeting of cell wall precursors by teixobactin leads to cell lysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **60**: 6510 – 6517.
- [30] Vera M.D., Joullié M.M. (2002) Natural Products as Probes of Cell Biology: 20 Years of Didemnin Research. *Medicinal Research Reviews* **22**: 102- 145.
- [31] Chemical Book (2017), Didemnin B Produkt Beschreibung <https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_DE_CB51247302.htm> Pristupljeno 7. svibnja 2019.
- [32] Suarez-Jimenez G.-M., Burgos-Hernandez A., Ezquerra-Brauer J.-M. (2012) Bioactive Peptides and Depsipeptides with Anticancer Potential: Sources from Marine Animals. *Marine Drugs* **10**: 963 – 986.
- [33] Potts M. B., McMillan E. A., Rosales T. I., Kim H. S., Ou Y.-H., Toombs J. E., Brekken R. A., Minden M. D., MacMillan J. B., White M. A. (2015) Mode of action and pharmacogenomic Biomarkers for exceptional responders to didemnin B. *Nature Chemical Biology* **11**: 401 – 408.

Zadnja stranica završnog rada

(uključiti u konačnu verziju završnog rada u pdf formatu, kao skeniranu potpisanu stranicu)

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.



ime i prezime studenta