

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Спектор Даниил Викторович

**Синтез новых органических производных платины(IV) с
противоопухолевым действием**

1.4.3 – Органическая химия

1.4.16 – Медицинская химия

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель
Кандидат химических наук
Красновская Ольга Олеговна

Москва - 2023

Оглавление

Оглавление

Оглавление.....	2
1. Введение.....	4
2. Обзор литературы.....	9
2.1 Введение.....	9
2.2 Синтетические подходы при создании и модификации пролекарств Pt(IV).	11
2.2.1 Синтез координационных соединений Pt(IV) окислением соединений Pt(II).	12
2.2.2 Модификация O-нуклеофила при центре Pt(IV).....	13
2.2.3. Модификация аксиальных лигандов пролекарств Pt(IV).....	29
2.2.4. Выводы о методах синтеза модификации пролекарств Pt(IV)	32
2.3 Биологическая активность пролекарств Pt(IV)	33
2.3.1 Пролекарства Pt(IV) с лигандами, обладающими цитотоксическим действием.	33
2.3.2. Пролекарства Pt(IV) с лигандами, преодолевающими резистентность к цисплатину	49
2.3.3. Пролекарства Pt(IV) с нестероидными противовоспалительными препаратами	52
2.3.4. Пролекарства Pt(IV) с лигандами, способствующие повышенной селективности	56
2.3.5. Пролекарства Pt(IV) с фотоактивными лигандами.	60
2.3.6. Пролекарства Pt(IV) с лигандами, способствующие контролируемому высвобождению под действием ультразвука	74
2.4. Заключение	75
3. Обсуждение результатов	78
3.1. Синтез пролекарств Pt(IV).....	79
3.1.1. Синтез пролекарств Pt(IV) с биоактивными лигандами с повышенной липофильностью.....	80
3.1.2. Синтез пролекарств Pt(IV) с лигандами, проявляющими чувствительность к гипоксии.	87
3.1.3. Синтез пролекарств Pt(IV) с фотоактивными лигандами в аксиальном положении, способные к контролируемому высвобождению.	93
3.2. Исследование физико-химических свойств пролекарств Pt(IV).	111
3.2.1. Определение потенциалов восстановления пролекарств Pt(IV) с использованием циклической вольтамперометрии	111
3.2.2. Исследование стабильности пролекарств Pt(IV) в водных средах.....	112
3.2.3. Определение липофильности пролекарств Pt(IV).....	113
3.3. Исследование биологической активности пролекарств Pt(IV).....	115
3.3.1. Исследование антипролиферативной активности пролекарств Pt(IV).’	115

3.3.2. Исследование фототоксичности пролекарств Pt(IV), способных контролируемо высвободить координационные соединения Pt(II).....	118
3.3.3. Исследование внутриклеточного накопления пролекарств Pt(IV).....	122
3.4. Исследование фотохимических свойств пролекарств Pt(IV) с фотоактивными лигандами:	124
3.4.1. Спектры поглощения исследуемых пролекарств.....	124
3.4.2. Исследование способности пролекарств Pt(IV) с фотоактивными лигандами к фотовосстановлению.....	125
3.4.3. Исследование фотохимических свойств пролекарства Pt(IV) с лигандом на основе тетраацетилрибофлавина.....	129
3.4.4. Исследование фотохимических свойств пролекарств Pt(IV) с лигандами на основе бор-дипиррометенов	132
3.5. Исследование внутриклеточной стабильности пролекарств Pt(IV) в опухолевых клетках линии MCF-7 и A549 методом XANES:	136
3.6. Исследование внутриклеточного метаболизма пролекарств Pt(IV) в трёхмерных клеточных культурах с использованием платинированного нанозэлектрода	139
3.6.1. Детектирование цисплатина в сфероиды линии MCF-7 после инкубации с пролекарствами Pt(IV)	140
3.6.2. Исследование фотоиндуцированного высвобождения цисплатина и образования АФК в сфероиды, преинкубированных с фотоактивными пролекарствами Pt(IV).	144
3.7. Исследование противоопухолевой эффективности пролекарств Pt(IV) <i>in vivo</i> :	146
3.7.1. Предварительное испытание противоопухолевой эффективности пролекарства Pt(IV) на опухоли ЕМТ-6 в мышцах BALB/C	146
3.7.2. Детектирование цисплатина в опухолях ЕМТ-6 с использованием платинированного нанозэлектрода.....	147
4. Экспериментальная часть.....	150
4.1. Общие сведения.....	150
4.2. Синтез органических соединений и пролекарств Pt(IV)	163
4.2.1. Синтез пролекарств Pt(IV) с биоактивными лигандами на основе 2-тиоимидазол-4-онов и нестероидных противовоспалительных препаратов (НСПВП).....	163
4.2.2. Синтез пролекарств Pt(IV) с лигандами, чувствительными к гипоксии	178
4.2.3. Синтез пролекарств Pt(IV) с фотоактивными лигандами в аксиальном положении.	190
Заключение	220
Список сокращений	222
Список литературы	223

1. Введение

Актуальность работы. Противоопухолевые препараты на основе координационных соединений Pt(II), такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин, несмотря на широкое применение в онкологической практике, обладают рядом критических недостатков, таких как высокая токсичность к здоровым органам и тканям, а также возникновение в ходе терапии резистентности злокачественных новообразований.

Перспективным подходом к преодолению недостатков традиционной терапии соединениями Pt(II) является создание пролекарств на основе октаэдрических координационных соединений Pt(IV), которые меньше подвержены неселективному лигандному обмену, при этом во внутриклеточной среде высвобождают цитотоксические препараты Pt(II). В аксиальные положения пролекарств Pt(IV) возможно вводить различные биологически активные органические лиганды, варьируя таким образом физико-химические свойства и биологическую активность пролекарств. Таким образом, создание эффективных пролекарств Pt(IV), способных преодолеть недостатки традиционных препаратов Pt(II) является актуальной задачей.

Степень разработанности темы. К настоящему времени опубликовано большое количество исследований, посвящённых дизайну и исследованию биологического действия пролекарств Pt(IV), однако известны единичные примеры пролекарств Pt(IV), противоопухолевая эффективность которых превосходит таковую для традиционных препаратов Pt(II). Кроме того, известно ограниченное количество пролекарств Pt(IV), для которых показана способность оказывать терапевтическое действие в условиях гипоксии. Также, в литературе представлен ряд пролекарств Pt(IV), способных к контролируемому фотовысвобождению, однако известны единичные примеры пролекарств двойного действия, способных контролируемым образом высвободить препараты Pt(II) и образовывать АФК под действием света в видимой области; кроме того, единичные пролекарства Pt(IV) способны поглощать в БИК-диапазоне.

Целью исследования является разработка синтетических подходов к созданию пролекарств Pt(IV), дизайн и синтез новых пролекарств Pt(IV) с биоактивными лигандами в аксиальном положении, превосходящих по своей эффективности цисплатин, исследование антипролиферативной активности полученных соединений и способности высвободить цисплатин в *in vitro* и *in vivo*.

Задачами работы были: 1) Разработка и оптимизация подходов к синтезу дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе нестероидных противовоспалительных препаратов (НСПВП); 2) Поиск и оптимизация синтетических подходов к получению монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе

НСПВП и оптимизация синтетических подходов к созданию несимметричных дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) на их основе; 3) Разработка и оптимизация синтетических подходов к получению потенциально чувствительных к гипоксии пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе азоароматических соединений и нитроимидазолов; 4) Разработка и оптимизация синтетических подходов к получению фотоактивных пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе производных рибофлавина и бор-дипиррометенов; 5) Изучение антипролиферативной активности разработанных пролекарств Pt(IV) и выявление зависимости «структура-активность»; 6) Изучение фотоконтролируемого восстановления пролекарств Pt(IV) с фотоактивными аксиальными лигандами; 7) Изучение способности разработанных пролекарств Pt(IV) высвобождать цисплатин *in vitro*; 8) Исследование терапевтической эффективности отдельных пролекарств Pt(IV) *in vivo*, а также изучение способности пролекарств доставлять цисплатин в опухоли *in vivo*.

Объектом исследования являются пролекарства Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе НСПВП, нитроимидазолов, азоароматических соединений, биотина, рибофлавина, бор-дипиррометенов.

Предметом исследования являлись методы синтеза пролекарств Pt(IV) с биоактивными лигандами в аксиальном положении, исследование чувствительности пролекарств с нитроимидазолами и азо-производными в аксиальном положении к гипоксическим условиям, способности пролекарств Pt(IV) с рибофлавином и бор-дипиррометенами к контролируемой фотоактивации, исследование антипролиферативной активности полученных соединений, исследование терапевтической эффективности, а также детектирование цисплатина в опухоли *in vivo* после внутривенного введения пролекарств Pt(IV).

Научная новизна работы состоит в том, что: 1) Впервые получены пролекарства Pt(IV), содержащие в аксиальном положении лиганды на основе НСПВП, метронидазола, 2-нитроимидазола, азоароматических производных, а также производных рибофлавина и бор-дипиррометенов; 2) Разработаны новые препаративные методики синтеза пролекарств Pt(IV), основанные на введении органического фрагмента в аксиальное положение с использованием линкера на основе карбамата, или медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения; 3) Изучена цитотоксическая активность полученных пролекарств Pt(IV), определены факторы, оказывающие влияние на их антипролиферативную активность; 4) Изучен процесс фотоконтролируемого восстановления координационных соединений Pt(IV) с производным рибофлавина и бор-дипиррометенами в аксиальном положении; 5) Исследован профиль распределения цисплатина, образующегося при восстановлении пролекарств Pt(IV) в трёхмерных клеточных культурах *in vitro* и опухолях *in vivo* с использованием наноразмерного электрода.

Практическая и теоретическая значимость работы: 1) Разработаны препаративные методы получения пролекарств Pt(IV) с лигандами-производными НСПВП, метронидазола, 2-нитроимидазола, азоароматических производных, рибофлавина и бор-дипиррометенов; 2) Показано, что липофильность оказывает ключевое влияние на антипролиферативную активность пролекарств Pt(IV), определены наиболее активные соединения - пролекарства Pt(IV) с аксиальными лигандами-производными напроксена, флурбипрофена, метронидазола и рибофлавина; 3) Доказана способность пролекарств с аксиальными лигандами на основе рибофлавина и бор-дипиррометенов к контролируемому высвобождению цисплатина под действием света в видимой области, изучены механизмы фотоиндуцированного восстановления пролекарств; 4) Изучена способность пролекарств Pt(IV) высвобождать цисплатин в клеточных сфероидедах; 5) Доказана способность пролекарств Pt(IV) с производными рибофлавина и бор-дипиррометенов в аксиальном положении к контролируемому высвобождению цисплатина и образованию активных форм кислорода при облучении светом в видимой области, в том числе в трёхмерных клеточных сфероидедах; 6) Показана способность разработанных пролекарств доставлять цисплатин в опухоли *in vivo*.

Методология диссертационного исследования Методологическая часть исследования состояла в разработке методов синтеза пролекарств Pt(IV) и соответствующих органических лигандов в аксиальном положении. Целевые пролекарства Pt(IV) были получены с использованием реакций этерификации, медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения. Синтез органических лигандов проводился с использованием методов, основанных на реакциях карбодиимидного синтеза, этерификации, диазотирования, азосочетания, нуклеофильного замещения, декарбоксилирования, конденсации Кнёвенагеля и азид-алкинового циклоприсоединения. Очистка полученных соединений проводилась методами колоночной хроматографии, перекристаллизации. Структура, состав и чистота полученных соединений определялись методами ЯМР, ИК, масс-спектрометрии высокого разрешения, и ВЭЖХ.

Положения, выносимые на защиту:

Новые пролекарства Pt(IV) с лигандами на основе метронидазола, 2-нитроимидазола, азоароматических производных, рибофлавина, и бор-дипиррометенов могут быть получены с препаративными выходами; оптимальными синтетическими подходами для получения пролекарств Pt(IV) с лигандами различной природы являются создание связи органический лиганд – центр Pt(IV) на основе карбамата, а также азид-алкиновое циклоприсоединение;

Антипролиферативная активность пролекарств Pt(IV) определяется рядом факторов, таких как природа аксиального лиганда, липофильность координационного соединения, природа

линкера между аксиальным лигандом и центром Pt(IV), а также скоростью восстановления пролекарства;

Оптимальная липофильность пролекарств Pt(IV) позволяет значительно повысить эффективность пролекарств Pt(IV) в сравнении с цисплатином, что подтверждается как значительным увеличением антипролиферативной активности пролекарств, так и повышенным накоплением в биологических системах;

Пролекарства Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе рибофлавина и бордипиррометенов представляют собой агенты фотоактивируемой химиотерапии, которые под действием излучения способны высвободить цитотоксический комплекс Pt(II) путём переноса электрона с возбуждённого аксиального лиганда на центр Pt(IV); фотоактивируемые пролекарства Pt(IV), способные образовывать триплетные состояния представляют собой агенты двойного действия, образующие АФК при облучении;

Пролекарство Pt(IV) с НСПВП флурбипрофеном в качестве аксиального лиганда превосходит в терапевтической эффективности цисплатин в предварительных испытаниях *in vivo*, а также способно эффективно доставлять цисплатин в опухоль после внутривенного введения.

Личный вклад автора. Автором был произведён поиск, анализ и систематизация литературных данных по теме исследования, в ходе работы было опубликовано три обзора литературы по тематике исследования. Автором был проведён синтез промежуточных и целевых органических соединений, пролекарств Pt(IV), их очистка, интерпретация результатов их структурного анализа. Автором были проведены эксперименты по исследованию стабильности и фотовосстановления пролекарств Pt(IV), анализ результатов физико-химических и биологических исследований. Автор принимал участие в подготовке плана исследований, разработке методологий всех приведенных в исследовании экспериментов, непосредственном проведении экспериментов, обсуждении полученных результатов, и подготовке их к публикации. Автор принимал участие подборе формуляции для исследований *in vivo*, а также в самих исследованиях.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 статей в рецензируемых научных журналах, индексируемых международными базами (Web Of Science, Scopus) и рекомендованных диссертационным советом МГУ для публикации результатов научно-квалификационных работ.

Апробация работы. Результаты работы были представлены в виде устных и стендовых докладах на следующих конференциях: Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022», Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения» (WSOC-2022) (Сочи, Россия); Всероссийская научная конференция

«Марковниковские чтения» (WSOC-2021) (Сочи, Россия); Кост-2021. Всероссийский конгресс по химии гетероциклических соединений (Сочи, Россия, 12-16 октября 2021); Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения» (WSOC-2020) (Красновидово, Россия, 2020); The Fifth International Scientific Conference «Advances In Synthesis And Complexing», Science, Technology and Life – 2019: VI International scientific conference.

Структура и объем работы. Работа состоит из шести разделов: введения, обзора литературы на тему «Пролекарства Pt(IV) как альтернатива препаратам Pt(II): синтез и биологическое действие», обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 249 листах машинописного текста, содержит 69 схем, 81 рисунок и 22 таблицы. Список цитируемой литературы включает 250 наименований.

2. Обзор литературы

Пролекарства Pt(IV) как альтернатива препаратам Pt(II): синтез и биологическое действие

2.1 Введение

Координационные соединения Pt(II) применяются в терапии онкологических заболеваний с момента открытия цитотоксических свойств цисплатина в середине прошлого века [1,2]. На сегодняшний день агентством по контролю за качеством лекарственных препаратов США FDA одобрено для клинического применения три препарата Pt(II): цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин (Рис. 1). Кроме того, в Японии препарат Недаплатин одобрен для лечения рака лёгких и шеи, лобаплатин допущен в Китае для терапии метастатического рака груди, а гептаплатин применяется в Корее при лечении рака желудка (Рис. 1).

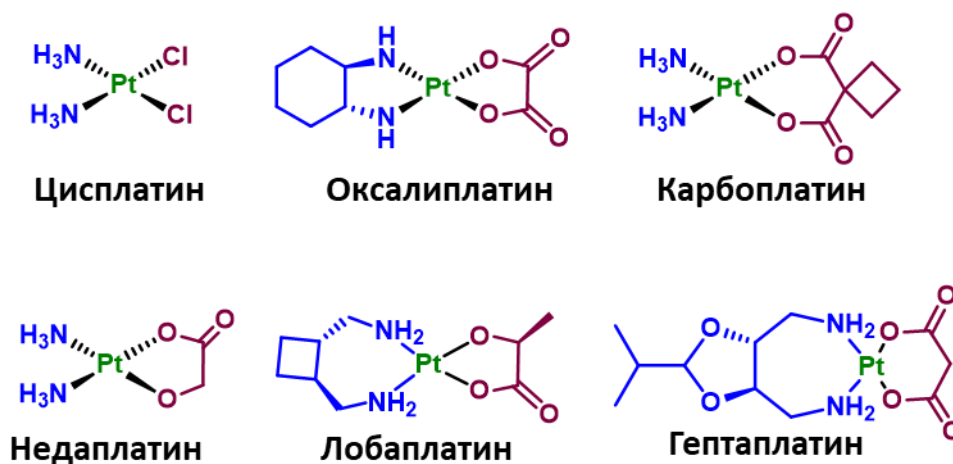


Рисунок 1. Препараты Pt(II) цисплатин, оксалиплатин, карбоплатин, одобренные FDA для терапии опухолевых заболеваний (верхний ряд), а также недаплатин, лобаплатин, гептаплатин (нижний ряд), одобренные для терапии опухолевых заболеваний в отдельных странах.

Препараты на основе Pt(II) представляют собой координационные плоско-квадратные соединения Pt²⁺, в структуре которых находятся два аммино-лиганда, а также два цис-анионных лиганда [3]. Механизму цитотоксического действия комплексов Pt(II) посвящено большое количество работ [4,5]. Доказано, что препарат Pt(II) проникает в клетку, после чего уходящие лиганды обмениваются на воду, акватированный комплекс Pt(II) связывается с N7-положением пуринового основания ДНК, образуя кросс-сшивки, которые нарушают работу клетки и запускают апоптоз, процесс программируемой клеточной смерти.

Несмотря на широкое использование в клинической практике, препараты на основе Pt(II) обладают рядом критических недостатков. Значительная доля введённого цисплатина, до 90%, необратимо связывается с макромолекулами в кровотоке, и только 1% связывается со своей

терапевтической целью, ядерной ДНК [6]. Неспецифичное связывание является причиной ряда тяжелейших побочных эффектов, вызываемых терапией платиносодержащими препаратами, таких как потеря слуха, нефротоксичность, нейротоксичность [7–10]. Другим важным побочным эффектом является приобретаемая резистентность к терапии, которая снижает эффективность противоопухолевых препаратов Pt(II) за счет ограничения накопления платины в клетках, или дезактивации препаратов внутриклеточно [11,12]. Аналоги цисплатина, такие как оксалиплатин и карбоплатин проявляют меньшую общую токсичность, однако не превосходят цисплатин в селективности или противоопухолевой активности [5,13].

Преодоление вышеуказанных недостатков существующих и создание новых, высокоэффективных противоопухолевых препаратов на основе платины являются актуальными задачами медицинской химии. Для решения данной задачи был разработан ряд подходов, таких как создание аналогов цисплатина с новыми экваториальными лигандами, нетрадиционных транс-платиновых(II) соединений и пролекарств Pt(IV) [14].

Пролекарства Pt(IV) представляют собой октаэдрические низкоспиновые d^6 координационные соединения, состоящие из атома платины, четырёх экваториальных лигандов, идентичных таковым у соединений Pt(II), и двух аксиальных лигандов [15]. Вследствие повышенного координационного числа они меньше подвержены лигандному обмену в кровотоке и, как следствие, побочным реакциям с биологическими макромолекулами [16]. Координационные соединения платины в степени окисления IV не проявляют способности связываться с ДНК [17], но при этом во внутриклеточной среде могут восстанавливаться, высвобождая цитотоксический комплекс Pt(II) и аксиальные лиганды (Рис. 2).

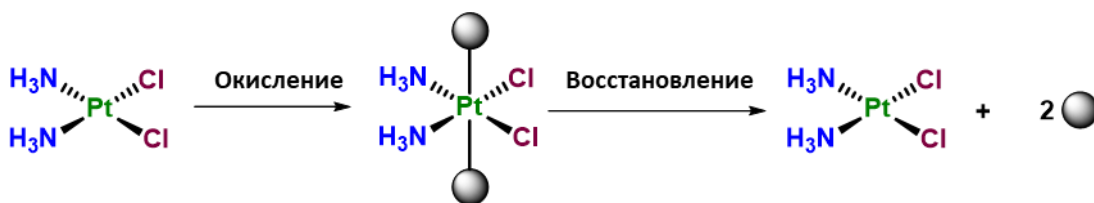


Рисунок 2. Общая схема получения и принцип действия пролекарств Pt(IV).

Поскольку аксиальное положение комплексов Pt(IV) легко поддается модификации, введение различных лигандов в аксиальное положение позволяет не только настраивать физико-химические свойства пролекарств, но также и биологическую активность разрабатываемых соединений [18–20]. Так, введение в аксиальное положение пролекарств Pt(IV) векторных фрагментов позволяет повысить аффинность пролекарств к опухолевым клеткам [21–23], введение цитотоксического аксиального лиганда позволяет получать пролекарства, действующие на несколько терапевтических мишеней [24–27], а использование в качестве аксиальных лигандов

соединений, чувствительных к внешнему физико-химическому воздействию позволяет получать пролекарства контролируемого действия [28–31].

В настоящем обзоре собраны и систематизированы работы, посвящённые методам получения пролекарств Pt(IV), а также исследованию их физико-химических и биологических свойств. Литературный обзор разбит на два основных раздела. В первой части обзора рассматриваются синтетические подходы к получению пролекарств Pt(IV). Вторая часть обзора посвящена обсуждению биологических свойств пролекарств Pt(IV), особое внимание уделяется определению зависимости «структура-активность».

2.2 Синтетические подходы при создании и модификации пролекарств Pt(IV).

Координационные соединения Pt(IV) являются объектом исследований уже более 40 лет [32]. К настоящему моменту, накоплен значительный массив данных касательно синтеза данного класса координационных соединений, что является темой ряда обзоров [15,28]. В данном разделе литературного обзора будут рассмотрены основные подходы к синтезу и модификации пролекарств Pt(IV), и обсуждены преимущества и недостатки рассматриваемых методов синтеза.

Дизайн пролекарств Pt(IV) предполагает синтез кинетически инертного октаэдрического координационного соединения на основе цитотоксического комплекса Pt(II). Синтетическая стратегия при дизайне пролекарств Pt(IV) состоит из следующих этапов: (1) окисление комплекса Pt(II) (2) Модификация гидроксильной группы при Pt(IV) лигандами различной природы (3) Модификация второго нуклеофила при Pt(IV) или дальнейшая модификация лиганда, введённого на стадии (2) (Рис. 3).

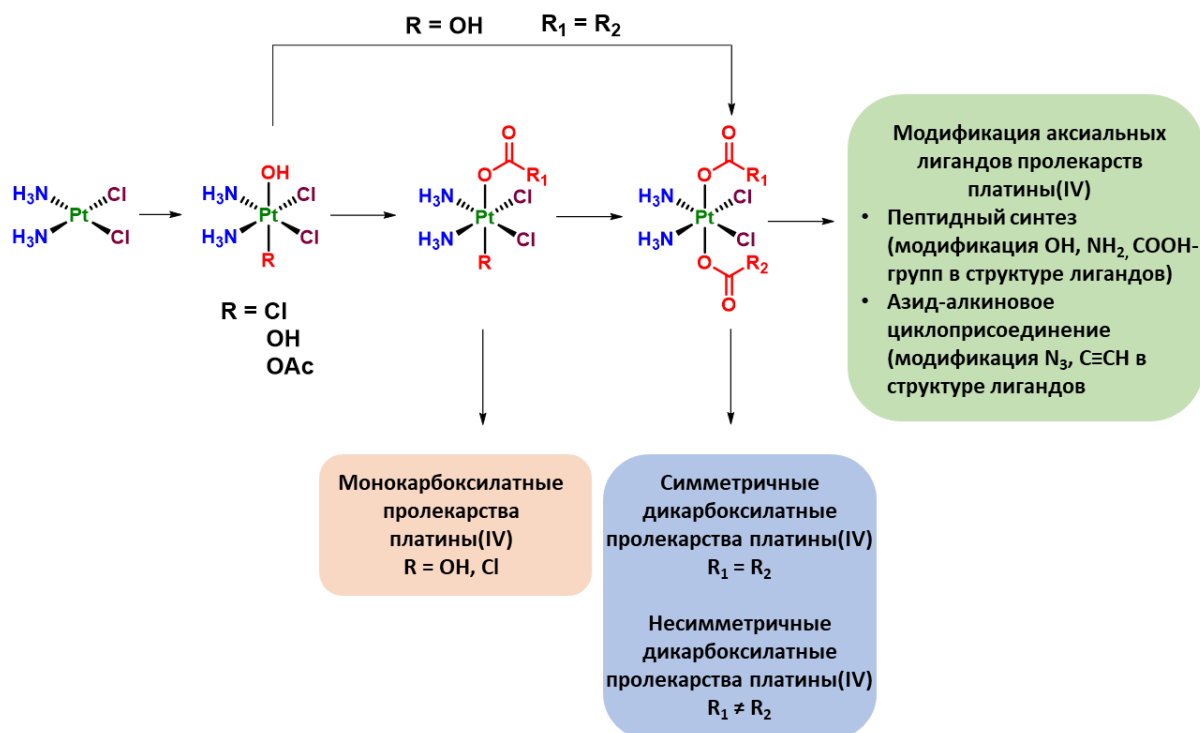


Рисунок 3. Подходы к синтезу и модификации пролекарств Pt(IV)

Далее мы подробно рассмотрим каждый из этих синтетических этапов.

2.2.1 Синтез координационных соединений Pt(IV) окислением соединений Pt(II).

Основной группой синтетических методов для создания координационных соединений Pt(IV) является окисление комплексов Pt(II). В зависимости от условий, в которых проводится реакция, в координационную сферу металла могут быть введены различные аксиальные лиганды.

Наиболее распространёнными окислительными агентами для Pt(II) являются хлор и перекись водорода [33,34]. В результате реакции происходит сохранение конфигурации экваториальных лигандов, два дополнительных лиганда вводятся в координационную сферу Pt(IV) в транс-конфигурации. Продукт реакции при окислении перекисью водорода зависит от растворителя, в котором проводится реакция [35]. Так, при реакции в воде будет получен *cis,cis,trans*-[Pt(NH₃)₂(Cl)₂(OH)₂] (оксоплатин) [36] (Рис. 4, (2)) а в уксусной кислоте - *cis,cis,trans*-[Pt(NH₃)₂(Cl)₂(OH)(OAc)] [37] (Рис. 4, (3)).

В более поздних работах были предложены методы, позволяющие получить асимметричные пролекарства Pt(IV), содержащие в аксиальных положениях хлор и нуклеофильный атом кислорода при мягком окислении с помощью NCS (N-хлоросукцинимид) [38,39] (Рис. 4, (4)). Также, известен необычный пример окисления комплекса Pt(II) в

присутствии перекиси водорода, ацетонитрила и метанола, с введением ацетамида в аксиальное положение [40] (Рис. 4, (5)).

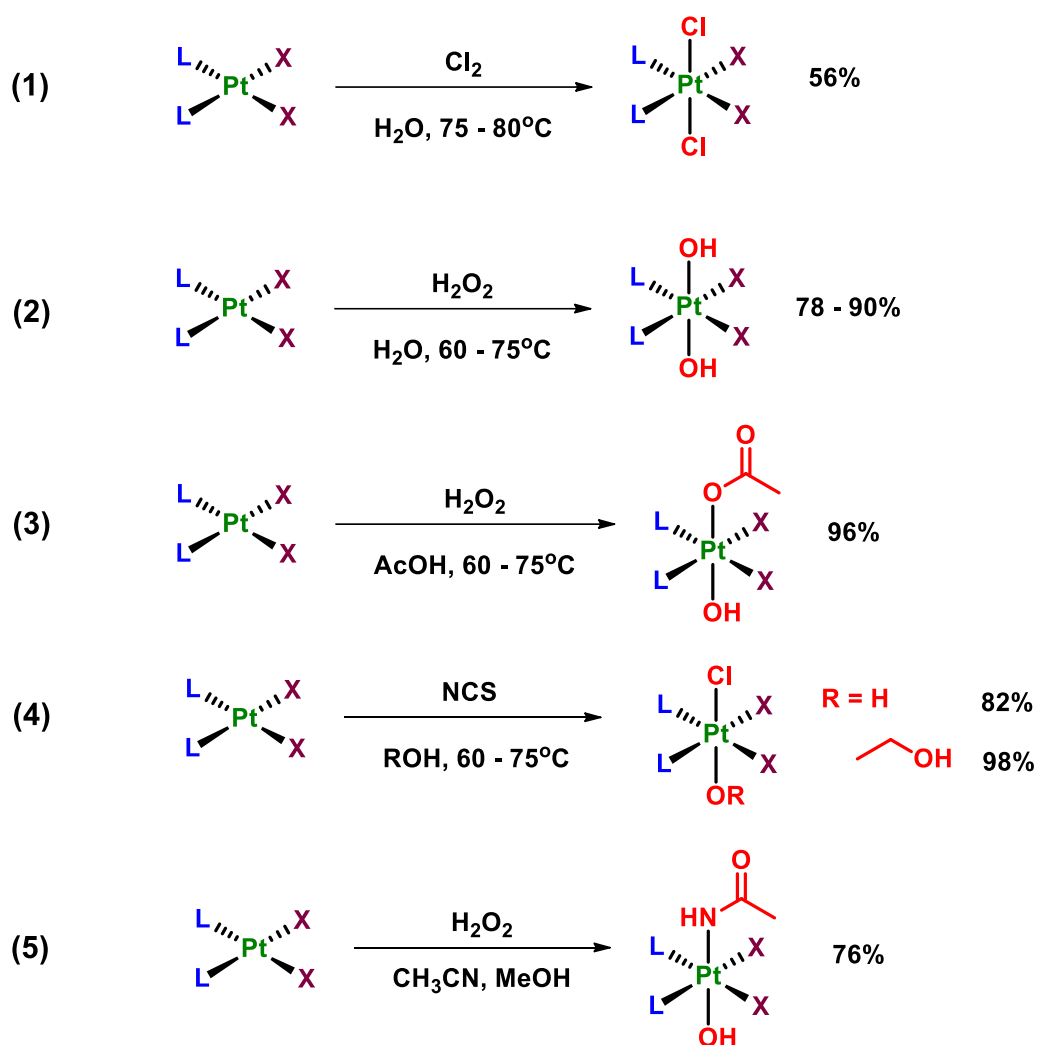


Рисунок 4. Методы окисления координационных соединений Pt(II).

Таким образом, при окислении комплексов Pt(II), варьируя растворитель и окислительные агенты можно получать координационные соединения Pt(IV) с различной природой лигандов в аксиальном положении и различным количеством функциональных групп для дальнейшей модификации. Далее в обзоре будут рассмотрены основные стратегии модификации комплексов Pt(IV), позволяющие ввести различные органические фрагменты в координационное окружение.

2.2.2 Модификация O-нуклеофила при центре Pt(IV)

Модификация комплексов Pt(IV) проводится в подавляющем большинстве источников по O-нуклеофилу при атоме Pt(IV) [41], вследствие чего данные методы являются предметом рассмотрения данного раздела.

2.2.2.1 Введение карбоксильной группы в аксиальное положение комплексов Pt(IV)

Одним из наиболее распространённых способов введения органических фрагментов в аксиальное положение Pt(IV) является группа реакций этерификации с введением карбоксильной группы и получением сложного эфира C(O)O-Pt. Недостатком данного подхода является обязательное наличие в структуре вводимого лиганда карбоксильной группы, что ограничивает число доступных субстратов для введения в качестве аксиальных лигандов.

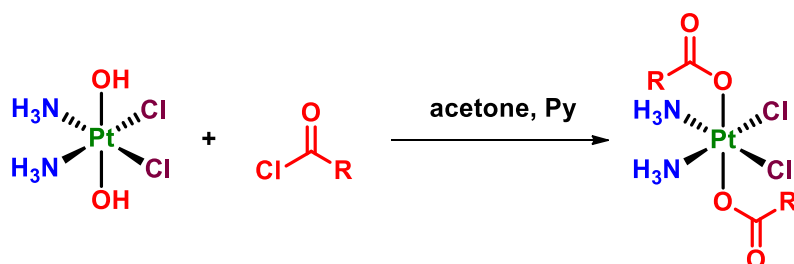
Синтез дикарбоксилатных комплексов Pt(IV)

Используя активный ацилирующий агент и/или большой избыток реагента реакцию этерификации возможно провести по обоим доступным O-нуклеофилам в аксиальном положении Pt(IV). В результате будут получены симметричные дикарбоксилатные комплексы Pt(IV) с двумя одинаковыми органическими фрагментами в аксиальных положениях.

Из хлорангидридов

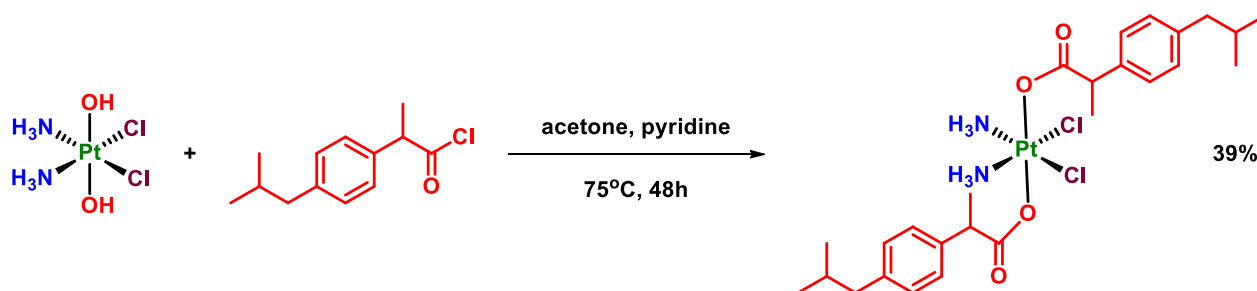
В качестве ацилирующего агента можно использовать ацилхлорид соответствующей карбоновой кислоты, который вводится в реакцию с оксоплатином с получением симметричного дикарбоксилатного координационного соединения Pt(IV) (Схема 1):

Схема 1

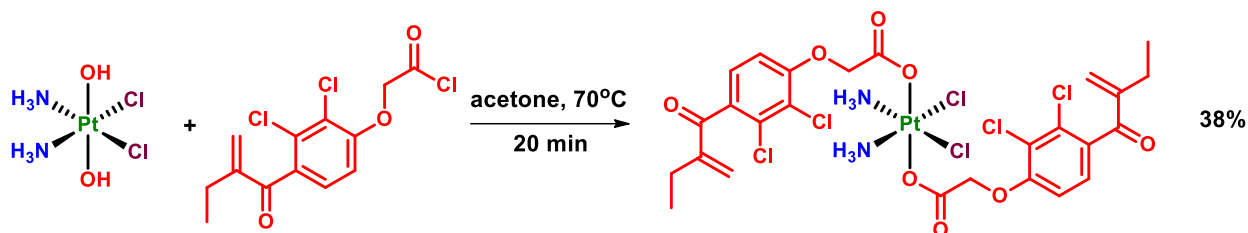


Данный подход был использован в ряде публикаций для получения ряда пролекарств Pt(IV) с нестероидными противовоспалительными препаратами с удовлетворительными выходами (32 – 87%) [42–46]. В частности, пролекарство цисплатина с двумя фрагментами ибупрофена было получено из оксоплатина и хлорангидрида ибупрофена с выходом 39% (Схема 2) [42]:

Схема 2



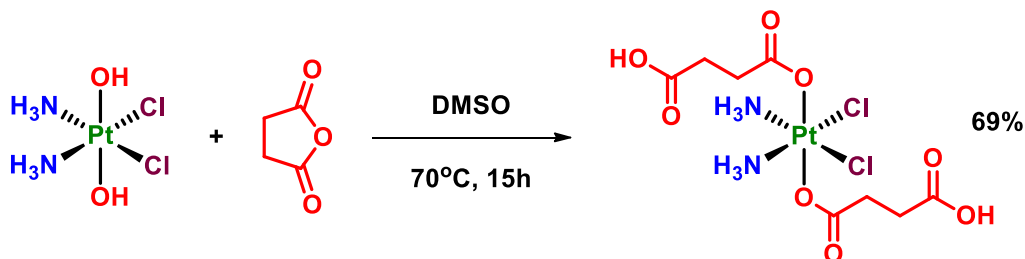
Пролекарство Pt(IV) с двумя фрагментами этакриновой кислоты было получено по реакции оксоплатина с соответствующим ацилхлоридом в ацетоне (Схема 3) [47]:

Схема 3

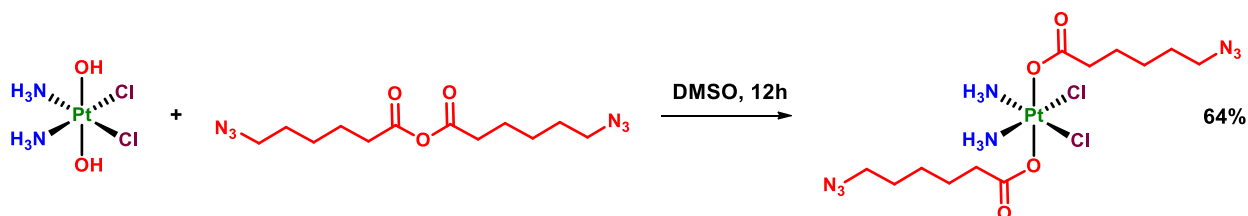
Серьёзным недостатком данного метода являются достаточно жёсткие условия проведения реакций, ограничивающие количество доступных субстратов, а также невозможность остановить реакцию на стадии образования монокарбоксилата.

Из ангидридов

Менее активными ацилирующими агентами по сравнению с ацилхлоридами являются ангидриды карбоновых кислот. В дизайне пролекарств Pt(IV) важную роль занимают ангидриды дикарбоновых кислот, такие как янтарный или глутаровый ангидриды, которые являются коммерчески доступными реагентами, и используются для введения линкера между центром Pt(IV) и лигандом, который не содержит карбоксильную группу [37,48] (Схема 4):

Схема 4

Ангидрид 6-азидогексановой кислоты был введён в реакцию с оксоплатином, в результате чего было получено пролекарство Pt(IV) с двумя азидогруппами, доступными для дальнейшей модификации в реакциях азид-алкинового циклоприсоединения [49] (Схема 5):

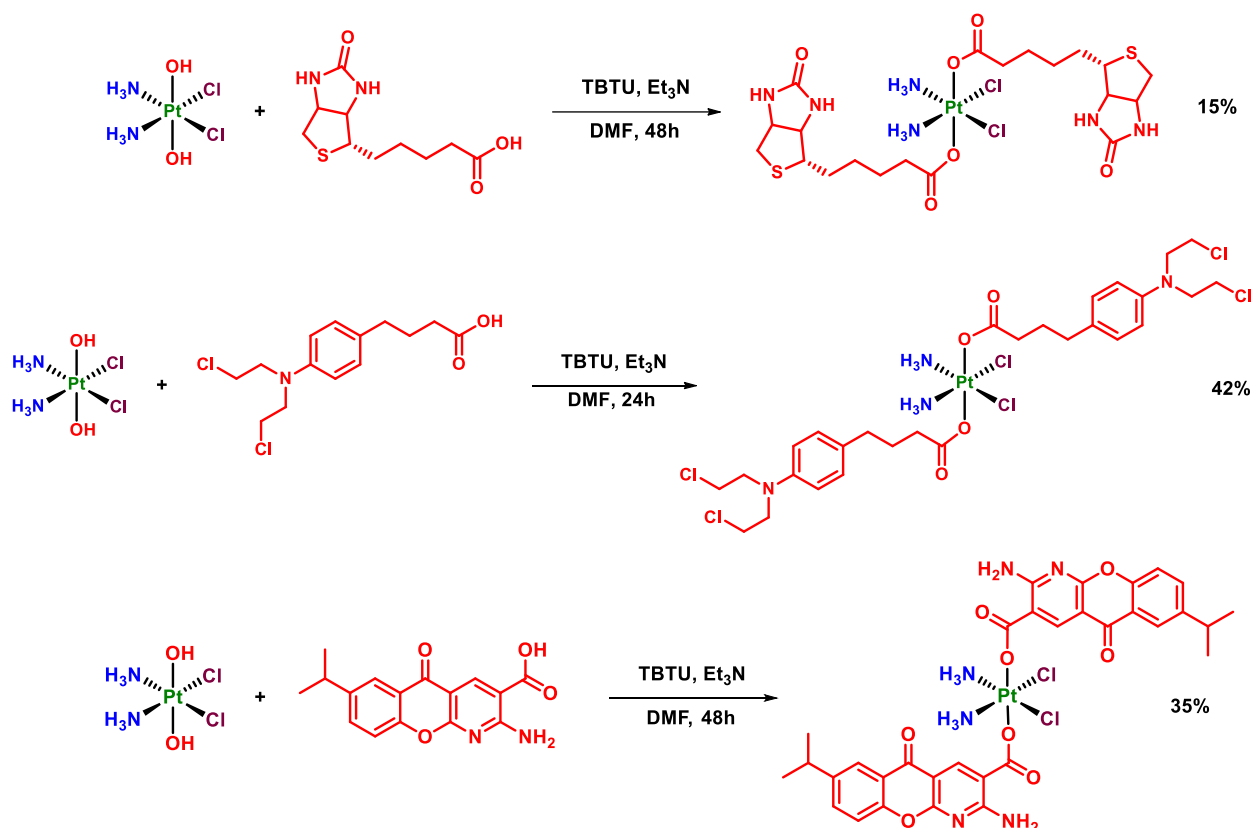
Схема 5

Несмотря на синтетическую доступность ангидридов карбоновых кислот, данные производные преимущественно применяются при модификации монокарбоксилатных комплексов Pt(IV) для получения несимметричных дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV), и поэтому будут более подробно рассмотрены в последующих разделах обзора.

Из карбоновых кислот

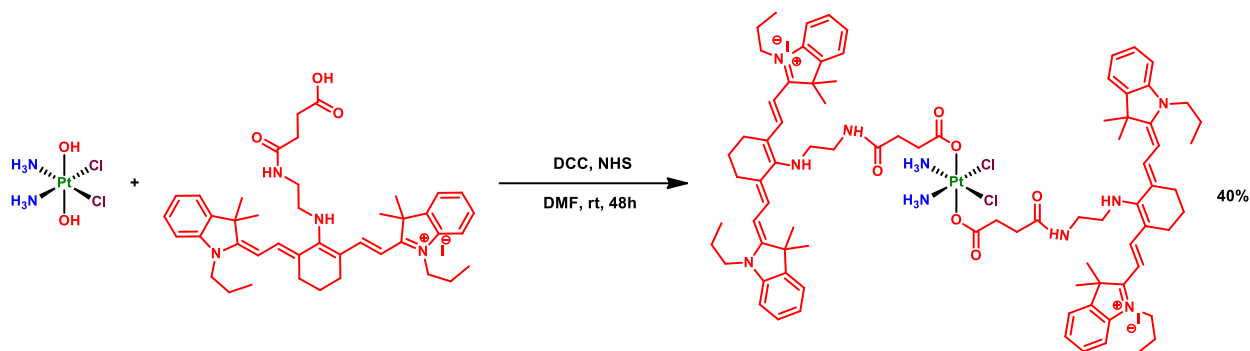
Одним из наиболее распространённых подходов к получению симметричных дикарбоксилатных комплексов Pt(IV) является синтез с использованием активирующих реагентов, таких как (2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуруния гексафторфосфат и тетрафторборат (HBTU и TBTU, соответственно). Данные реагенты были использованы для введения в аксиальное положение комплексов Pt(IV) лигандов различной природы, включая витамин B7 биотин, алкилирующий агент хлорамбуцил или противоастматический препарат амлексанокс (Схема 6) [21,50,51]:

Схема 6



К недостаткам данного подхода относится длительное время реакции, которое обычно занимает 48 часов, что значительно превышает таковое для методов синтеза с использованием ацилхлоридов (0.5 – 2 часа) или ангидридов (2 – 12 часов).

В рамках подхода с использованием реагентов карбодимиидного синтеза 1,3-дициклогексилкарбодимида (DCC) или 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодимида (EDC) в комбинации с NHS (N-гидроксисукцинимидом) *in situ* образуется активный NHS-эфир кислоты, который затем вступает в реакцию с оксоплатином или его аналогом. С использованием данного подхода было получено пролекарство Pt(IV) с двумя фрагментами гептаметинового цианинового красителя в аксиальном положении (Схема 7) [52]:

Схема 7

Таким образом, группа методов, основанная на активации карбоксильной группы, позволяет в мягких условиях синтезировать дикарбоксилатные пролекарства Pt(IV) с лигандами различной природы, в том числе с лекарственными препаратами, нестероидными противовоспалительными препаратами (НСПВП) и флуоресцентными молекулами.

Синтез монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV)

Возможность контролировать реакцию этерификации гидроксильной группы при атоме Pt(IV) и останавливать её на стадии получения монокарбоксилатного комплекса представляет большой интерес, так как позволяет сократить количество используемого для реакции лиганда и синтезировать потенциально высокоактивные монокарбоксилатные пролекарства Pt(IV). [21,44,53,54]. Кроме того, вторую OH-группу при атоме Pt(IV) можно модифицировать дополнительным лигандом, что позволяет получать пролекарства Pt(IV) множественного действия [24,55,56].

Из ангидридов

Одним из методов, которые широко используются для получения монокарбоксилатных координационных соединений Pt(IV), является ацилирование OH-группы ангидридами карбоновых кислот. Чтобы предотвратить образование дикарбоксилатного комплекса, используют небольшой избыток ангидрида (1,1–1,5 эквивалента).

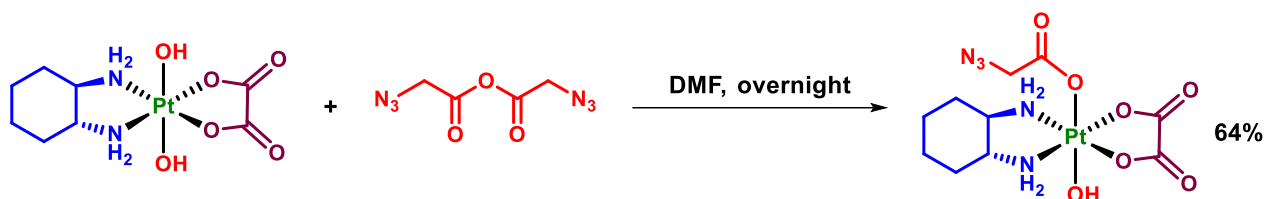
В одной из первых публикаций, посвящённых исследованию монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) была получена серия координационных соединений Pt(IV) с различными бензойными кислотами в аксиальном положении (Схема 8) [57]:

Схема 8

С применением этого подхода был получен монокарбоксилатный комплекс оксалиплатина с азидоуксусной кислотой. Для получения целевого координационного

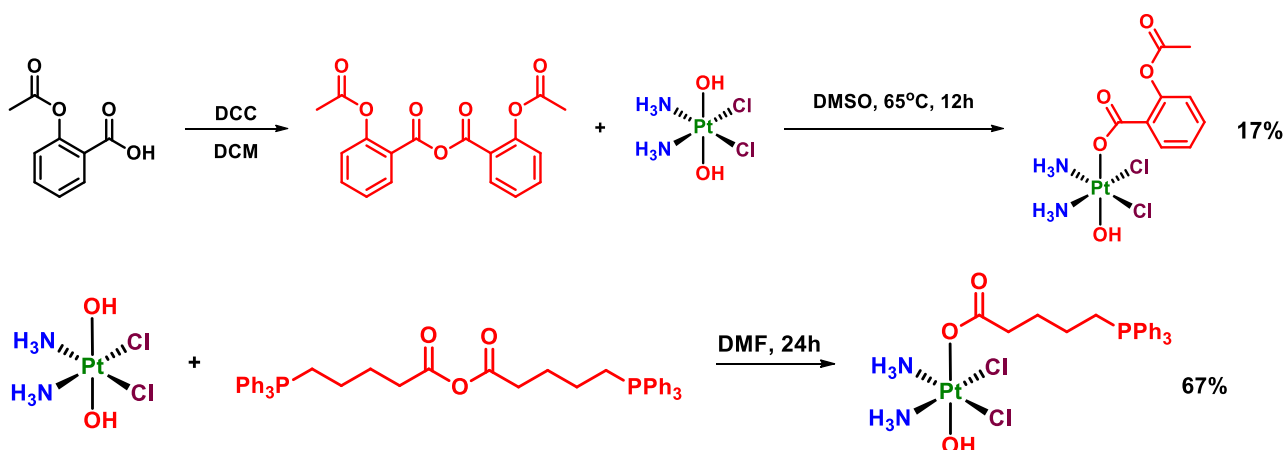
соединения с выходом 64% было достаточно минимального избытка соответствующего ангидрида (1,1 эквивалента) (Схема 9) [54]:

Схема 9



В ряде публикаций с применением данного подхода были получены монокарбоксилатные пролекарства Pt(IV) с нестероидными противовоспалительными препаратами, алкилирующими агентами и ингибиторами метаболических процессов (Схема 10) [36,58]:

Схема 10



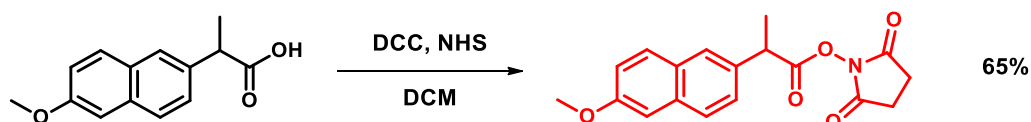
Недостатком метода является то, что фактически один эквивалент лиганда в реакции не участвует и является побочным продуктом реакции.

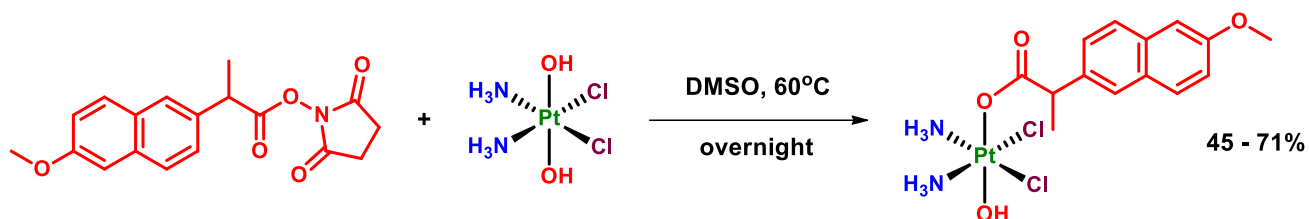
Из NHS-эфиров

Широко распространённым методом синтеза монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) является создание NHS-эфиров карбоновых кислот, которые легко вступают в реакцию с OH-группой при Pt(IV).

В частности, следуя подходу с предварительным выделением NHS-эфиров было получено монокарбоксилатное пролекарство Pt(IV) с НСПВП напроксеном (Схема 11) [59]:

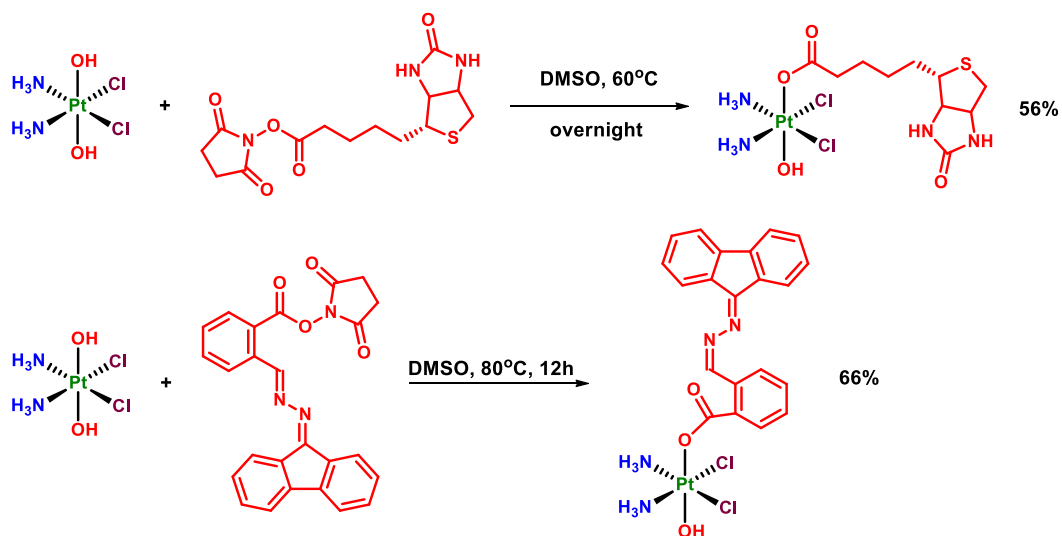
Схема 11





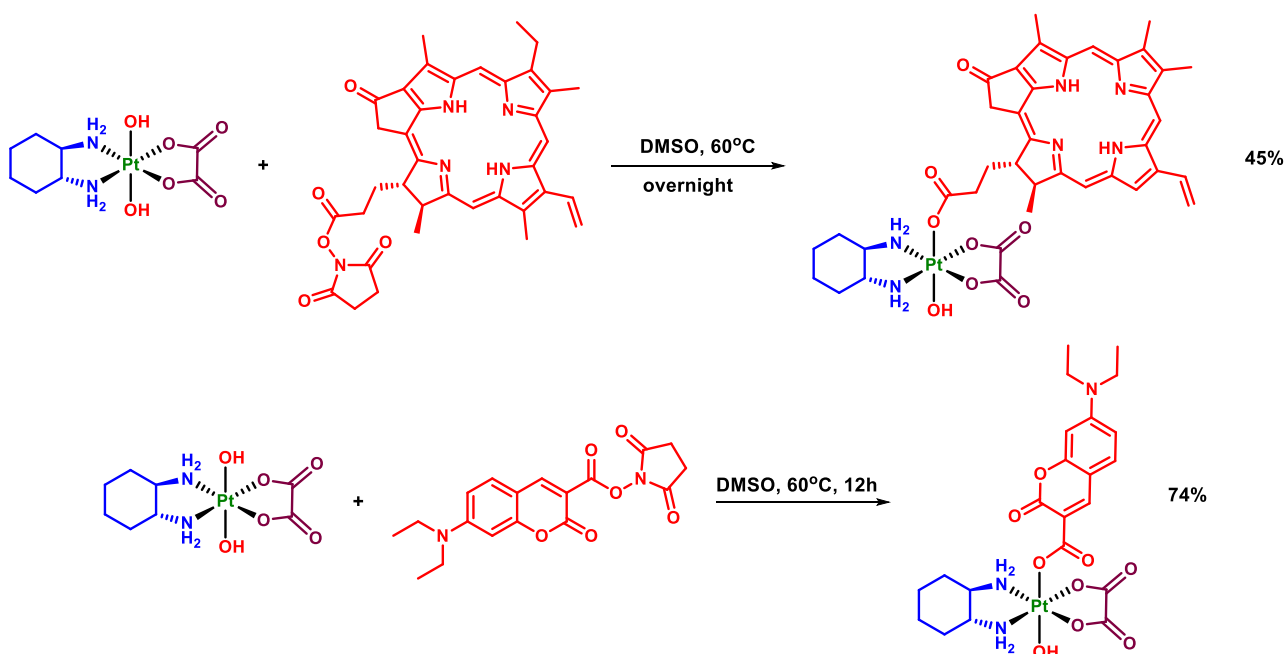
С использованием этого метода были также получены пролекарства Pt(IV) с биотином и ингибитором репарации ДНК NERi (Схема 12) [21,60]:

Схема 12



Также, с предварительным синтезом NHS-эфира лиганда были получены пролекарства Pt(IV), способные к контролируемой фотоактивации, с пиррофеофорбидом А и 7-диэтиламинокумарином в качестве аксиальных лигандов (Схема 13) [29,61]:

Схема 13

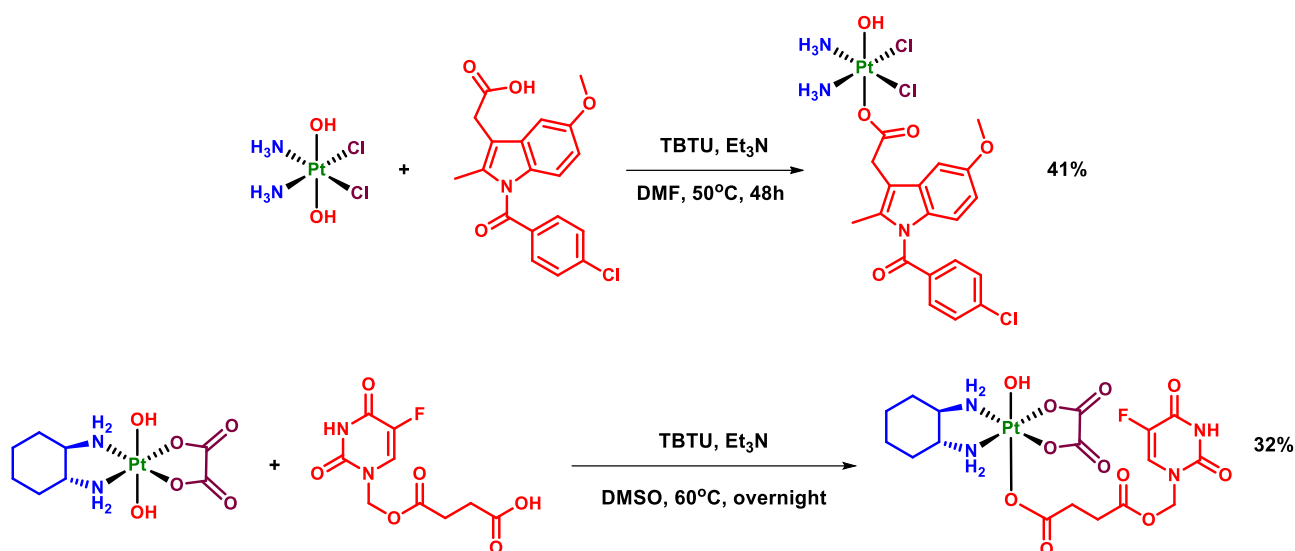


Таким образом, NHS-эфиры карбоновых кислот представляют собой универсальный интермедиат для синтеза монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) с хорошими выходами 45–78%.

Из карбоновых кислот

В ряде публикаций для синтеза монокарбоксилатных комплексов Pt(IV) были предложены тетраметилуронивые активаторы карбоксильной группы, такие как TBTU. В частности, с использованием этого реагента были получены пролекарства Pt(IV) с индометацином и 5-фторурацилом в аксиальном положении (Схема 14) [25,39]:

Схема 14



Модификация второй OH-группы в монокарбоксилатных координационных соединениях Pt(IV)

Ранее в обзоре были рассмотрены синтетические подходы к созданию симметричных дикарбоксилатных, а также монокарбоксилатных координационных соединений Pt(IV). В данном разделе обзора будет проведён обзор синтетических методов, позволяющих провести модификацию монокарбоксилатных координационных соединений Pt(IV) с получением несимметричных дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) (Рис. 5).

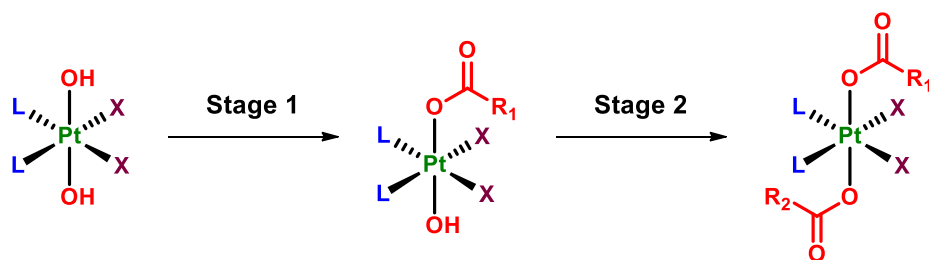


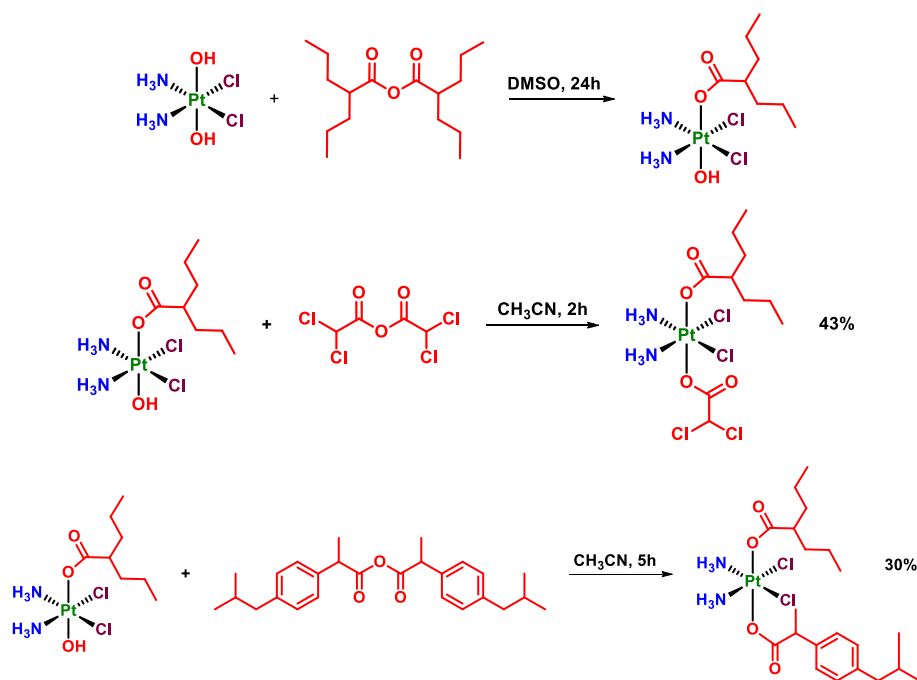
Рисунок 5. Общая схема синтеза несимметричных дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV).

Для модификации второй ОН-группы при атоме Pt(IV) используются методы, основанные на реакциях с описанными в предыдущих разделах обзора реагентами: ангидриды карбоновых кислот и тетраметилуронивые активаторы.

Из ангидридов

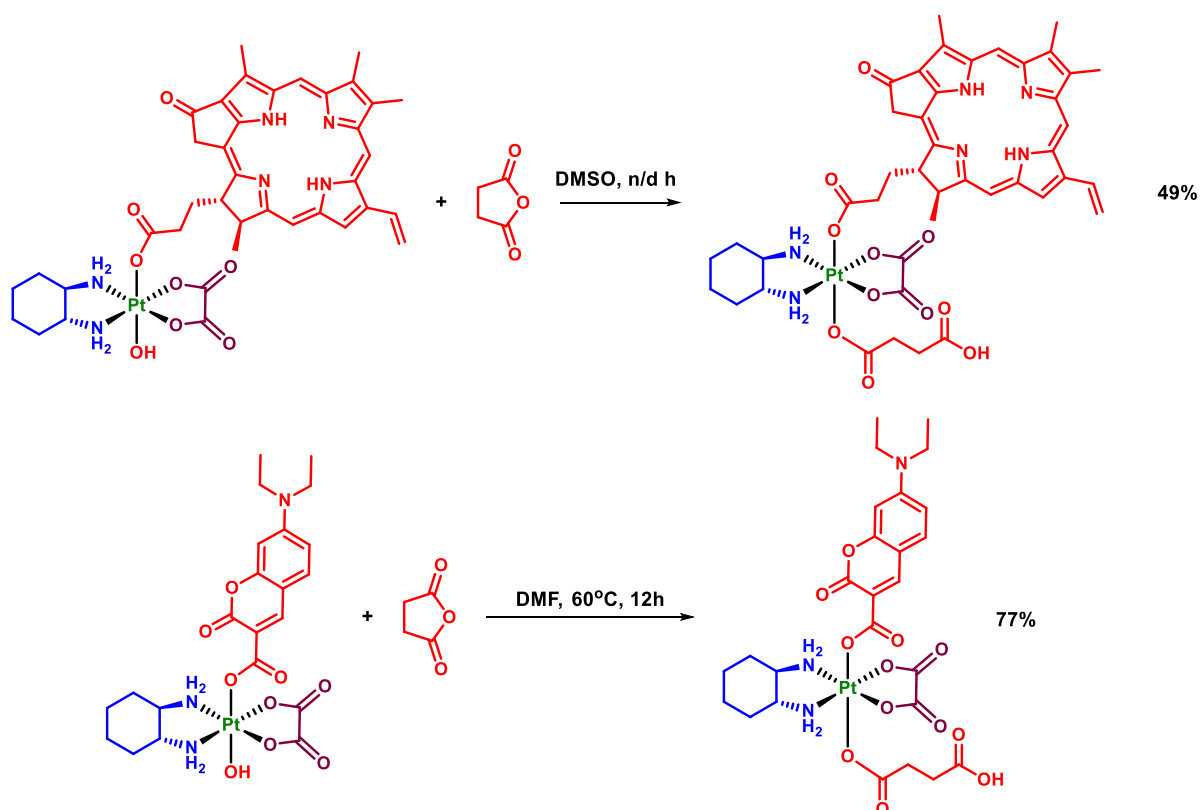
Наиболее широко применяемыми реагентами для синтеза несимметричных пролекарств Pt(IV) являются ангидриды карбоновых кислот, которые также применяются при синтезе монокарбоксилатных комплексов. Таким образом, сочетая ангидриды различных биологически активных соединений можно применять комбинаторный подход для синтеза разнообразных комплексов Pt(IV). Например, данный подход был применён для синтеза серии пролекарств Pt(IV), содержащих в аксиальном положении два лиганда с различным биологическим действием с выходами 30-40% за две стадии (Схема 15) [24]:

Схема 15



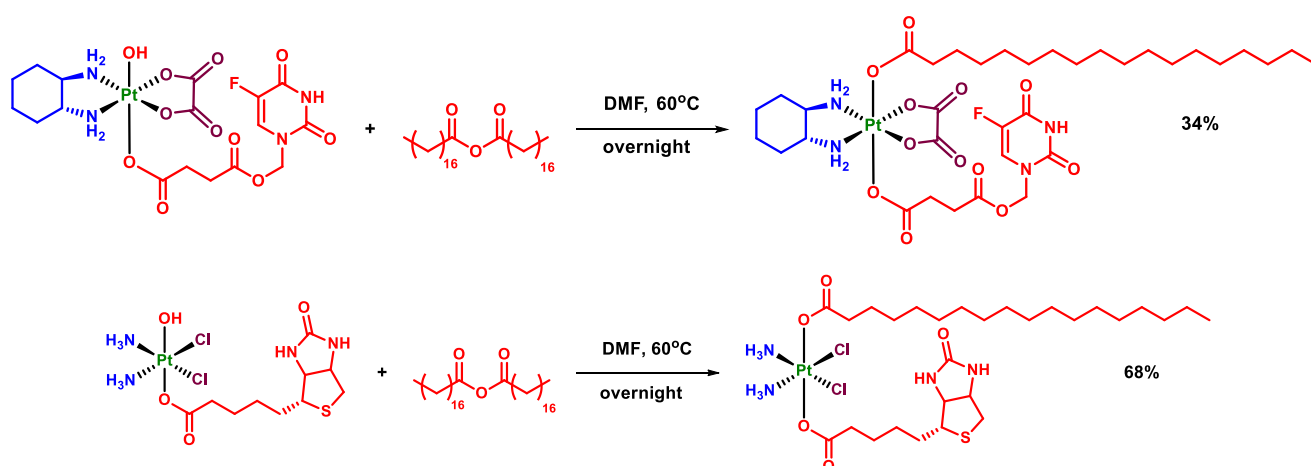
Одной из стратегий модификации второго аксиального положения пролекарств Pt(IV) является введение линкерного фрагмента, который содержит доступную для дальнейшей модификации функциональную группу (см 2.2.3.). Так, описанные выше монокарбоксилатные комплексы оксалиплатина с пиррофеофорбидом а, и 7-диэтиламинокумарином (Схема 13) были модифицированы янтарным ангидридом (Схема 16) [61,62]:

Схема 16



Модификация второй OH-группы при атоме Pt(IV) также применяется для повышения липофильности, и, как следствие, цитотоксической активности пролекарств Pt(IV). Ранее упомянутые монокарбоксилатные комплексы Pt(IV) с 5-фторурацилом и биотином (Схемы 12, 14) были модифицированы стеариновым ангидридом с введением липофильного фрагмента стеариновой кислоты в аксиальное положение (Схема 17) [25,63]:

Схема 17



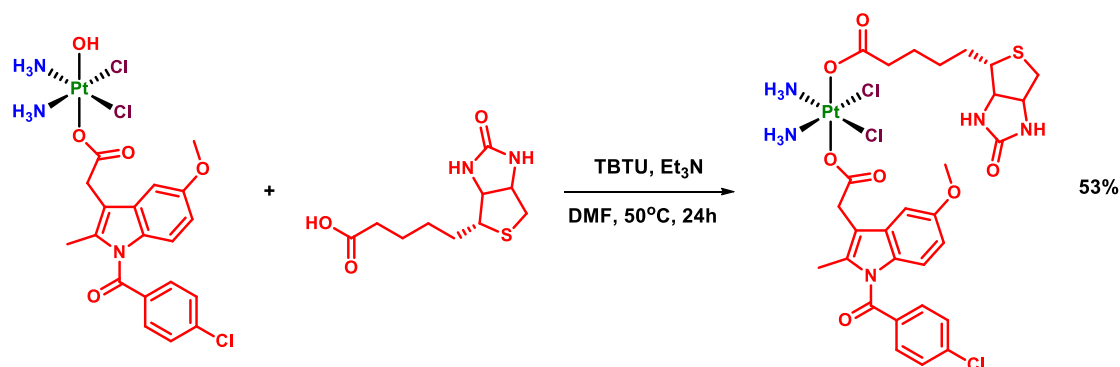
Таким образом, ангидриды карбоновых кислот являются универсальным ацилирующим агентом для синтеза пролекарств Pt(IV). Тем не менее, недостатком данного метода является потеря половины количества исходной карбоновой кислоты в ходе реакции, что является серьезным фактором в случаях, когда исходный лиганд доступен в ограниченных количествах.

Из карбоновых кислот

При синтезе несимметричных дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) возможно также использование реагентов на основе тетраметилмочевины, в частности, TBTU, которые повышают реакционную способность карбоксильной группы. Это позволяет использовать исходный лиганд более эффективно, что является преимуществом перед методом с использованием ангидридов карбоновых кислот как ацилирующих агентов.

Так, активацией биотина с помощью TBTU в присутствии триэтиламина был модифицирован монокарбоксилатный комплекс Pt(IV) с индометацином (Схема 18) [39]:

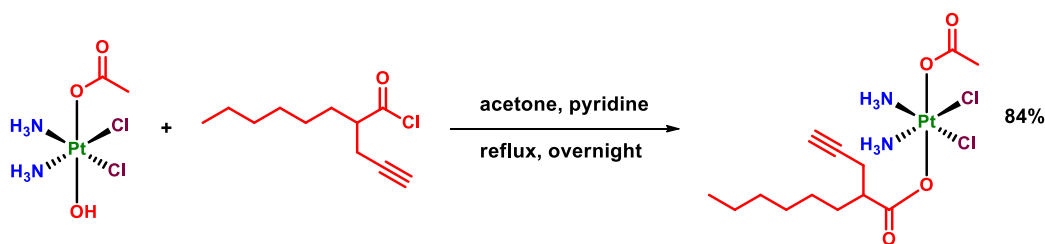
Схема 18



Из хлорангидридов

Модификацию OH-группы монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) можно также проводить с использованием ацилхлоридов. Ацилхлорид 2(2-пропинил)октановой кислоты был введён в реакцию с $[Pt(Cl)_2(NH_3)_2(OH)(OAc)]$ (Схема 19) [64]:

Схема 19



2.2.2.2 Введение в аксиальное положение пролекарств Pt(IV) линкеров, отличных от карбоксилатного

Рассмотренные выше пролекарства Pt(IV) были получены путем реакций ацилирования гидроксильной группы при центре Pt(IV) карбоновыми кислотами и их производными. Таким образом, введение в координационное окружение Pt(IV) аксиальных лигандов, в структуре которых содержится карбоксильная группа, не представляет синтетической сложности. Однако, в ряде примеров, когда необходимый для введения в координационное окружение Pt(IV) биоактивный фрагмент не содержал фрагмент карбоновой кислоты, модификация

гидроксильной группы при центре Pt(IV) проводилось путём введения линкера, чаще всего, янтарного ангидрида. Данный подход был реализован при синтезе пролекарств с 5-фторурацилом, гептаметиновым цианиновым красителем и ингибитором глутатион-S-трансферазы NDBHEX [25,52,65].

Также, многие препараты, применяемые в терапии опухолевых заболеваний, такие как гемцитабин, таксол и эстрамустин, не содержат в структуре карбоксильную группу, однако обладают гидроксильной/аминогруппой. Для того, чтобы аксиальные лиганды проявляли своё биологическое действие после высвобождения, они должны высвобождаться в активной форме, в то время как наличие устойчивой к гидролизу сложноэфирной или амидной группы может снизить их активность [66].

В поиске расщепляемого линкера между центром Pt(IV) и аксиальным лигандом был разработан ряд синтетических подходов, являющихся предметом рассмотрения данного подраздела обзора.

Линкер на основе карбоната.

В работе Gibson et al. в качестве линкерного фрагмента между лигандом и центром Pt(IV) был предложен карбонат RO-C(O)-OR'. Предполагалось, что моноэфир угольной кислоты, образующийся при гидролизе пролекарства Pt(IV), быстро распадется, образуя спирт и CO₂ [66]:

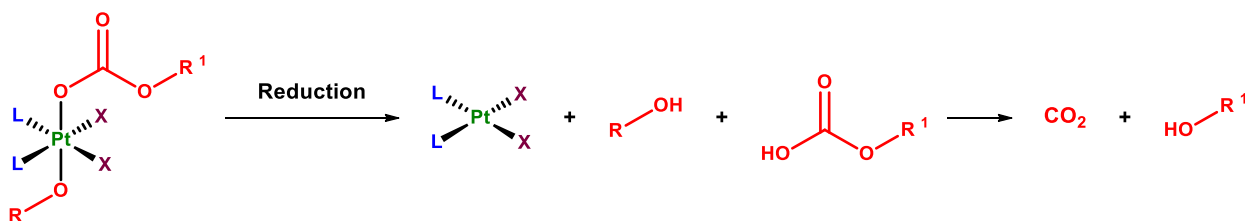
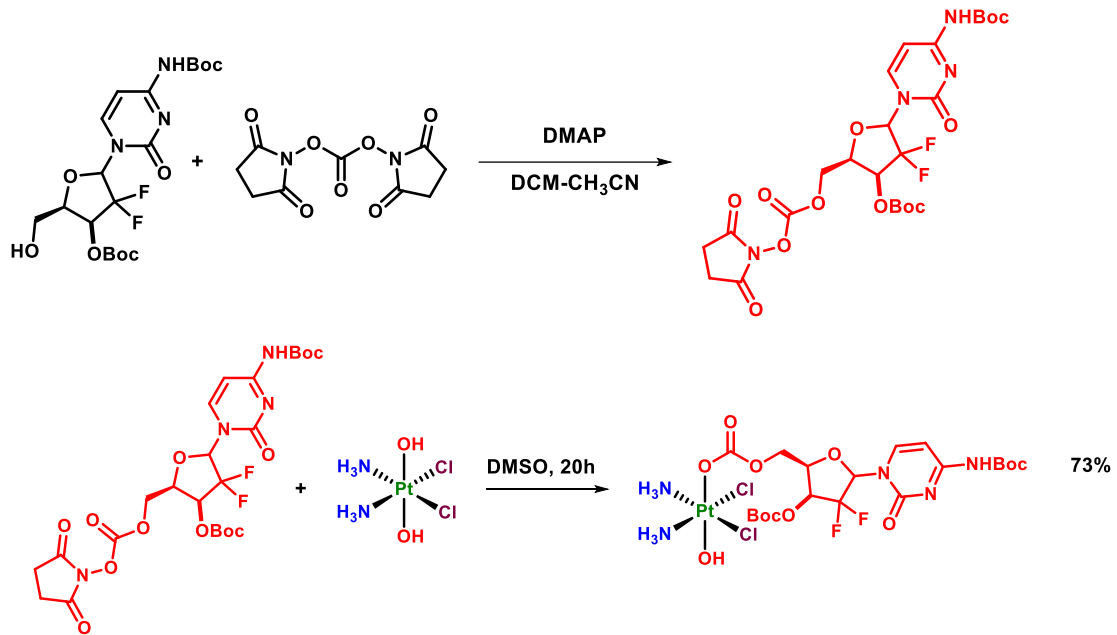


Рисунок 6. Общая схема высвобождения аксиального лиганда, связанного с центром Pt(IV) карбонатным линкером.

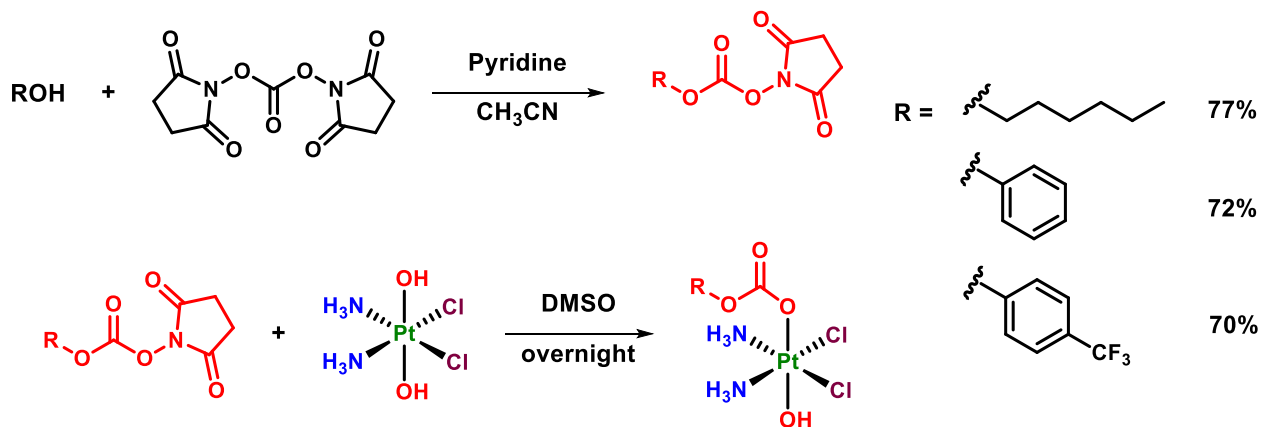
В качестве лигандов были выбраны противоопухолевые препараты с отличной от цисплатина мишенью, в частности, гемцитабин, который фосфорилируется во внутриклеточной среде и встраивается в ДНК, препятствуя её дальнейшему синтезу [67]. Для введения в аксиальное положение оксоплатина OH-группа гемцитабина была активирована реагентом ДСК (дисукцинимидилкарбонатом), а затем лиганд был введён в реакцию с оксоплатином с образованием карбаматного линкера между гемцитабином и центром Pt(IV) (Схема 20):

Схема 20



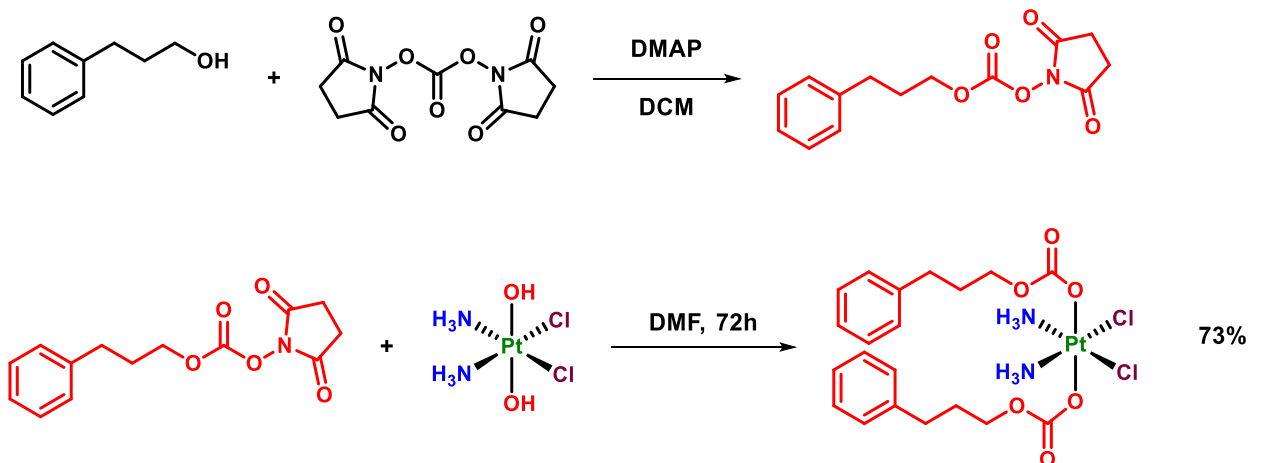
Аналогичный подход был использован при синтезе серии монокарбонатных пролекарств Pt(IV) с различными ароматическими и алифатическими углеводородами (Схема 21) [68]:

Схема 21



NHS-эфиры карбонатов также можно использовать для синтеза симметричных бис-карбонатных пролекарств Pt(IV) (Схема 22) [69]:

Схема 22

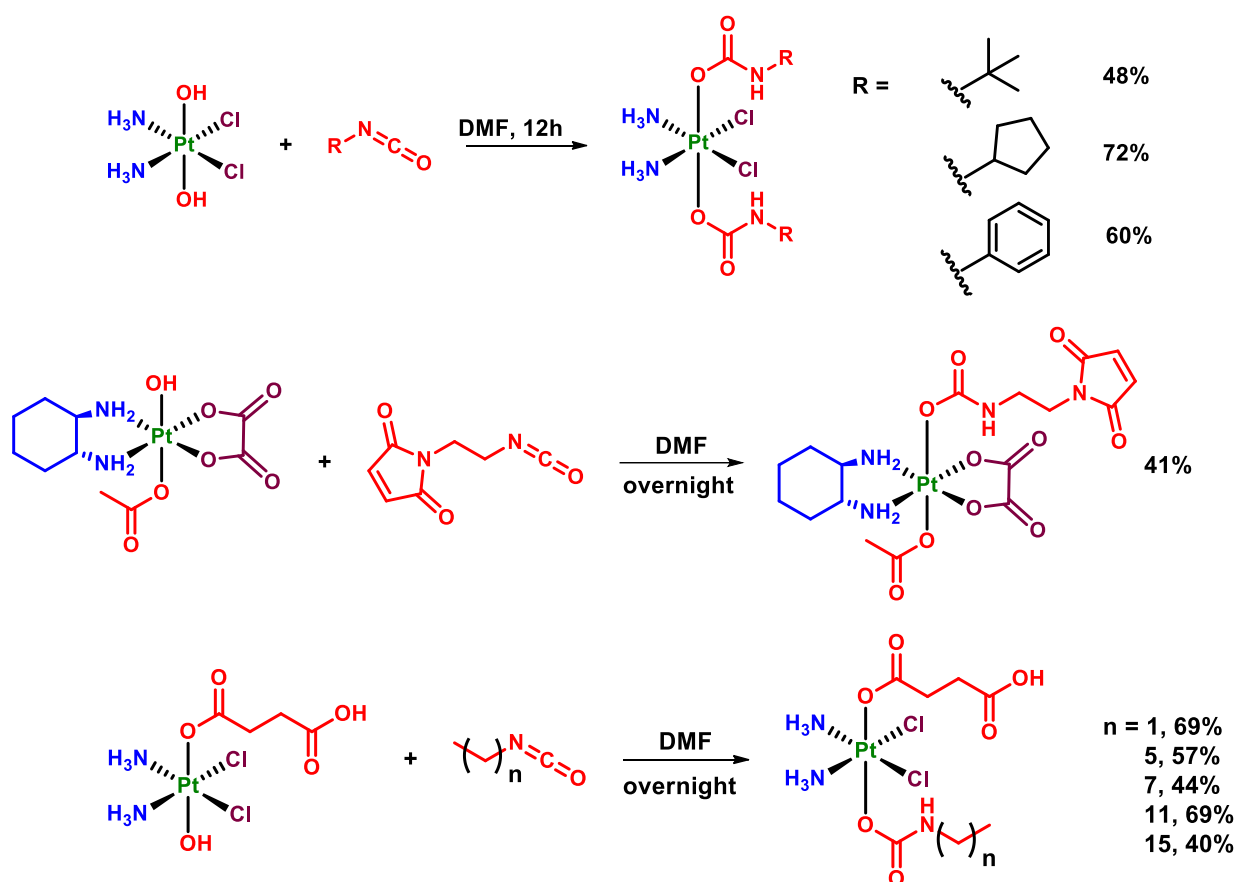


Тем не менее, количество примеров использования карбонатного линкера между лигандом и центром Pt(IV) в опубликованной литературе довольно ограничено. Важным недостатком пролекарств Pt(IV) с карбонатным линкером является низкая стабильность в водной среде и быстрое восстановление в присутствии аскорбата натрия ($t_{1/2} = 0,5-3$ ч) [68,69].

Линкер на основе карбамата.

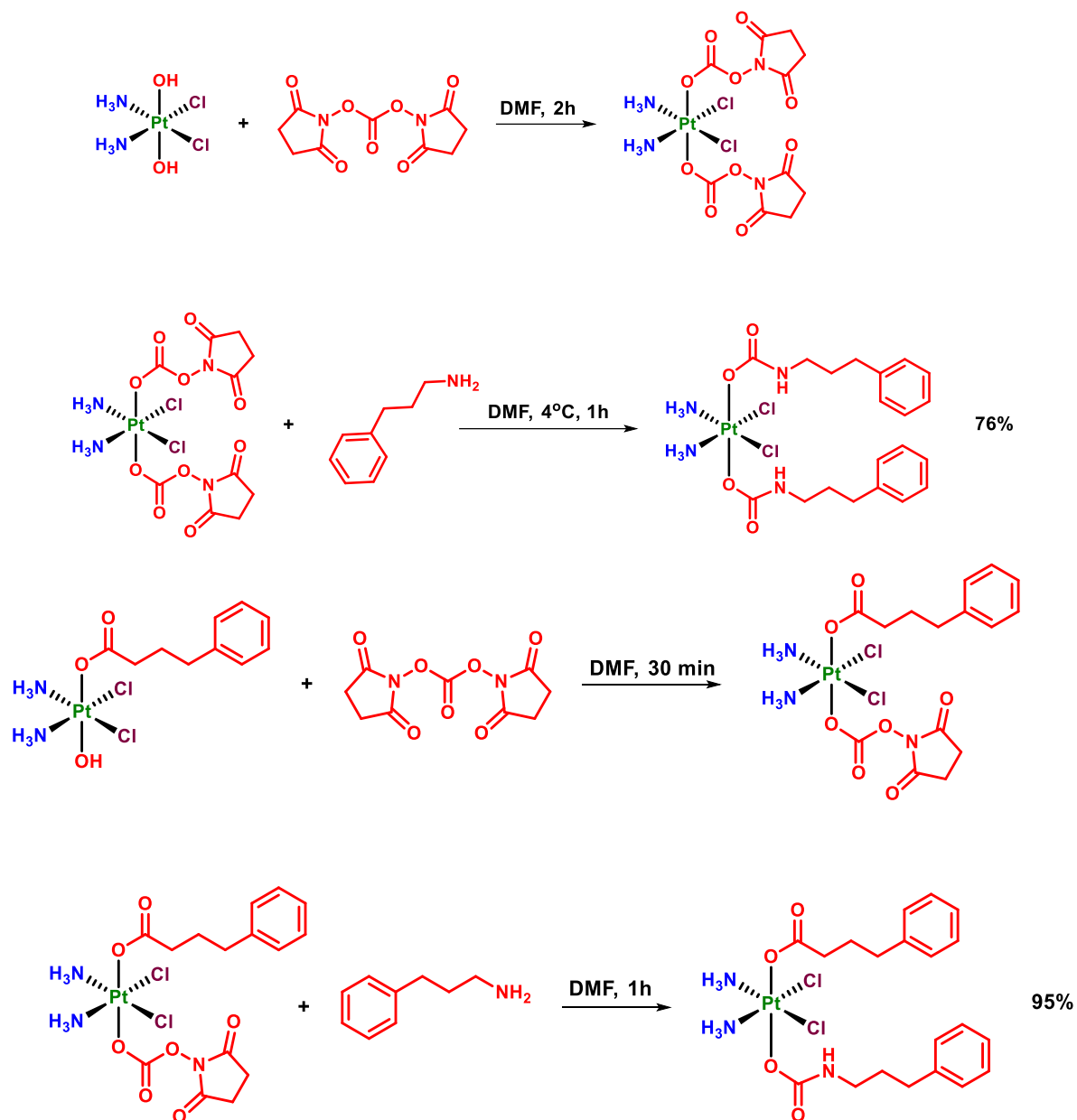
Аналогом карбонатного линкера для лигандов, имеющих в структуре аминогруппу является карбаматный фрагмент R-NH-C(O)-O-R'. Для синтеза карбаматов простых органических фрагментов (алифатических, ароматических углеводородов) в ряде публикаций используются соответствующие изоцианаты (Схема 23) [70–72]:

Схема 23



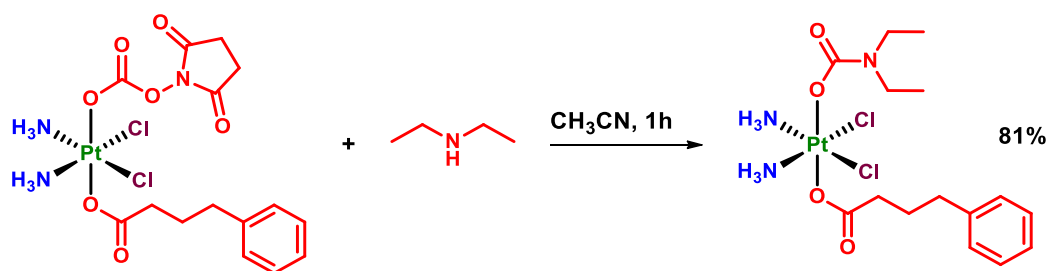
В работе Babu et al. был разработан ряд альтернативных подходов к синтезу пролекарств Pt(IV) с карбаматным мостиком. Новые методы синтеза основывались на использовании ДСК, ранее применяемого для синтеза пролекарств Pt(IV) с карбонатным линкером. Первый метод заключался в синтезе комплекса Pt(IV) с активированным карбонатом в качестве аксиального лиганда, который затем вводился в реакцию с амином [69]. Данный подход позволяет получить целевые координационные соединения с высоким выходом при крайне быстром протекании реакции (1–2 часа) (Схема 24):

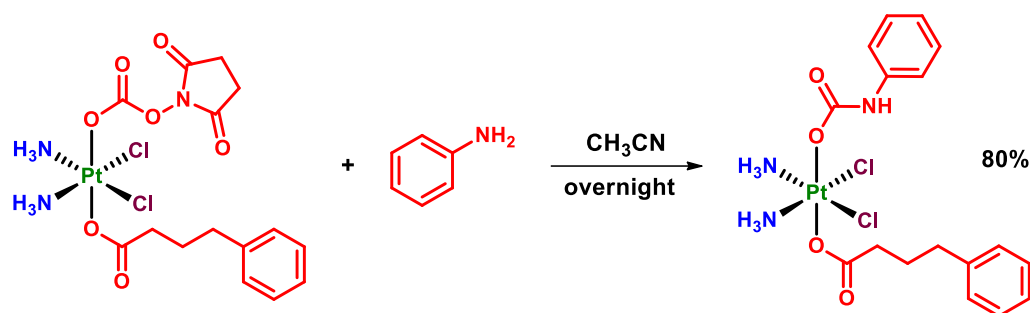
Схема 24



Данный метод синтеза также применим для синтеза карбаматных пролекарств Pt(IV) с вторичными алифатическими аминами, анилином, или его производными (Схема 25) [69]:

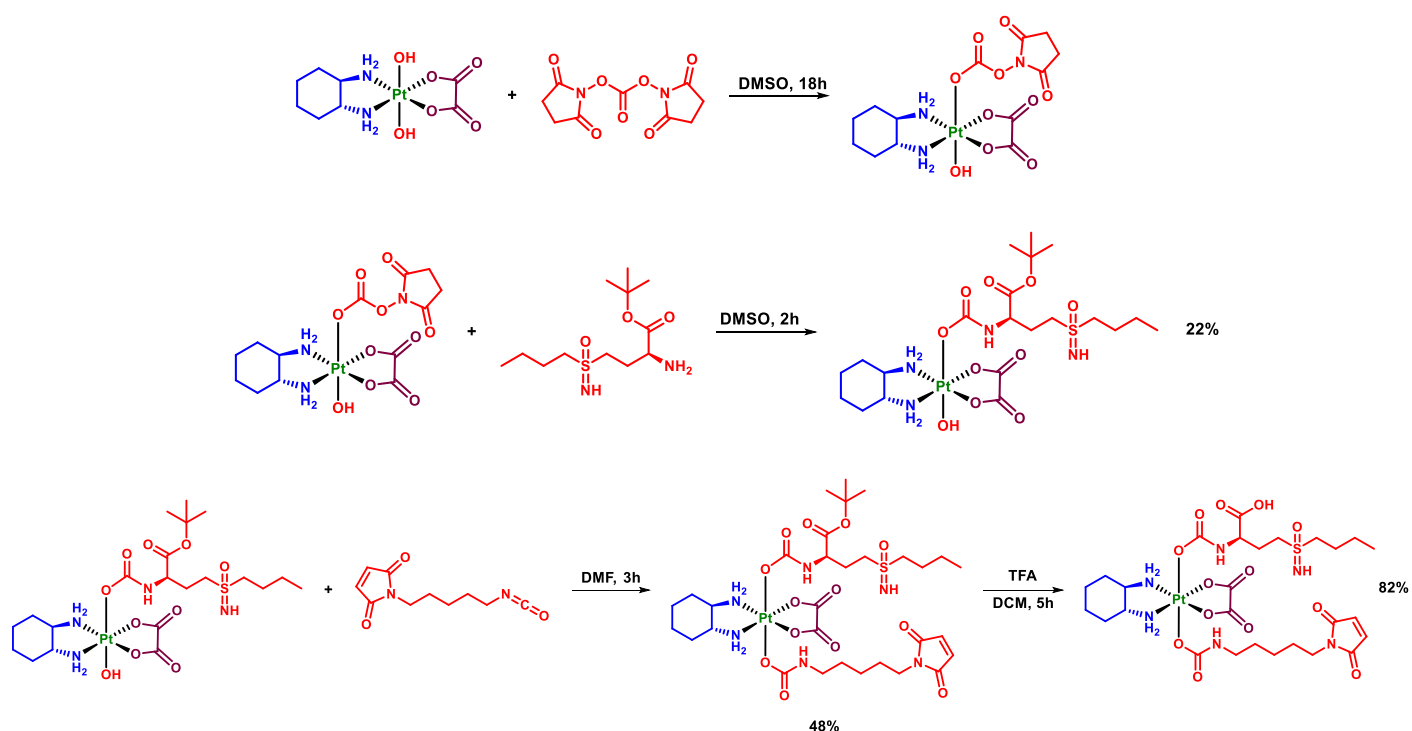
Схема 25





Возможность последовательно модифицировать ОН-группы при Pt(IV) с введением двух аксиальных лигандов через карбаматный линкер была продемонстрирована при дизайне пролекарства Pt(IV), способного преодолевать резистентность к оксалиплатину [73]. Монокарбаматный комплекс Pt(IV) был получен путем реакции оксоксалиплатина с ДСК, и последующей реакцией ацилирования лиганда, содержащего аминогруппу. Полученное пролекарство Pt(IV) было далее введено в реакцию с изоцианатом, с введением второго аксиального лиганда (Схема 26):

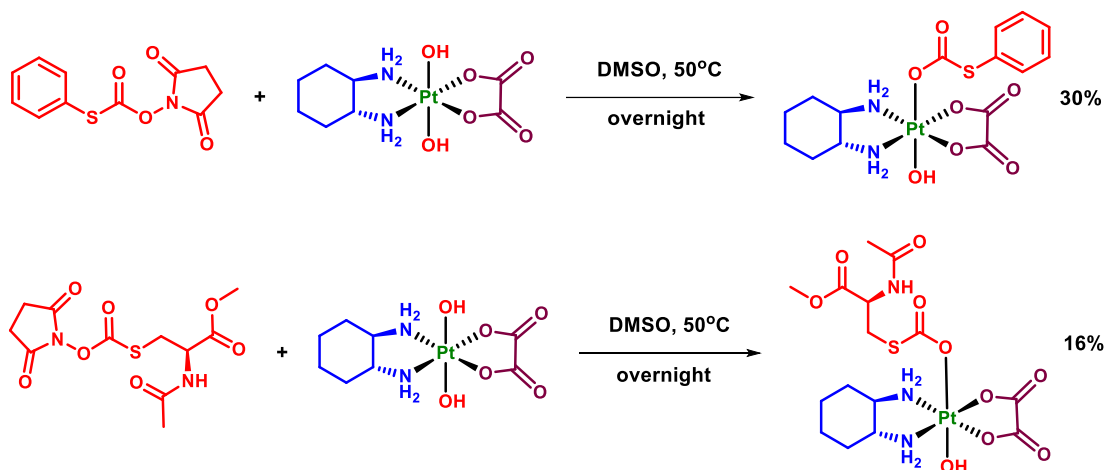
Схема 26



Линкер на основе тиокарбоната

Пример необычного линкерного фрагмента между аксиальным лигандом и центром Pt(IV) приведён в работе Barth et al. [74], в которой продемонстрирована возможность введения органических фрагментов в аксиальное положение координационных соединений через тиокарбонатный линкер. На первой стадии тиофенол или алкилтиол вводили в реакцию с ДСК с получением NHS эфира тиокарбоната, который затем вводили в реакцию с дигидроксооксалиплатином (Схема 27):

Схема 27

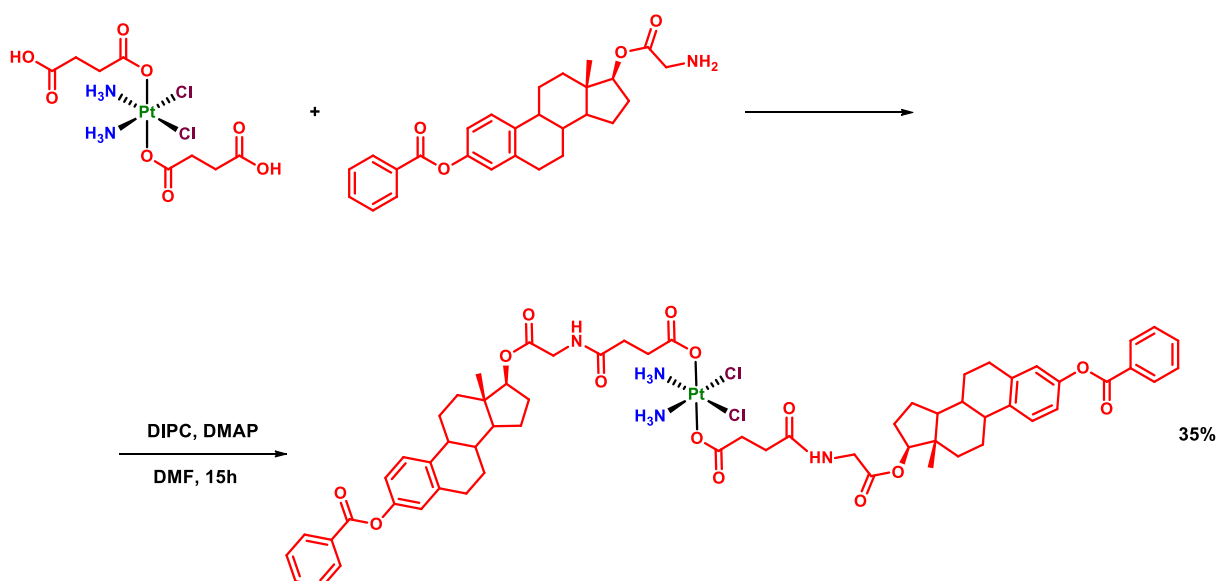


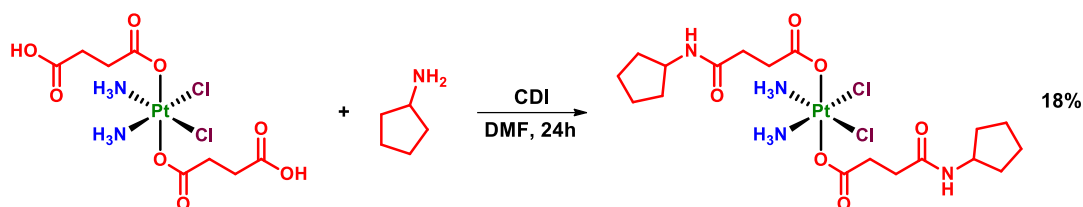
2.2.3. Модификация аксиальных лигандов пролекарств Pt(IV).

Рассмотренные выше методы синтеза ограничивались модификацией непосредственно OH-группы при центре Pt(IV). Аксиальные лиганды, введённые данными методами, доступны для дальнейшей модификации. В литературе встречаются два основных способа ввести дополнительный органический фрагмент к аксиальному лиганду Pt(IV): пептидный синтез и азид-алкиновое циклоприсоединение.

В ситуациях, когда органический фрагмент не имеет в структуре карбоксильную группу, ввести его в аксиальное положение Pt(IV) возможно путём образования амидной или сложноэфирной связи путём реакции фрагмента янтарной кислоты в аксиальном положении Pt(IV) с амином или спиртом в молекуле органического фрагмента, соответственно. В качестве активаторов карбоксильной группы можно использовать упомянутые выше реагенты карбодиимидного синтеза DCC/EDC и NHS, DIPC (дизопропилкарбодиимид) или карбонилдиимидазол (CDI) [48,75] (Схема 28):

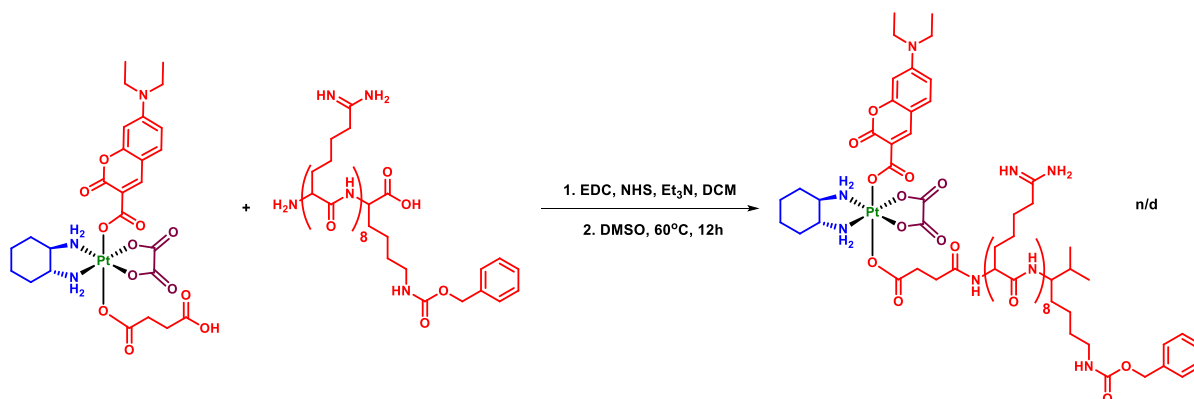
Схема 28





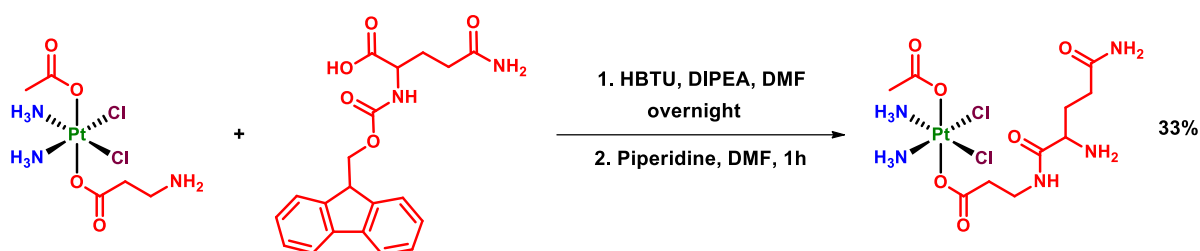
Пролекарство Pt(IV) с 7-диэтиламинокумарином в качестве аксиального лиганда (Схема 16) было модифицировано векторным пептидом для усиления способности пролекарства Pt(IV) накапливаться в ядрах клеток. На первом этапе был получен NHS эфир пролекарства Pt(IV), который затем был введён в реакцию с пептидом в ДМСО (Схема 29) [61]:

Схема 29



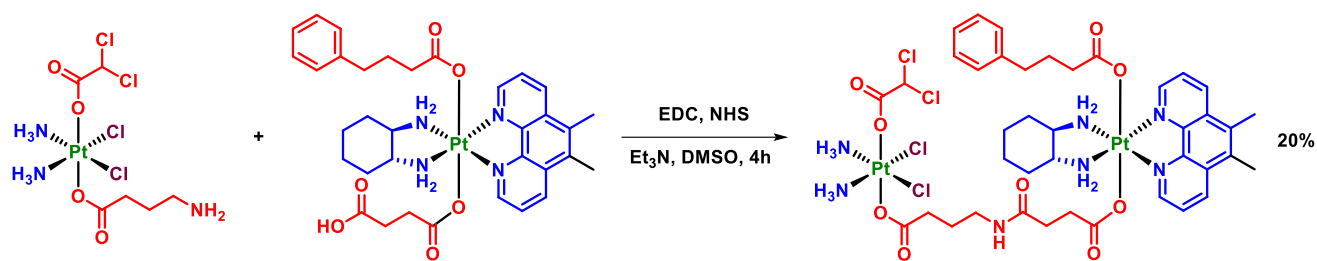
Среди опубликованных к настоящему времени работ существует ряд примеров, в которых в аксиальное положение Pt(IV) вводится карбоксилатный лиганд с защищённой аминогруппой, которая на следующей стадии вводится в реакцию с карбоновой кислотой. В качестве активирующего реагента используется HBTU (Схема 30) [37]:

Схема 30



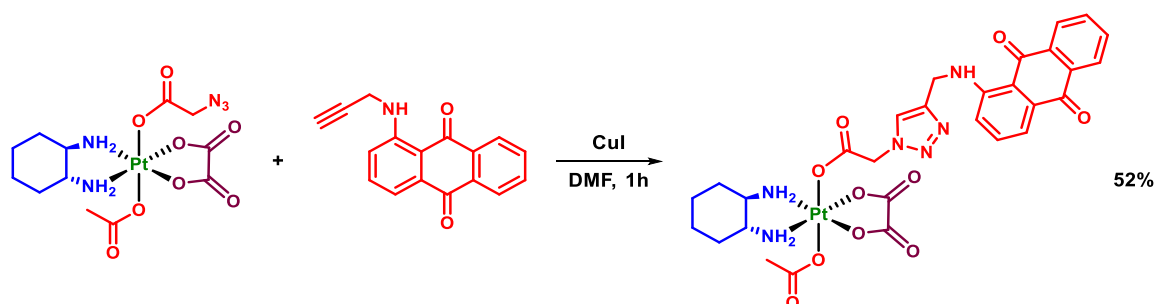
Изыскный пример модификации пролекарств Pt(IV) с образованием амидной связи приведён в работе Petruzella et al. [26], в которой было получено пролекарство Pt(IV) четверного действия, содержащего в структуре два центра Pt(IV) и два биоактивных аксиальных лиганда фенолбутират и дихлорацетат (Схема 31):

Схема 31



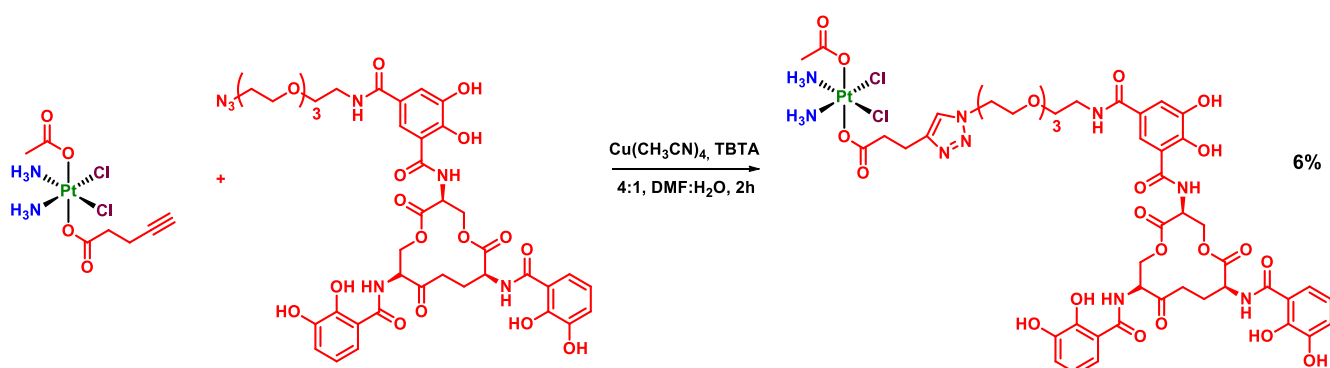
В ряде публикаций для модификации аксиального лиганда используется реакция азид-алкинового циклоприсоединения. В работе Hambley et al. [54] пролекарство Pt(IV) с фрагментом азидоуксусной кислоты ввели в клик-реакцию с пропаргилированным производным антрахинона и йодидом меди(I) в качестве катализатора с выходом 52% (Схема 32):

Схема 32



Пролекарство Pt(IV) с производным энтеробактина, вектором, способствующим накоплению комплекса Pt(IV) в бактериях *E.coli* было синтезировано с использованием гомогенного катализатора на основе ацетонитрильного комплекса гексафторфосфата меди(I) в присутствии хелатирующего медь лиганда трис(бензилтриазилил)амин (ТВТА) [76]. ТВТА выступает в качестве стабилизирующего лиганда, который предотвращает диспропорционирование меди(I) и окисление её кислородом (Схема 33) [77]:

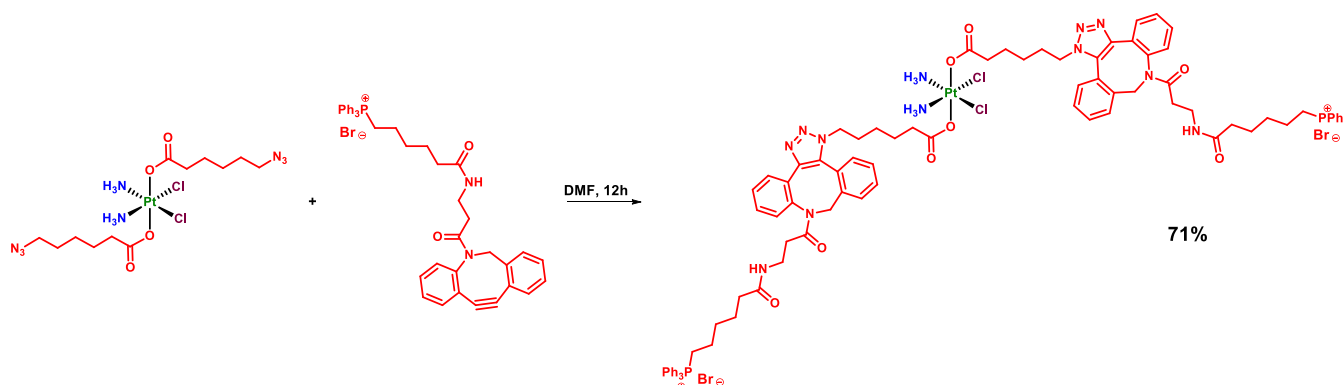
Схема 33



Пролекарство Pt(IV) с двумя фрагментами 6-азидогексановой кислоты, которое обсуждалось в разделе обзора 2.2.2.1., было использовано как субстрат в реакции стерически промотированного азид-алкинового циклоприсоединения, не требующей использования солей меди в качестве катализатора [78]. В результате аксиальный лиганд был модифицирован

фрагментом трифенилфосфина, способствующего накоплению пролекарства Pt(IV) в митохондриях (Схема 33).

Схема 33



Таким образом, введение в аксиальное положение пролекарств Pt(IV) аксиальных лигандов с функциональными группами, такими как карбоксильная, амино- или азидо-, позволяют проводить дальнейшую модификацию координационных соединений Pt(IV), что открывает путь к более тонкой настройке физико-химических и биологических свойств пролекарств Pt(IV).

2.2.4. Выводы о методах синтеза модификации пролекарств Pt(IV)

Анализ синтетических подходов к получению пролекарств Pt(IV), приведённых в настоящем обзоре, позволяет заключить, что оптимальными реагентами для получения симметричных дикарбоксилатных пролекарств являются хлорангидриды карбоновых кислот. Более мягким синтетическим подходом является введение органических лигандов в виде карбоновых кислот, в присутствии тетраметилурониевых активаторов. При синтезе монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) и модификации селективно одной аксиальной OH-группы комплексов Pt(IV) целесообразно применять ангидриды карбоновых кислот или их NHS-эфиры в небольшом (1.1–1.3 эквивалента) избытке по отношению к исходному комплексу платины. Последовательная модификация второй OH-группы в аксиальном положении монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) проводится практически исключительно с применением ангидридов карбоновых кислот.

Помимо карбоновых кислот, в аксиальное положение пролекарств Pt(IV) возможно вводить органические лиганды, содержащие функциональные гидроксильные или аминогруппы, например с использованием реагента дисукцинимидил карбоната (ДСК) и получением карбонатов или карбаматов, соответственно.

Органические лиганды в аксиальном положении пролекарств Pt(IV) в основном подвергаются дальнейшей функционализации методами пептидного синтеза, при условии

наличия в структуре лиганда карбоксильной группы или аминогруппы. Ещё одним способом модификации аксиальных лигандов является реакция азид-алкинового циклоприсоединения с использованием медных катализаторов или напряжённых циклооктинов.

2.3 Биологическая активность пролекарств Pt(IV)

Пролекарства Pt(IV) с биологически активными лигандами.

Ключевым достоинством стратегии создания противоопухолевых агентов на основе координационных соединений Pt(IV) является возможность легко варьировать аксиальные лиганды, и, как следствие, биологическую активность пролекарств Pt(IV), и механизм их цитотоксического действия. В данном разделе обзора будет рассмотрен ряд пролекарств Pt(IV), синтезированных за последние 5 лет, определено влияние аксиальных лигандов на противоопухолевую активность координационных соединений Pt(IV).

2.3.1 Пролекарства Pt(IV) с лигандами, обладающими цитотоксическим действием.

Для усиления антипролиферативных свойств пролекарств Pt(IV) эффективной стратегией является использование в качестве аксиальных лигандов фрагментов, обладающих собственным цитотоксическим действием. Такие координационные соединения могут обладать синергетическим эффектом, то есть действовать эффективнее, чем эквимольная смесь исходных соединений [79,80].

2.3.1.1 Дихлорацетат и ингибиторы циклооксигеназы (ЦОГ)

Серия пролекарств Pt(IV) тройного действия **1 - 8** была исследована Petruzella et al. [24]. Аспирин и ибупрофен были выбраны в качестве ингибиторов циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), дихлорацетат является эффективным ингибитором пируват дегидрогеназы киназы (ПДК), а также вызывает клеточную смерть, повреждая митохондрии [81,82]. ПДК ингибирует комплекс пируват дегидрогеназы, который играет большую роль в клеточном дыхании [83]. В опухолевых клетках данный комплекс ингибирован, вследствие чего клеточный метаболизм смещён с окисления глюкозы в гликолиз (эффект Варбурга) [84]. Ингибирование ПДК обращает этот процесс, что приводит к смерти опухолевых клеток.

Фенилбутират и вальпроевая кислота являются ингибиторами гистон деацетилазы (HDAC) [82,85]. Ингибирование HDAC вызывает де-конденсацию хроматина, что делает ДНК более чувствительной к платинации [86]. Комбинация цисплатина и ингибиторов HDAC усиливает активность цисплатина и уменьшает побочные эффекты терапии [87].

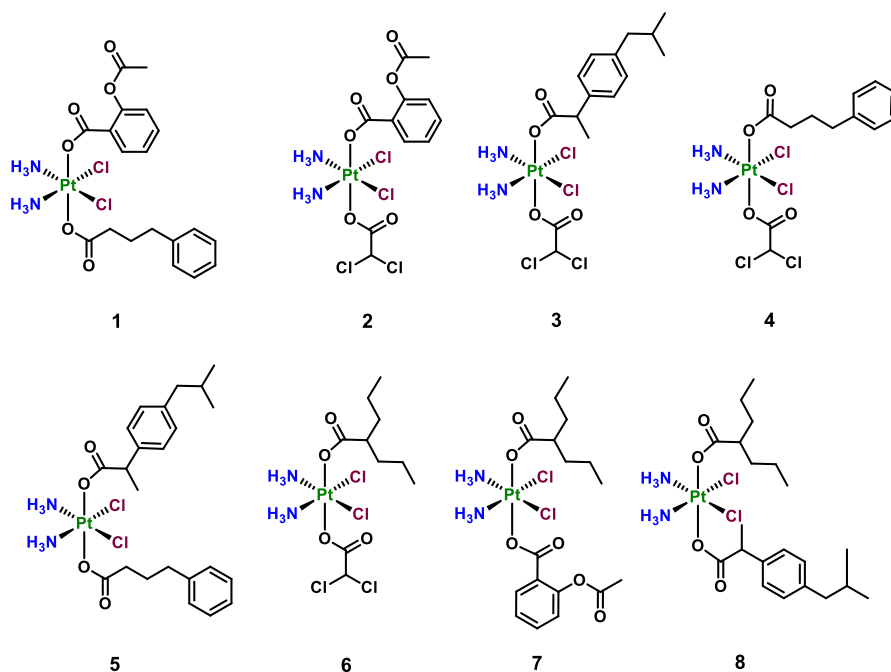


Рисунок 7. Пролекарства Pt(IV) **1** – **8**, с фрагментами фенолбутирата, дихлорацетата, вальпроата, аспирина и ибупрофена в качестве аксиальных лигандов [24].

Все 8 дикарбоксилатных пролекарств тройного действия показали значительно более высокую активность, чем цисплатин. На клетках линий карциномы щитовидной железы BCAP и карциномы поджелудочной железы PSN-1 средние значения IC₅₀ пролекарств Pt(IV) были в 51 и 71 раз выше, соответственно, чем для цисплатина. Цитотоксичность пролекарств была также исследована на трёхмерных сфероидных клеточных культурах клеточной линии PSN-1. Три пролекарства **4**, **7** и **8** показали активность, в 50 раз превышающую активность цисплатина, для прочих координационных соединений **1**, **3**, **5**, **6** цитотоксичность была в 3-8 раз выше, чем цисплатина. Биологическое действие аксиальных лигандов также исследовали в соответствующих биохимических тестах. В ходе экспериментов не выявлено корреляции между ингибирующей активностью аксиальных лигандов и цитотоксичностью, а также между способностью комплексов алкилировать ДНК клеток PSN-1 и цитотоксичностью, что может указывать на возможный синергетический эффект между биологическим действием лигандов и комплекса Pt(II).

2.3.1.2 Фенилбутират и алифатические/ароматические углеводороды

Влияние другой комбинации биоактивных лигандов на цитотоксичность пролекарств Pt(IV) было исследовано Kostrhunova et al. [88]. Пролекарство с фенилбутиратом и октаноатом **11** было исследовано в сравнении с цисплатином и соответствующими пролекарствами двойного действия **9**, **10** (Рис. 8).

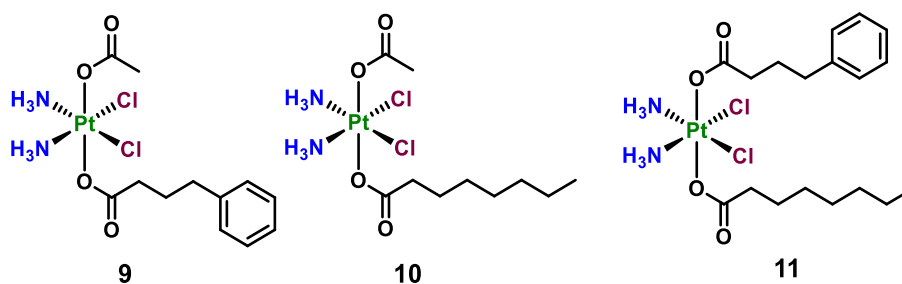


Рисунок 8. Пролекарства Pt(IV) **9** – **11** с фенолбутиратом, ацетатом и октаноатом в качестве аксиальных лигандов [88].

Двойные пролекарства **9**, **10** были в 2-15 раз более активны, чем цисплатин, в то время как тройное пролекарство **11** показало значения IC_{50} , превышающие значения для цисплатина в 100 – 900 раз. Уровень внутриклеточного накопления пролекарства **11** в клетках линии тройного негативного рака молочной железы MDA-MB-231 после 6 часов инкубации был в 30 и 10 раз выше, чем для пролекарств **9** и **10**, и около 60 раз выше, чем для цисплатина, что коррелирует с трендом липофильности среди четырёх соединений ($\log P$ **11** \gg **10** $>$ **9** \gg CDDP). Комплекс **11** также проявил биоактивность, соответствующую действию аксиальных лигандов, в частности, ингибировал активность HDAC и способствовал переметилированию ДНК, что обусловлено действием фенолбутирата. Таким образом была продемонстрирована эффективность стратегии создания пролекарств Pt(IV) тройного действия на примере пролекарства Pt(IV) **11** с наномолярным диапазоном цитотоксичности.

Физико-химические свойства и биоактивность пролекарств **12** - **22**, содержащих карбаматный фрагмент, были исследованы Babu et al. (Рис. 9) [69]. Было показано, что в присутствии восстановителя (аскорбата натрия) карбаматный лиганд в пролекарствах **12–18** образует анион карбаминовой кислоты $^-OC(O)NHR$, который претерпевает быстрое декарбоксилирование с образованием свободного амина. Напротив, исследование восстановления пролекарства Pt(IV) **22**, в котором фрагмент 3-аминобензойной кислоты связан с центром Pt(IV) через фрагмент янтарной кислоты, показало, что основным продуктом реакции является полуамид янтарной кислоты.

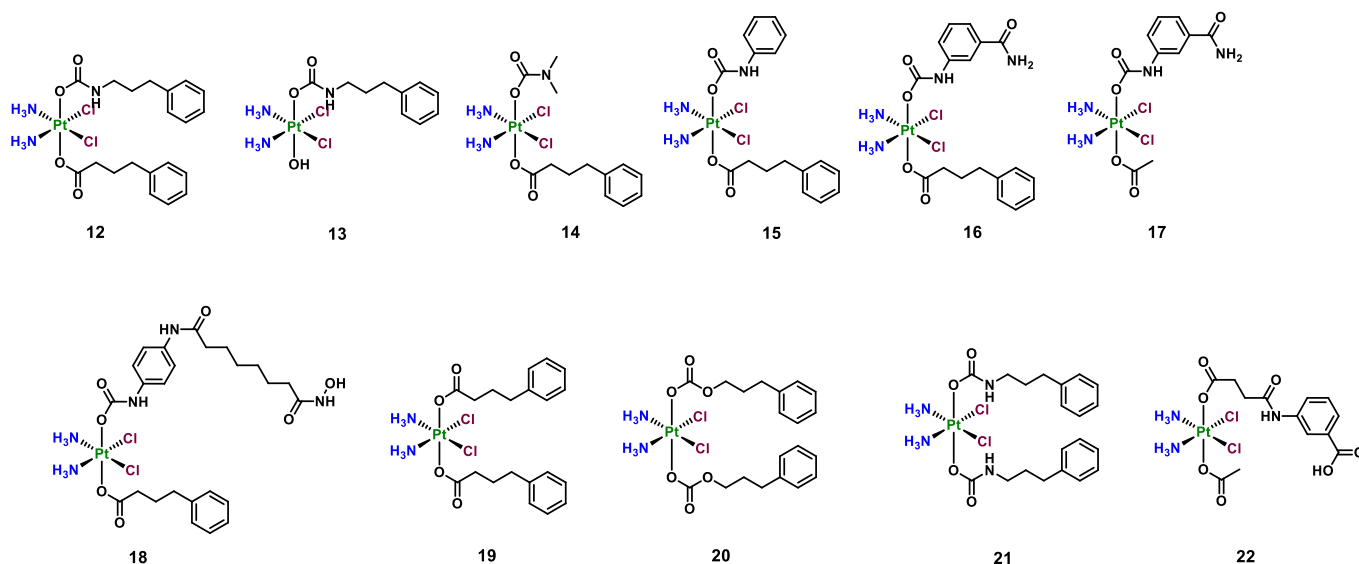


Рисунок 9. Пролекарства Pt(IV) **12** – **22** с фенилбутиратом и различными ароматическими и алифатическими аминами в качестве аксиальных лигандов [69].

Пролекарства Pt(IV) с карбаматным линкером между центром платины (IV) и алифатическим амином **12**, **14**, **21** продемонстрировали наибольшую стабильность ($t_{1/2} > 300$ ч) в культуральной среде среди серии пролекарств **12** – **22**, наиболее стабильным оказался дикарбаматный комплекс **21**. Наименьшую стабильность в водной среде показали пролекарства Pt(IV) **16** с ароматическим карбаматным лигандом, а также дикарбонатный комплекс **20**.

Цитотоксичность пролекарств **16–18**, **22** была исследована на ряде клеточных линий. Наибольшую активность и способность преодолевать резистентность к цисплатину на клеточной линии рака яичников A2780cisR проявило пролекарство тройного действия **16** с фенилбутиратом и 3-аминобензойной кислотой, в то время как для пролекарств **17** и **18** наблюдалась активность, схожая с цисплатином.

2.3.1.3 Эстрамустин+ HDAC +ЦОГ

Серия пролекарств Pt(IV) **23–27** с противоопухолевым препаратом эстрамустином и ингибиторами HDAC, PDK и ЦОГ-2 фенилбутиратом, дихлорацетатом, вальпрооеватом и аспирином была исследована Karmakar et al. (Рис. 10) [55]. Пролекарства **23–27** продемонстрировали многодневную стабильность в фосфатном буфере и питательной среде клеток, при этом наиболее стабильными оказались пролекарства **23** и **25**.

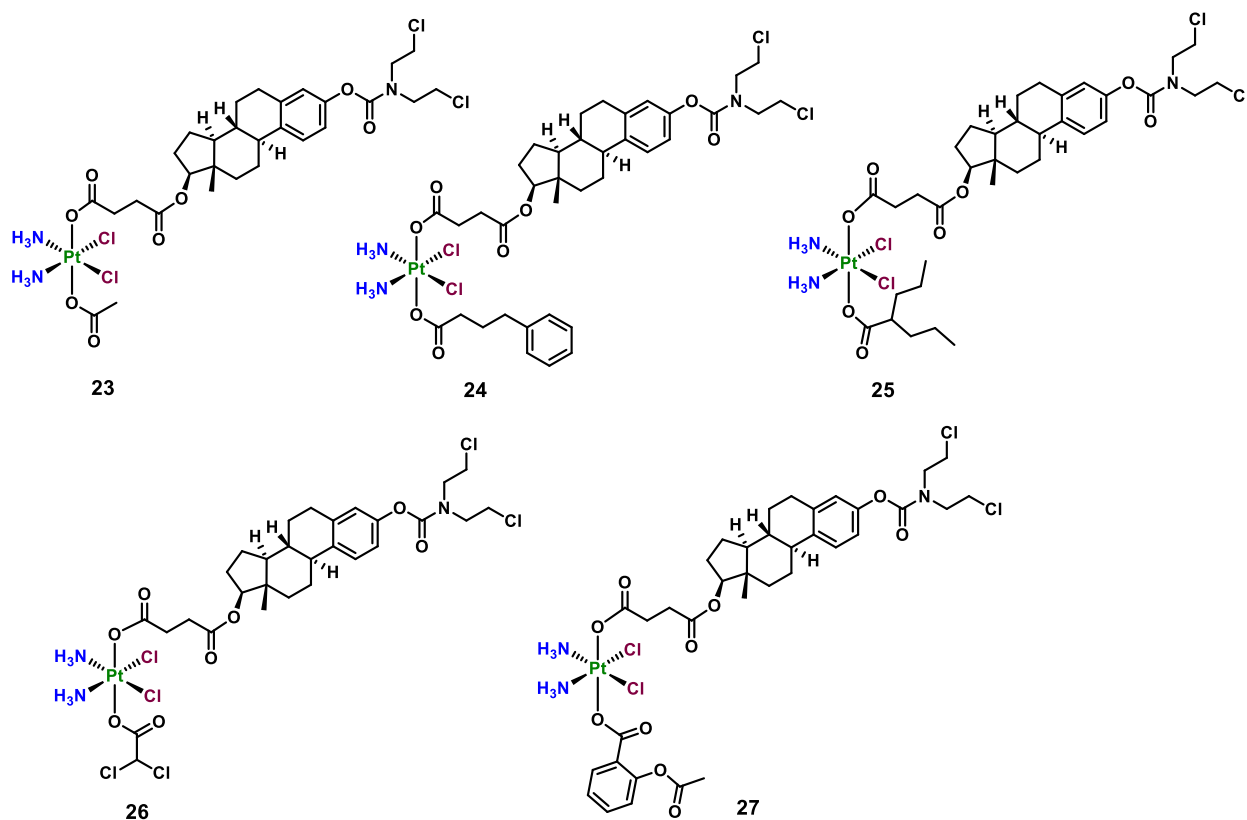


Рисунок 10. Пролекарства Pt(IV) **23** – **27** с эстрамустином, а также ацетатом, фенилбутиратом, вальпроатом, дихлорацетатом и аспирином в аксиальном положении [55].

Исследование цитотоксической активности показало, что пролекарства **24** и **25** с HDAC ингибиторами вальпроатом и дихлорацетатом, а также с комплекс **27** ЦОГ-ингибитором аспирином являются наиболее активными, значения IC₅₀ пролекарств на линии аденокарциномы простаты LNCaP составили 31, 49 и 90 нМ, соответственно, в 50 – 145 раз ниже, чем для цисплатина. При этом, все пролекарства оказались в 13–50 раз менее активными на линии здоровых клеток лёгкого MRC-5 pd30, а наиболее цитотоксическое на линии LNCaP пролекарство **25** показало наибольший индекс селективности 50 на здоровой клеточной линии MRC-5 pd30. Это указывает на влияние эстрамустина, который используется для терапии рака простаты и способствует повышенной селективности пролекарств Pt(IV).

Уровень внутриклеточного накопления пролекарств в клетках LNCaP коррелировал с цитотоксичностью, наиболее цитотоксичное пролекарство **25** лучше всего проникало в опухолевые клетки, в 64 раза лучше, чем цисплатин, однако содержание платины в ДНК после инкубации с **25** оказалось всего лишь в 12 раз лучше, чем в случае цисплатина, что указывало на вклад других факторов в цитотоксичность. Исследование влияния аксиальных лигандов показало, что для наиболее цитотоксичных пролекарств Pt(IV) **24** и **25** не проявляется биологическое действие эстрамустина, однако наблюдается эффект, обусловленный ингибирующей активностью ингибиторов HDAC вальпроата и фенилбутирата.

Таким образом, серия тройных пролекарств цисплатина с эстрамустином и рядом других биоактивных лигандов показала цитотоксичность в наномолярном диапазоне на ряде клеточных линий. Эстрамустин способствует селективности по отношению к опухолевым клеткам, в то время как повышенная цитотоксичность является следствием оптимальной липофильности пролекарств и действия других аксиальных лигандов (фенилбутирата, вальпроевой кислоты, аспирина или дихлорацетата).

2.3.1.4 Биотин + Дихлорацетат

Комбинация дихлорацетата и биотина в качестве векторного фрагмента в структуре пролекарств Pt(IV) **28** и **29** была исследована в работе Jin et al. (Рис. 11) [56]. Пролекарство Pt(IV) **28** с фрагментом биотина в аксиальном положении было модифицировано дихлорацетатом, с получением дикарбоксилатного пролекарства **29**. Комплекс **29** показал высокую стабильность в водных средах и в присутствии аскорбата, до 6 раз стабильнее монокарбоксилатного аналога **28**.

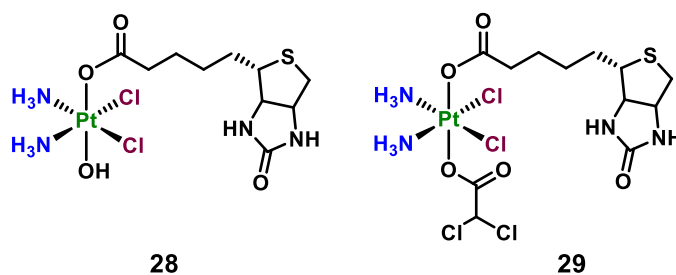


Рисунок 11. Пролекарства Pt(IV) **28** и **29** с биотином и дихлорацетатом в качестве аксиальных лигандов [56].

Цитотоксичность пролекарств Pt(IV) **28** и **29** была исследована на клеточных линиях, экспрессирующих биотиновые рецепторы (линия рака шейки матки HeLa, клетки рака печени HepG2, биотин(+)) и на линии, в которых нет экспрессии рецепторов биотина (клетки рака кишечника HCT-116, биотин(-)). Пролекарство **29** проявило селективность к биотин-(+) линиям ($IC_{50} < 2$ мкМ) и оказалось менее токсичным на линии, которая не экспрессирует рецепторы биотина ($IC_{50} > 18$ мкМ).

Анализ внутриклеточного распределения показал значительно более низкий уровень платины в ядрах клеток, обработанных пролекарством **29**, чем в ядрах клеток, обработанных цисплатином. Комплекс **29** показал способность ингибировать PDK, что указывает на действие дихлорацетатного фрагмента, высвобождающегося из пролекарства. Кроме того, **29** значительно изменял митохондриальный потенциал клеток HeLa, и был способен вызывать митохондриально-опосредованный апоптоз, о чём свидетельствовала повышенная экспрессия маркера апоптоза цитохрома C в митохондриях клеток HeLa.

2.3.1.5 5-фторурацил

Другим классом органических цитотоксических агентов, который был использован для повышения противоопухолевой активности пролекарств Pt(IV), являются ингибиторы тимидилатсинтетазы (ТС), в частности, 5-фторурацил. Метаболиты фторурацила способны связываться с ДНК, что вызывает её повреждение, а ингибирование ТС блокирует синтез ДНК и механизмы её репарации [89,90].

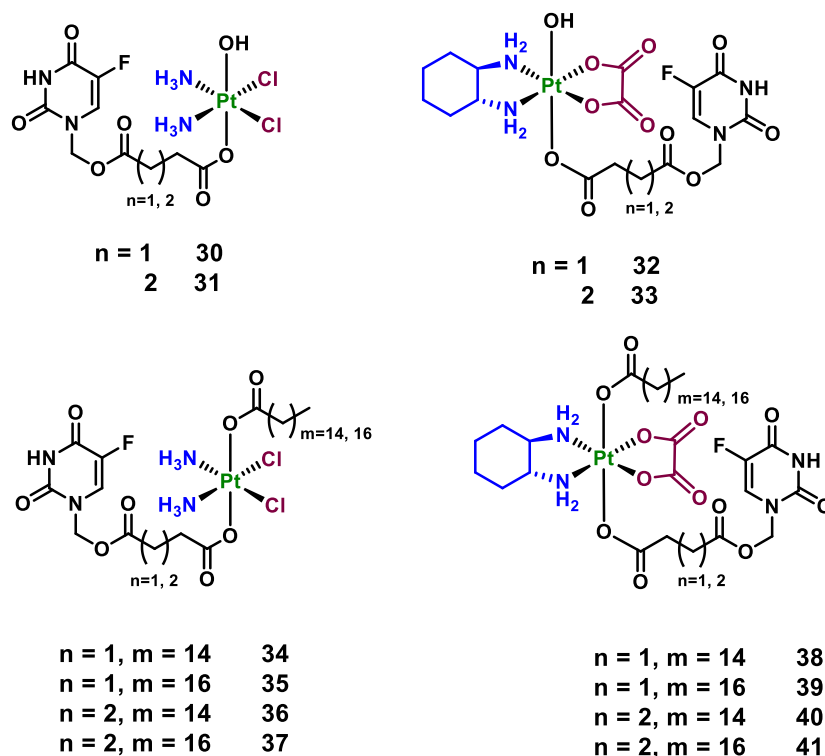


Рисунок 12. Монокарбоксилатные пролекарства **30** – **33** с 5-фторурацилом в качестве аксиального лиганда и дикарбоксилатные пролекарства **34** – **41** с 5-фторурацилом и пальмитиновой или стеариновой кислотой в качестве аксиальных лигандов [25].

Серия пролекарств цисплатина и оксалиплатина с фторурацилом была синтезирована и исследована Zhang et al. (Рис. 12) [25]. Монокарбоксилатное пролекарство **32** оказалось менее активным на всех исследованных клеточных линиях, чем эквимольная смесь оксалиплатина и фторурацила, поэтому для повышения цитотоксической активности второе аксиальное положение было модифицировано пальмитатом или стеаратом для повышения липофильности координационных соединений. Пролекарства Pt(IV) **34** - **41** оказались до 64 раз более активными, чем соответствующие комплексы Pt(II): так, IC_{50} на линии НСТ-116 составили 0.13 и 8.34 мкМ для **38** и оксалиплатина, соответственно. При этом, на здоровой клеточной линии MRC-5 пролекарство **38** было более чем в 2.5 раз менее активным, чем оксалиплатин.

Исследование внутриклеточного накопления пролекарств Pt(IV) в клетках линии НСТ-116 показало высокую проникающую способность пролекарства **38**, которое в 62 раза превышало

накопление оксалиплатина. Пролекарство Pt(IV) **38** эффективно повреждало ДНК, а также индуцировало рост экспрессии TC и p53 в клетках HCT-116, маркеров активности 5-фторурацила. Высокая противоопухолевая эффективность пролекарства **14** была также подтверждена в эксперименте *in vivo*, в котором пролекарство подавило рост ксенографтной опухоли HCT-116 мышей NOX/SCID на 84.8% в сравнении с контрольной группой после 21 дня терапии, для оксалиплатина и комбинации оксалиплатина и фторурацил торможение составило всего 57.8% и 75.8%, соответственно.

2.3.1.5 5-фторурацил + вальпроевая кислота

В последующей работе Ding et al. были исследованы пролекарства Pt(IV) **42** – **46** с 5-фторурацилом и алифатическими карбоновыми кислотами в аксиальном положении, включая ингибитор HDAC вальпроевую кислоту, (Рис. 13) [91]. Цитотоксическая активность пролекарств была исследована на ряде опухолевых клеточных линий, включая клетки HeLa, и нормальных клетках пупочной вены человека HUVES. С ростом длины цепи карбоновой кислоты в аксиальном положении наблюдался рост цитотоксической активности пролекарства, наибольшую активность на клетках линий карциномы молочной железы MCF-7 и MDA-MB-231 показал комплекс **45** с вальпроевой кислотой и линкером-глутаровой кислотой, однако наибольшую селективность по отношению к здоровым клетками HUVES продемонстрировало пролекарство **46** с вальпроевой кислотой и линкером-янтарной кислотой, с индексом селективности (ИС) = 12 (Рис. 13, нижний ряд),.

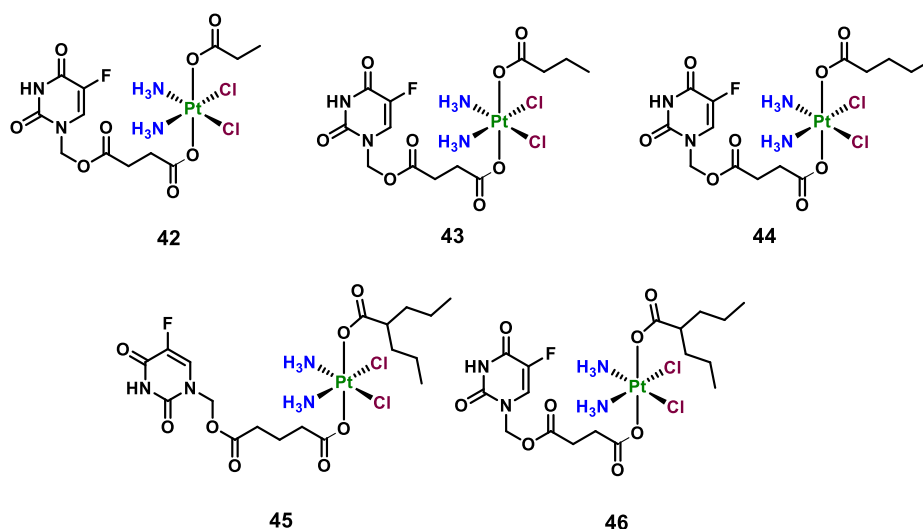


Рисунок 13. Пролекарства Pt(IV) **42** – **46** с 5-фторурацилом и пропионатом, бутаноатом, пентаноатом или вальпроатом в аксиальном положении [91].

Уровень внутриклеточного накопления пролекарства **46** в клетках HeLa оказался в 3 раза выше, чем у цисплатина (52 и 140 нг Pt/10⁶ клеток, соответственно), что коррелирует с различием

в цитотоксической активности. Кроме того, пролекарство **46** ингибировало экспрессию HDAC, и повышало экспрессию тимидилат синтазы, мишени 5-фторурацила, что указывает на то, что аксиальные лиганды пролекарства Pt(IV) **14** высвобождаются и оказывают своё биологическое действие, что индуцирует клеточную гибель.

2.3.1.6 Хлорамбуцил

Хлорамбуцил - это одобренный FDA противоопухолевый препарат с механизмом биологического действия, схожим с цисплатином: хлорамбуцил связывается с N7 положением гуанина или аденина в ДНК [92,93].

Моно- и дикарбоксилатные пролекарства двойного действия цисплатина с хлорамбуцилом **47** и **48**, соответственно, были исследованы Ma et al. (Рис. 14) [50]. Пролекарства **47** и **48** показали близкую к цисплатину токсичность на клеточных линиях A549 и HeLa (рост токсичности в 1.5 – 3.3 раза), более значительный рост цитотоксичности наблюдался на линии MCF-7 (в 5.5 – 6 раз). Наибольшую эффективность в сравнении с цисплатином пролекарства показали на линии тройного негативного рака MDA-MB-231, на которой **48** был в 20 раз более активен, чем цисплатин, со значениями IC₅₀ 2.5 мкМ и 51.7 мкМ, соответственно.

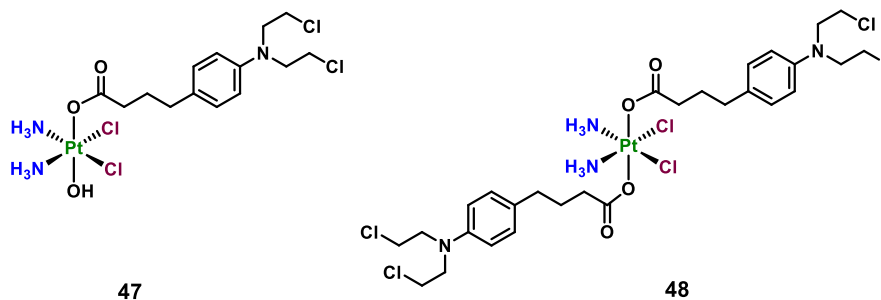


Рисунок 14. Пролекарства Pt(IV) **47** и **48** с хлорамбуцилом в качестве аксиального лиганда [50].

Рост цитотоксичности пролекарства **48** коррелирует с ростом внутриклеточного накопления пролекарства в сравнении с цисплатином, после 3 часов инкубации клеток MDA-MB-231 с пролекарствами содержание платины составило 10000 нг/10⁶ клеток и 100 нг/10⁶ клеток для **48** и цисплатина, соответственно. Пролекарство вызывало значительно более выраженное повреждение ДНК и апоптоз в сравнении с цисплатином, что также указывает на повышенную эффективность соединения. В исследовании противоопухолевой эффективности *in vivo* на ксенографтной опухоли MDA-MB-231 мышей BALB/C пролекарство тормозило рост опухоли аналогично цисплатину (объём опухоли составил 59% от объёма в контрольной группе), однако, в отличие от цисплатина, терапия **48** не вызывала потери веса у мышей.

Хлорамбуцил был также использован в качестве аксиального лиганда другого класса противоопухолевых агентов на основе Pt(II), а именно комплексов **49** - **51** с экваториальными

лигандами на основе производных фенантролина [94] (Рис. 15). Некоторые представители этого класса, в частности 56MESS, показали высокую антипролиферативную активность на ряде клеточных линий, предположительно вследствие альтернативного механизма цитотоксичности, который таргетирует митохондрии [95,96].

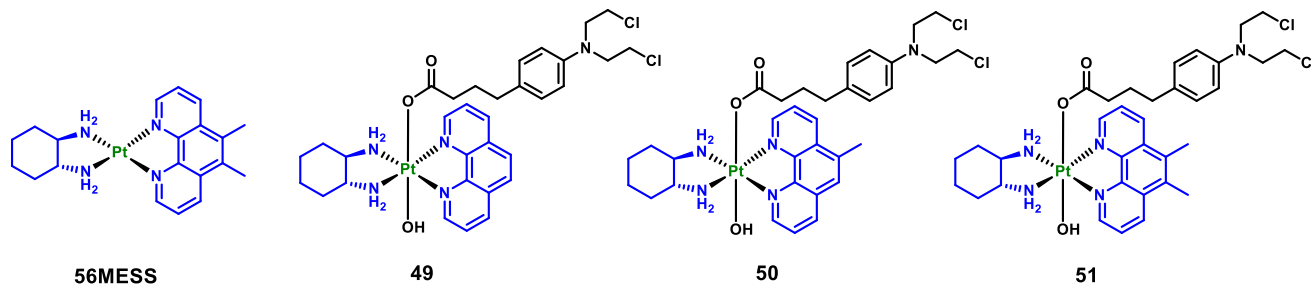


Рисунок 15. Пролекарства Pt(IV) **49** – **51** с хлорамбуцилом в аксиальном положении, основанные на неклассическом комплексе Pt(II) 56MESS [94].

Три пролекарства **49–51** показали высокую цитотоксичность в субмикромольном и наномольном диапазоне на ряде клеточных линий. Пролекарство **51** оказалось наиболее активным, со значениями GI_{50} (концентрация ингибирования роста клеток на 50%) до 2.7 нМ на клеточной линии рака простаты DU145, и 10 нМ на цисплатин-резистентной клеточной линии рака яичников ADDP. Несмотря на то, что пролекарство Pt(IV) **51** в 2800 раз более токсично, чем цисплатин на линии ADDP, цитотоксичность пролекарства **51** оказалась сравнима с активностью предшествующего комплекса Pt(II) 56MESS, значения GI_{50} на линии ADDP составили 10 и 13 нМ, соответственно.

Повышенный уровень АФК в клетках приводит к значительному повреждению ДНК, и активирует апоптотическую гибель клеток [97,98]. Способность пролекарств Pt(IV) стимулировать образование АФК исследовали в клетках колоректальной аденокарциномы HT29. При инкубации клеток с пролекарством **51** наблюдалось до 3 раз более активное образование АФК, чем при инкубации с комплексом Pt(II) 56MESS.

2.3.1.7 4-Галогенфенилуксусные кислоты

Неклассические комплексы Pt(II) PHENSS и 56MESS были также использованы для создания серии пролекарств Pt(IV) **52–59** с 4-галогенфенилуксусными кислотами (Рис. 16) [99]. Серия пролекарств **56–59**, основанных на 56MESS показала значительно более высокую цитотоксичность, чем серия пролекарств **52 - 55** основанных на PHENSS, что коррелирует с более чем в 10 раз более высокой цитотоксичностью 56MESS в сравнении с PHENSS. Пролекарства **56** и **58** с фтором и бромом в качестве заместителей во фрагменте фенилуксусных кислот показали наиболее высокую активность со значениями GI_{50} , достигающими 0.7 нМ для **56** на клеточной линии Du145. Пролекарства **56** и **58** показали 1.5–7-кратный рост токсичности в сравнении с

исходным комплексом Pt(II) 56MESS, в то время как пролекарства **57** и **59** оказались значительно менее активными, чем исходный комплекс.

Для серии пролекарств Pt(IV) был исследован уровень образования АФК в клетках HT29., наиболее активные комплексы **56** и **58** показали наибольший уровень АФК в клетках, до 3 раз выше, чем исходный комплекс Pt(II) и до 2 раз выше, чем цисплатин.

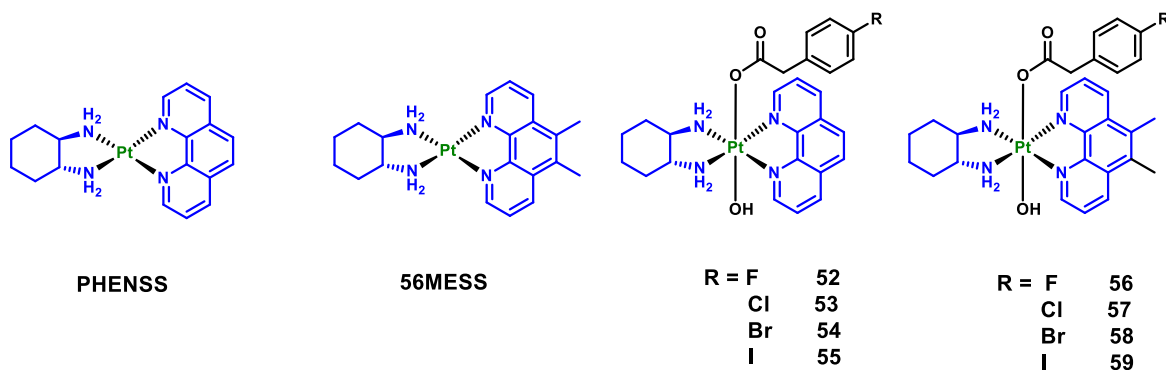


Рисунок 16. Пролекарства Pt(IV) **52** - **59** с 4-галогенфенилуксусными кислотами в качестве аксиальных лигандов [99].

2.3.1.8 Липоевая кислота

Среди соединений, способных подавлять анаэробный гликолиз опухолевых клеток, привлекательным соединением является липоевая кислота (ЛК) [100]. Она синтезируется в митохондриях клеток, обладает низким редокс потенциалом $E_0 = -0.29$ В перехода в восстановленную форму дигидролипоевой кислоты, вследствие чего способна подавлять образование АФК (Рис. 17) [101,102]. Кроме того, было показано, что ЛК вызывает апоптоз клеток линии плоскоклеточной опухоли головы и шеи FaDu [103].

Биологическая активность пролекарств китеплатина и карбоксилатного аналога китеплатина с липоевой кислотой была исследована Savino et al. (Рис. 17) [104]. Антипролиферативная активность соединений была исследована на ряде клеточных линий, комплекс **60** проявил активность в субмикромольном диапазоне, вплоть до $IC_{50} = 0.1$ мкМ на клеточной линии рака шейки матки A431, в 40 раз меньше, чем китеплатин. На трёхмерных сфероиды линии A431 комплекс **60** также проявил наибольшую активность среди тестируемых соединений, более чем в 3 раза выше, чем китеплатин.

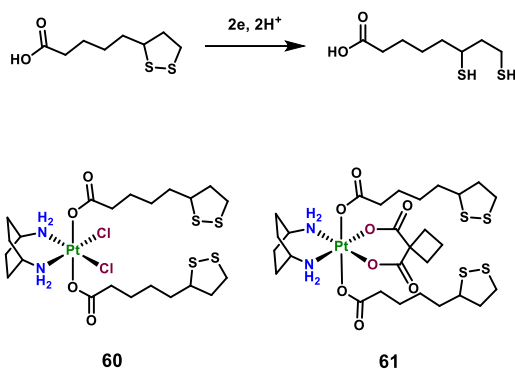


Рисунок 17. Восстановление липоевой кислоты до дигидролипоевой кислоты и пролекарства Pt(IV) **60** и **61** с липоевой кислотой в качестве аксиальных лигандов [104].

Пролекарства на основе цисплатина, содержащие липоевую кислоту в качестве аксиальных лигандов **62** - **64** были исследованы Liu et al. (Рис.18) [105]. Были получены монокарбоксилатное и дикарбоксилатное пролекарства **62** и **63**, с одним и двумя фрагментами липоевой кислоты, соответственно, а также несимметричный дикарбоксилатный комплекс с липоевой кислотой и фенилбутиратом **64**. Симметричный комплекс **63** оказался крайне ограниченно растворимым и был исключён из исследования. Монокарбоксилатный комплекс **62** целиком восстанавливался аскорбатом натрия в течение 24 часов, в то время как комплекс **64** оказался стабилен вплоть до 48 часов инкубации. Восстановление пролекарства **62** в присутствии азотистого основания 9-метилгуанина (9MeГ) показало образование аддуктов Pt(II) с 9MeГ после 20 часов инкубации, что указывает на способность комплекса платины связываться с ДНК после высвобождения из пролекарства.

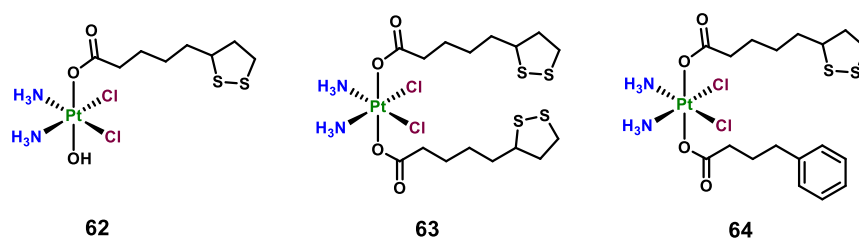


Рисунок 18. Пролекарства Pt(IV) **62** – **64** с липоевой кислотой и фенилбутиратом в качестве аксиальных лигандов [105].

Пролекарства **62** и **64** проявили цитотоксическую активность выше, чем цисплатин, и эквимоллярная смесь цисплатина и липоевой кислоты, на ряде опухолевых клеточных линий. Стоит отметить, что монокарбоксилатный комплекс **62** проявил идентичную активность комплексу **64** на линии колоректальной аденокарциномы SW480 ($IC_{50} = 0.74$ и 0.70 мкМ, соответственно) и оказался в 1.3 раза активнее на клеточной линии A549, несмотря на наличие в структуре пролекарства **64** ингибитора HDAC фенилбутирата. Для обоих пролекарств была также исследована способность индуцировать образование АФК в клетках. Образование АФК

при инкубации клеток линии SW480 с пролекарствами **62** и **64** наблюдалось только при концентрациях, в 17 раз превышающие значения IC_{50} .

Серия пролекарств оксалиплатина с липоевой кислотой и её селеновыми и циклопентановыми аналогами была исследована в последующей работе Liu et al. (Рис. 19) [106]. Аналогично пролекарствам цисплатина, дикарбоксилатное пролекарство **70** оказалось стабильно в присутствии аскорбиновой кислоты в течение 72 часов, в отличие от монокарбоксилатных комплексов **65–67**.

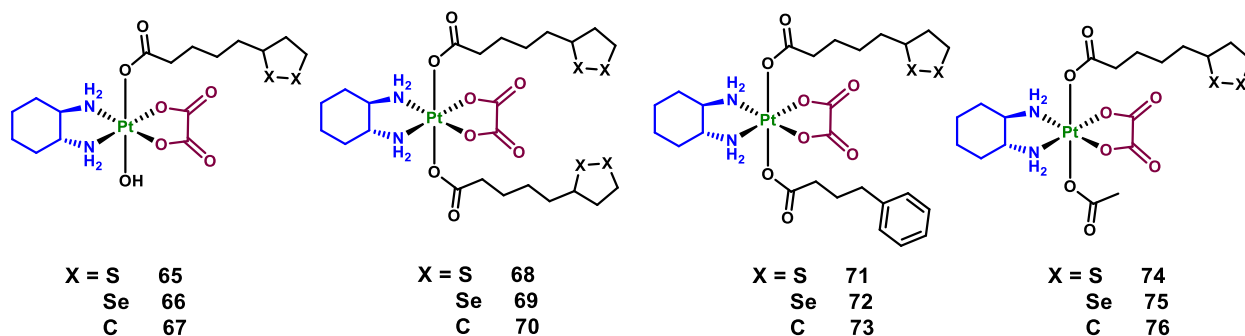


Рисунок 19. Пролекарства Pt(IV) **65** – **76** с липоевой кислотой и её аналогами в качестве аксиальных лигандов [106].

Исследование цитотоксической активности показало, что наибольшую активность проявляют пролекарства с циклопентановым аналогом липоевой кислоты в аксиальном положении, которые показали значения IC_{50} сравнимые или ниже, чем для исходного оксалиплатина. Наименьшие значения IC_{50} показало пролекарство **73** с фенилбутиратом, до 18 нМ на SN1/PA-1, и 190 нМ на SW480. Внутриклеточное накопление было исследовано для серии симметричных пролекарств **68–70**, наибольший уровень платины был показан для пролекарства **69**, несмотря на его самую низкую липофильность среди трёх пролекарств. Возможным объяснением является участие активного транспорта в проникновении координационных соединений в клетку. Способность пролекарств **65**, **68–71** индуцировать образование АФК была исследована в клетках линии SW480, значительное повышение уровня АФК наблюдалось только при концентрации пролекарств, в 50 раз выше значений IC_{50} .

2.3.1.9 Ингибитор p53-MDM2

Ингибирование взаимодействия белков p53-MDM2 является привлекательной терапевтической мишенью для разработки противоопухолевых препаратов. Известно, что белок MDM2 сверхэкспрессируется в различных опухолях, и способен ингибировать супрессор образования злокачественных опухолей белок p53, что способствует неконтролируемой пролиферации клеток, в то время как подавление взаимодействия p53-MDM2 активирует белок p53, запускающего апоптоз опухолевых клеток [107]. В качестве аксиального лиганда, усиливающего антипролиферативные свойства пролекарств Pt(IV) в работе Ma et al. [108] был использован ингибитор взаимодействия p53-MDM2 халькон. Значения IC_{50}

монокарбоксилатного пролекарства Pt(IV) **77** находились в наномолярном диапазоне, до 422 раз меньше, чем для цисплатина (0.023 и 9.7 мкМ на линии НСТ-116, соответственно). Пролекарство Pt(IV) **77** также проявило субмикромольную активность на цисплатин-резистентных клеточных линиях (0.07 и 0.14 мкМ на A2780cisR и A549cisR, соответственно). Также, пролекарство **77**, в отличие от цисплатина, вызывало апоптоз после 6 часов инкубации, и способствовало значительному росту экспрессии маркера повреждения ДНК γ H2A.X.

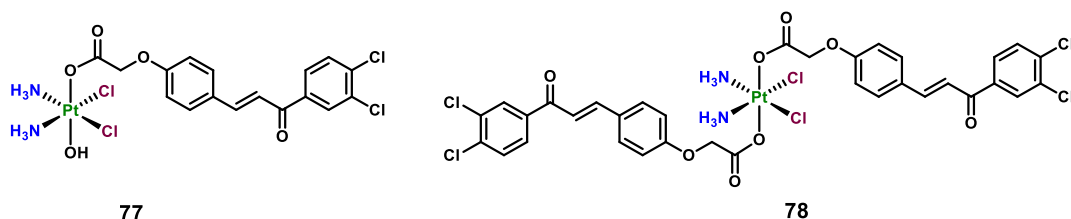


Рисунок 20. Пролекарства Pt(IV) **77** и **78** с производным халькона в качестве аксиального лиганда [108].

Кроме того, для пролекарства **77** был показан значительно более высокий уровень внутриклеточного накопления, в 36 и 111 раз выше, чем для цисплатина в клетках A2780 и A2780cisR, соответственно. При этом инкубация клеток A2780 с пролекарствами **77** и **78** при 4°C привела к значительному, 10 - кратному падению уровня платины, что указывает на участие энергозависимого транспорта в процессе накопления пролекарства платины **77** и **78** в клетках.

Противоопухолевая эффективность комплекса **77** была исследована *in vivo* на ксенографтных мышях BALB/C с привитой карциномой кишечника человека НСТ-116. После 4 инъекций **77** дозой 0.72 мг/кг в течение 8 дней, на 27 день терапии средний объем опухоли составил 320 мм³, в 3 и 5 раз ниже, чем в группах мышей, которым вводили цисплатин, или в контрольной группе, соответственно. Таким образом, была продемонстрирована высокая противоопухолевая эффективность пролекарства Pt(IV) **77**.

2.3.1.10 Комбретагестин А4

Природное соединение комбретагестин А4 (CA-4) является перспективным противоопухолевым агентом, ряд его пролекарств и аналогов показали эффективность в ряде клинических испытаний (Рис. 21) [109]. CA-4 вызывает клеточную смерть путём ингибирования полимеризации тубулина, что предотвращает образование новых кровеносных сосудов, или разрушает уже имеющиеся в опухоли кровеносные сосуды [110]. Пролекарства цисплатина и оксалиплатина с комбретагестином А4 **79**, **80** или его аналогом с свободной аминогруппой вместо гидроксильной группы AVE-8603 **81**, **82** были синтезированы и изучены Li et al. (Рис. 21) [111].

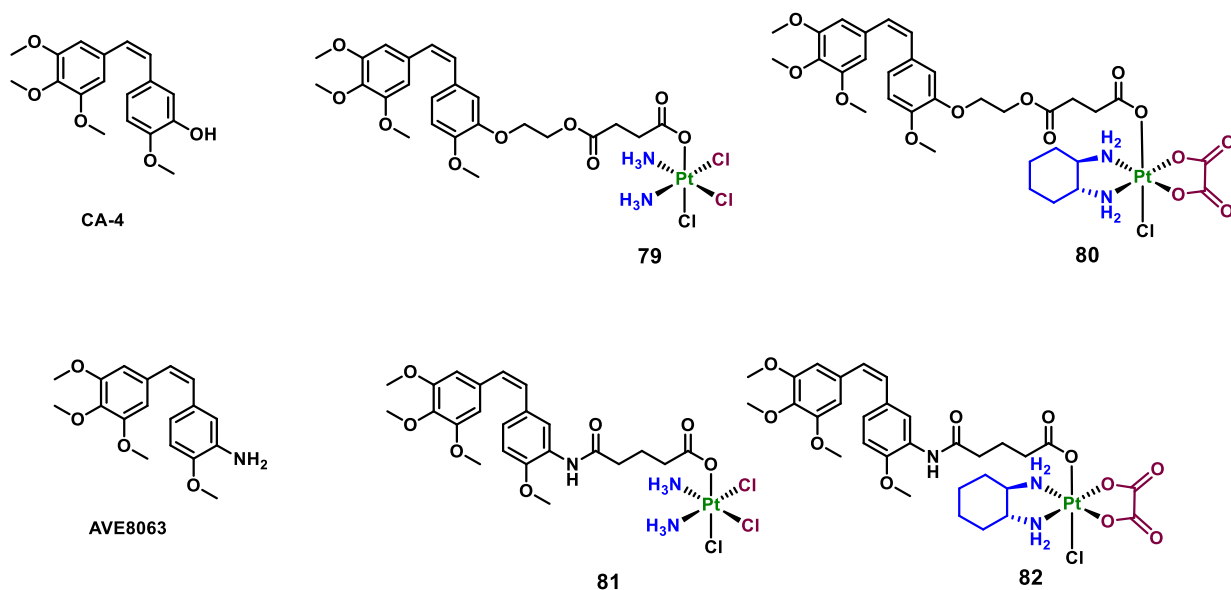


Рисунок 21. Пролекарства Pt(IV) **79–82** с комбретастином **A4** или его аналогом **AVE8063** в аксиальном положении [111].

Пролекарства Pt(IV) **79–82** оказались менее цитотоксичными на всех исследуемых клеточных линиях, чем соответствующие свободные лиганды **CA-4** и **AVE8063**. Тем не менее, активность пролекарств Pt(IV) **79** и **81** превысила активность цисплатина в 12–22 и 8–14 раз, соответственно. Также стоит отметить высокую селективность пролекарства **79** к клеткам НСТ-116 по отношению к здоровым клеткам кишечника NCM460, а также к HEPG2 по отношению к нормальным клеткам печени HL-7702, индексы селективности составили 43 и 50, соответственно.

Исследование внутриклеточного накопления пролекарства **79** в сравнении с цисплатином на клетках рака яичников SKOV-3 показало, что проникающая способность комплекса **79** в 2.2 раза превышает таковую для цисплатина. Комплекс **79** также показал активность в отношении митохондрий клеток SKOV-3, и разрушал сеть микротрубочек, что указывает на активность фрагмента **CA-4** в аксиальном положении пролекарства Pt(IV) **79**.

Противоопухолевую активность пролекарства **79** исследовали на ксенографтных мышах BALB/C с привитой карциномой яичника SKOV-3, с дозами введения 5 и 13 мг/кг. В обоих режимах терапии комплекс эффективно тормозил рост опухоли (уровень ингибирования роста составил 53 и 60%, соответственно), при этом торможение оказалось выше, чем для **CA-4** с дозой 5 мг/кг, но ниже, чем для цисплатина с дозой 5 мг/кг. Стоит отметить, в группах, получавших терапию пролекарством **79** мыши набирали вес лучше, чем в группах, которым вводили цисплатин, что свидетельствует о меньшем количестве побочных эффектов.

В работе Schmidt et al. были описаны пролекарства Pt(IV) тройного действия **83 – 90**, содержащие в аксиальном положении комбретастин, а также ингибиторы HDAC фенилбутират

и вальпроат, ингибитор PDK дихлорацетат (DCA), и октаноат, усиливающий метилирование ДНК (Рис.22) [112]. Все пролекарства показали сравнимую и превосходящую комбретастин цитотоксичность в наномолярном диапазоне <10 нМ, а также увеличенное внутриклеточное накопление по сравнению с цисплатином. Также, все пролекарства показали способность ингибировать образование микротрубочек.

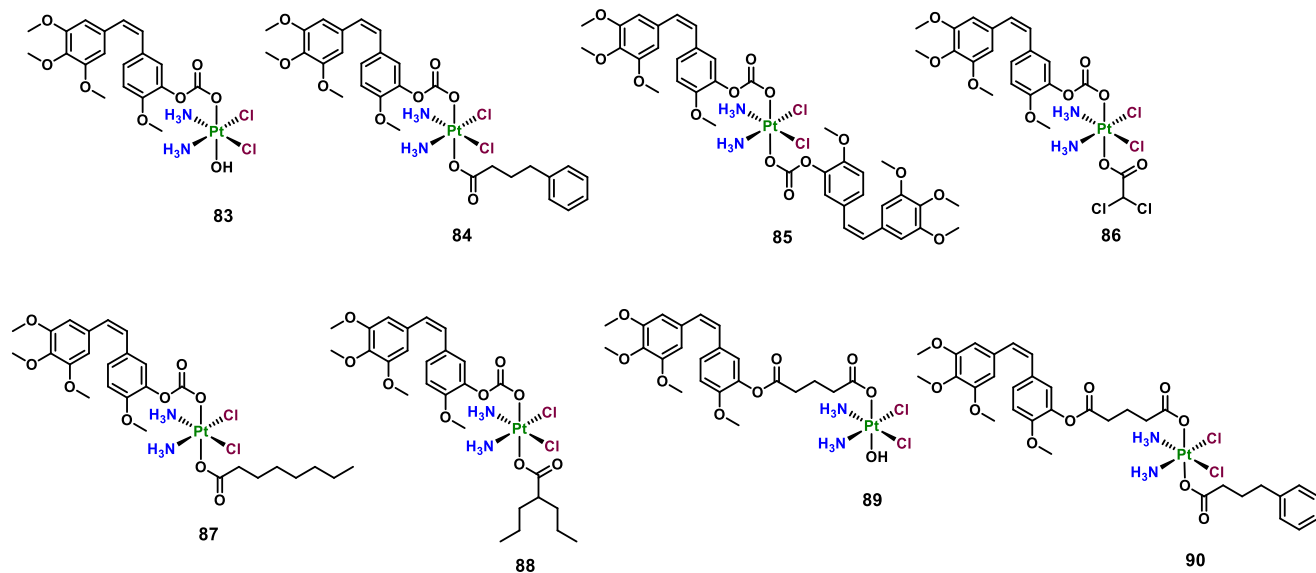


Рисунок 22. Пролекарства Pt(IV) **83-90** двойного и тройного действия с комбретастином-А4, а также фенилбутиратом, дихлорацетатом или октаноатом в аксиальном положении [112].

Исследование терапевтической эффективности *in vivo* на модели с привитой карциномой легкого Льюиса показывает, что СА-4, являющийся наиболее мощным цитостатиком *in vitro*, вызывает самое слабое противоопухолевое действие *in vivo*. Противоопухолевый эффект, индуцированный **83**, был сравним с таковым для цисплатина (ингибирование 84%), а терапия комплексами **88** или **84** вызывала ТРО 91.5 и 92.6%, соответственно. Наибольшая эффективность пролекарства тройного действия **84** с фенилбутиратом и комбретастином в аксиальном положении объясняется авторами большей стабильностью пролекарств тройного действия по сравнению с пролекарствами двойного действия. Таким образом, в работе Schmidt et al было показано, что введение цитотоксического фрагмента комбретастина с помощью расщепляемого карбаматного линкера способствует значительному росту антипролиферативности пролекарств Pt(IV) в сравнении с подходами с использованием линкера на основе карбоновых кислот.

2.3.2. Пролекарства Pt(IV) с лигандами, преодолевающими резистентность к цисплатину

2.3.2.1 Жирные кислоты

Резистентность опухолевых тканей к платиносодержащим препаратам является одной из главных проблем химиотерапии цисплатином или его аналогами, в связи с чем поиск подходов для преодоления резистентности является привлекательной стратегией для повышения эффективности платиносодержащих препаратов [113]. Пролекарства Pt(IV) **91** - **93** с длинным алифатическим фрагментом, который имитирует фрагмент жирной кислоты (Рис. 22), были синтезированы для проникновения в опухолевые клетки посредством рецептора CD36, экспрессия которого повышена в цисплатин-резистентных клеточных линиях, в частности, A2780cisR [114].

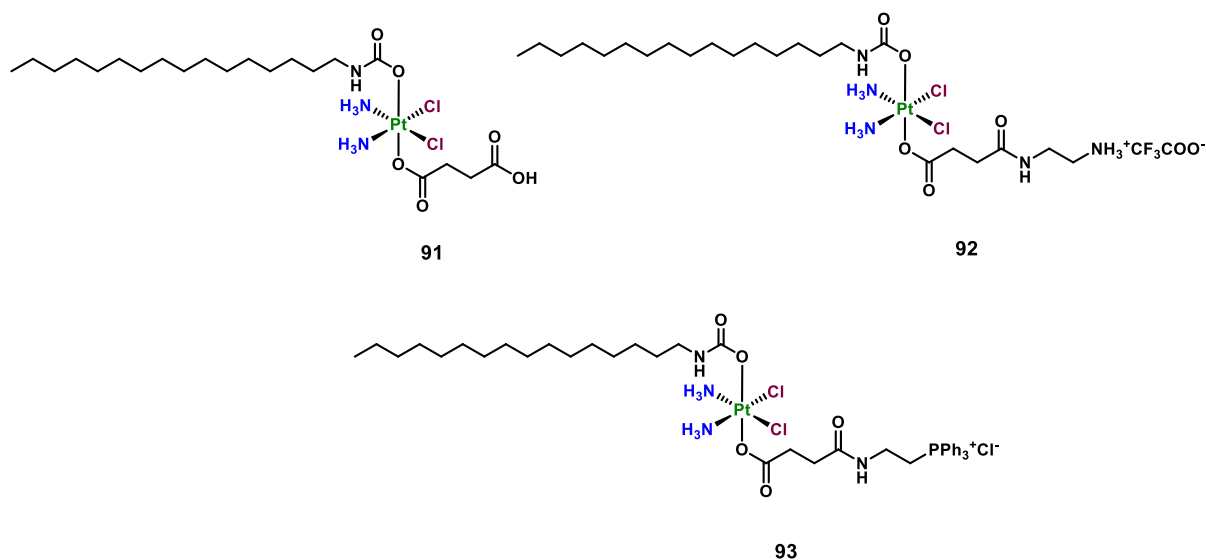


Рисунок 23. Пролекарства Pt(IV) **91** – **93** с длинным алифатическим фрагментом [114].

Пролекарство **91** показало способность преодолевать резистентность к цисплатину на клеточной линии A2780cisR, фактор резистентности для пролекарства и цисплатина составил 0.9 и 5.4, соответственно. Пролекарства **92** и **93**, с фрагментами этилендиамина, трифторацетата и этиленамидтрифенилфосфин хлорида, соответственно, оказались ещё более цитотоксичными на клеточной линии A2780cisR ($IC_{50} = 0.24$ и 0.31), а также эффективно повреждали митохондрии, о чём свидетельствует количество платины в митохондриях, детектированное с помощью атомно-адсорбционной спектроскопии в графитовой печи (АДСГП), а также значительное снижение митохондриального потенциала клеток A2780cisR, инкубированных с пролекарствами **91** - **93**.

Таким образом, пролекарства Pt(IV) **91**–**93** эффективно проникают в опухолевые клетки посредством рецептора CD36 и оказывают антипролиферативное действие посредством повреждения митохондрий.

2.3.2.2 Ингибиторы глутатион-S-трансферазы

Одним из механизмов резистентности опухолевых клеток к платиносодержащим препаратам считается инактивация соединений Pt(II) биотиолами, такими как глутатион и цистеин [115]. Инактивация комплексов платины может происходить как за счёт пассивного связывания с глутатионом, так и катализироваться ферментами, в частности, глутатион-S-трансферазой (GST) [116]. В связи с этим, ингибиторы GST являются перспективными аксиальными лигандами для пролекарств Pt(IV), так как подобные пролекарства могут быть способны преодолевать резистентность опухолевых клеток к цисплатину. С применением данной стратегии ранее были синтезированы и исследованы пролекарства Pt(IV) с GST-ингибитором, которые показали свою способность преодолевать резистентность к цисплатину [47].

Пролекарства оксалиплатина **94** и **95** с необратимым ингибитором GST L-бутионин-S,R-сульфоксимином (BSO) в аксиальном положении, а также ацетатом или малеимидом в качестве второго аксиального лиганда, соответственно, были синтезированы и исследованы Fronik et al. (Рис. 24) [73]. Малеимидный фрагмент связывается с альбумином в крови, что способствует повышенной стабильности комплекса Pt(IV) в кровотоке, а также накоплению в опухоли [72,117].

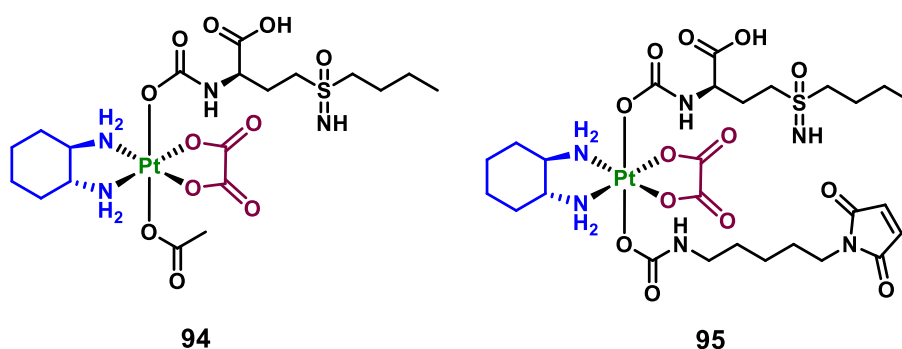


Рисунок 24. Пролекарства Pt(IV) **94** и **95** с ингибитором глутатион-S-трансферазы L-бутионин-S,R-сульфоксимином (BSO) [73].

Цитотоксичность пролекарства **94** была исследована на клеточных линиях HCT-116, оксалиплатин-резистентной HCT-116/oxR в сравнении с оксалиплатином, а также на линиях A2780 и A2780/cis в сравнении с цисплатином. В сравнении с обоими препаратами Pt(II), цитотоксичность пролекарства Pt(IV) **94** была в 10 – 50 раз ниже, однако при этом фактор резистентности комплекса **94** составил 2.9 на линии HCT-116 и 1.4 на линии A2780 в сравнении с 17.2 и 4.1 для оксалиплатина и цисплатина на данных линиях, соответственно. Это однозначно указывает на способность пролекарства Pt(IV) **94** преодолевать резистентность к цисплатину.

Исследование внутриклеточного накопления показало, что проникающая способность пролекарства Pt(IV) **94** до 5 раз ниже, чем у оксалиплатина, в клетках HCT-116. Стоит отметить, что накопление оксалиплатина в резистентной линии рака кишечника HCT-116/OxR оказалась в

два раза ниже, чем в НСТ-116, в то время как для пролекарства **94** уровень платины на двух клеточных линиях был идентичен.

Противоопухолевая эффективность пролекарств **94** и **95** была исследована *in vivo* на колоректальной карциноме СТ-26 мышей BALB/С. Оксалиплатин и пролекарства Pt(IV) **94** и **95** продемонстрировали сравнимую противоопухолевую эффективность, и способствовали значительному, до 1.5-2 раз снижению объема опухоли в сравнении с контрольной группой к 40 дню терапии.

2.3.2.3. Ингибитор STAT3

Преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3 (STAT3), который регулирует множественные онкогенные процессы и является важным регулятором нормальных и раковых стволовых клеток, активирован в различных видах рака и является терапевтической мишенью в разработке противоопухолевых препаратов [118,119]. Также, опухолевые стволовые клетки (ОСК), способные инициировать образование опухоли и метастазирование, считаются одной из основных причин лекарственной резистентности [120]. Препарат Напабукацин ВВ1608 обладает способностью ингибировать STAT3, вызывать гибель ОСК в различных типах злокачественных новообразований и был допущен до фазы III клинических испытаний [121]. В 2022 году, в работе Wang et al. производное Напабукацина, ВВ1608-ОН было использовано в качестве аксиального лиганда для синтеза серии пролекарств цисплатина **96-101** (Рис. 25) [122].

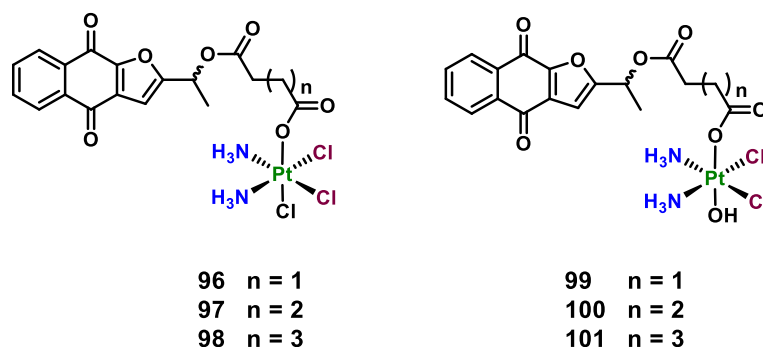


Рисунок 25. Пролкарства Pt(IV) **96-101** с ингибитором STAT3 напabuкацином в аксиальном положении.

Цитотоксичность полученных пролекарств оценивалась на ряде клеточных линий, включая цисплатин-чувствительные и цисплатин-резистентные A549 и A549/CDDP. С ростом длины линкера в пролекарствах **96-98** и **99-101** возрастала цитотоксичность, наибольшую активность продемонстрировал монокарбоксилатный комплекс **101** с адипиновой кислотой в качестве линкера. Пролкарства **96-101** эффективно преодолевали резистентность к цисплатину на линии A549/CDDP со значениями фактора резистентности 0.56–0.97.

Пролкарства **96-101** ингибировали альдегид дегидрогиназу, основной маркер ОСК, наибольшую ингибирующую активность показало пролекарство **101**, со степенью

ингибирования 36.31%. Комплекс **101** также эффективно ингибировал биомаркеры ОСК CD44 и CD133, а также активно препятствовал образованию сфероидов клеток линии A549/CDDP, что указывает на способность пролекарства **101** ингибировать активность ОСК.

В исследовании заживления ран комплекс **101** показал наибольшую активность в сравнении с цисплатином и Напабукацином ВВ1608, замедление заживления составило 50% в сравнении с контрольной группой клеток. В исследовании противоопухолевой эффективности **101 in vivo** на цисплатин-резистентной карциноме легкого A549/CDDP мышей BALB/C при дозировке 11.5 мг/кг (эквивалентна дозировке 5 мг/кг цисплатина) степень ингибирования роста опухоли составила 64.76%, что значительно превышало уровень ингибирования в группе цисплатина (12.77%), что указывает на высокую противоопухолевую активность комплекса **101** даже на цисплатин-резистентных опухолях.

2.3.3. Пролекарства Pt(IV) с нестероидными противовоспалительными препаратами

Хроническое воспаление является одним из маркеров опухолевых тканей и одним из ключевых ферментов формирования воспалительного ответа. Ключевой фермент синтеза простагландинов, необходимых для формирования воспалительного ответа ЦОГ-2, сверхэкспрессирован во многих опухолях [123,124]. Простагландины способствуют пролиферации опухолевых клеток, и их уклонению от обнаружения иммунной системой, в то время как подавление экспрессии ЦОГ-2 оказывает антипролиферативный эффект на клетки злокачественных новообразований [125]. В связи с этим нестероидные противовоспалительные препараты (НСПВП) привлекают внимание исследователей при поиске подходов к терапии онкологических заболеваний, в частности, при создании новых платиносодержащих препаратов [36,87].

2.3.3.1 Флурбипрофен

Пролекарство с двумя фрагментами флурбипрофена было получено Tan et al. (Рис. 26) [44]. Способность пролекарства **102** образовывать аддукты с ДНК была исследована в растворе в присутствии восстановителя (аскорбиновой кислоты) и мономерного нуклеотидного основания гуанозина монофосфата ДНК 5-GMP. При анализе продуктов восстановления ESI-MS был детектирован аддукт $[Pt(NH_3)_2(5'-GMP)_2]^+$, что доказывает способность пролекарства **102** при восстановлении высвободить активный комплекс Pt(II), способный связываться с азотистыми основаниями ДНК.

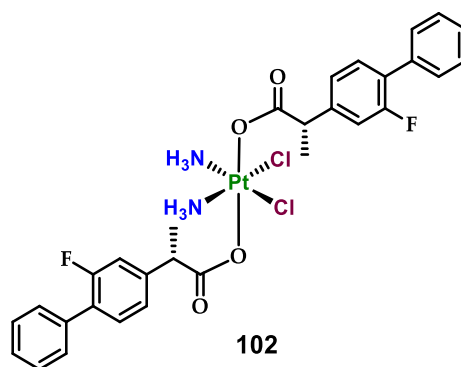


Рисунок 26. Пролекарство Pt(IV) **102** с флурбипрофеном в качестве аксиального лиганда [44].

Исследование цитотоксичности пролекарства Pt(IV) **102** методом МТТ показало, что комплекс Pt(IV) превосходит по цитотоксичности цисплатин, а также способен преодолевать резистентность к цисплатину на клеточной линии A549/CDDP. Фактор резистентности на линии A549 составил 0.92 и 2.7 для пролекарства **102** и цисплатина, соответственно. Исследование внутриклеточного накопления на клетках цисплатин-чувствительного и цисплатин-резистентного рака печени BEL7404, BEL7404-CP20, и SW480 показало, что пролекарство Pt(IV) **102** накапливается в клетках в 20–50 раз лучше, чем цисплатин, а уровень платинации ДНК пролекарством превышает таковой для цисплатина в 5–11 раз.

2.3.3.2 Кетопрофен

Дикарбоксилатные пролекарства с ингибиторами ЦОГ кетопрофеном и напроксеном **103** и **104** были исследованы Ravera et al. (Рис. 27) [46]. Липофильность пролекарств была исследована с использованием ВЭЖХ с определением коэффициента удерживания $\log k'$, который напрямую коррелирует с коэффициентом разделения вода/октанол [126]. Для исследования цитотоксичности были отобраны ЦОГ-экспрессирующие линии A549, HT-29, HCT-116, а также ЦОГ-неэкспрессирующие линии лёгочных фибробласт MSTO-211H, SW480 и A2780. Значения IC_{50} пролекарств Pt(IV) **103** и **104** превышали IC_{50} цисплатина до 20 раз, при этом, однозначной корреляции между экспрессией ЦОГ и цитотоксичностью установлено не было. Напротив, липофильность оказалась напрямую связана с цитотоксичностью соединений: наиболее активное пролекарство Pt(IV) с напроксеном **104** оказалось наиболее липофильным среди исследованных.

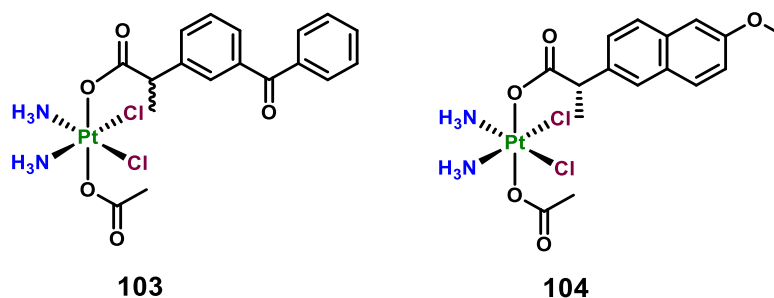


Рисунок 27. Пролекарства Pt(IV) с кетопрофеном **103** и напроксемом **104** в качестве аксиальных лигандов [46].

Проникающая способность комплексов платины в опухолевые клетки линии A2780 была исследована с использованием ICP-MS, результаты представлены как коэффициент накопления (КН) – соотношение между внутри- и внеклеточной концентрацией платины. Для липофильных пролекарств **103** и **104** КН составил 12 и 14, в то время как для цисплатина он был равен 1. Таким образом, было показано, что антипролиферативная активность пролекарств с кетопрофеном и напроксемом **103** и **104** напрямую зависит от липофильности, в то время как экспрессия ЦОГ в клетках оказывает слабое влияние на цитотоксичность.

Серия пролекарств цисплатина, оксалиплатина и карбоплатина с кетопрофеном и локсопрофеном была синтезирована и исследована Li et al. (Рис. 27) [127]. Пролекарства цисплатина **105**, **106** и **109** оказались более цитотоксичными, чем пролекарства оксалиплатина и карбоплатина **107**, **108**, **110-112**. Кроме того, дикарбоксилатные пролекарства **106** и **109** показали повышенную активность в сравнении с монокрбоксилатными аналогами **105** и **113**. Пролекарства цисплатина **105**, **106** и **109** также были способны преодолевать резистентность к цисплатину на клеточной линии A549cisR.

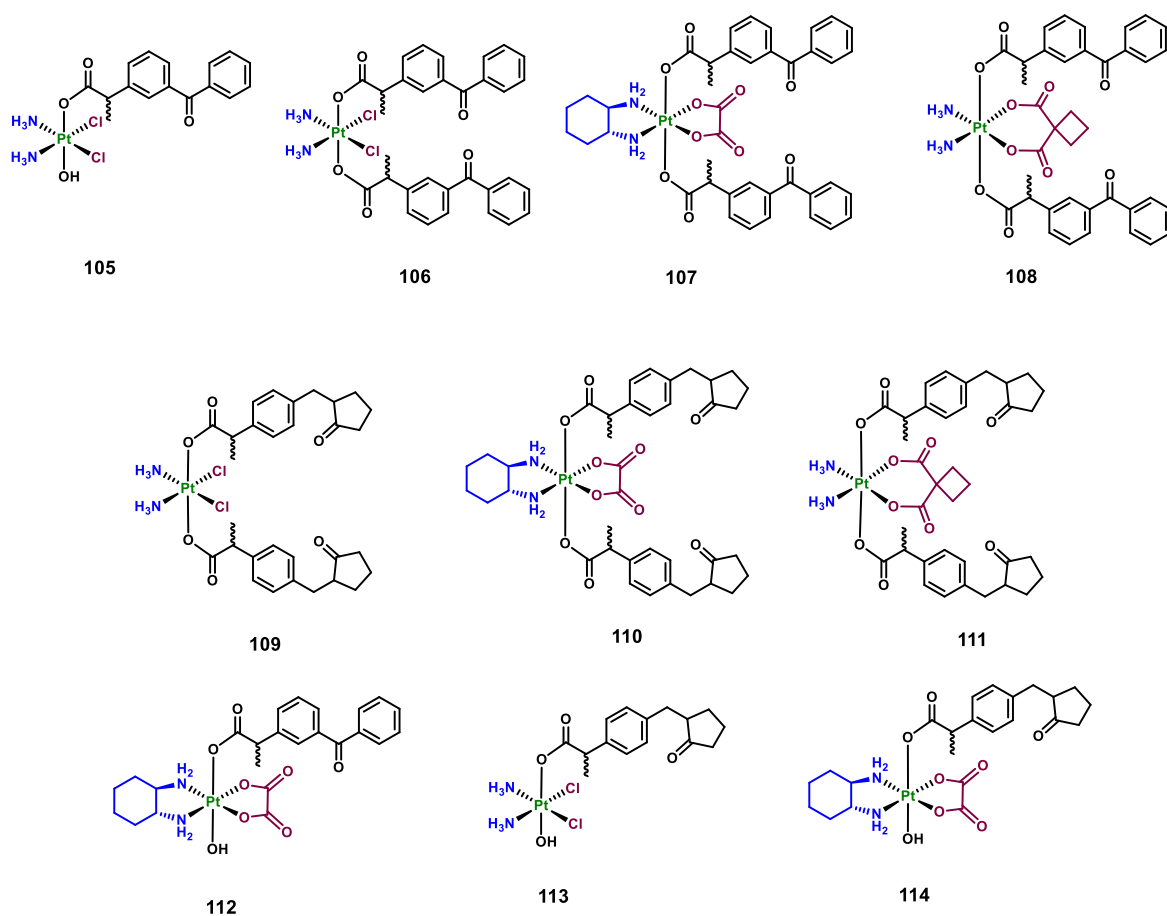


Рисунок 28.. Пролекарства цисплатина, оксалиплатина и карбоплатина **105-114** с кетопрофеном и локсопрофеном в аксиальном положении [127].

В исследовании противоопухолевой эффективности *in vivo* на опухоли СТ-26 пролекарств **105**, **106**, **109** и **113** наибольшее ТРО (57%) продемонстрировал комплекс **105**, наряду с меньшей токсичностью по сравнению с цисплатином. Кроме того, в повторном испытании *in vivo* на опухоли 4Т1 комплекс **105** также показал ТРО 54.6%. Для пролекарства **105** был также показан антиметастатический эффект, и также способность повреждать ДНК, что сопровождается повышенной экспрессией γ -H2AX и p53, маркеров повреждённой ДНК, и способность ингибировать PD-L1.

2.3.3.3 Напроксен

Циклооксигеназа-2 является не только ключевым ферментом синтеза простагландинов, но и регулятором экспрессии лиганда программируемой смерти PD-L1, который помогает опухолевым клеткам избегать обнаружения иммунной системой [128].

Для комбинации в одном противоопухолевом агенте способности оказывать цитотоксический эффект, а также активировать иммунный ответ опухолевых тканей, два пролекарства Pt(IV) с напроксеном **115** и **116** были синтезированы Jin et al. (Рис. 29) [59]. Цитотоксичность моно- и дикарбоксилатного пролекарств **115** и **116** была исследована на опухолевых клеточных линиях MCF-7, MDA-MB-231 и MDA-MB-435. Оба пролекарства продемонстрировали чрезвычайно высокую антипролиферативную активность, превышающую активность цисплатина до 187 раз. После 24 часов инкубации клеток линии MCF-7 с пролекарствами Pt(IV) и цисплатином содержание платины в клетках, инкубированных с **115** и **116** превышал значения, наблюдаемые для цисплатина в 65 и 11 раз, соответственно.

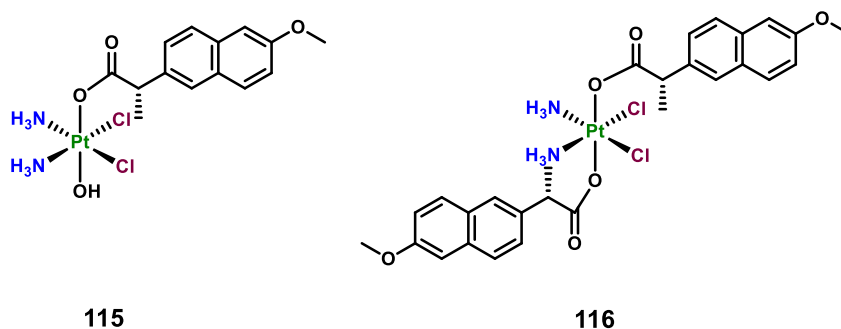


Рисунок 29. Монокарбоксилатное пролекарство Pt(IV) **115** и симметричное дикарбоксилатное пролекарство Pt(IV) **116** с напроксеном в аксиальном положении [59].

Пролекарство **116** показало способно ингибировать экспрессию ЦОГ-2 и PD-L1 в опухолевых клетках MCF-7, а также интерлейкинов IL-1 β и IL-6, критических для формирования воспалительного ответа. Исследование противоопухолевой эффективности *in vivo* пролекарства **116** на опухоли MDA-MB-231 мышей BALB/C показало значительное торможение роста опухоли (66 мм³ против 926 мм³ контроля) на 15 день терапии пролекарством Pt(IV) **116**, в то время как для цисплатина объём опухоли составил 660 мм³. Таким образом, пролекарство **116** является

высокоэффективным противоопухолевым агентом, для которого показана способность ингибировать воспалительные процессы, активировать противоопухолевый иммунный ответ, а также высокая антипролиферативная эффективность *in vitro* и *in vivo*.

2.3.3.4. Нифлумовая кислота

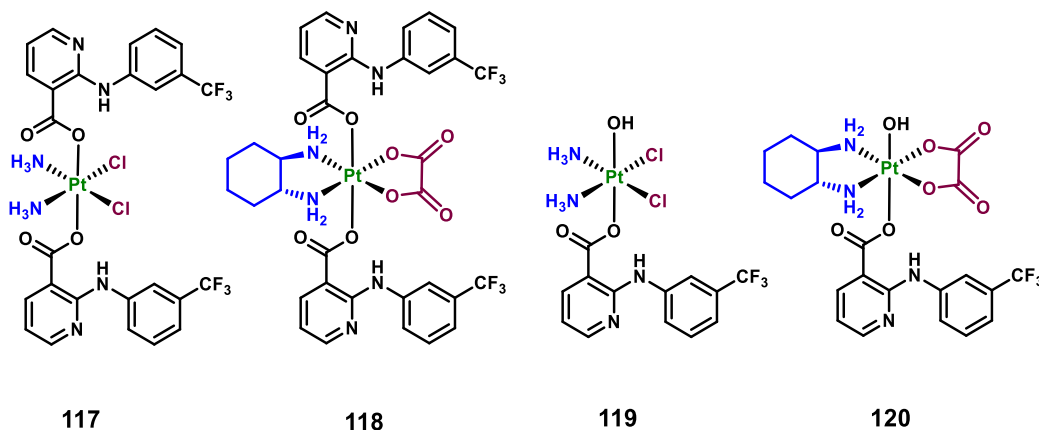


Рисунок 30. Пролекарства цисплатина и оксалиплатина **117-120** с нифлумовой кислотой в аксиальном положении [129].

В работе Li et al. были разработаны пролекарства Pt(IV) **117–120** с нифлумовой кислотой в аксиальном положении (Рис. 30) [129]. Было показано, что нифлумовая кислота способна ингибировать метастазирование опухоли путем подавления ERK $\frac{1}{2}$ киназы, и матричных металлопротеиназ [130].

Пролекарства **117** и **119** проявляли большую цитотоксическую активность по сравнению с цисплатином, оксалиплатином, карбоплатином и JM216 на клеточных линиях SKOV-3, рака толстой кишки CT26 и 4T1. Также, пролекарство **117** накапливалось в клетках в 4.5 раза лучше, чем цисплатин. Исследование терапевтической эффективности *in vivo* на мышах BALB/c с привитыми 4T1 показали схожую эффективность для пролекарства **117** и цисплатина, наряду с меньшей потерей веса особей. Пролекарство **117** показало способность ингибировать ЦОГ-2 и ММП-9, а также ERK1/2 и HIF-1 α . Иммуногистохимический анализ показал увеличение количества CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов в опухолевых тканях после терапии комплексом **117**, что указывает на активацию противоопухолевого иммунитета в ходе терапии.

2.3.4. Пролекарства Pt(IV) с лигандами, способствующие повышенной селективности

Критическим недостатком терапии противоопухолевыми соединениями Pt(II) является отсутствие селективности цисплатина и его аналогов к здоровым тканям, что является причиной тяжёлых побочных эффектов [131]. Для преодоления низкой селективности соединений Pt(II)

можно вводить в аксиальное положение комплексов Pt(IV) аксиальные лиганды, которые способствуют повышению накопления комплексов Pt(IV) в клетках опухолей.

Ниже будет рассмотрен ряд подходов, позволяющий повысить селективность пролекарств Pt(IV) к опухолевым клеткам по отношению к здоровым клеточным линиям.

2.3.4.1 Углеводы

Ранее было показано, что конъюгаты Pt(II) с углеводами обладают повышенной селективностью к клеткам с повышенной экспрессией транспортёров глюкозы (GLUT), что делает углеводы перспективными аксиальными лигандами для пролекарств Pt(IV) [132,133]. GLUT-рецепторы сверхэкспрессированы во многих опухолевых тканях, в том числе карциномах лёгкого, груди и печени [134], что делает данную группу транспортных белков оптимальной мишенью для векторного фрагмента пролекарств Pt(IV). Wang et al. исследовали ряд пролекарств на основе оксалиплатина **121** – **126** с производными глюкозы в аксиальном положении (Рис. 31) [22].

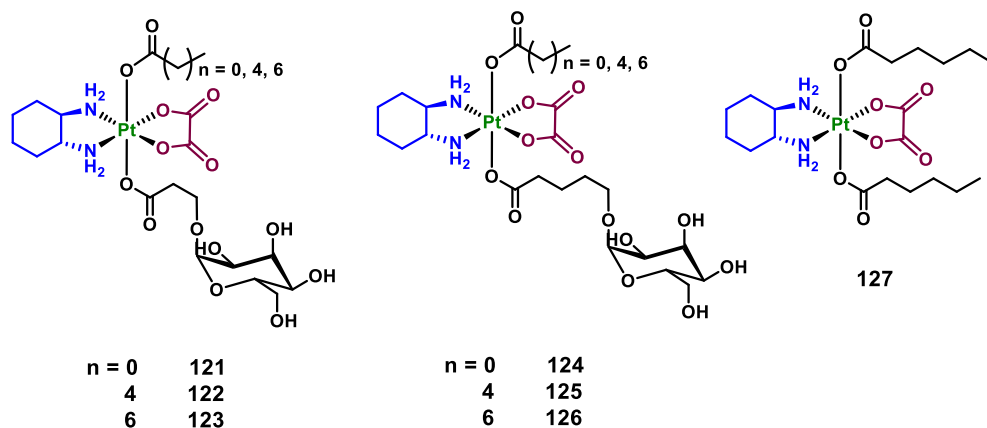


Рисунок 31. Пролекарства Pt(IV) **121** – **126** с углеводами и остатками алифатических карбоновых кислот в аксиальном положении, а также пролекарство сравнения **127** [22].

Антипролиферативная активность пролекарств Pt(IV) **121–126** на всех исследованных опухолевых клеточных линиях HeLa, HepG2, MCF-7, A549 и цисплатин-резистентной A549cisR превысила активность оксалиплатина в 1.5–3 раза. Все пролекарства продемонстрировали способность преодолевать резистентность к цисплатину на клеточной линии A549cisR.

Селективность соединений оценивали на опухолевой линии рака печени HepG2 в сравнении с нормальными клетками печени LO-2. Токсичность оксалиплатина на линии LO-2 оказалась выше, чем на линии HepG2 (IC₅₀ 8.34 и 10.90 мкМ, соответственно). Пролекарства **121–126** продемонстрировали сниженную цитотоксичность на линии LO-2, наибольший фактор селективности 24.10 наблюдался для пролекарства **125**.

Пролекарства с аксиальными лигандами на основе углеводов проникали в клетки MCF-7 в 1.7–3 раз лучше, чем модельное пролекарство **127**, и до 10 раз лучше, чем цисплатин.

Проникающая способность пролекарств росла в ряду **124**<**125**<**126** с увеличением длины цепи карбоновой кислоты в аксиальном положении. Уровень платинации ДНК пролекарствами **124**–**126**, оксалиплатином и цисплатином коррелировал с уровнем их внутриклеточного накопления.

Таким образом, пролекарства Pt(IV) **121**–**126** являются эффективными цитотоксическими агентами, демонстрирующими селективность к опухолевым линиям с повышенной экспрессией GLUT рецепторов.

2.3.4.2 Трифенилфосфин

Митохондрии являются критически важными органеллами клеток, поскольку участвуют в окислении органических соединений, генерации электрического потенциала и синтезе АТФ, в связи с чем таргетирование митохондрий является перспективной стратегией в дизайне противоопухолевых агентов [135]. Трифенилфосфин-катион представляет собой делокализованный липофильный катион, вследствие чего он эффективно проникает через липидные мембраны и способен накапливаться в митохондриях с избыточным отрицательным зарядом [136]. Серия пролекарств цисплатина и оксалиплатина с фрагментом трифенилфосфина **127** - **134** была синтезирована Babak et al. (Рис. 32) [58]. В качестве второго аксиального лиганда пролекарств были выбраны трифенилфосфин, дихлорацетат, фенолбутират или гидроксильная группа.

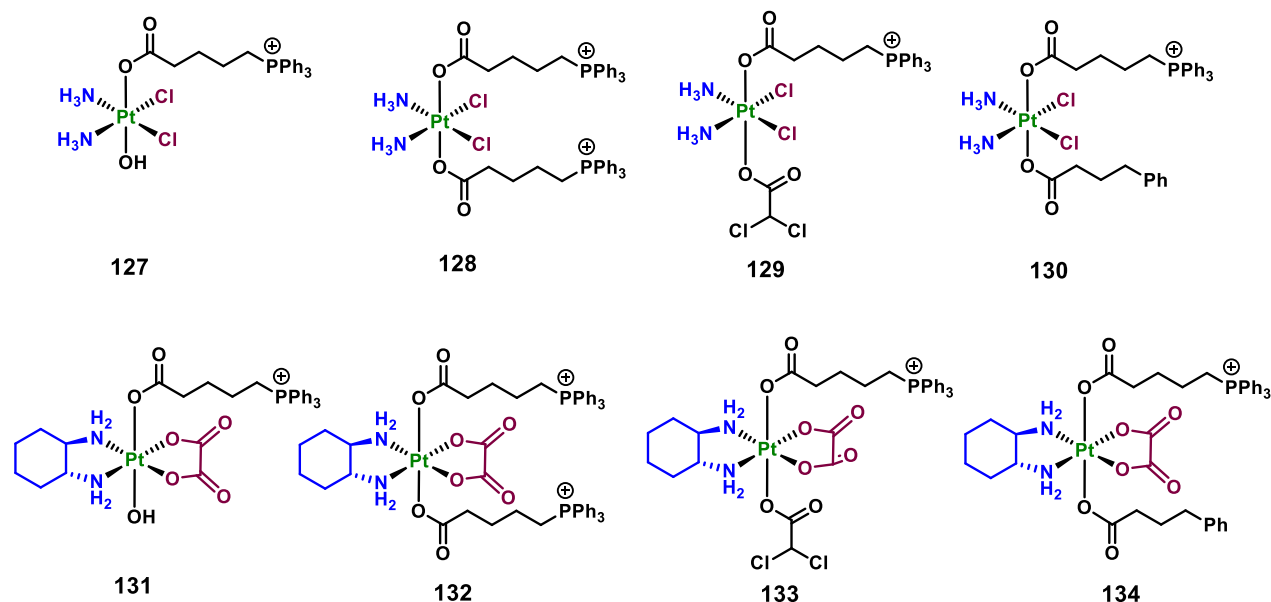


Рисунок 32. Пролекарства Pt(IV) **127** – **134** с фрагментом алкилтрифенилфосфина, а также дихлорацетата и фенолбутирата в аксиальном положении [58]. Противоион для всех соединений – формиат-анион HCOO^- .

Цитотоксичность соединений **127**–**134** была исследована на клеточных линиях A2780 и лёгочной аденокарциномы MOR, а также их цисплатин-резистентных линиях A2780cisR и MORcisR. Активность симметричных и монокарбоксилатных пролекарств **128**, **132** и **127**, **131**,

соответственно, оказалась ниже, чем исходных комплексов Pt(II), наиболее активными оказались пролекарства с фенилбутиратом **130** и **134** в качестве второго аксиального лиганда, которые при этом продемонстрировали наименьшую способность преодолевать резистентность к цисплатину.

Уровень внутриклеточного накопления коррелировал с антипролиферативной активностью пролекарств, при этом большая часть платины в клетках A2780 накапливалась в митохондриях, наибольший таргетный эффект наблюдался для пролекарств **129**, **130** и **133**, **134**. Дальнейшее исследование способности комплексов вызывать деполяризацию митохондрий показало, что наибольшую эффективность проявляют пролекарства **129**, **130** и **133**, **134**, которые также значительно подавляли респираторную функцию митохондрий.

Пролекарство цисплатина **129** было выбрано для исследования антипролиферативной активности *in vivo* на опухоли СТ-26 мышей BALB/C. На 32 день терапии объём опухолей в группе пролекарства **129** был в 5 раз ниже, чем в группе цисплатина, и в 8 раз ниже, чем в контрольной группе. Для ещё большего повышения противоопухолевой активности была получена липосомальная формуляция пролекарства Pt(IV) **129**, после 32 дней терапии при дозе 1.95 мг/кг в пересчёте на массу платины в группе липо-**129** наблюдалась полная ремиссия. Таким образом, пролекарство цисплатина с трифенилфосфином и дихлорацетатом в аксиальных положениях **129** является высокоэффективным противоопухолевым агентом, нацеленным на клеточные митохондрии.

2.3.4.3 CAIX-ингибиторы

Гипоксия является одним из маркеров солидных опухолей и играет важную роль в росте опухолей, ангиогенезе и метастазировании [137]. Несмотря на то, что в гипоксии снижен уровень кислорода и повышено содержание восстановителей, гипоксическая среда не способствует улучшенной активации пролекарств Pt(IV) [138]. В связи с этим создание пролекарств Pt(IV), обладающих повышенной активностью в гипоксических условиях является актуальной задачей.

Карбоновые ангидразы (CAIX) представляют собой трансмембранные протеины, катализирующие превращение CO₂ в протон и бикарбонат [139]. CAIX сверхэкспрессированы во многих опухолевых тканях и способствуют их закислению [139,140].

В работе Cao et al. в качестве аксиального лиганда пролекарств цисплатина и оксалиплатина **135** и **136** был использован ингибитор CAIX, представляющий собой производное сульфонамида. (Рис. 33) [141]. Цитотоксичность пролекарств Pt(IV) **135** и **136** была исследована на опухолевых и здоровых клеточных линиях в нормоксии, а также в гипоксии на опухолевых линиях. В условиях нормоксии пролекарства показали повышенный уровень цитотоксичности на злокачественных линиях MDA-MB-231, HeLa, HepG2 в сравнении со здоровыми линиями LO2, HLF и MCF-10A, индекс селективности на линии MDA-MB-231 по отношению к MCF-10A в

нормоксии составил 8.5 для пролекарства **135** и >7.3 для пролекарства **136**. В условиях гипоксии цитотоксичность обоих пролекарств **135** и **136** на опухолевых линиях выросла в 3–9 раз, что повысило индекс селективности до 80 и 34.5, соответственно.

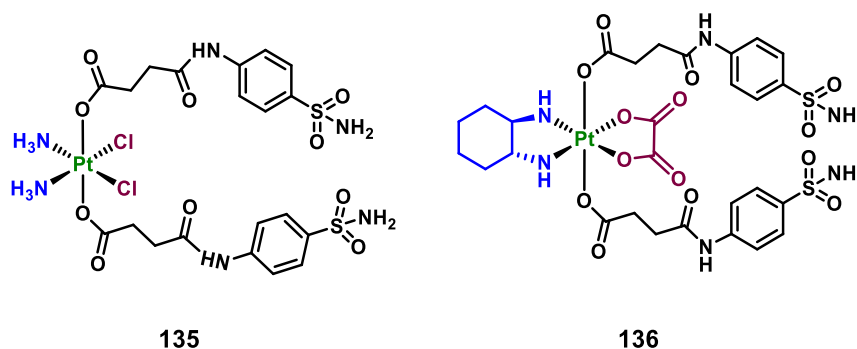


Рисунок 33. Пролекарства Pt(IV) **135** и **136** с ингибитором карбоновых ангидраз в аксиальном положении [141].

Было показано, что проникающая способность пролекарств **135** и **136** в клетках MDA-MB-231 усиливается в 1.5 раза в гипоксических условиях, в сравнении с нормоксией. Одновременно с этим, накопление платины в здоровых клетках MCF-10A после обработки пролекарствами **135** и **136** в условиях нормоксии оказалось до 10 раз ниже, чем в гипоксических опухолевых клетках MDA-MB-231.

При инкубации клеток MDA-MB-231 с ингибитором CAIX SLC-0111 накопление соединений **135** и **136** в клетках снижалось, что подтверждает роль активного транспорта в переносе пролекарств. Кроме того, было показано, что в гипоксических клетках MDA-MB-231 при инкубации с пролекарствами Pt(IV) **135** и **136** возрастал уровень кислорода и pH.

Исследование противоопухолевой эффективности *in vivo* было проведено на опухоли MDA-MB-231 мышей BALB/C. После 24 дней терапии дозами 5 мг/кг цисплатина, оксалиплатина и пролекарств **135** и **136**, торможение роста опухоли составило 57–65% для пролекарств **135** и **136**, соответственно, и только 32–43% для цисплатина и оксалиплатина.

Результаты экспериментов показывают, что пролекарства Pt(IV) **135** и **136** с ингибиторами CAIX обладают повышенной антипролиферативной активностью в гипоксических условиях, что обусловлено ингибирующей активностью аксиальных лигандов, и превосходят в противоопухолевой эффективности препараты Pt(II) в исследованиях *in vivo*.

2.3.5. Пролекарства Pt(IV) с фотоактивными лигандами.

Дизайн пролекарств Pt(IV) с контролируемым высвобождением является особо привлекательной стратегией, так как позволяет преодолеть такие недостатки координационных соединений Pt(IV), как низкая селективность к опухолевым тканям [18,20]. Особое внимание привлекают подходы, использующие в качестве способа активации противоопухолевых агентов

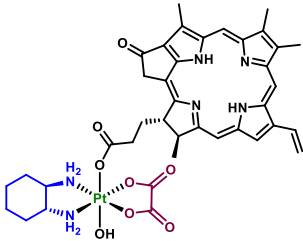
свет, в частности, фотоактивируемая химиотерапия (ФАХТ) и фотодинамическая терапия (ФДТ)[142,143]. Подход ФАХТ основан на создании нетоксичных форм химиотерапевтических агентов, которые под действием излучения локально высвобождают цитотоксические соединения. В рамках ФДТ нетоксичные в темноте препараты-фотосенсибилизаторы под действием излучения индуцируют образование высокотоксичных активных форм кислорода (АФК).

Важными достоинствами света в качестве способа активации антипролиферативных агентов являются неинвазивная природа воздействия, возможность управлять дозой облучения и локализовать воздействие в заданной области [142]. Однако, проникающая способность излучения зависит от его длины волны: так, свет с длиной волны 425-475 нм проникает на глубину до 100 мкм, в то время как для света в красной области спектра (600 – 900 нм) характерно проникновение в ткани до 1-3 мм.

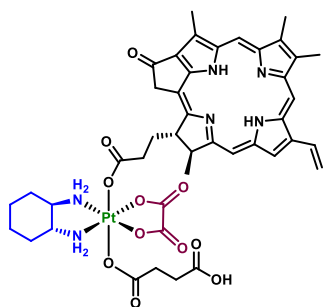
Создание пролекарств Pt(IV), способных контролируемым образом высвободить цитотоксический агент Pt(II), представляет собой привлекательную стратегию, так как позволяет преодолеть ряд недостатков антипролиферативных агентов на основе Pt(IV), такие как низкая селективность к опухолевым клеткам. Также, введение ФДТ агента в аксиальное положение пролекарств Pt(IV) потенциально позволяет получить пролекарства двойного действия, которые одновременно высвобождают цитотоксические агенты и индуцируют образование АФК под действием излучения [28,30].

К настоящему времени синтезирован ряд пролекарств Pt(IV) с флуорофорами в аксиальном положении(Табл. 1).

Таблица 1. Фотоактивные пролекарства Pt(IV) 137–161, типы фотоактивных лигандов, кратность увеличения цитотоксичности на ряде клеточных линий, длина волны и дозы облучения, использованные в экспериментах по определению цитотоксичности.

№	Структура пролекарства	Природа аксиального лиганда	Кратное увеличение (КУ): IC ₅₀ комплекса под излучением/IC ₅₀ комплекса в отсутствие излучения	Облучение, длина волны λ (нм) и дозы (мощность, время облучения)	Ссылка
137		Порфирин	974 (A2780cisR)	650 nm, 6.3 Дж/см ² (7 мВт/см ² , 15 мин)	[29]

138



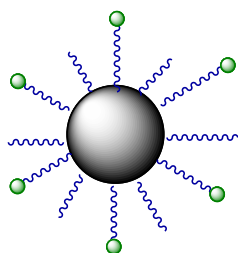
Порфирин

-

-

[62]

139

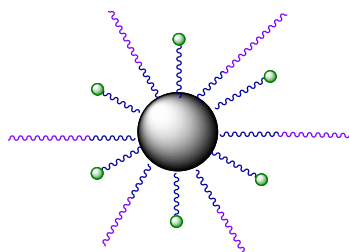


Нанокристаллы,
модифицированны
е 9

808 nm, 150 Дж/см²
(500 мВт/см², 5 мин)

[62]

140



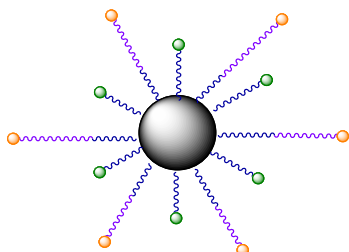
Нанокристаллы,
модифицированны
е 9 и ПЭГ

-

-

[62]

141



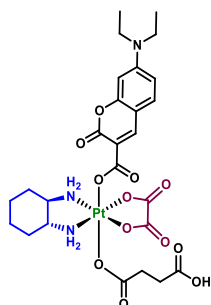
Нанокристаллы,
модифицированны
е 9 и ЕРУ
пептидом

-

In Vivo:
808 nm, 900 Дж/см²
(500 мВт/см², 30 мин)
per round of irradiation

[62]

142

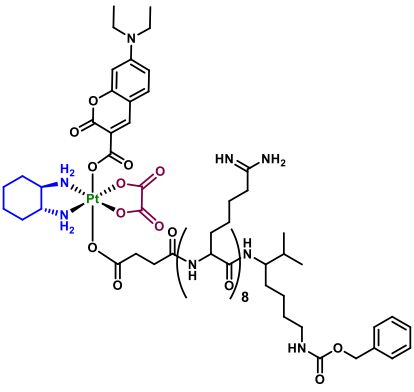
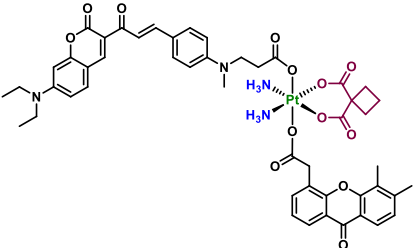
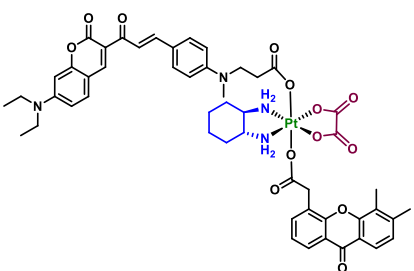
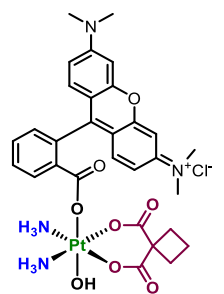
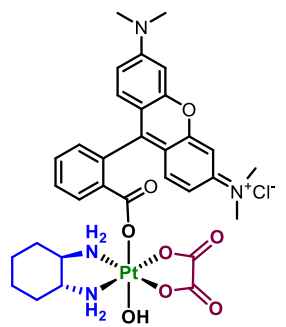


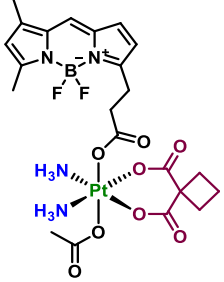
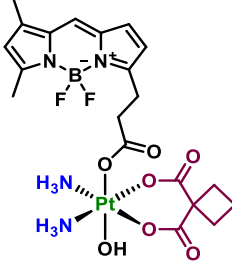
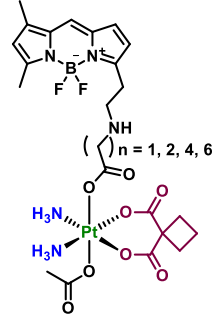
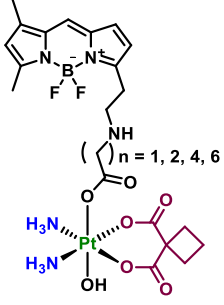
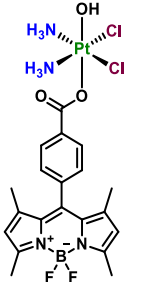
Кумарин

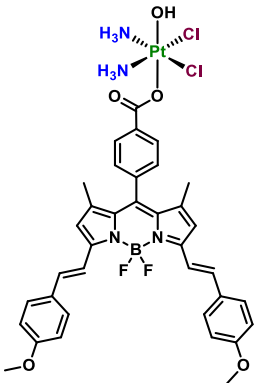
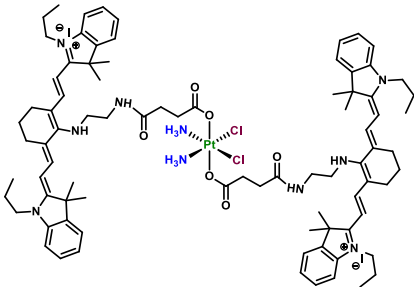
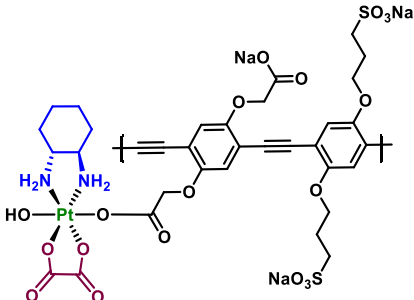
>2
(A2780cisR)

450 nm, 28.8 Дж/см²
(8 мВт/см²)

[61]

143		Кумарин 26 (A2780)	450 nm, 28.8 Дж/см ² (8 мВт/см ²)	[61]
144		Кумарин 18 (A2780cisR)	880 нм (0.4 Вт/см ²), 80 минут	[144]
145		Кумарин 12 (A2780cisR)	880 нм (0.4 Вт/см ²), 80 минут	[144]
146		Родамин Б 9.8 (A2780cisR)	400–760 nm, 7.2 Дж/см ² (4 мВт/см ² , 30 мин)	[145]
147		Родамин Б 9.8 (A2780cisR)	400–760 nm, 7.2 Дж/см ² (4 мВт/см ² , 30 мин)	[145]

148		BODIPY	7.2 (A2780)	≈ 490 nm, 23.4 Дж/см ² (13 мВт/см ² , 30 мин)	[146]
149		BODIPY	$\gg 2$ (A2780)	400–760 nm, 3.6 Дж/см ² (2 мВт/см ² , 30 мин)	[147]
150-153		BODIPY	$\gg 2$ (A2780)	400–760 nm, 3.6 Дж/см ² (2 мВт/см ² , 30 мин)	[147]
154-157		BODIPY	$\gg 2$ (A2780)	400–760 nm, 3.6 Дж/см ² (2 мВт/см ² , 30 мин)	[147]
158		BODIPY	33 (HeLa)	400–700 nm, 10 Дж/см ² (13 мВт/см ² , 30 мин)	[148]

159		BODIPY	117 (HeLa)	600–720 nm, 30 Дж/см ² [149]
160		Гептаметиновый цианин	> 4 (A2780cisR)	650 nm, 18 Дж/см ² (10 мВт/см ² , 30 мин) [52]
161		Поли(фениленэти нилен		460, 8.4 Дж/см ² (7 мВт/см ² , 20 мин) [150]

2.3.2.1 Пирофеофорбид А

Одним из первых пролекарств Pt(IV), содержащее фотоактивный лиганд пирофеофорбид а (ПФА) в аксиальном положении **137**, было описано Wang et al. [29] (Рис.34). ПФА представляет собой фотопоглотитель с максимумом поглощения около 650 нм, который также является эффективным генератором синглетного кислорода [151]. Пролекарство Pt(IV) **137** продемонстрировало высокую стабильность в темноте, а при облучении красным светом в присутствии аскорбата натрия показало способность к восстановлению. Так, за 30 минут облучения (650 нм, 7 мВт/см²) наблюдалось полное восстановление пролекарства до оксалиплатина, что было подтверждено методом ВЭЖХ.

Исследование синглетного и триплетного возбуждённых состояний пролекарства **137** и ПФА показало, что фотовосстановление протекает через образование триплетного состояния аксиального лиганда, с последующим образованием анион-радикала, после чего следует

одноэлектронный перенос с лиганда на атом Pt(IV) с образованием нестабильного интермедиата Pt(III), который быстро восстанавливается с высвобождением исходного комплекса оксалиплатина и аксиальных лигандов.

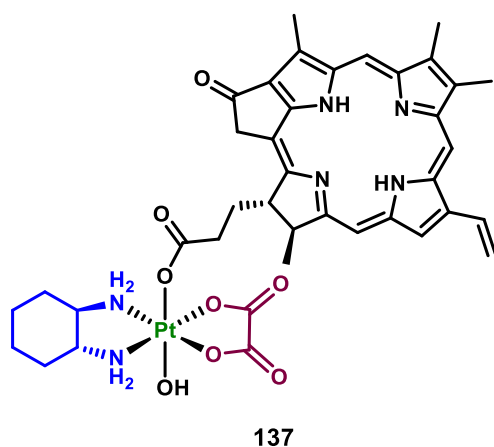


Рисунок 34. Пролекарство Pt(IV) **137** с тирофеофорбидом а в аксиальном положении [29].

В темноте комплекс **137** был не токсичен, однако при облучении (15 мин, 650 нм, 7 мВт/см²) токсичность значительно возросла. Наибольший рост токсичности в сравнении с оксалиплатином при облучении (в 1786 раз) наблюдался на линии MCF-7. Способность продуктов фотовосстановления пролекарства **137** связываться с геномной ДНК было подтверждено измерением содержания платины в геномной ДНК клеток A2780, проинкубированных с пролекарством Pt(IV) **137**. Количество платины в ДНК облучённых клеток было в 4 раза выше, чем в клетках, инкубированных в темноте.

Противоопухолевая эффективность пролекарства Pt(IV) **137** оценивалась *in vivo* на мышах BALB/C с мышинной опухолью молочной железы 4T1. Дозу пролекарства **137** 3.5 мкг/кг внутривенно вводили 5 раз один раз в два дня; опухоль облучали (660 нм, 100 мВт/см², 10 мин) через 4 часа после введения пролекарства. На 12 день терапии для мышей в группе комплекса **137** наблюдалось снижение объёма опухоли на 67% в сравнении с контрольной группой.

В последующей работе дикарбоксилатный аналог пролекарства **137**, комплекс **138** с фрагментом янтарной кислоты в аксиальном положении, был ковалентно связан с нанокристаллами NaYbF₄:Er@NaYF₄:Yb/Nd@NaYF₄:Ca. В результате были получены нанокристаллы (НК) **139**, способные высвободить цитотоксический комплекс Pt(II) при облучении глубоко проникающим светом 808 нм (Рис. 35) [62]. В присутствии аскорбата натрия при облучении светом 808 нм (0.5 мВт) из НК **139** в течение 24 часов происходило фотовосстановление пролекарства **138** вследствие повышающей флуоресценции нанокристаллов около 670 нм, что было зарегистрировано с использованием ICP-MS. Кроме того, НК **139** были способны индуцировать образование АФК под действием излучения 808 нм. Под действием света в БИК области (808 нм, 500 мВт/см², 5 мин) НК **139** показывали значительную токсичность,

при этом в отсутствие излучения были не токсичны. НК **139** также показали в 20 раз более высокий уровень платины в клетках A2780 при инкубации в темноте, в сравнении с пролекарством **138**.

Также, селективность НК **139** по отношению к опухолям была повышена за счёт функционализации НК специфичного к эритроцитам мышей пептидом ЭРІ₁ (последовательность аминокислот WMVLPWLPGLDGGSGCRG), связанным с нанокристаллами с помощью линкера NHS-PEG-MAL (Рис. 35). НК **141** показали повышенную в сравнении с НК **141** стабильность в кровотоке, а также способность почти полностью связываться с эритроцитами мышей. Для НК **141** было показано уникальное время циркуляции в кровотоке, составляющее 907 часов, в то время как для низкомолекулярного пролекарства **138** оно составляло всего 0.79 часов. Кроме того, содержание платины в опухоли для НК **141** оставалось стабильным на протяжении 24 часов, в то время как для пролекарства **111** концентрация стабильно снижалась.

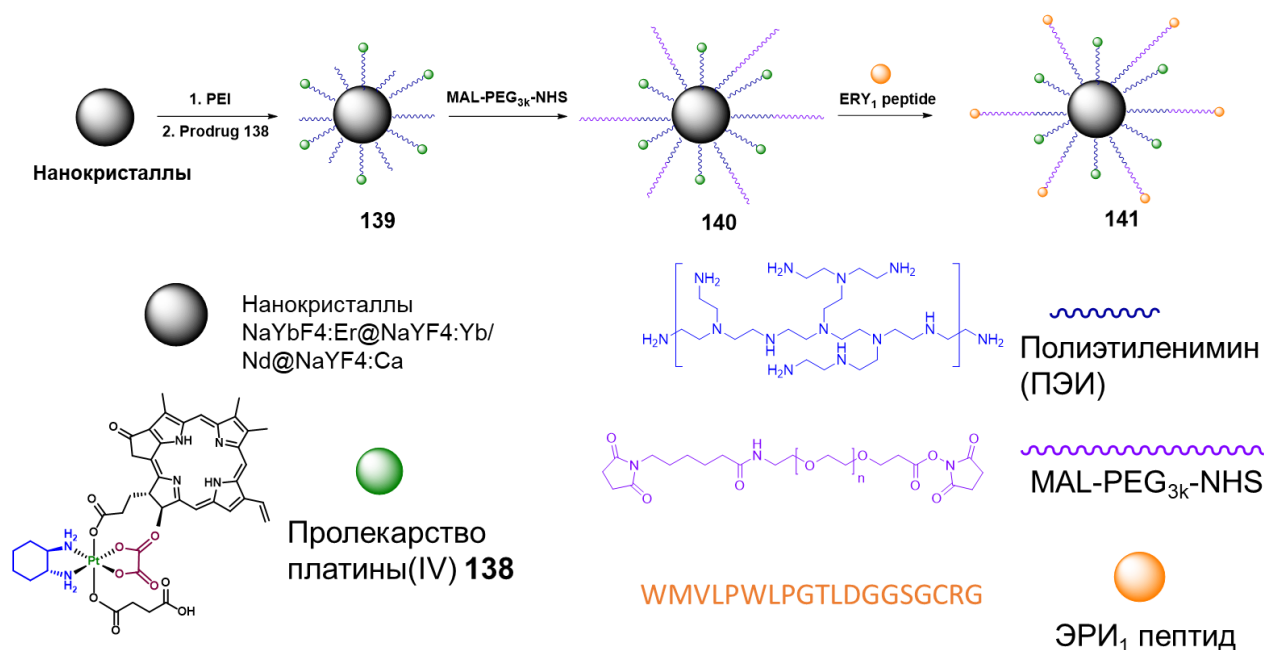


Рисунок 35. Пролекарство Pt(IV) **138** с ПФА в аксиальном положении и схема модификации нанокристаллов **139–141**, содержащих пролекарство Pt(IV) **138** [62].

Противоопухолевая эффективность НК **141** была продемонстрирована на опухоли 4Т1 мышей BALB/C. После одной инъекции 2.5 мкМ Pt/кг и 7 сеансов облучения (808 нм, 500 мВт/см², 30 минут) на 14 день терапии средний объём опухоли мышей в группе НК **141** составлял всего 16 мм³ и у двух мышей из пяти наблюдалась ремиссия. Средний объём в контрольной группе на 14 день терапии был более чем в 100 раз больше, 1750 мм³. Таким образом противоопухолевая эффективность фотоактивируемых комплексов Pt(IV) может быть

значительно повышена за счёт использования средств доставки, увеличивающих время циркуляции соединений в кровотоке.

2.3.2.2. Кумарин

Другой класс фотопоглочителей в качестве аксиальных лигандов для пролекарств Pt(IV) был использован в работе Deng et al. [61]. 7-диэтиламинокумарин, имеющий максимум поглощения в синей области спектра (450 нм), был выбран в качестве аксиального лиганда пролекарства Pt(IV) **142** (Рис. 36). В темноте комплекс **142** был стабилен, под действием синего света (450 нм, 8 мВт/см²) распадался за 30 минут, несмотря на отсутствие в системе восстановителя (аскорбата натрия), что было показано методом ВЭЖХ. Исследование механизма показало, что восстановление пролекарства **142** происходит при окислении воды, что сопровождается выделением кислорода.

Для повышения способности комплекса накапливаться в опухолевых клетках второе аксиальное положение комплекса было модифицировано векторным пептидом R₈K с получением пролекарства **143** (Рис. 36). Пролекарство Pt(IV) **143** было стабильно в клетках в отсутствие излучения, при облучении синим светом (450 нм, 8 мВт/см², 1 час) комплекс восстанавливался. Пролекарство Pt(IV) **143** эффективно накапливалось в ядрах клеток A549cisR: после инкубации с комплексом **143** более 68% платины содержалось в ядрах клеток, что не наблюдалось для оксалиплатина и пролекарства Pt(IV) **142**.

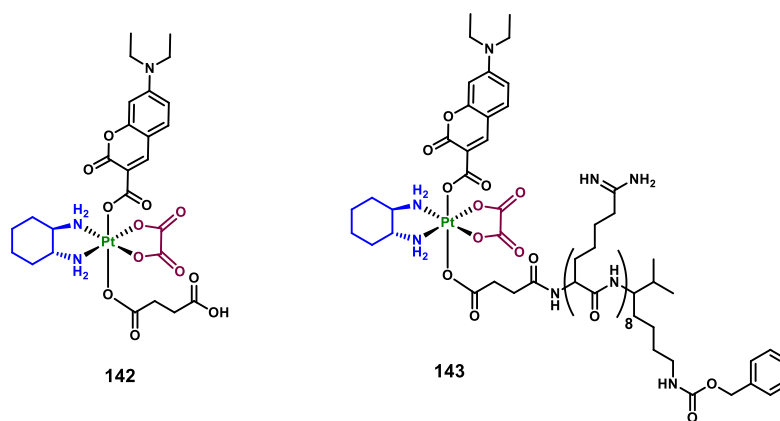


Рисунок 36. Пролекарства платины (IV) **142** и **143**, содержащих фрагмент 7-диэтиламинокумарина в аксиальном положении, а также векторный пептид R₈K в аксиальном положении пролекарства **143** [61].

Фототоксичность пролекарства **143** оценивали на ряде клеточных линий, включая цисплатин-резистентную клеточную линию A2780cisR. Токсичность пролекарства **143** в темноте была схожа с наблюдаемой для оксалиплатина, однако при облучении синим светом (450 нм, 8 мВт/см², 1 час) токсичность выросла в 7–62 раза.

В работе Deng et al. были исследованы пролекарства оксалиплатина и карбоплатина **144**, **145** содержащие аксиальный лиганд на основе кумарина, способный возбуждаться вследствие двухфотонного поглощения (Рис. 37) [144]. Второе аксиальное положение было модифицировано производным ксантенона для повышения проникающей способности в клетки. Оба пролекарства Pt(IV) **144**, **145** накапливались преимущественно в эндоплазматическом ретикулуме, вследствие чего данные соединения вызывали клеточную смерть путём окисления биомолекул и образования АФК, а не повреждения ДНК.

В исследовании *in vitro* пролекарства не были токсичны в темноте, а при облучении лазером 880 нм (0.4 Вт/см², 80 минут), токсичность на ряде цисплатин-чувствительных и цисплатин-резистентных линий оказалась в низком микромолярном диапазоне значений IC₅₀ (2–5 мкМ). В условиях гипоксии антипролиферативная активность комплексов не снижалась, что указывает на кислород-независимый механизм фототоксичности.

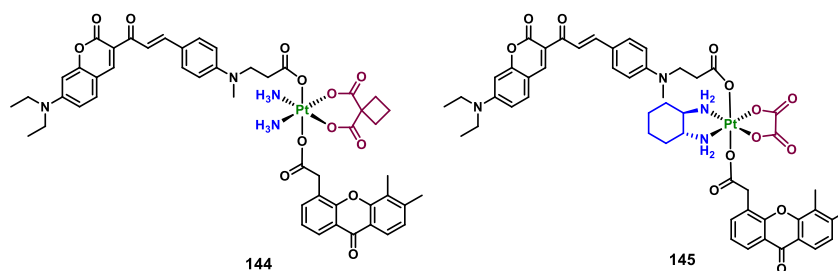


Рисунок 37. Пролекарства **144** и **145** с фрагментом кумарина в аксиальном положении, а также 5,6-диметилксантенон-4-уксусной кислотой [144]

Комплекс **144** показал высокую активность в исследовании противоопухолевой эффективности *in vivo* на опухоли 4Т1 мышей BALB/C, на 16 день терапии объём опухоли снизился на 89% в сравнении с контрольной группой. Кроме того, комплекс подавлял метастазирование опухоли, а также стимулировал иммунный ответ в микроокружении опухоли.

2.3.2.3 Родамин Б

Родамин Б представляет собой широко используемый флуоресцентный краситель с максимумом поглощения около 570 нм. В работе Deng et al. родамин Б был использован в качестве аксиального лиганда пролекарств Pt(IV) **146** и **147**, на основе карбоплатина и оксалиплатина, (Рис. 38) [145].

Пролекарства **146** и **147** показали высокую темную стабильность, в том числе в присутствии аскорбата натрия. Под действием видимого света (400-700 нм, 4 мВт/см²) в присутствии аскорбата натрия оба пролекарства полностью восстановились в течении 5 минут, что было продемонстрировано с использованием ВЭЖХ. Исследование механизма

фотовосстановления путём детектирования аскорбат-радикалов методом ЭПР при облучении раствора комплекса **146** подтвердило участие аскорбата натрия в процессе высвобождения.

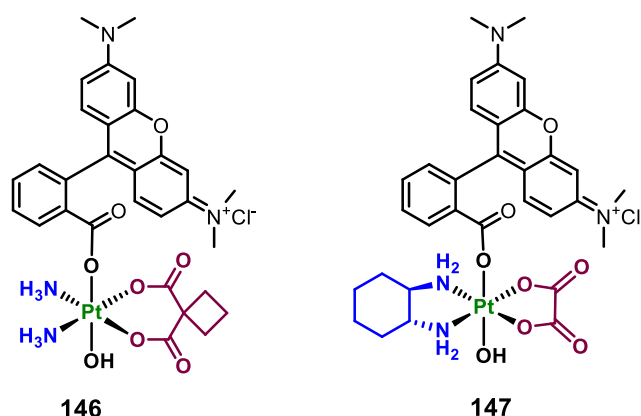


Рисунок 38. Пролекарства Pt(IV) **146** и **147** с Родамином Б в аксиальном положении [145].

Цитотоксическая активность пролекарств Pt(IV) **146** и **147** исследовалась в темноте, и при облучении видимым светом (400–760 нм, 4 мВт/см², 30 минут). Значения IC₅₀ при облучении оказались в 3–7 раз ниже, чем в отсутствие излучения. Более того, пролекарства **146** и **147** оказались до 10 раз более токсичны при облучении, чем соответствующие им соединения Pt(II).

2.3.2.4 BODIPY

Бор-дипиррометены (BODIPY) представляют собой класс борорганических флуорофоров, для которых характерны высокие квантовые выходы флуоресценции, а также химическая и фотостабильность [152]. Пролекарство карбоплатина с BODIPY в аксиальном положении **148** было исследовано в работе Yao et al. (Рис. 39) [146]. Пролекарство Pt(IV) **148** показало высокую темновую стабильность, в том числе в присутствии аскорбата натрия. При облучении зелёным светом (495 нм, 13 мВт/см²) пролекарство **148** полностью распалось в течение 10 минут даже в отсутствие восстановителя, что было показано с использованием ВЭЖХ.

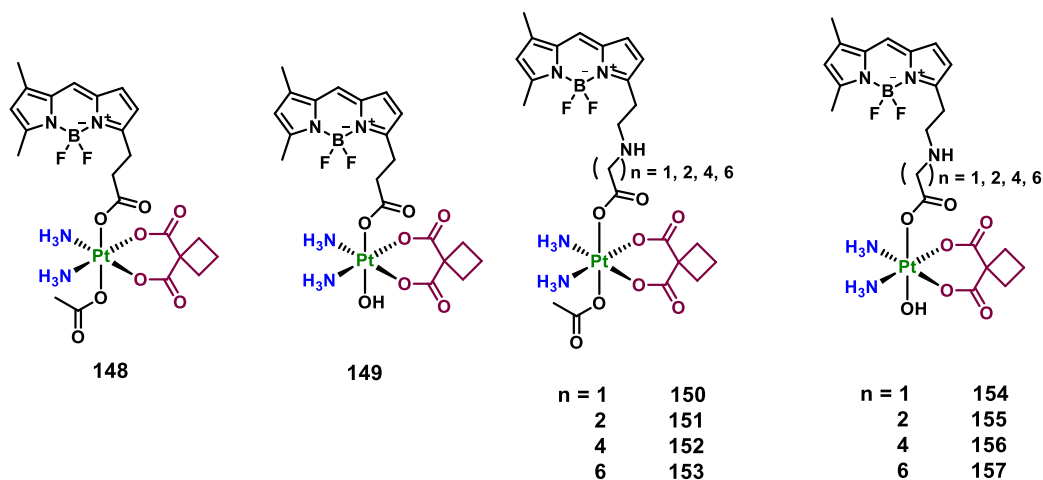


Рисунок 39. Пролекарства Pt(IV) **148** – **157** с производным BODIPY в аксиальном положении [146,147].

Антипролиферативная активность пролекарства **148** исследовалась на клеточных линиях, MCF-7, MDA-MB-231 и A2780. При облучении зелёным светом (13 мВт/см², 30 минут) пролекарство **148** оказалось в 2–11 раз более цитотоксичным, чем в отсутствие облучения, и в 6.5–43 раза более цитотоксичным, чем карбоплатин. ролекарство Pt(IV) **148** эффективно связывалось с ДНК клеток MCF-7 при облучении, (0.92 нг/мкг ДНК для **148** и 0.19 нг/мкг ДНК для карбоплатина, соответственно).

В последующей работе Yao et al. было исследовано влияние длины линкера между центром Pt(IV) и фотоактивным лигандом в аксиальном положении на основе бордипиррометена на скорость фотовосстановления пролекарств Pt(IV) [147]. Длина линкера составляла 2, 3, 4, 6 или 8 метиленовых звеньев. Было синтезировано две серии пролекарств Pt(IV): одна с фрагментом ацетила во втором аксиальном положении **148**, **150–153** а вторая – с гидроксильной группой **149**, **154–157** (Рис. 39). Дикарбоксилатная серия пролекарств Pt(IV) **148**, **150–153** восстанавливалась под действием белого света удельной мощностью 2 мВт/см² за 20 секунд, а монокарбоксилатная серия **149**, **154–157** за 8 минут облучения. Оптимальной длиной линкера для фотовосстановления было выбрано три метиленовых звена в пролекарствах **150** и **154**, в то время как наименее склонными к восстановлению оказались пролекарства **148** и **149**, с коротким линкером в два метиленовых звена CH₂.

Альтернативное производное BODIPY, синтезированное из диметилпиррола и п-формилкарбоновой кислоты, было использовано в качестве аксиального лиганда пролекарства Pt(IV) **158** в работе Vera et al. (Рис. 40) [148]. Пролекарство цисплатина **158** было стабильно в темноте в отсутствие излучения, в присутствии аскорбата натрия распадалось на 50% в течение 24 часов .

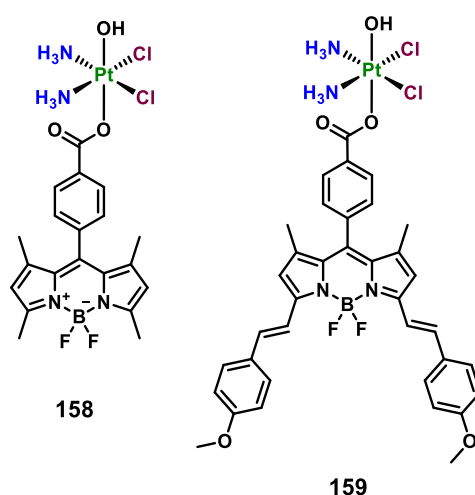


Рисунок 40. Пролекарства Pt(IV) **158** и **159** с производным BODIPY в аксиальном положении [148,149].

Комплекс **158** показал низкую токсичность в отсутствие облучения на линиях MCF-7, HeLa, A549 и HPL1D, однако при облучении белым светом (400-700 нм, 13 мВт/см², 30 минут)

токсичность возрастала в 10–25 раз и превысила токсичность цисплатина более чем в 10 раз. Способность пролекарства **158** образовывать АФК при облучении оценивали с помощью ловушки синглетного кислорода 1,3-дифенилизобензофурана (ДФБФ). Пролекарство Pt(IV) **158** способствовало образованию АФК более эффективно, чем свободный лиганд.

В последующей работе Vera et al. было получено пролекарство **159** с BODIPY, поглощающим в красной области спектра (Рис. 40) [149]. Пролекарство **159** продемонстрировало стабильность в темноте в течение 48 часов инкубации в присутствии глутатиона. При облучении красным светом (642 нм, 100 мВт/см²) в присутствии аскорбиновой кислоты комплекс **159** полностью распался в течение 30 минут, что было показано с использованием спектров ЯМР ¹H.

В отсутствие облучения комплекс **159** не проявлял цитотоксичности, при облучении красным светом (600–720 нм, 30 Дж/см²), значения IC₅₀ комплекса были в субмикромольном диапазоне. Пролекарство Pt(IV) **159** было также способно индуцировать образование АФК при облучении, что было показано с помощью ловушки синглетного кислорода 2',7'-дихлордифлуоресцеин диацетата (DCFDA). Кроме того, комплекс **159** показал способность снижать мембранный потенциал митохондрий (ММП) при облучении клеток HeLa.

2.3.2.5 Цианиновый краситель

Цианиновые красители широко используются как ФДТ агенты, поглощающие в БИК-диапазоне [153,154]. В работе Li et al. было получено пролекарство Pt(IV) **160** с двумя фрагментами цианинового красителя в аксиальных положениях, способного поглощать свет в БИК области (Рис. 41) [52].

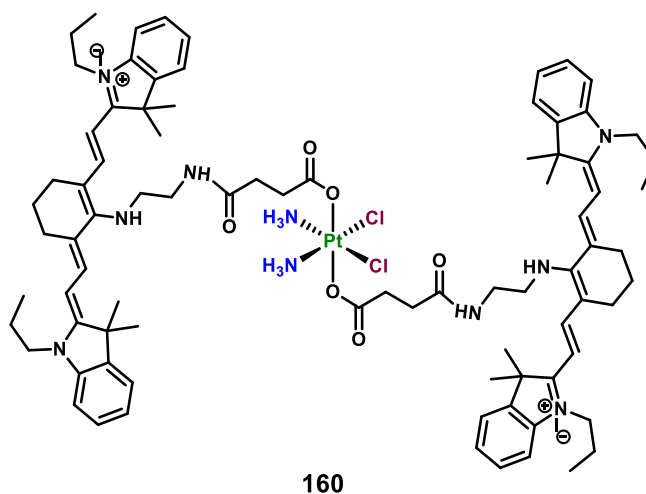


Рисунок 41. Пролекарство Pt(IV) **160** с остатками цианинового красителя в качестве аксиальных лигандов [52].

Комплекс **160** показал высокую темную стабильность, а также медленный распад в присутствии большого избытка (50 эквивалентов) аскорбата натрия. Фотовосстановление

пролекарства Pt(IV) **160** было исследовано с использованием рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии. При облучении красным светом (650 нм, 10 мВт/см², 30 минут) наблюдалось смещение пика в спектре рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФС) в область более низкой энергии, что указывало на фотовосстановление комплекса **160** и высвобождение цисплатина.

Данные конфокальной микроскопии в совокупности с МС-ИСП показали, что пролекарство Pt(IV) **160** накапливается преимущественно в митохондриях после 24 часов инкубации в клетках A549cisR. В отсутствие света токсичность комплекса была сравнима с токсичностью цисплатина, а при облучении (650 нм, 10 мВт/см², 30 минут) наблюдался рост токсичности в 3–5 раз. При этом, пролекарство **160** было одинаково токсично на цисплатин-чувствительных и цисплатин-резистентных клеточных линиях, что указывает на способность пролекарства Pt(IV) **160** преодолевать резистентность опухолевых клеток к цисплатину.

2.3.2.6 Поли(фенилен этинилен)

Описанные выше пролекарства Pt(IV) представляют собой октаэдрические координационные соединения, в аксиальном положении которых находится низкомолекулярный фотоактивный лиганд. Альтернативный подход был продемонстрирован в работе Sun et al. [150], в которой в качестве фотоактивного лиганда был использован поли(фенилен этинилен) (ПФЭ), содержащий в боковой цепи карбоксильные группы, которые ввели в реакцию с дигидроксооксалиплатином с получением полимера **161**, содержащего в боковой цепи комплекс Pt(IV) (Рис. 42).

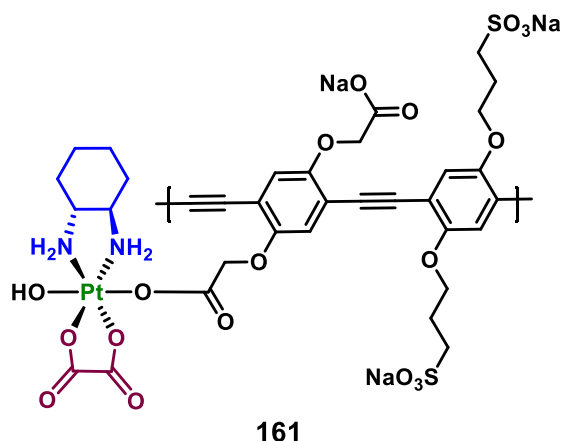


Рисунок 42. Полимерное пролекарство Pt(IV) **161** с поли(фенилен этиниленом) в качестве аксиального лиганда [150].

Вследствие наличия в боковой цепи ПФЭ сульфат-аниона, полученное полимерное пролекарство Pt(IV) **161** продемонстрировало хорошую водорастворимость. При облучении светом (400 нм, 5 мВт/см², 120 минут) вне зависимости от присутствия аскорбата натрия наблюдалось высвобождение оксалиплатина в спектре поглощения пролекарства Pt(IV) **161**.

Также, высвобождение оксалиплатина из пролекарства под действием синего света (400 нм, 5 мВт/см², 30 минут) было подтверждено ВЭЖХ-МС. Возможность восстановления вследствие двухфотонной абсорбции была показана путём облучения 100 фс пульсациями (725 нм, 800 мВт/см²), после 1 часа облучения восстановилось 50% пролекарства **161**.

Значительно более низкое время жизни синглетного состояния и квантовый выход флуоресценции пролекарства **161** по сравнению с полимером, не содержащего комплекса Pt(IV), указывают на возможность прямого фотоиндуцированного переноса электрона. Спектроскопия переходного состояния в пикосекундном диапазоне показала, что для пролекарства Pt(IV) **161** наблюдается образование катион-радикала ПФЭ при облучении, который образуется после сверхбыстрого переноса электрона с полимера на центр Pt(IV).

Цитотоксичность пролекарства Pt(IV) **161** при облучении светом 460 нм (7 мВт, 20 минут) оказалась сравнимой с токсичностью оксалиплатина, при этом в темноте пролекарство Pt(IV) показало незначительную цитотоксичность.

2.3.6. Пролекарства Pt(IV) с лигандами, способствующие контролируемому высвобождению под действием ультразвука

Ультразвуковое воздействие представляет собой неинвазивный и высокопроникающий способ воздействия, который широко применяется в нейрохирургии, доставке лекарств и противоопухолевой терапии [155,156]. Фокусированный ультразвук был применён для контролируемой активации пролекарства Pt(IV) **162** в работе Liu et al. (Рис. 43) [157].

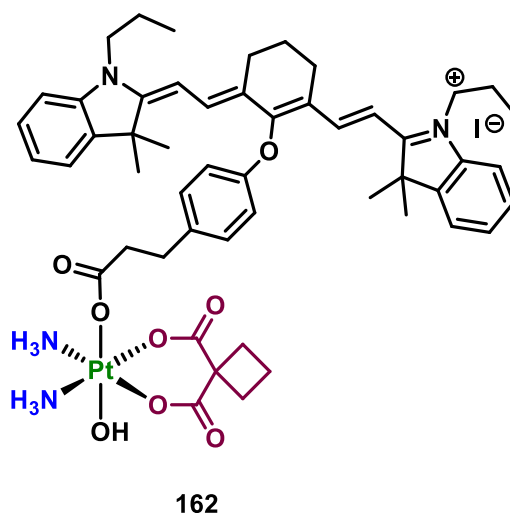


Рисунок 43. Пролекарство Pt(IV) **162**, способное к ультразвуковой активации [157].

В качестве аксиального лиганда был использован гептаметиновый краситель IR780, обладающий чувствительностью к ультразвуковому воздействию [158]. Пролекарство Pt(IV) **162** восстанавливалось под действием ультразвука в присутствии аскорбата натрия, что указывает на то, что восстановление координационного соединения протекает посредством

внешнемолекулярного переноса электрона. Для пролекарства **162** и лиганда была показана способность образовывать синглетный кислород под действием фокусированного УЗ (тип II соно-сенсibilизации).

В исследовании антипролиферативной активности пролекарство **162** не было активно в отсутствие УЗ, а под действием фокусированного УЗ цитотоксичность возрастала более чем в 10 раз, до IC₅₀ 2–4 мкМ. Комплекс **162** был одинаково активен на цисплатин-чувствительных и цисплатин-резистентных линиях A2780 и A2780cisR, а также A559 и A549cisR. В клетках 4T1, инкубированных с **162**, и обработанных УЗ были обнаружены маркеры иммунногенной клеточной смерти, в том числе отображение кальретикулина на мембране, секреция АТФ и внеядерное выделение HMGB1, что указывает на потенциальную способность пролекарства **162** стимулировать противоопухолевый иммунный ответ.

В исследовании противоопухолевой эффективности *in vivo* на опухоли 4T1 мышей BALB/C при терапии пролекарством **162** и УЗ на 18 день терапии объём опухоли составил 24.3% от исходного, при этом для двух из пяти мышей наблюдалась полная ремиссия. Кроме того, в опухолях мышей, получавших терапию пролекарством **162** и УЗ были обнаружены маркеры противоопухолевого иммунного ответа CD3+ и CD4+.

Таким образом, контролируемая активация ультразвуком представляет собой новый высоко перспективный подход к контролируемой активации пролекарств Pt(IV), который сочетает высокую проникающую способность, безопасность для здоровых органов и тканей. Пролекарство **162**, способное к контролируемой соно-активации, показал высокую противоопухолевую эффективность *in vivo* благодаря способности оказывать антипролиферативное действие путём высвобождения химиотерапевтического агента карбоплатина, образования синглетного кислорода и стимулирования противоопухолевого иммунного ответа.

2.4. Заключение

В рамках обзора было показано, что, варьируя природу аксиальных лигандов, можно тонко настраивать биоактивность активность пролекарств Pt(IV). В опубликованной за последние 5 лет литературе были изучены новые пролекарства Pt(IV), которые обладают цитотоксической активностью *in vitro* в наномолярном диапазоне, селективны по отношению к опухолевым клеточным линиям, эффективно преодолевают резистентность опухолей к цисплатину, а также контролируемым образом высвобождают координационные соединения Pt(II).

Пролекарства Pt(IV) тройного действия **1-8**, содержащие дихлорацетат, фенилбутират, вальпроат, аспирин или в аксиальном положении обладают цитотоксической активностью в

наномолярном диапазоне, что демонстрирует эффективность подхода по созданию пролекарств Pt(IV) с различными аксиальными лигандами. Высокую антипролиферативную активность показал также монокарбоксилатный комплекс **77** с хальконом-ингибитором p53/MDM2 продемонстрировал чрезвычайно высокую антипролиферативную активность в наномолярном диапазоне, IC_{50} (A2780) = 10 нМ и значительно превосходящую цисплатин эффективность в испытании *in vivo*. Пролекарства Pt(IV) **79-90**, содержащие комбретастин в аксиальном положении показали наномолярную активность, при этом наиболее активными оказались пролекарства **83-84**, в которых аксиальный лиганд связан с центром Pt(IV) через расщепляемый карбонатный линкер.

Ряд пролекарств Pt(IV) **91-101** были синтезированы для преодоления резистентности опухолевых клеток к цисплатину и оксалиплатину. Способность в полной мере преодолевать резистентность ($ФР < 1$) *in vitro* показали пролекарства **91-93** с жирными кислотами, а также пролекарства **96-101** с набукаином в аксиальном положении. В исследовании *in vivo* пролекарство **101** оказалось значительно эффективнее чем цисплатин на опухоли A549/CDDP.

Введение НСПВП в аксиальное положение пролекарств Pt(IV) **102-120** способствует значительному росту токсичности, однако наибольшее влияние на цитотоксическую активность *in vitro* оказывает липофильность пролекарств Pt(IV). При этом, несмотря на высокую активность пролекарств данной группы *in vitro*, способность пролекарств **105**, и **117** тормозить рост опухоли *in vivo* оказалась сравнимой с цисплатином. Тем не менее, для данных соединений наблюдалось снижение токсичности по отношению к здоровым органам, меньшая потеря веса, в сравнении с цисплатином, а также способность стимулировать иммунный ответ, ингибируя PD-L1 и повышая уровень лимфоцитов CD3+, CD4+ и CD8+. Значительно более высокую способность тормозить рост опухоли MDA-MB-231 в сравнении с цисплатином показало пролекарство **116** с двумя фрагментами напроксена в аксиальном положении.

Среди стратегий по повышению селективности пролекарств Pt(IV) к опухолевым клеткам высокую эффективность показал подход с введением глюкозы в аксиальное положение, индекс селективности пролекарства **125** на линии HerG-2 по отношению к здоровой линии LO-2 составил 24. Для пролекарств **135** и **136** с чувствительными к гипоксии аксиальными лигандами-ингибиторами CAIX также был показан высокий индекс селективности на гипоксической линии MDA-MB-231 по отношению к здоровой нормоксической линии MCF-10A, и составил 80 и 34.5, соответственно.¹⁹² В испытании *in vivo* активность пролекарства **253** значительно превышала активность оксалиплатина.

Комбинация органических флуорофоров и координационных соединений Pt(IV) позволила получить ряд пролекарств Pt(IV) **137-161**, которые стабильны и не токсичны в отсутствии излучения, однако в присутствии света в видимом диапазоне способны высвободить

цитотоксические координационные соединения Pt(II), а также индуцировать образование активных форм кислорода. Использование в качестве исходного комплекса Pt(II) оксалиплатина или карбоплатина позволяет повысить темновую стабильность пролекарств. Конъюгация пролекарства **138** с нанокристаллами позволила получить НК **141**, обладающие высоким временем циркуляции в кровотоке, в ходе терапии НК **141** была достигнута ремиссия у двух мышей из пяти. Примечательную активность *in vivo* продемонстрировало пролекарство **144** с кумарином в аксиальном положении, контролируруемую активацию которого проводили под действием двухфотонного излучения, в конце терапии объём опухоли в группе мышей с пролекарством **144** оказался на 89% меньше, чем у контрольной группы. Высоким потенциалом обладает также подход по контролируемой активацией пролекарств Pt(IV) действием ультразвукового излучения: пролекарство **162** в комбинации с облучением фокусированным ультразвуком в ходе терапии *in vivo* была достигнута ремиссия двух мышей из пяти.

Наибольшую эффективность *in vivo* среди всех рассмотренных в рамках обзора пролекарств Pt(IV) показали пролекарства **129** и **141**, для которых были разработаны средства доставки, способствующие повышенному времени циркуляции в кровотоке, а также пролекарство **162**, активируемое ультразвуком. Так, после 32 дней терапии мышей BALB/C с опухолью СТ26 липосомальной формуляцией пролекарства **129** с алкилтрифенилфосфином и дихлорацетатом в аксиальном положении была достигнута полная ремиссия. Крайне высокая противоопухолевая эффективность была показана также для НК **141**, содержащих фотоактивное пролекарство Pt(IV) с пирофеофорбидом а **138**: после всего одной дозы НК **141** и 7 сеансов облучения светом 808 нм (900 Дж/см^2) ремиссия наступила у двух мышей из пяти на 14 день терапии. После 4 сеансов терапии ультразвуком мышей, которым вводили **162**, на 18 день эксперимента ремиссия наблюдалась у двух мышей из пяти. Таким образом, максимизации противоопухолевой эффективности пролекарств Pt(IV) способствуют подходы, обеспечивающие стабильность комплексов к преждевременному восстановлению и повышенное время циркуляции комплексов в кровотоке.

3. Обсуждение результатов

Анализ публикаций, посвящённых дизайну новых пролекарств Pt(IV), показывает широкие возможности данного подхода к созданию противоопухолевых соединений с антипролиферативной активностью, превышающей активность цисплатина, а также преодолеть недостатки традиционной терапии препаратами Pt(II). Варьируя природу аксиальных лигандов, можно тонко настраивать биологическую активность пролекарств Pt(IV), в том числе повышать селективность к опухолевым клеткам и создавать пролекарства, способные к контролируемому высвобождению.

В настоящей работе проведен дизайн, синтез, физико-химическое и биологическое исследование пролекарств Pt(IV) аксиальными лигандами различной природы (Рис. 44). Первая часть работы посвящена дизайну пролекарств Pt(IV) с аксиальными лигандами на основе нестероидных противовоспалительных препаратов (НСПВП), витамина биотина В7, а также фрагментов жирных кислот. Разработанные в первой части работы координационные соединения представляют собой липофильные пролекарства, эффективность которых значительно превышает эффективность цисплатина.

Гипоксия является одним из ключевых биомаркеров солидных опухолей, а также важным фактором резистентности опухолей к химиотерапии [159]. Необратимое восстановление нитро- и азо-производных в гипоксических условиях лежит в основе создания биологических проб на пониженное содержание кислорода, а также агентов для ПЭТ-визуализации солидных опухолей. Вторая часть работы посвящена дизайну группы пролекарств Pt(IV), с аксиальными лигандами способных необратимо восстанавливаться в гипоксических условиях.

Одним из наиболее перспективных подходов к снижению токсичности противоопухолевых средств к здоровым тканям является дизайн пролекарств, способных к контролируемому высвобождению активного компонента в результате внешнего физико-химического воздействия. Так, введение флуорофоров, поглощающих свет в видимой области, позволяет получить фотоактивируемые пролекарства Pt(IV), высвобождающие препарат Pt(II) под действием света. Третья часть работы посвящена созданию пролекарств Pt(IV) с фотоактивными аксиальными лигандами на основе рибофлавина и бор-дипиррометенов (BODIPY), способных к контролируемому фотовысвобождению цисплатина.

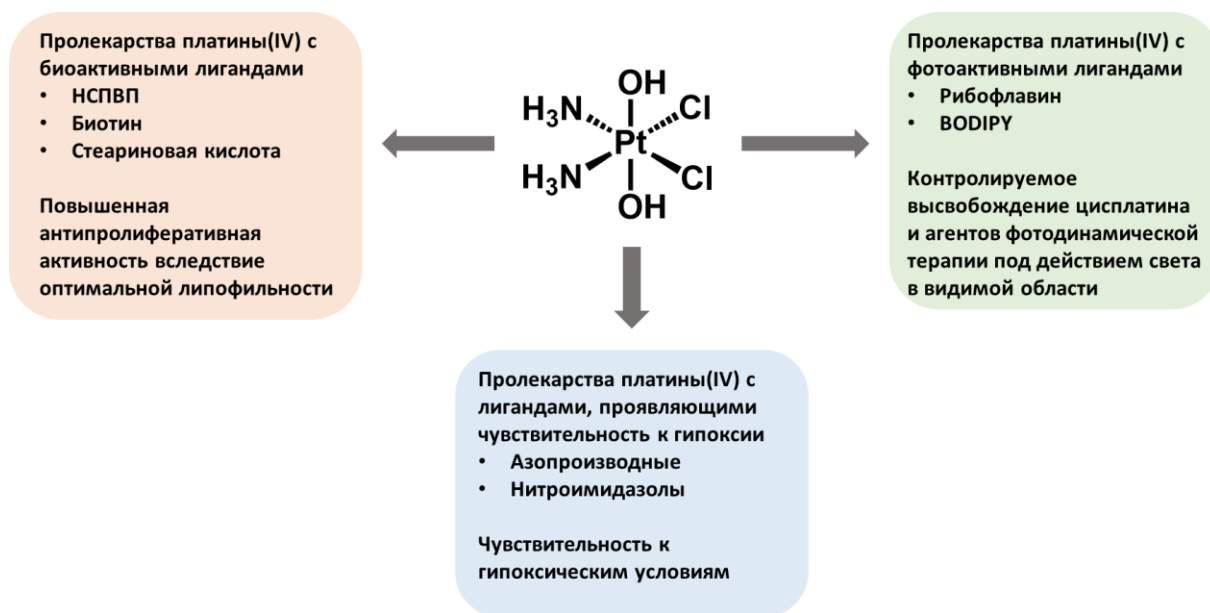


Рисунок 44. Группы пролекарств Pt(IV), синтезированные и исследованные в рамках настоящей работы.

3.1. Синтез пролекарств Pt(IV)

Предложенные к синтезу в ходе настоящей работы пролекарства можно разделить на три структурных типа, в зависимости от количества органических лигандов и природы линкера между лигандом и центром Pt(IV) (Рис. 45). Тип I составляют симметричные дикарбоксилатные пролекарства с двумя одинаковыми аксиальными лигандами. Тип II оставляют монокарбоксилатные пролекарства, содержащих в аксиальном положении один лиганд со сложноэфирным (IIa) или карбаматным (IIб) линкером между центром Pt(IV) и аксиальным лигандом. В структурный тип III входят несимметричные дикарбоксилатные пролекарства с двумя различными аксиальными лигандами и линкерами на основе карбоксилата (тип IIIa), карбоксилата и карбамата (тип IIIб) и карбамата (тип IIIв).

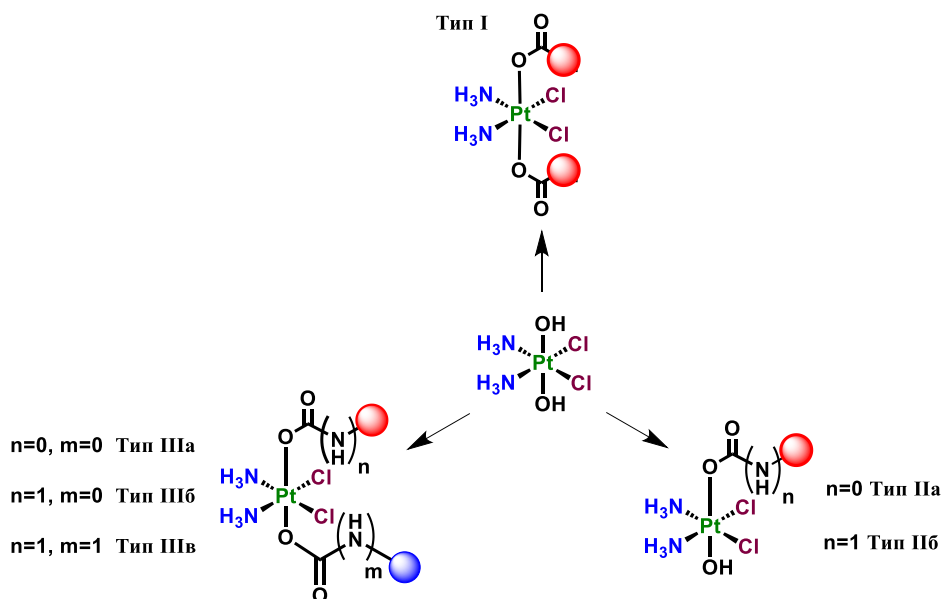
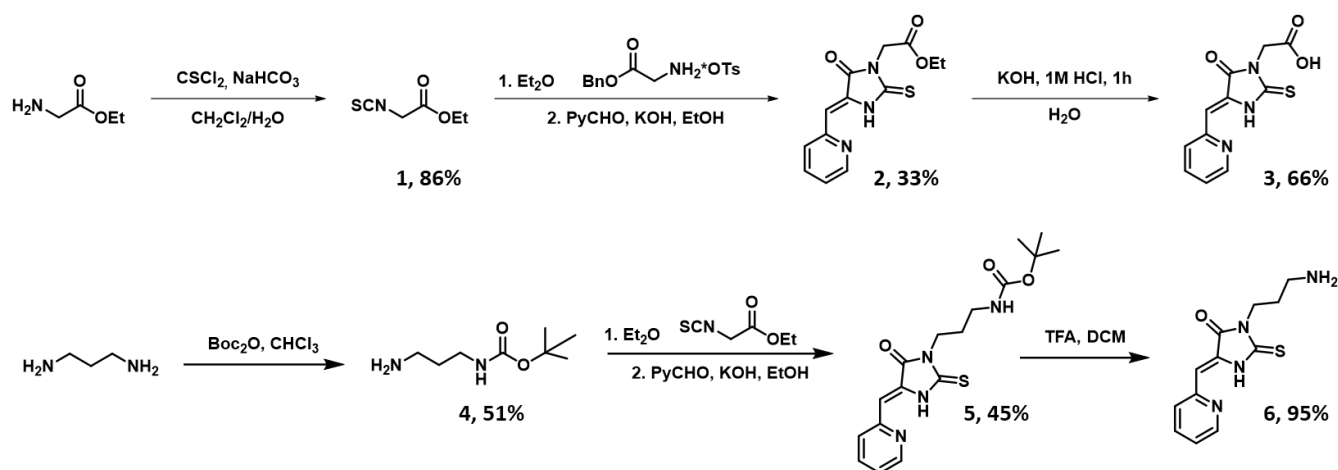


Рисунок 45. Три структурных типа пролекарств Pt(IV), синтезированных в рамках данной работы.

3.1.1. Синтез пролекарств Pt(IV) с биоактивными лигандами с повышенной липофильностью¹.

Для отработки синтетических подходов к созданию пролекарств Pt(IV) в качестве аксиальных лигандов был выбран ранее исследованный в лаборатории БАОС класс 2-тиоимидазол-4-онов. Представители данного класса соединений способны хелатировать катионы металлов, отдельные соединения проявляют цитотоксическую активность [160]. Также известно, что медь-хелатирующие агенты способствуют повышенному накоплению цисплатина в опухолевых клетках [161]. По разработанной ранее one-pot методике [162] были получены 5-((Z)-2-пиридилметил)-2-тиоксотетрагидро-4Н-имидазол-4-оны **3** и **6**, содержащие фрагмент карбоновой кислоты или алифатического амина в тиогидантоиновом цикле, соответственно (Схема 1):

Схема 1:

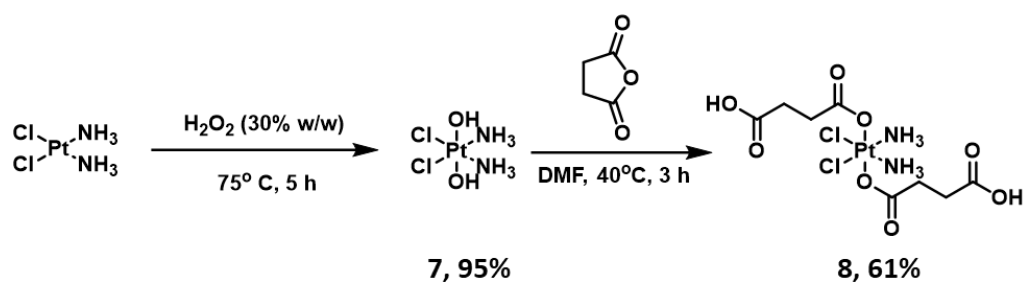


Лиганд **3** с карбоксильной группой можно ввести в реакцию непосредственно с O-нуклеофилом в аксиальном положении дигидроксоцисплатина (оксоплатина) **7**, в то время как для введения в аксиальное положение Pt(IV) лиганда **6** требуется введение дополнительного

¹ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования: **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Akasov, R. A.; Vaneev, A. N.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Nikitina, V. N.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Skvortsov, D. A.; Roznyatovsky, V. A.; Ul, N. V.; Pikovskoi, I. I.; Sypalov, S. A.; Garanina, A. S.; Vodopyanov, S. S.; Abakumov, M. A.; Volodina, Y. L.; Markova, A. A.; Petrova, A. S.; Mazur, D. M.; Sakharov, D. A.; Zyk, N. V.; Beloglazkina, E. K.; Majouga, A. G.; Krasnovskaya, O. O. Pt(IV) Prodrugs with Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs in the Axial Position. *J. Med. Chem.* **2022**, 65, 8227–8244; **Spector, D.**; Erofeev, A.; Gorelkin, P.; Skvortsov, D.; Trigub, A.; Markova, A.; Nikitina, V.; Ul'yanovskiy, N.; Shtil', A.; Semkina, A.; Vlasova, K.; Zyk, N.; Majouga, A.; Beloglazkina, E.; Krasnovskaya, O. Biotinylated Pt(IV) Prodrugs with Elevated Lipophilicity and Cytotoxicity. *Dalt. Trans.* **2023**, 52 (4), 866–871; Krasnovskaya, O.; **Spector, D.**; Erofeev, A.; Gorelkin, P.; Akasov, R.; Skvortsov, D.; Trigub, A.; Vlasova, K.; Semkina, A.; Zyk, N.; Beloglazkina, E.; Majouga, A. Alternative Mechanism of Action of the DNP Pt(IV) prodrug: Intracellular Cisplatin Release and the Mitochondria-Mediated Apoptotic Pathway. *Dalt. Trans.* **2021**, 50 (23), 7922–7927; **D. V. Spector**, A. S. Erofeev, P. V. Gorelkin, A. N. Vaneev, R. A. Akasov, N. V. Ul'yanovskiy, V. N. Nikitina, A. S. Semkina, K. Yu Vlasova, M. A. Soldatov, A. L. Trigub, D. A. Skvortsov, A. V. Finko, N. V. Zyk, D. A. Sakharov, A. G. Majouga, E. K. Beloglazkina, and O. O. Krasnovskaya. Electrochemical Detection of a Novel Pt(IV) Prodrug with the Metronidazole Axial Ligand in the Hypoxic Area. *Inorg. Chem.* **2022** 61 (37), 14705-14717

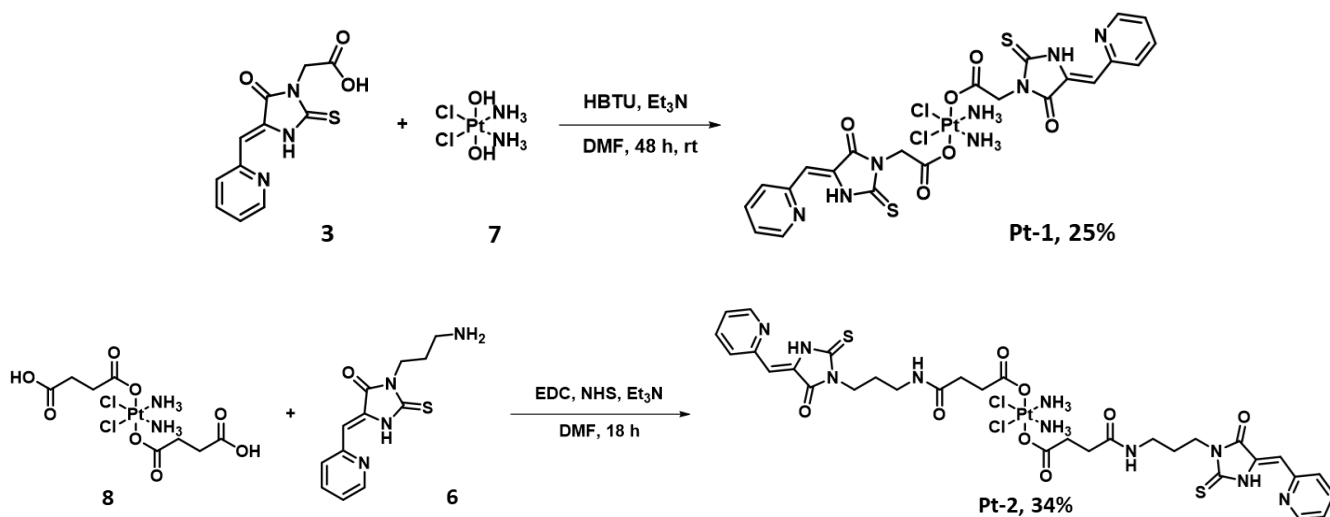
линкера в координационную сферу оксоплатина. Оксоплатин **7** был получен путём окисления цисплатина перекисью водорода при нагревании, и затем введён в реакцию с янтарным ангидридом в ДМФА с получением дисукцинатного комплекса Pt(IV) **8** (Схема 2) [36,37]. В ИК-спектре оксоплатина наблюдается характеристическая полоса 1074 см^{-1} (Pt-OH), что соответствует литературным данным [34].

Схема 2:



Пролекарства Pt(IV) **Pt-1** и **Pt-2** были получены по реакции комплексов **7** и **8** с избытком (3-4 экв.) соответствующих лигандов **3** и **6**, с использованием классических реагентов пептидного синтеза (2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуруния гексафторфосфата (HBTU) и 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC)/N-гидроксисукцинимид (NHS) (Схема 3):

Схема 3:



Выделение целевых соединений проводили путём упаривания растворителя, суспендирования остатка в метаноле, и осаждения целевых комплексов Pt(IV) **Pt-1** и **Pt-2** избытком диэтилового эфира. Структура пролекарств Pt(IV) **Pt-1** и **Pt-2** была подтверждена с помощью ^1H , ^{13}C , ^{195}Pt ЯМР² спектроскопии, а также масс-спектрами высокого разрешения. Об образовании дикарбоксилатного комплекса в спектре ^1H ЯМР свидетельствует уширенный

² Спектры ^{195}Pt получены совместно с д.х.н., в.н.с. Гришиным Ю.К. и к.ф.-м.н., с.н.с. Рознятовским В.А. кафедры органической химии Химического факультета МГУ.

синглет со сдвигом 6.5 м.д., соответствующий сигналу NH_3 лигандов, который является следствием взаимодействия ядер ^1H с квадрупольным ядром ^{14}N [163]. Также, пик в спектре ^{195}Pt в области >1200 м.д. характерен для дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) (Рис. 46) [59,164]:

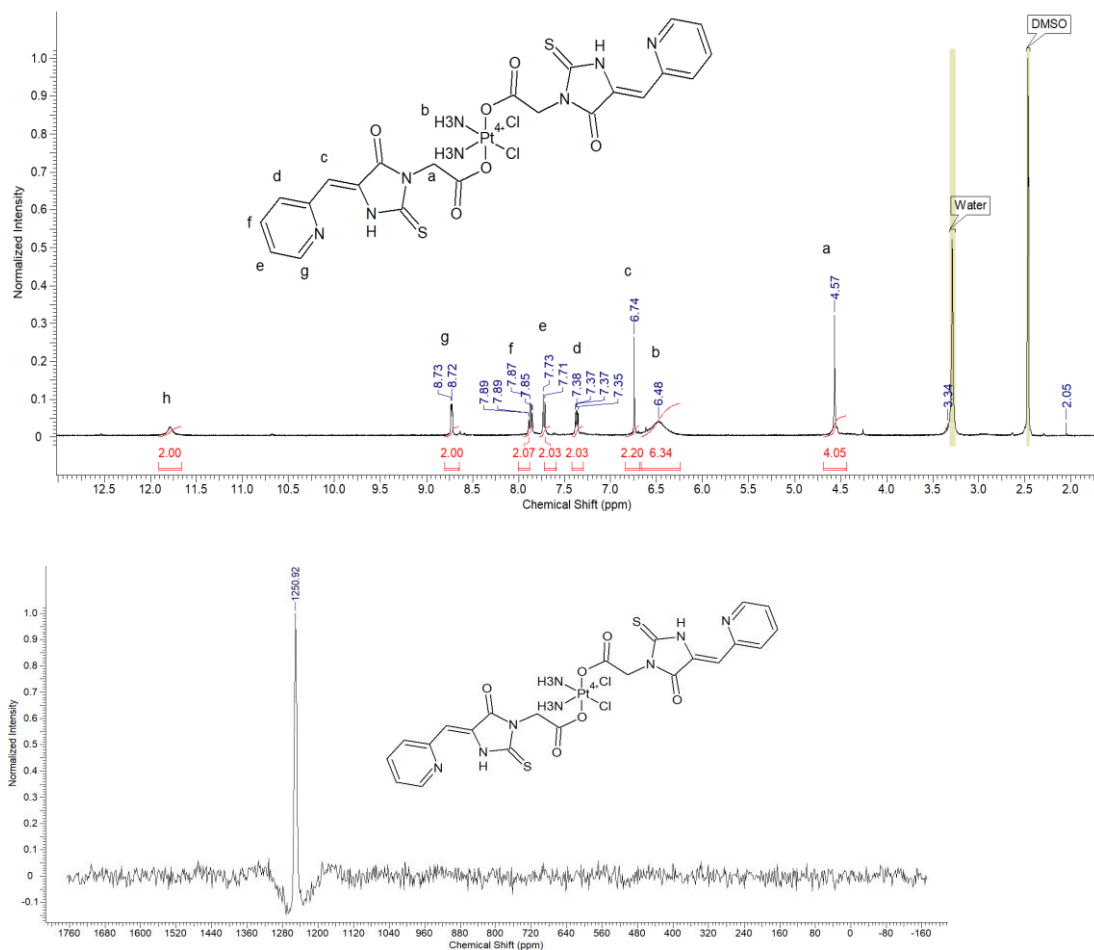


Рисунок 46. Спектры ^1H и ^{195}Pt пролекарства Pt(IV) Pt-1.

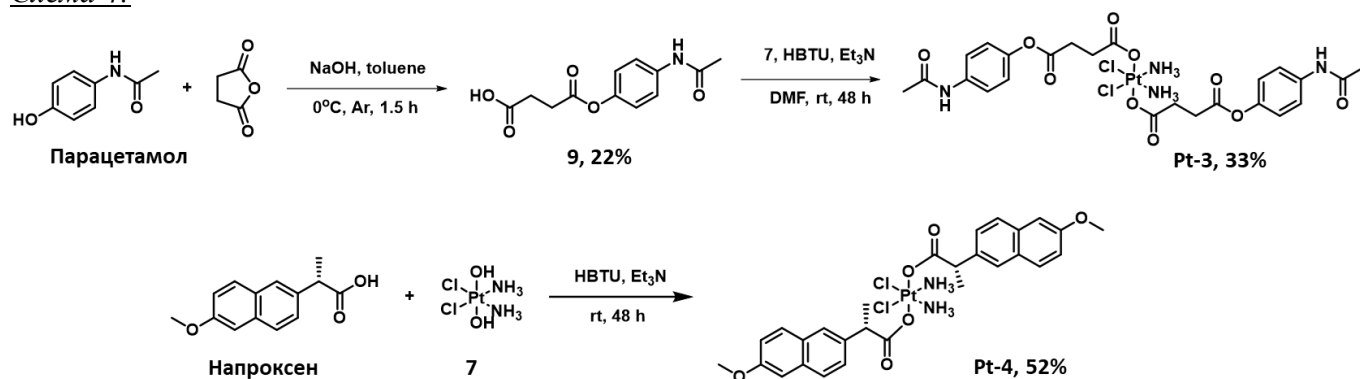
В литературе показано, что реакции гидроксокомплексов Pt(IV) с производными карбоновых кислот протекают во внешней сфере комплекса с сохранением конфигурации лигандов, и являются реакциями ацилирования, а не лигандного обмена [15,165]. Также, опираясь на работы, в которых структура продуктов аналогичных реакций ацилирования оксоплатина была доказана с помощью рентгеноструктурного анализа, можно утверждать сохранение конфигурации цисплатина в ходе используемых в настоящей работе превращений [39,149,166].

Таким образом, были отработаны стратегии синтеза симметричных пролекарств Pt(IV) как путём непосредственной реакции карбоксильной группы лиганда с OH -группой в аксиальном положении комплекса Pt(IV) , так и путём введения линкера-янтарной кислоты с последующей реакцией аминогруппы лиганда с карбоксильной группой линкера.

Нестероидные противовоспалительные препараты (НСПВП) являются ингибиторами циклооксигеназ 1 и 2 (ЦОГ-1 и ЦОГ-2), катализирующих скорость-определяющую стадию образования простагландинов, веществ, создающих воспалительный ответ. Воспаление является важным маркером опухолевых заболеваний и одним из ключевых маркеров развития онкологии [167]. Также НСПВП способны подавлять экспрессию лиганда программируемой клеточной смерти PD-L1, тем самым активируя иммунный ответ [168].

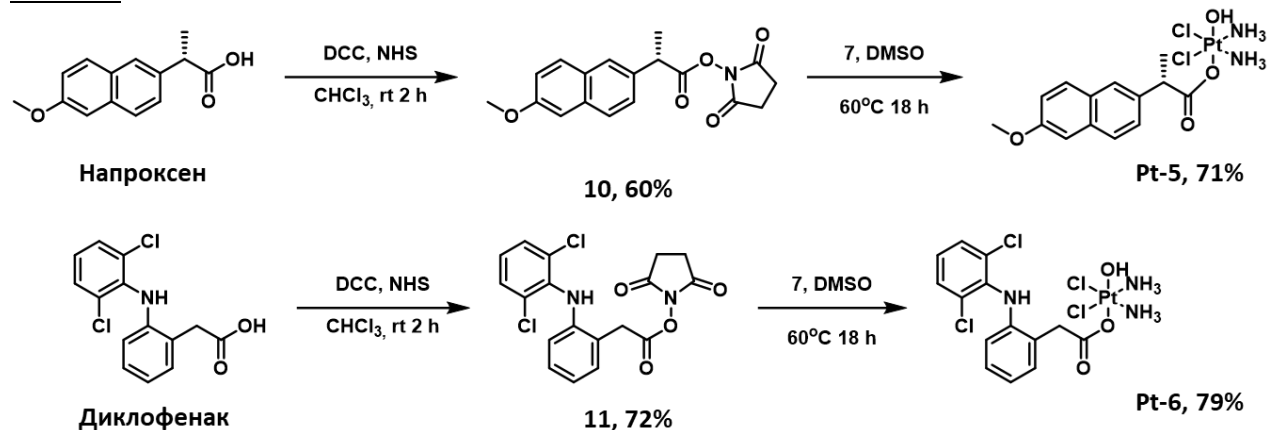
Для синтеза пролекарств Pt(IV), содержащих ингибиторы циклооксигеназ в аксиальном положении, нами были выбраны НСПВП парацетамол, напроксен, диклофенак, флурбипрофен и кеторолак. Симметричные дикарбоксилатные пролекарства Pt(IV) **Pt-3** и **Pt-4** с напроксеном и парацетамолом структурного типа I были синтезированы аналогично методике синтеза **Pt-1**, путём активации карбоксильной группы избытка карбоновой кислоты с помощью HBTU, и *in situ* реакцией с оксоплатином **7** (Схема 4):

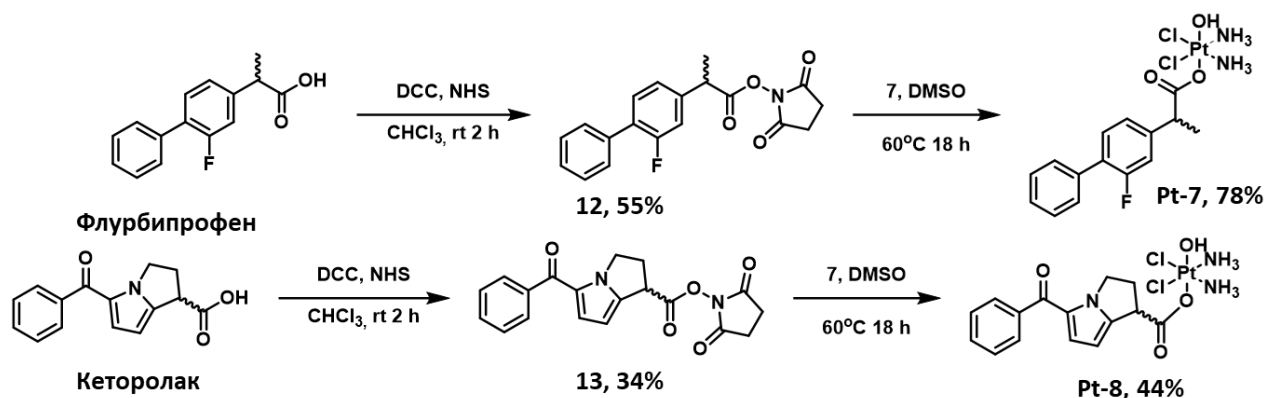
Схема 4:



Далее, были получены новые монокрбоксилатные пролекарства Pt(IV) **Pt-5** – **Pt-8** структурного типа IIa, путём синтеза NHS эфиров НСПВП **10–13**, [169] и последующей реакцией их с оксоплатином **7** в ДМСО при температуре 60°C (Схема 5). ДМСО из смеси удаляли многократным промыванием раствора диэтиловым эфиром, далее остаток суспендировали в метаноле, и осаждали целевые соединения избытком диэтилового эфира.

Схема 5





Характеристическим сигналом в спектре ^1H ЯМР монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) типа Па **Pt-5** – **Pt-8**, является мультиплет в диапазоне 6.10–5.89 м.д. соответствующий амиачным NH_3 -протонам, который наблюдается вследствие спин-спинового взаимодействия амиачных протонов с квадрупольным ядром ^{14}N ($^1J_{\text{HN}}=52$ Гц) и ядром ^{195}Pt ($^2J_{\text{HPt}}=52$ Гц) [57,163]. Пик в спектре ^{195}Pt в диапазоне 1100–1000 м.д. является характеристическим для монокарбоксилатных комплексов Pt(IV) [21,59,108], что наблюдается, например, в спектрах ^1H и ^{195}Pt ЯМР пролекарства Pt(IV) **Pt-7** (Рис. 47):

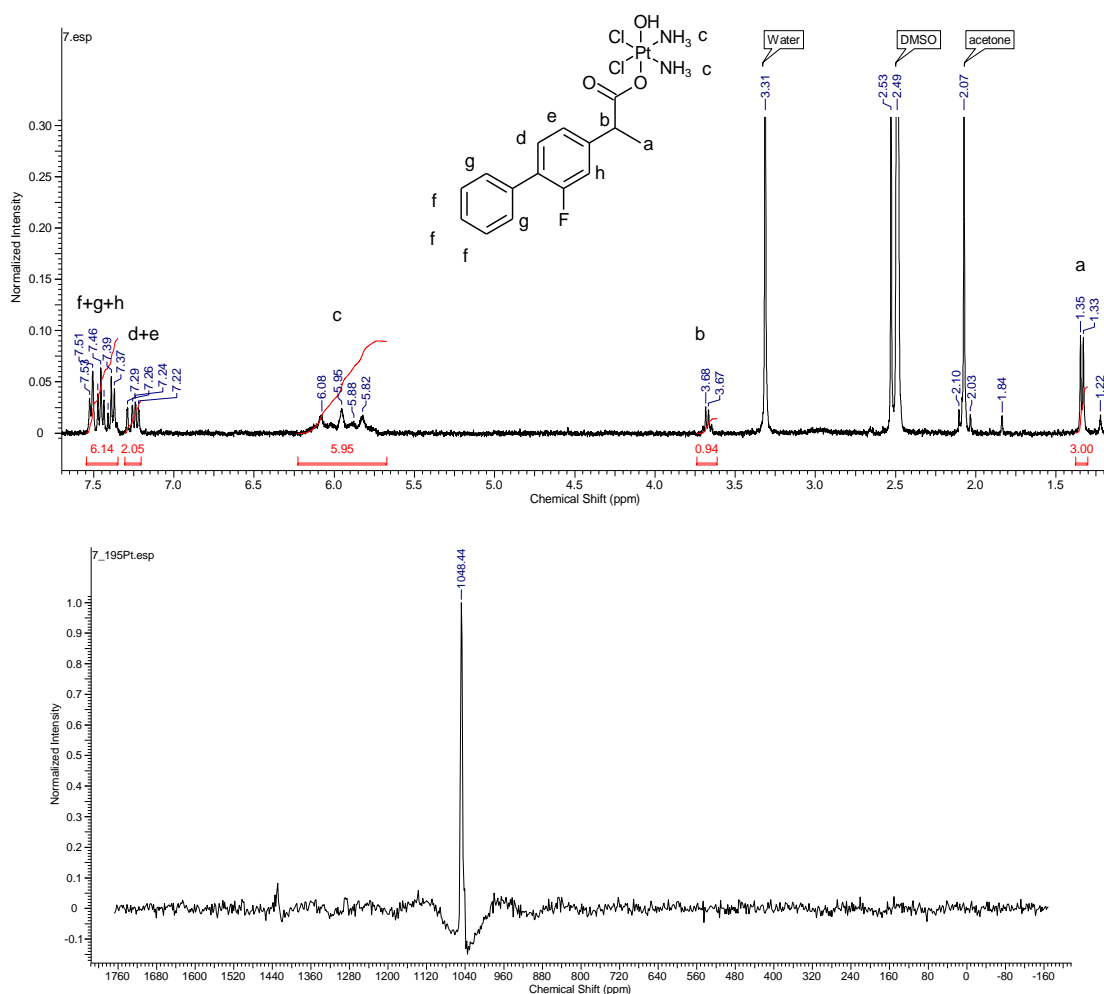
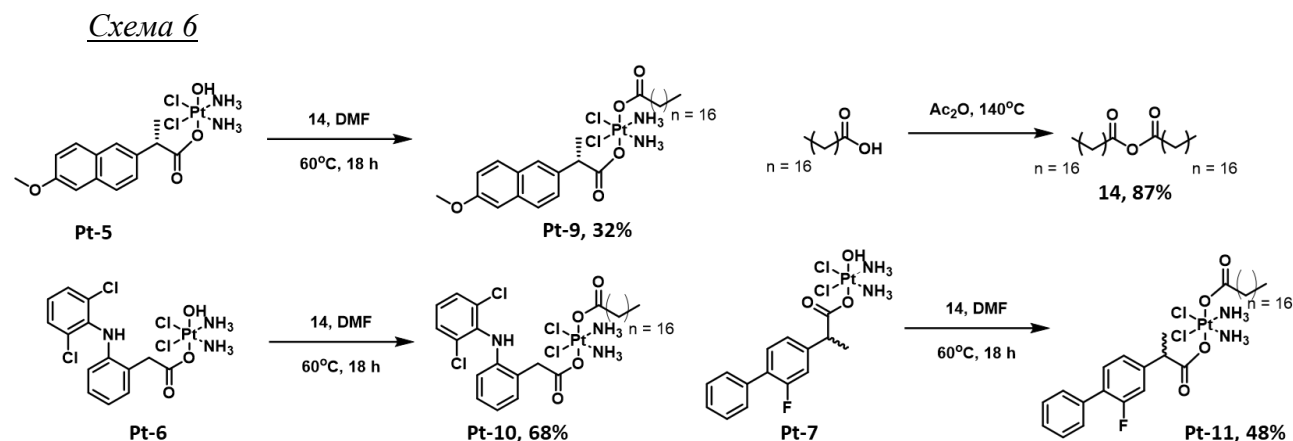


Рисунок 47. Спектры ^1H и ^{195}Pt пролекарства Pt(IV) **Pt-7**.

В ряде публикаций, посвящённых синтезу пролекарств Pt(IV), показано, что введение липофильных фрагментов в аксиальное положение пролекарств Pt(IV) приводит к значительному росту антипролиферативной активности пролекарств по сравнению с исходным цисплатином [25,71,91]. Следуя данной стратегии, монокарбоксилатные пролекарства **Pt-5–Pt-7** ввели в реакцию ацилирования стеариновым ангидридом **14**, с получением несимметричных дикарбоксилатных комплексов структурного типа IIIa **Pt-9–Pt-11** (Схема 6):



Введение во второе аксиальное положение монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) **Pt-5 – Pt-7** фрагмента стеарата с акцепторной карбоксильной группой привело к сдвигу сигнала в спектре ЯМР ¹⁹⁵Pt в область >1200 м.д., что наблюдается, например, в спектре **Pt-11**, полученного из пролекарства **Pt-7**. (Рис. 48).

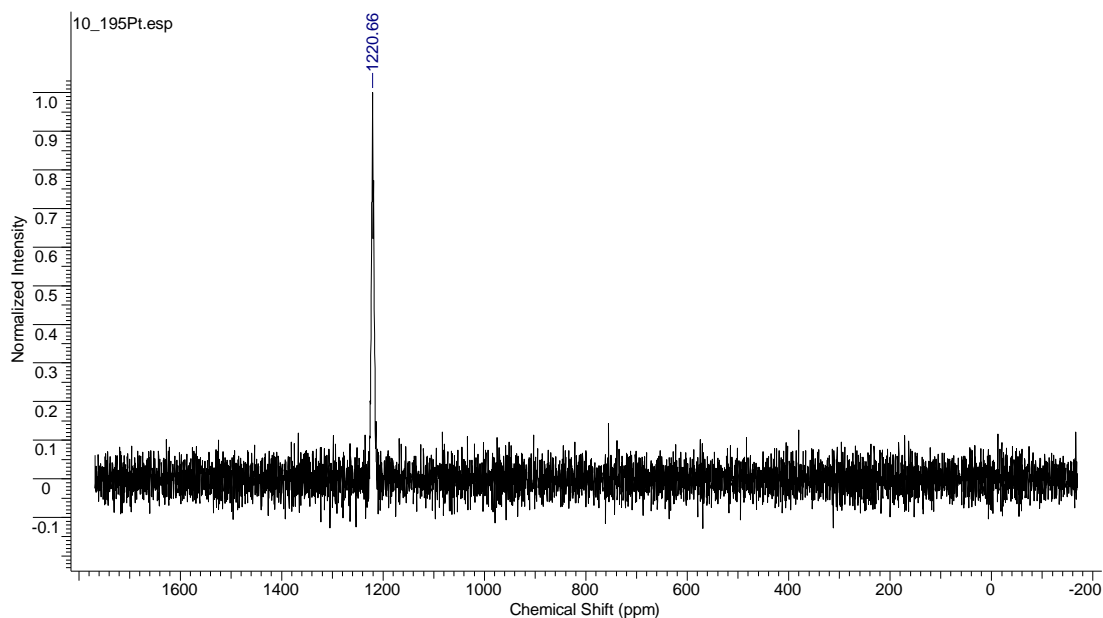
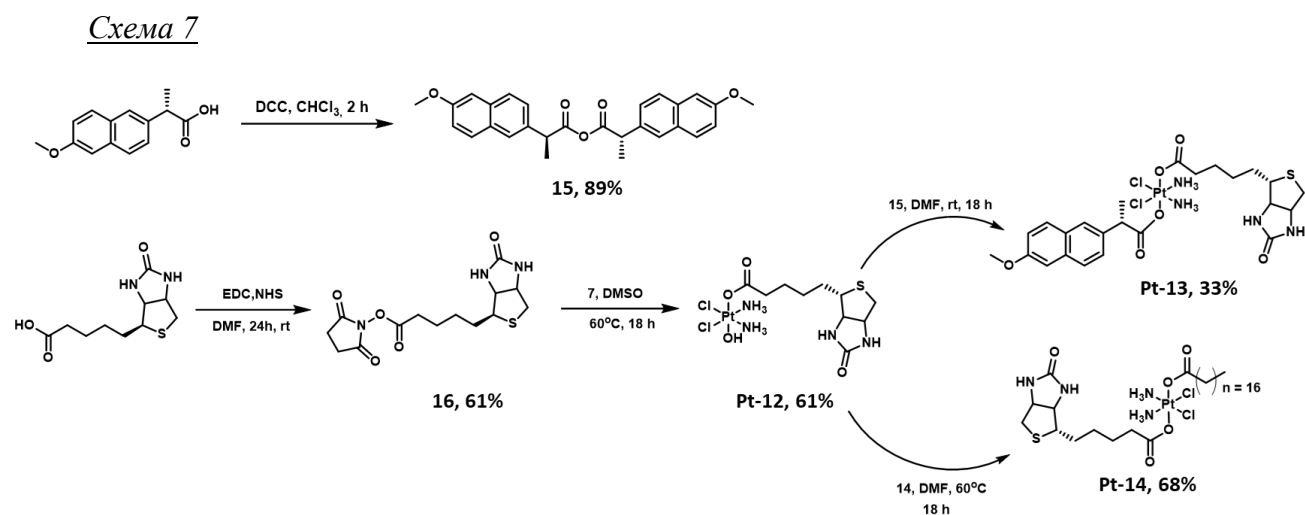


Рисунок 48. Спектр ¹⁹⁵Pt пролекарства Pt(IV) **Pt-11**.

Витамин В₇ биотин является широко используемой векторной молекулой, обладающей аффинностью к ряду опухолевых тканей ввиду того, что поглощение биотина опухолевыми клетками выше, чем здоровыми [170]. Для получения липофильных биотин-содержащих

пролекарств Pt(IV) ранее описанный монокарбоксилатный комплекс с биотином **Pt-12** был модифицирован стеариновым ангидридом **14**, или ангидридом напроксена **15**. В результате были получены несимметричные дикарбоксилатные пролекарства Pt(IV) структурного типа IIIa **Pt-13** и **Pt-14**, содержащие биотин, напроксен и стеариновую кислоту в аксиальных положениях (Схема 7):



Полученные пролекарства Pt(IV) **Pt-1** – **Pt-14** были исследованы спектроскопией ЯМР ¹H, ¹³C и ¹⁹⁵Pt ЯМР, а также масс-спектрометрией высокого разрешения (HRMS) (Табл. 2).

Таблица 2. Пик ¹⁹⁵Pt ЯМР, рассчитанные и найденные пики в масс-спектре высокого разрешения пролекарств Pt(IV) **Pt-1** – **Pt-14**.

Соединение Pt(IV)	Сигнал ¹⁹⁵ Pt ЯМР	Сигнал HRMS, найден	Сигнал HRMS, рассчитанный*	Аксиальные лиганды
Pt-1	1250.92	824.0236	824.0207	2-тиомидазол-4-он, 2-тиоимидазол-4-он
Pt-2	1224.42	1020.1438	1020.1419	2-тиомидазол-4-он, 2-тиоимидазол-4-он
Pt-3	н/д	800.1079	800.1059	Парацетамол, парацетамол
Pt-4	1216.95	758.1361	758.1363	Напроксен, напроксен
Pt-5	1044.71	546.0525	546.0521	Напроксен, ОН
Pt-6	1043.76	610.9741	610.9745	Диклофенак, ОН
Pt-7	1048.44	560.0494	560.0477	Флурбипрофен, ОН
Pt-8	н/д	571.0466	571.0479	Кеторолак, ОН
Pt-9	1221.61	812.3133	812.313	Напроксен, стеарат
Pt-10	1226.34	877.2363	877.2354	Диклофенак, стеарат

Pt-11	1220.66	826.3091	826.3087	Флурбипрофен, стеарат
Pt-12	н/д	560.0475	560.0459	Биотин, ОН
Pt-13	1220.66	772.1303	772.1297	Биотин, напроксен
Pt-14	1227.28	826.3081	826.3069	Биотин, стеарат

* Расчёт моноизотопной молекулярной массы был проведён в программе Chemdraw 18.0

Таким образом, нами была синтезирована серия моно- и дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) структурных типов I, IIa и IIIa **Pt-1 – Pt-14** с лигандами на основе НСПВП, биотина и стеариновой кислоты. При синтезе координационных соединений были отработаны синтетические подходы к получению монокарбоксилатных и симметричных дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) типов IIa и I, соответственно, а также несимметричных дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) структурного типа IIIa путём последовательной модификации аксиальных положений оксоплатина 7.

3.1.2. Синтез пролекарств Pt(IV) с лигандами, проявляющими чувствительность к гипоксии.³

Гипоксия является важной молекулярной мишенью при создании диагностических и терапевтических агентов [159]. Однако, значительное отдаление гипоксических опухолей от кровеносных сосудов затрудняет накопление в них противоопухолевых агентов, в связи с чем создание пролекарств Pt(IV) с лигандами, способными к селективному накоплению в гипоксических областях остаётся актуальной задачей [171].

Перспективными органическими лигандами, способными необратимо восстанавливаться в гипоксических условиях, являются азопроизводные и нитроимидазолы [159]. Так, азоароматические соединения восстанавливаются до аминов [172], а нитроимидазолы – до цитотоксических аминов или гидроксиламинов под действием различных редуктаз [173,174], что используется в разработке диагностических и терапевтических агентов [159,175,176] (Рис. 49). Вторая часть работы посвящена синтезу пролекарств Pt(IV) с чувствительными к гипоксии аксиальными лигандами на основе нитроимидазолов и азосоединений.

³ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования. **D. V. Spector**, A. S. Erofeev, P. V. Gorelkin, A. N. Vaneev, R. A. Akasov, N. V. Ul'yanovskiy, V. N. Nikitina, A. S. Semkina, K. Yu Vlasova, M. A. Soldatov, A. L. Trigub, D. A. Skvortsov, A. V. Finko, N. V. Zyk, D.A. Sakharov, A. G. Majouga, E. K. Beloglazkina, and O. O. Krasnovskaya. Electrochemical Detection of a Novel Pt(IV) Prodrug with the Metronidazole Axial Ligand in the Hypoxic Area. *Inorganic Chemistry* **2022** 61 (37), 14705-14717

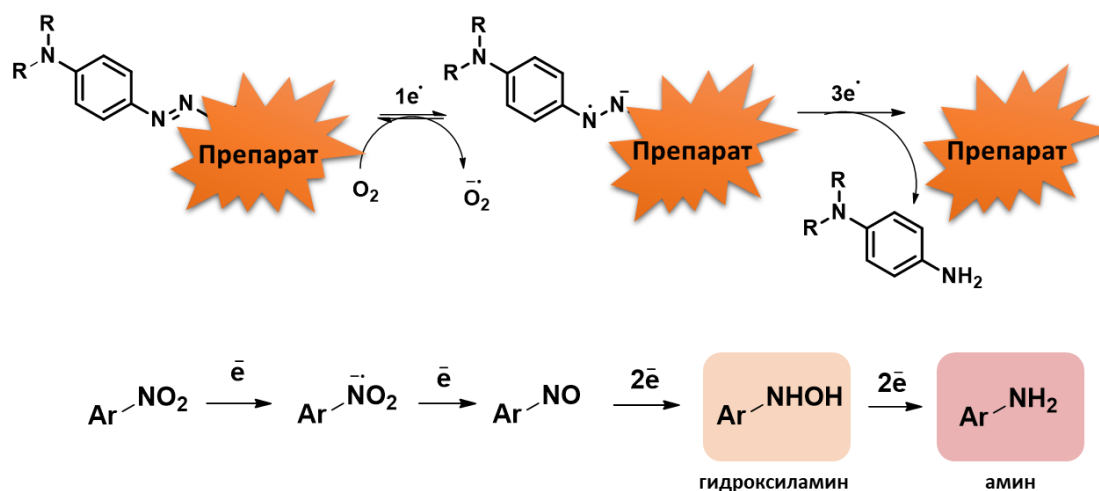
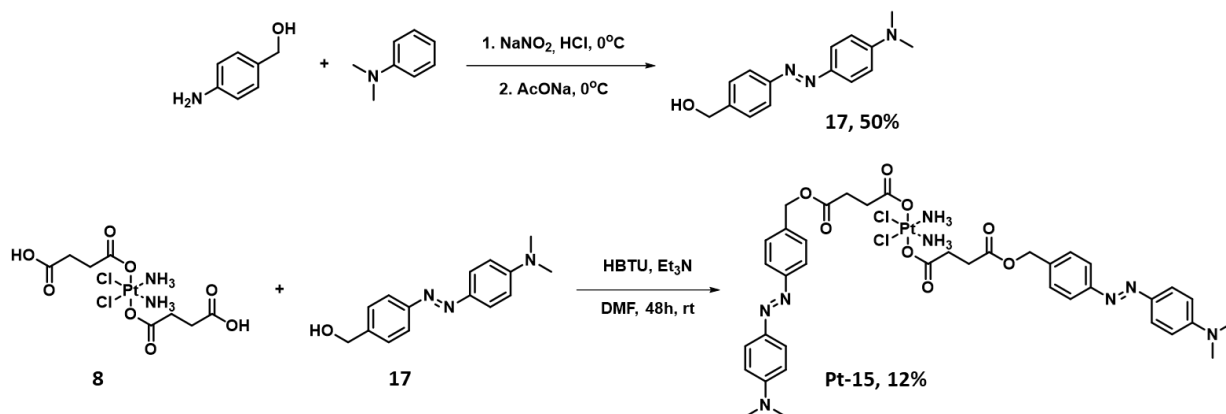


Рисунок 49. Принцип активации азоароматических производных и нитроароматических соединений в гипоксических условиях.

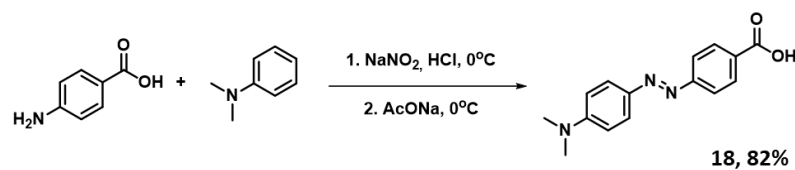
В качестве азосоединения был выбран продукт азосочетания 4-аминобензилового спирта и N,N-диметиланилина **17**, который ранее был использован Zhou et al. для контролируемого высвобождения иринотекана в гипоксических условиях [174]. Пролекарство Pt(IV) **Pt-15** было получено реакцией ацилирования азосоединения **17**, содержащего гидроксильную группу, комплексом Pt(IV) **8**, содержащим карбоксильную группу, в присутствии НВТУ (Схема 8):

Схема 8



Также, было получено пролекарство **Pt-16** структурного типа Па с карбоксилатным линкером, реакцией ацилирования оксоплатина **7** азосоединением **18** на основе п-аминобензойной кислоты в присутствии НВТУ (Схема 9):

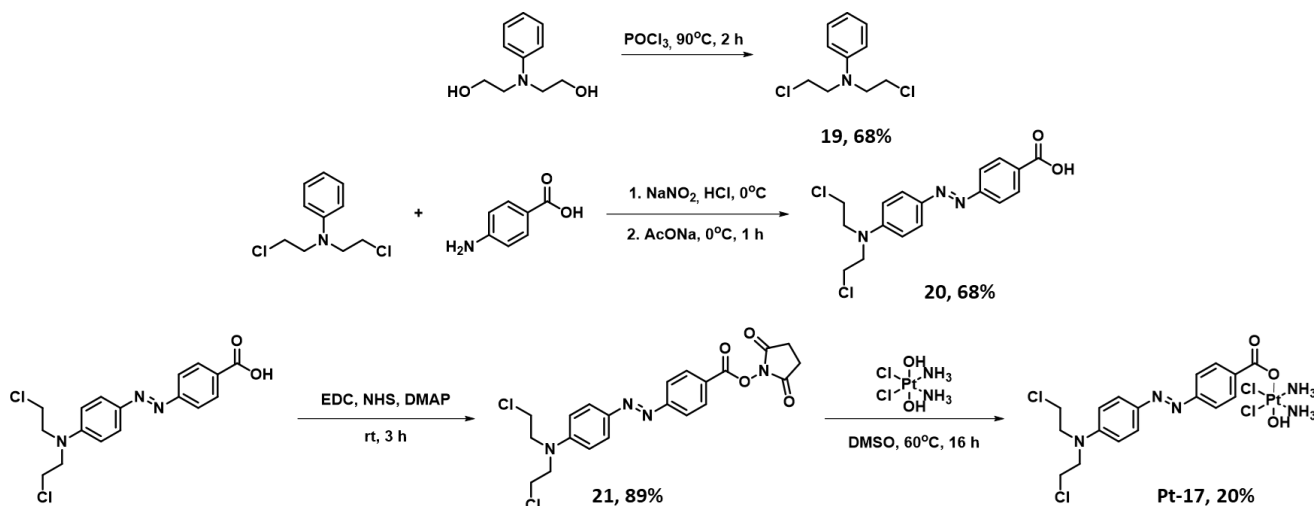
Схема 9





Далее, было предложено модифицировать азоароматическое производное с целью придания ему цитотоксических свойств. Для этого, фрагмент N,N-диметиланилина в азосоединении **18** был заменён на азотистый иприт (N,N-бис(2-хлорэтил)анилин), который является ДНК-алкилирующим агентом. Азопроизводное **20** было получено реакцией N-фенилдиэтанолamina с оксохлоридом фосфора, с последующим азосочетанием с продуктом диазотирования p-аминобензойной кислоты. Далее, был получен NHS-эфир азопроизводного **20**, который ввели в реакцию с оксоплатином в ДМСО при 60°C с образованием пролекарства Pt(IV) **Pt-17** структурного типа IIa (Схема 10):

Схема 10

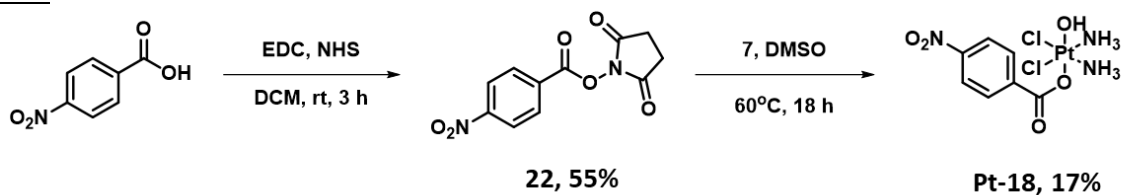


Таким образом, было впервые получено пролекарство Pt(IV) двойного действия **Pt-17**, потенциально способное накапливаться в гипоксической области, и высвобождать два ДНК-алкилирующих агента: цисплатин и азотистый иприт.

Выделение пролекарства **Pt-15** проводили методом колоночной хроматографии, а комплексы **Pt-16** и **Pt-17** осаждали из суспензии в метаноле диэтиловым эфиром.

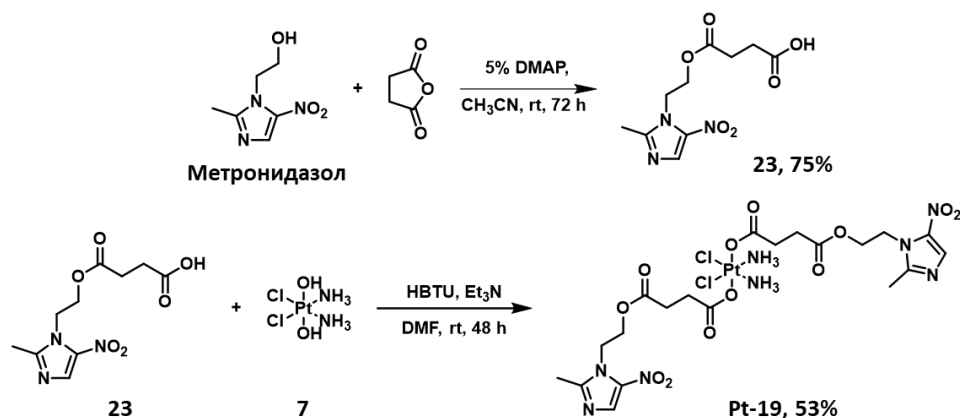
Производные 2-нитроимидазола широко применяются в визуализации и терапии гипоксических опухолей [159,177,178]. В качестве простейшего модельного нитроароматического соединения для введения в аксиальное положение пролекарства Pt(IV) была выбрана p-нитробензойная кислота. Монокарбоксилатный комплекс **Pt-18** был получен реакцией ацилирования оксоплатина предварительно синтезированным NHS-эфиром p-нитробензойной кислоты **22** (Схема 11):

Схема 11



В качестве лиганда на основе нитроимидазола нами был использован антибиотик метронидазол, который применяется для борьбы с анаэробными инфекционными заболеваниями [179]. Для введения в аксиальное положение комплекса Pt(IV), метронидазол был ацилирован янтарным ангидридом, с образованием моноэфира янтарной кислоты **23**, который затем был введён в реакцию с оксоплатином **7** в присутствии HBTU, с получением пролекарства Pt(IV) **Pt-29** структурного типа I (Схема 12):

Схема 12

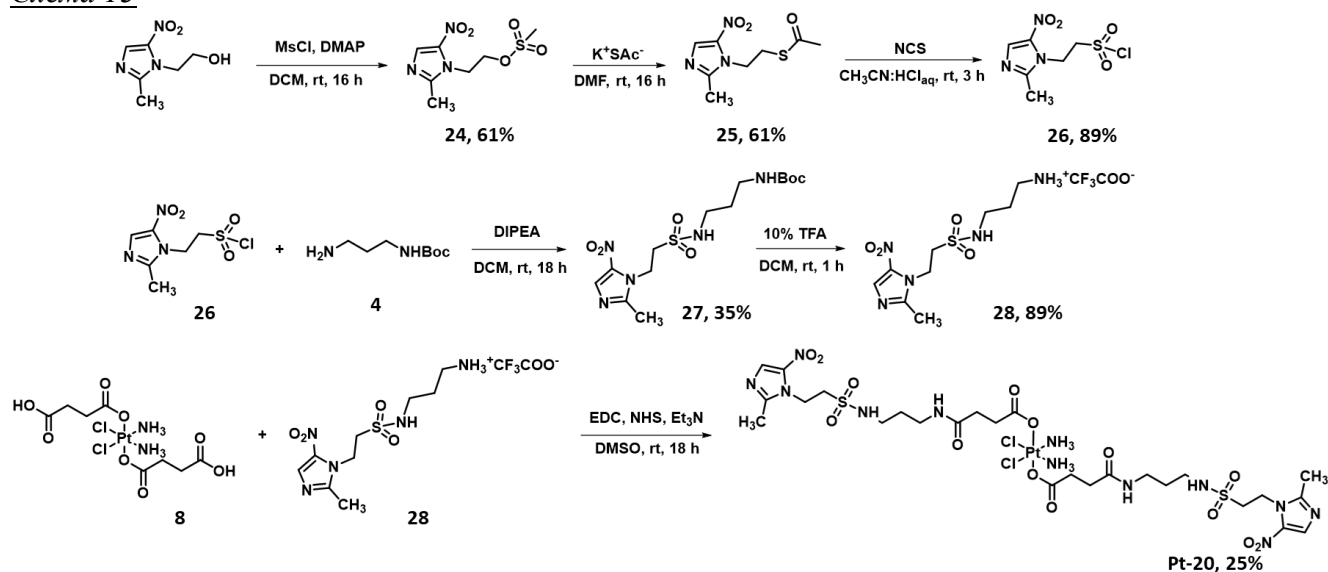


Сульфонамиды входят в состав большого количества лекарственных средств, а ряд сульфонамидов, в том числе на основе метронидазола, являются ингибиторами CAIX, одного из ключевых маркеров гипоксии [141,173]. Принимая во внимание данные свойства сульфонамидов, далее нами было предложено синтезировать пролекарство Pt(IV) с сульфонамидным производным метронидазола в аксиальном положении.

Сульфонамид метронидазола **27**, содержащий Вос-защищённую аминогруппу, был получен согласно Схеме 13 [180]. На первой стадии по реакции метронидазола и мезилхлорида был получен мезилат метронидазола **24**, который был введён в реакцию нуклеофильного замещения с тиацетатом калия, с образованием тиацетата **25**. Полученный тиацетат был окислен N-хлоросукцинимидом (NCS) в присутствии соляной кислоты, с образованием сульфонилхлорида **26**. Окисление тиацетата происходит под действием молекулярного хлора, который *in situ* образуется из смеси NCS и разбавленной HCl [181]. Сульфонилхлорид **26** был затем введён в реакцию с моно-Вос-защищённым 1,3-диаминопропаном **5**, в результате чего был получен сульфонамид **27**. После удаления защитной Вос-группы была получена соль амина **28**,

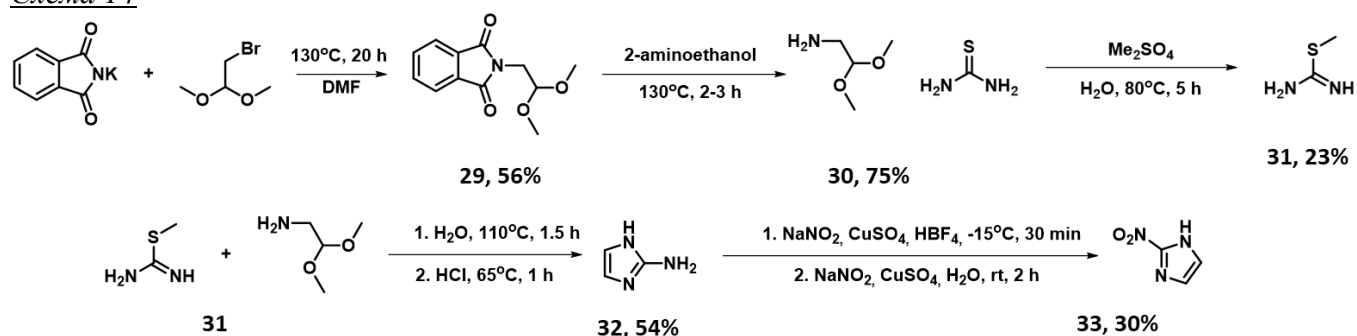
которой в присутствии основания был проацилирован комплексом Pt(IV) **8** в присутствии EDC и NHS, с получением пролекарства Pt(IV) **Pt-20** о с (Схема 13):

Схема 13



Далее, был предложен синтез пролекарства Pt(IV) с аксиальным лигандом на основе 2-нитроимидазола, распространённого маркера гипоксии [182]. По результатам анализа литературы, оптимальным путём синтеза 2-нитроимидазола **33** была выбрана следующая последовательность превращений (Схема 14). 2-аминодиметоксиацеталь **30** был получен в две стадии по методу Габриэля, с получением 2-фталимиддиметоксиацетала **29** и последующей отгонкой 2,2-диметоксиэтанамина **30** из смеси фталимида **29** и 2-аминоэтанола. Метилизотиомочевина **31** была получена метилированием тиомочевины диметилсульфатом и введена в реакцию с амином **30** в воде для получения 2-аминоимидазола **32**. Полученный 2-аминоимидазол **32** затем ввели в реакцию диазотирования с образованием 2-нитроимидазола **33** (Схема 14).

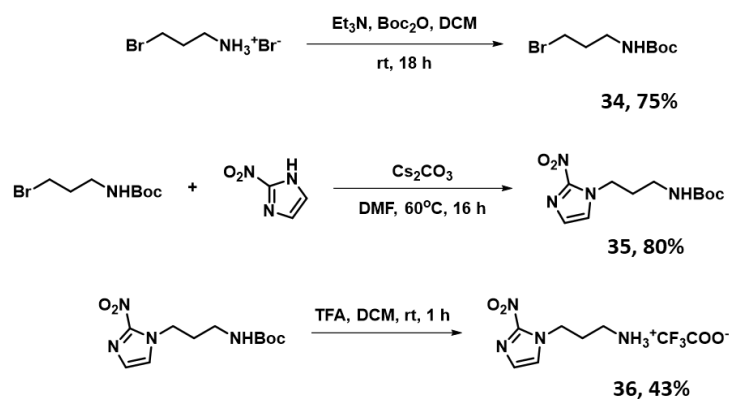
Схема 14



Для введения фрагмента 2-нитроимидазола **33** в аксиальное положение пролекарства Pt(IV), 2-нитроимидазол **33** был в реакцию алкилирования по атому азота амино группы, предварительно полученным N-Вос-бromoаминопропаном **34**, с получением трет-бутил (3-(2-

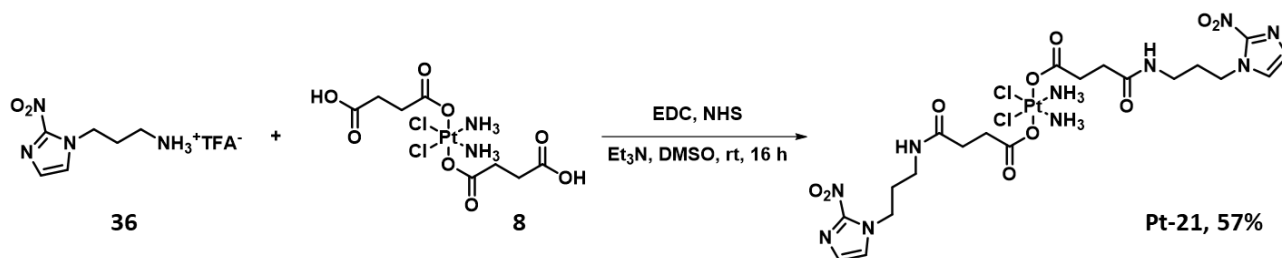
нитро-1Н-имидазол-1-ил)пропил)карбамата **35**. Удаление защитной группы привело к получению соли **36** (Схема 15):

Схема 15



Полученная соль **36** была в присутствии основания введена в реакцию ацилирования комплекса Pt(IV) **8**, в результате чего было получено пролекарство Pt(IV) **Pt-21** (Схема 16):

Схема 16



Синтезированные пролекарства **Pt-19-Pt-21** структурного типа I были выделены путём удаления растворителя, суспендированием остатка в метаноле и осаждением комплексов диэтиловым эфиром.

Таким образом, было синтезировано семь новых пролекарств Pt(IV) с лигандами, потенциально чувствительными к гипоксии. Пролекарства **Pt-15 – Pt-17** содержат азо-производные в качестве аксиальных лигандов, которые способны необратимо восстанавливаться в гипоксических условиях. Пролекарства **Pt-18 – Pt-21** содержат нитроароматические фрагменты в аксиальном положении, которые также потенциально способствуют селективному накоплению в гипоксических условиях.

3.1.3. Синтез пролекарств Pt(IV) с фотоактивными лигандами в аксиальном положении, способные к контролируемому высвобождению.⁴

Одним из наиболее интересных подходов к созданию пролекарств Pt(IV) является дизайн координационных соединений, способных к контролируемому высвобождению цисплатина в результате внешнего физико-химического воздействия. Создание пролекарств Pt(IV) с фотоактивными аксиальными лигандами является новым направлением, которое активно развивается с 2019 года [29]. Как показано в обзоре литературы, подход к созданию фотоактивируемых пролекарств Pt(IV) заключается во введении в аксиальное положение Pt(IV) фотопоглотителя, способного к фотоиндуцированному переносу электрона на центр Pt(IV) под действием видимого излучения [29,144,145,150]. Такие пролекарства не проявляют выраженной цитотоксической активности в отсутствие излучения, а высвобождение активного препарата Pt(II) происходит не постепенно, под действием внутриклеточных редуктаз, а контролируемо, в заданной области, под действием внешнего источника (Рис. 50) [183].

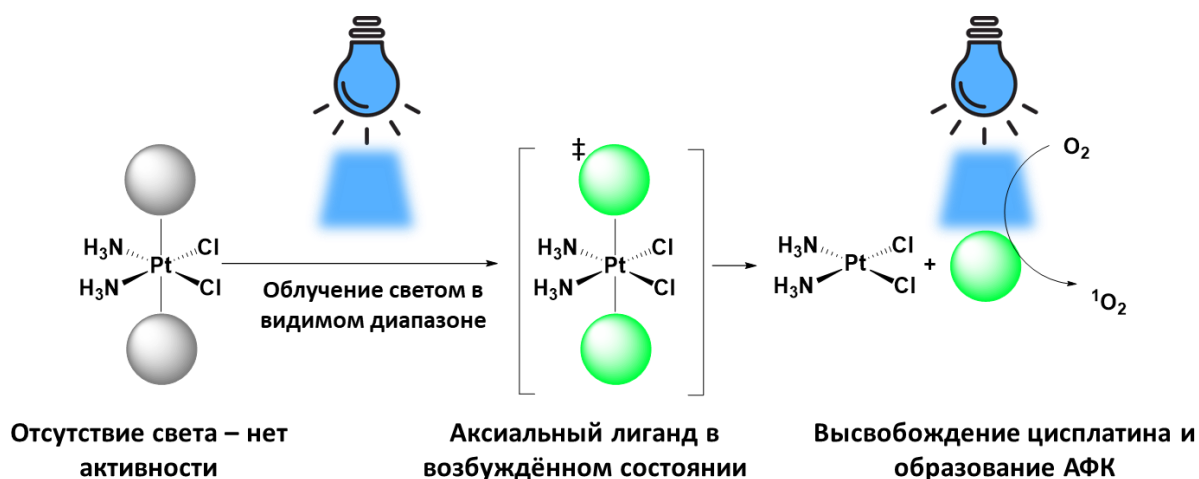


Рисунок 50. Общая схема действия пролекарств Pt(IV) с фоточувствительными лигандами.

Некоторые флуорофоры способны образовывать цитотоксические активные формы кислорода под действием света, то есть, являются ФДТ-агентами [184]. Триплетное возбуждённое состояние флуорофора может взаимодействовать с биомолекулами с переносом электрона, а затем с кислородом или водой, что приводит к образованию цитотоксических АФК (тип I ФДТ). Альтернативным путем является реакция триплетного состояния флуорофора с

⁴ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования. Krasnovskaya, O. O.; Akasov, R. A.; **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Bublely, A. A.; Kuzmin, V. A.; Kostyukov, A. A.; Khaydukov, E. V.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Sypalov, S. A.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Vaneev, A. N.; Nikitina, V. N.; Skvortsov, D. A.; Ipatova, D. A.; Mazur, D. M.; Zyk, N. V.; Sakharov, D. A.; Majouga, A. G.; Beloglazkina, E. K. Photoinduced Reduction of Novel Dual-Action Riboplatin Pt(IV) Prodrug. **ACS Appl. Mater. Interfaces** **2023**, 15 (10), 12882–12894

кислородом с образованием АФК (тип II ФДТ) (Рис. 50) [184]. Использование ФДТ-агентов в качестве аксиальных лигандов пролекарств Pt(IV) позволяет создавать пролекарства Pt(IV) двойного действия, представляющие собой агенты фотоконтролируемой и фотодинамической терапии [31].

Третий раздел настоящей работы посвящён разработке пролекарств Pt(IV), способных к контролируемому фотовысвобождению цисплатина под действием света в видимой области, а также пролекарств двойного действия, являющихся агентами фотоконтролируемой химиотерапии, и фотодинамической терапии.

3.1.3.1. Синтез пролекарств Pt(IV) с рибофлавином в аксиальном положении.

Рибофлавин является витамином группы В, и играет ключевую роль в процессах энергетического метаболизма и клеточного дыхания [185]. Повышенное потребление витаминов опухолевыми клетками, в сочетании с гиперэкспрессией рибофлавиновых рецепторов на поверхности ряда опухолей делает рибофлавин привлекательным векторным агентом в дизайне новых химиотерапевтических агентов [186]. Вследствие наличия в структуре рибофлавина изоаллоксазинового фрагмента, рибофлавин является флуорофором с уникальными фотохимическими свойствами, высоким квантовым выходом флуоресценции, а также эффективным ФДТ агентом, способным генерировать АФК даже при малых дозах облучения [187,188]. Кроме того, рибофлавин был предложен в качестве вспомогательного вещества в химиотерапии с участием цисплатина [189].

В структуре рибофлавина присутствуют две функциональные группы, подходящие для модификации: гидроксильная группа в 5'-положении рибитильного остатка и амидный атом азота в положении N-3 изоаллоксазинового кольца (Рис. 51).

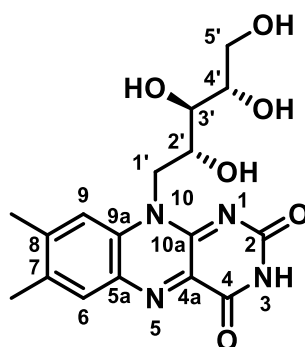
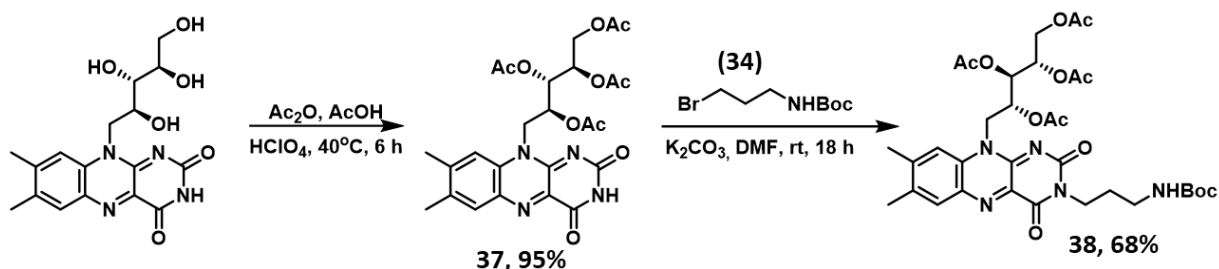


Рисунок 51. Структура рибофлавина и нумерация атомов в его молекуле.

Для защиты рибитильного фрагмента рибофлавин ввели в реакцию ацилирования уксусным ангидридом в уксусной кислоте, в присутствии каталитических количеств хлорной кислоты, в результате чего был получен тетраацетилрибофлавин (ТАРФ) **37** (Схема 17). Дальнейшая функционализация ТАРФ была проведена путём алкилирования N-3 положения

пиримидинового цикла ТАРФ N-Вос-защищённым 3-бром-1-аминопропаном **34**, с получением Вос-защищённого амина **38** (Схема 17). В обзоре литературы было отмечено, что линкер, состоящий из трёх CH_2 звеньев предполагается оптимальным для фотоиндуцируемого восстановления пролекарств Pt(IV) [147].

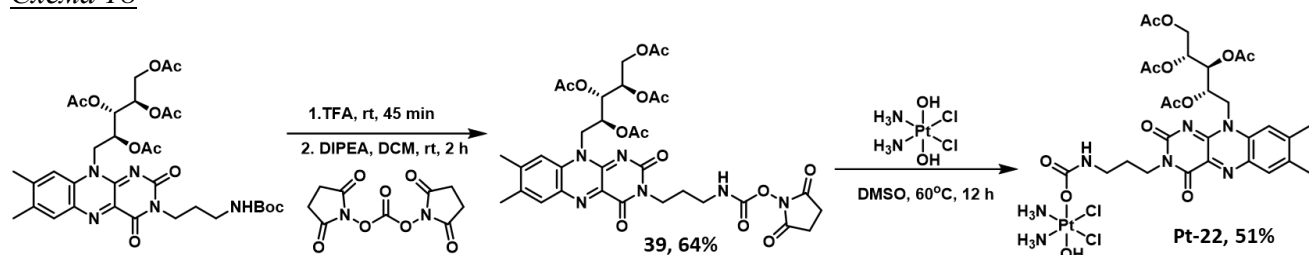
Схема 17



Для введения производного рибофлавина в аксиальное положение пролекарств Pt(IV) был разработан синтетический подход, основанный на синтезе активного эфира карбаминовой кислоты, который в результате реакции с оксоплатином **7** позволяет создать устойчивую связь между лигандом и центром Pt(IV) на основе карбамата. Связь на основе карбамата между центром Pt(IV) и аксиальным лигандом была предложена для синтеза пролекарств Pt(IV) [69,73], однако ранее не применялась при синтезе пролекарств Pt(IV) с контролируемой фотоактивацией.

Для синтеза карбаматного пролекарства Pt(IV) была проведена стадия удаления Вос-защитной группы в присутствии 5% ТФК с получением соли амина, которая без выделения была введена в реакцию с дисукцинимидил карбонатом (ДСК), в результате чего был получен NHS эфир карбаминовой кислоты **39**. Полученный карбамат **39** затем был введён в реакцию переэтерификации с оксоплатином **7**, в результате которой было получено монокарбаматное пролекарство Pt(IV) **Pt-22** структурного типа Пб с ТАРФ в аксиальном положении (Схема 18):

Схема 18



Пролекарство Pt(IV) **Pt-22** обладает высокой растворимостью в органических растворителях, поэтому выделение проводили с помощью колоночной хроматографии на прямой фазе. В спектре ^1H ЯМР пролекарства Pt(IV) **Pt-22** наблюдается характеристический уширенный синглет при 6.10 м.д., соответствующий экваториальным аммиачным лигандам, что указывает на образование монозамещённого пролекарства Pt(IV) (Рис. 52). В спектре ^{195}Pt ЯМР наблюдается

синглет при 1089.04 м.д., что соответствует диапазону значений, характерному для монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV), в частности **Pt-5** – **Pt-8** (1043–1048 м.д.) (Рис. 47) (см. раздел 3.1.1.).

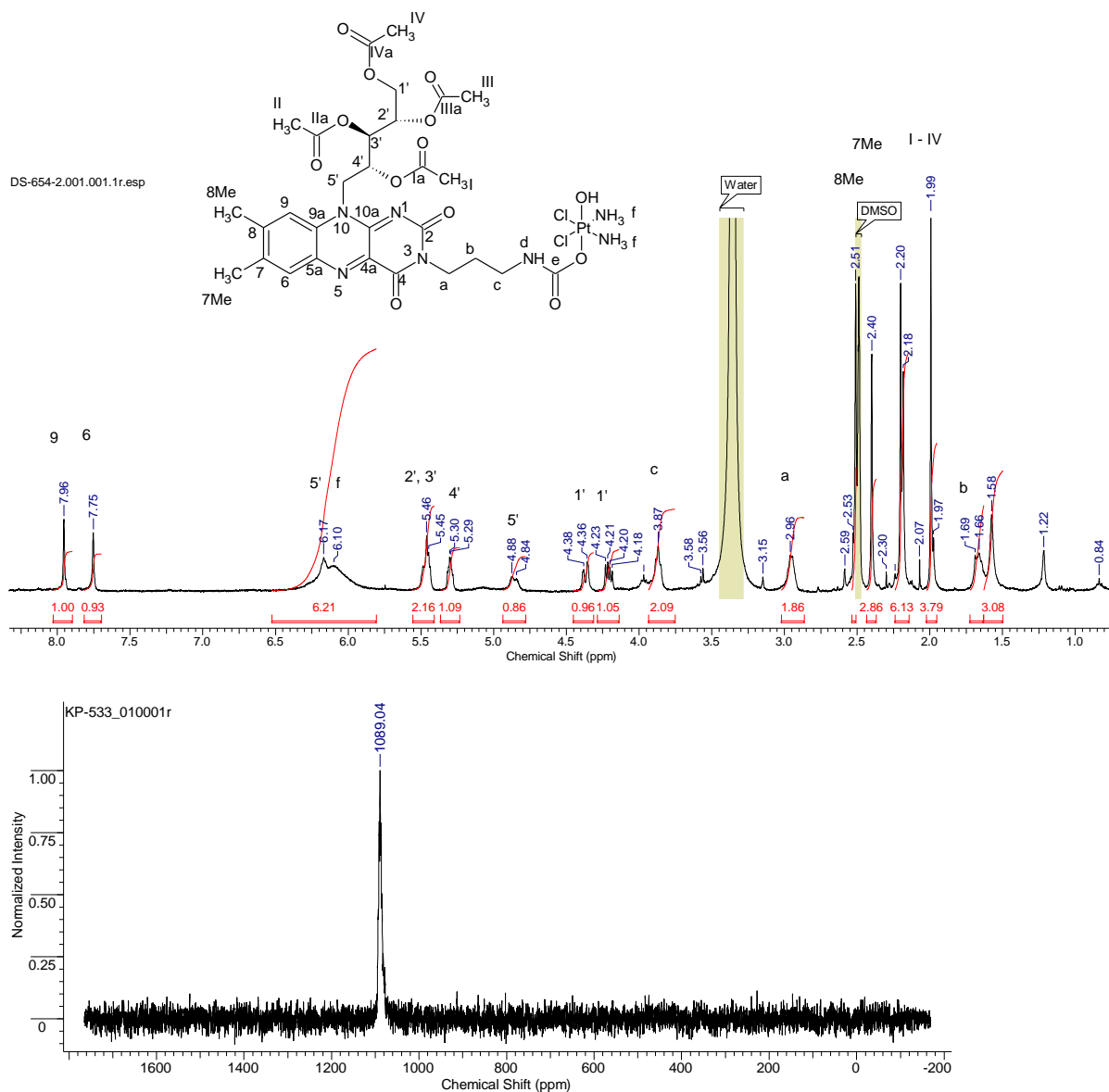
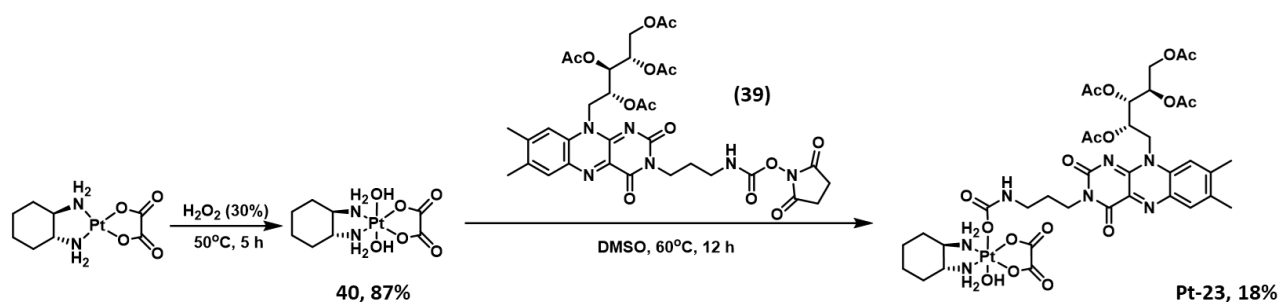


Рисунок 52. Спектр ^1H (вверху) и спектр ^{195}Pt пролекарства Pt(IV) **Pt-22**.

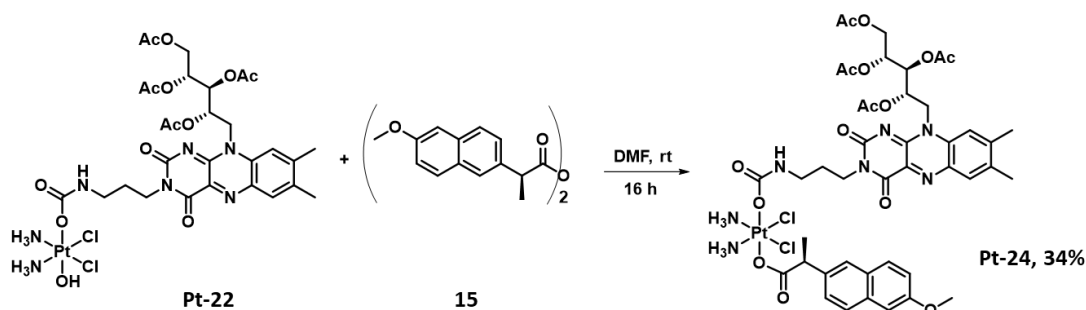
При дизайне фотоактивных пролекарств Pt(IV) в качестве исходного комплекса Pt(II) часто применяется оксалиплатин, ввиду того что пролекарства на его основе обладают высокой стабильностью в водных средах, в том числе в присутствии восстановительных агентов [29,61,145]. Нами было синтезировано пролекарство на основе оксалиплатина **Pt-23** с фрагментом ТАРФ в аксиальном положении, по реакции карбамата **39** с дигидрооксалиплатином **40**, полученного окислением оксалиплатина перекисью водорода (Схема 19):

Схема 19



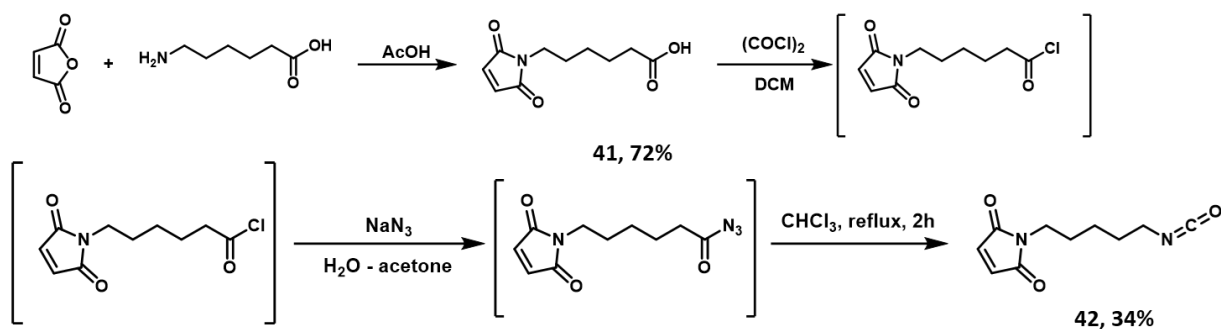
В обзоре литературы было показано, что модификация карбаматных пролекарств Pt(IV) по второму аксиальному положению может привести к повышению стабильности пролекарств Pt(IV) [69]. Второе аксиальное положение в пролекарстве Pt(IV) **Pt-22** было модифицировано ангидридом напроксена **15** с получением комплекса **Pt-24** структурного типа Шб (Схема 20):

Схема 20

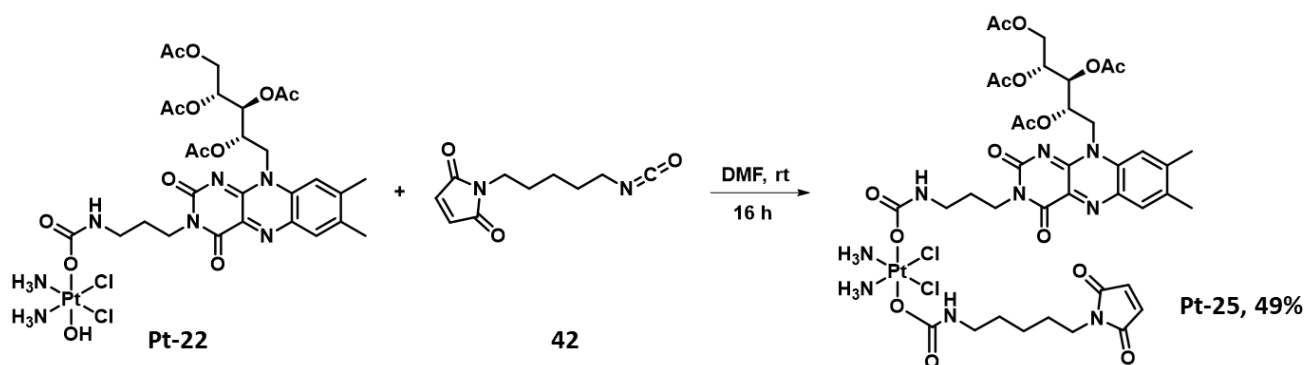


Связывание противоопухолевых агентов с транспортным белком альбумином может способствовать повышенной стабильности противоопухолевых агентов в кровотоке, и, как следствие, повышению накопления препаратов в опухолях [190,191]. Одним из органических векторов, способных связываться с альбумином является малеимид [72,73]. Для модификации пролекарства **Pt-22** производным малеимида нами был синтезирован малеимидо-изоцианат **42** по реакции 6-аминогексановой кислоты с малеиновым ангидридом, и дальнейшим синтезом изоцианата из ацилазида перегруппировкой Курциуса (Схема 21):

Схема 21



Изоцианат **42** далее был введен в реакцию ацилирования комплекса **Pt-22**, с получением дикарбаматного комплекса **Pt-25** (Схема 22). Выделение **Pt-24** и **Pt-25** структурных типов Шб и Шв проводили методом колоночной хроматографии.

Схема 22

Таким образом, впервые были получены пролекарства Pt(IV) двойного действия **Pt-22-Pt-25**, содержащие ТАРФ **37** в аксиальном положении, потенциально способные к контролируемой фотоактивации с высвобождением цисплатина, а также фотоконтролируемой генерации АФК. Для получения пролекарств впервые был применён синтетический путь, основанный на синтезе NHS эфира карбаминной кислоты аксиального лиганда, с последующим синтезом карбаматного пролекарства Pt(IV). Также, впервые были получены несимметричные пролекарства тройного действия, содержащие в аксиальном положении фрагмент НСПВП или векторный фрагмент малеимида (**Pt-24** и **Pt-25**, соответственно).

3.1.3.2. Синтез пролекарств Pt(IV) с BODIPY в аксиальном положении, способные к контролируемому высвобождению

Соединения на основе бор-дипиррометенов (BODIPY) являются широко используемыми флуорофорами ввиду своей фотостабильности, высоких коэффициентов экстинкции и узких полос поглощения и эмиссии [192–194] (Рис. 53). Данные соединения находят применение в качестве лазерных красителей, фотокатализаторов, компонентов диодов, агентов визуализации, фотодинамической и фототермической терапии [143,195,196]. Важным преимуществом данного класса флуорофоров является возможность тонкой настройки спектроскопических и фотохимических свойств с помощью разнообразных синтетических методов [143,152].

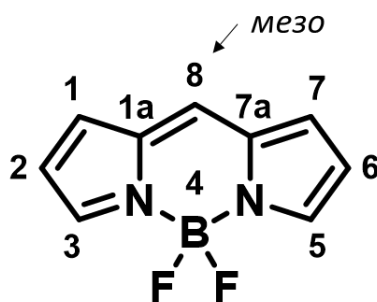


Рисунок 53. Структура ядра BODIPY и нумерация положений в ядре BODIPY

Излучение в красной области спектра (600 – 1350 нм) обладает наибольшей проникающей способностью в живых тканях, так как поглощение воды и биомолекул в этом диапазоне минимально [184]. Простые синтетические подходы позволяют получать флуорофоры на основе

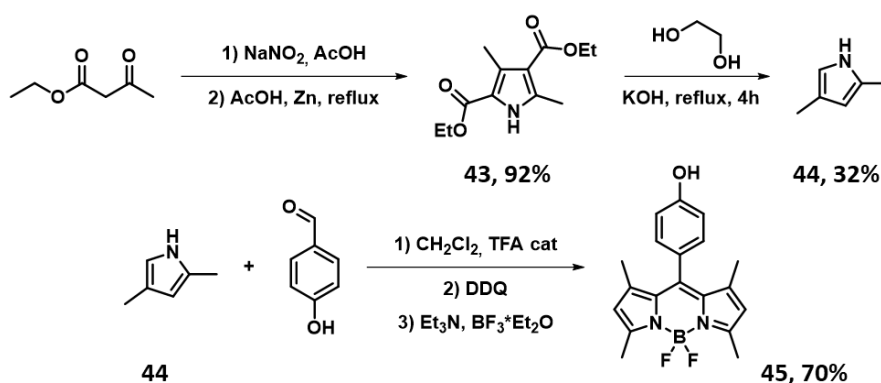
BODIPY с максимумом поглощения в БИК-области [152]. В ряде недавних публикаций были разработаны и исследованы несколько фотоактивных пролекарств Pt(IV) с BODIPY в качестве аксиальных лигандов, поглощающие в области зелёного [146,148] и красного света [149]. При этом, к настоящему времени не были получены пролекарства Pt(IV) двойного действия с BODIPY в аксиальном положении, способными под действием излучения не только контролируемым образом высвобождать цитотоксический агент, но и действовать как ФДТ-агенты. Также, в настоящий момент в литературе отсутствуют примеры пролекарств Pt(IV) с BODIPY, поглощающих в БИК-области и способных генерировать АФК.

3.1.3.2.1 Синтез пролекарств Pt(IV) с введением карбаматного линкера в аксиальное положение

Пролекарства Pt(IV) с производными бор-дипиррометенов, обладающими поглощением в синей области спектра

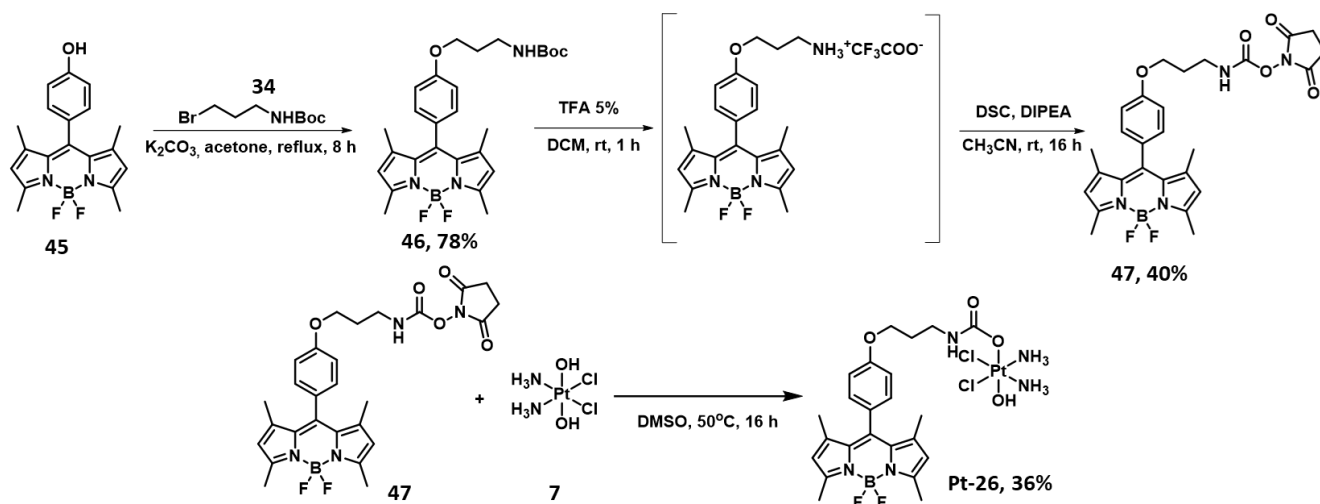
Для отработки стратегии синтеза пролекарств Pt(IV) с BODIPY в аксиальном положении, в качестве модельного лиганда нами был выбран 4,4-дифтор-8-(4-гидроксифенил)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацен **45**, содержащий в мезо-положении фенольный фрагмент, доступный для дальнейшей функционализации (Схема 23). Предварительно, пиррол Кнорра **43** был синтезирован нитрозированием ацетоуксусного эфира с дальнейшим восстановлением в присутствии цинка и уксусной кислоты, и последующей конденсацией [197]. 2,4-диметилпиррол **44** был получен путём щелочного гидролиза и декарбоксилирования пиррола Кнорра **43**, и затем введён в реакцию с п-гидроксибензальдегидом в присутствии ТФК с получением BODIPY **45** (Схема 23). BODIPY **45** был получен с использованием распространённого метода синтеза, в рамках которого ароматический альдегид вступает в реакцию конденсации с пирролом в присутствии трифторуксусной кислоты (ТФК), после чего образующийся дипиррометан окисляется действием 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинона (DDQ) с образованием дипиррометена, и далее в результате комплексообразования в присутствии эфира трифторида бора образуется целевой BODIPY (Схема 23) [195,198].

Схема 23



Введение BODIPY в аксиальное положение Pt(IV) осуществляли, следуя подходу с созданием карбаматной связи в аксиальном положении, разработанного при синтезе пролекарства Pt-22. После алкилирования фенола **45** бромидом **34** и удаления Вос-защитной группы, полученная соль амина была без выделения введена в реакцию с ДСК с получением NHS-эфира карбаминовой кислоты **47**. Пролекарство Pt(IV) Pt-26 было получено по реакции этерификации NHS-эфира карбамата **47** и оксоплатина **7** (Схема 24):

Схема 24



Далее мы перешли к модификации ядра BODIPY с целью получить флуорофоры, поглощающие в БИК-диапазоне, способные образовывать АФК, или обладающие повышенной растворимостью в воде.

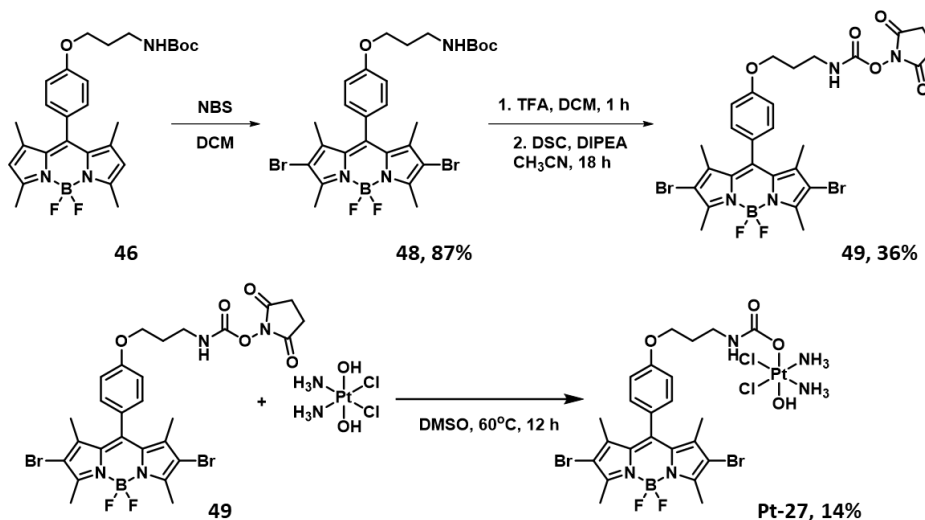
Пролекарства Pt(IV) с производными бор-дипиррометенов, способными образовывать АФК

Известно, что агенты фотодинамической терапии – фотосенсибилизаторы – оказывают антипролиферативный эффект посредством образования триплетного возбуждённого состояния под действием света, которое затем реагирует с кислородом или биомолекулами в клетке, образуя АФК [143,184]. Высокие квантовые выходы флуоресценции BODIPY являются следствием практически полного отсутствия вклада триплетного состояния в релаксацию, вследствие чего данные соединения не способны выступать в качестве ФДТ-агентов [143,199]. Тем не менее, ряд синтетических подходов позволяет повысить долю интеркомбинационной конверсии, что способствует стабилизации триплетного состояния флуорофоров на основе BODIPY, и делает такие соединения эффективными фотосенсибилизаторами [200].

Синтетически простым способом повысить долю интеркомбинационной конверсии BODIPY является введение в молекулу тяжёлых атомов, в частности, галогенов [143]. Следуя данной стратегии, нами был получен 2,6-дибром-BODIPY **48** реакцией электрофильного бромирования BODIPY **46** N-бромсукцинимидом. Далее были проведены стадии удаления Вос-

защиты, этерификация соли амина реагентом ДСК и ацилирование оксоплатина полученным карбаматом **49** с получением пролекарства Pt(IV) **Pt-27** (Схема 25).

Схема 25



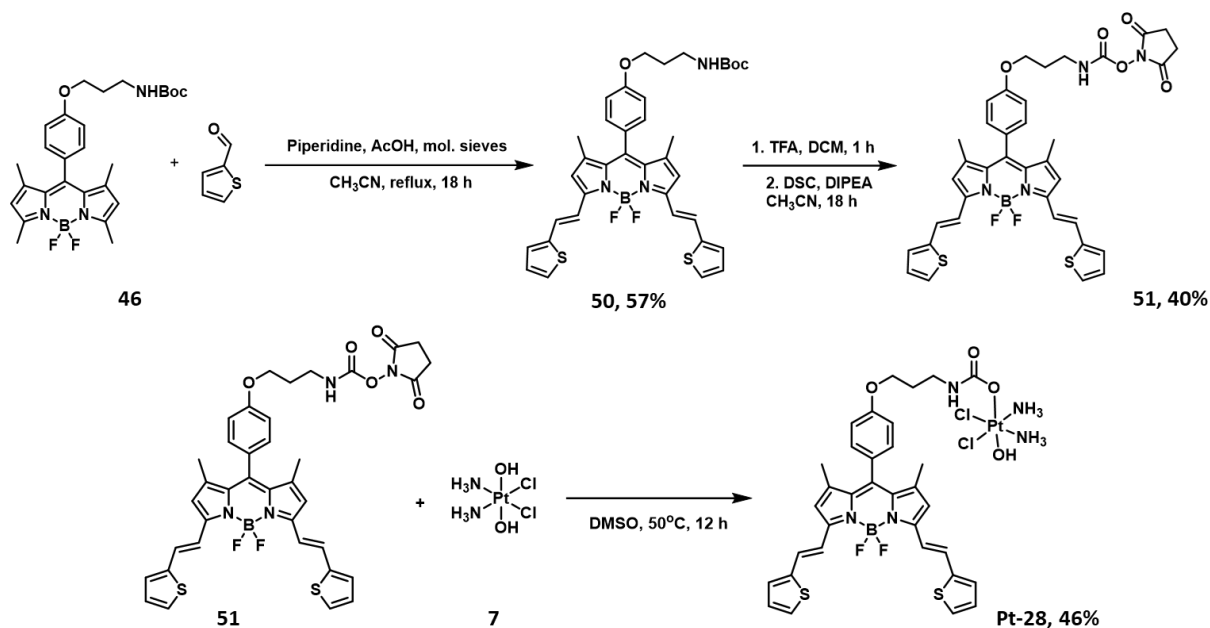
Пролекарство **Pt-27** потенциально способно под действием излучения не только высвобождать цисплатин, но и образовывать АФК. Таким образом, **Pt-27** является первым пролекарством Pt(IV) двойного действия с BODIPY в аксиальном положении.

Пролекарства Pt(IV) с BODIPY, обладающими поглощением в БИК области

Фотоактивация пролекарств Pt(IV) с использованием БИК-излучения является перспективным подходом для создания агентов фотоактивируемой химиотерапии, ввиду высокой проникающей способности света в красной области спектра. Одним из синтетических подходов к созданию BODIPY, способных поглощать свет в БИК диапазоне, является расширение сопряжённой π -системы BODIPY с использованием конденсации Кнёвенагеля. Метильные фрагменты в положениях 3,5 ядра BODIPY обладают СН-кислотностью, вследствие чего способны вступают в реакции конденсации с образованием 3,5-дистирильных производных бор-дипиррометенов [152].

BODIPY **46** был введен в конденсацию Кнёвенагеля с 2-тиофенкарбальдегидом с образованием дистирил-BODIPY **59**. Синтез проводили в ацетонитриле в присутствии уксусной кислоты и пиперидина в качестве катализаторов, и молекулярными ситами 3А в качестве водоотнимающего агента [201]. Полученный дистирил-BODIPY **50** был введён в реакцию удаления Вос-защитной группы, после чего полученную соль амина ввели в реакцию с ДСК с образованием NHS-эфира карбаминовой кислоты **51**. Далее, в ходе реакции этерификации карбамата **51** с оксоплатином **7** было получено пролекарство Pt(IV) **Pt-28** с дистирил-BODIPY в аксиальном положении (Схема 26):

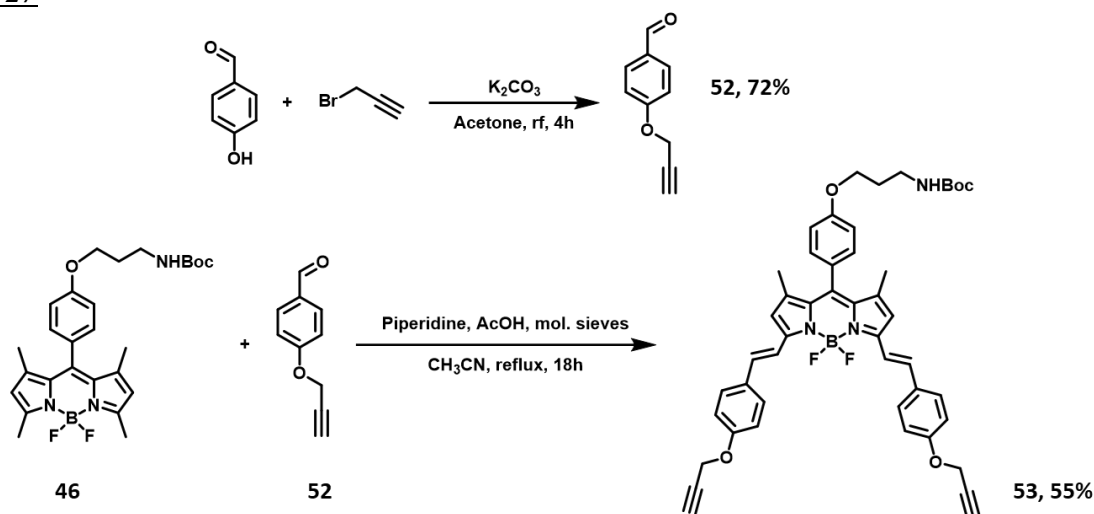
Схема 26



Критическим недостатком производных BODIPY, который ограничивает их применение в биологических средах, является низкая водорастворимость [202]. Для повышения водорастворимости BODIPY доступны различные методы, в том числе введение сульфатных групп, фрагментов углеводов или нуклеотидов, олиго-этиленгликолей [203,204]. Для синтеза аксиальных лигандов на основе BODIPY с повышенной водорастворимостью нами был использован подход с введением олигоэтиленгликолей.

Синтез BODIPY с повышенной водорастворимостью осуществили с помощью следующей последовательности превращений. На первой стадии BODIPY **46** ввели в конденсацию Кнёвенагеля с предварительно полученным 4-(проп-2-ин-1-илокси)бензальдегидом **52**, содержащим терминальный алкиновый фрагмент (Схема 27).

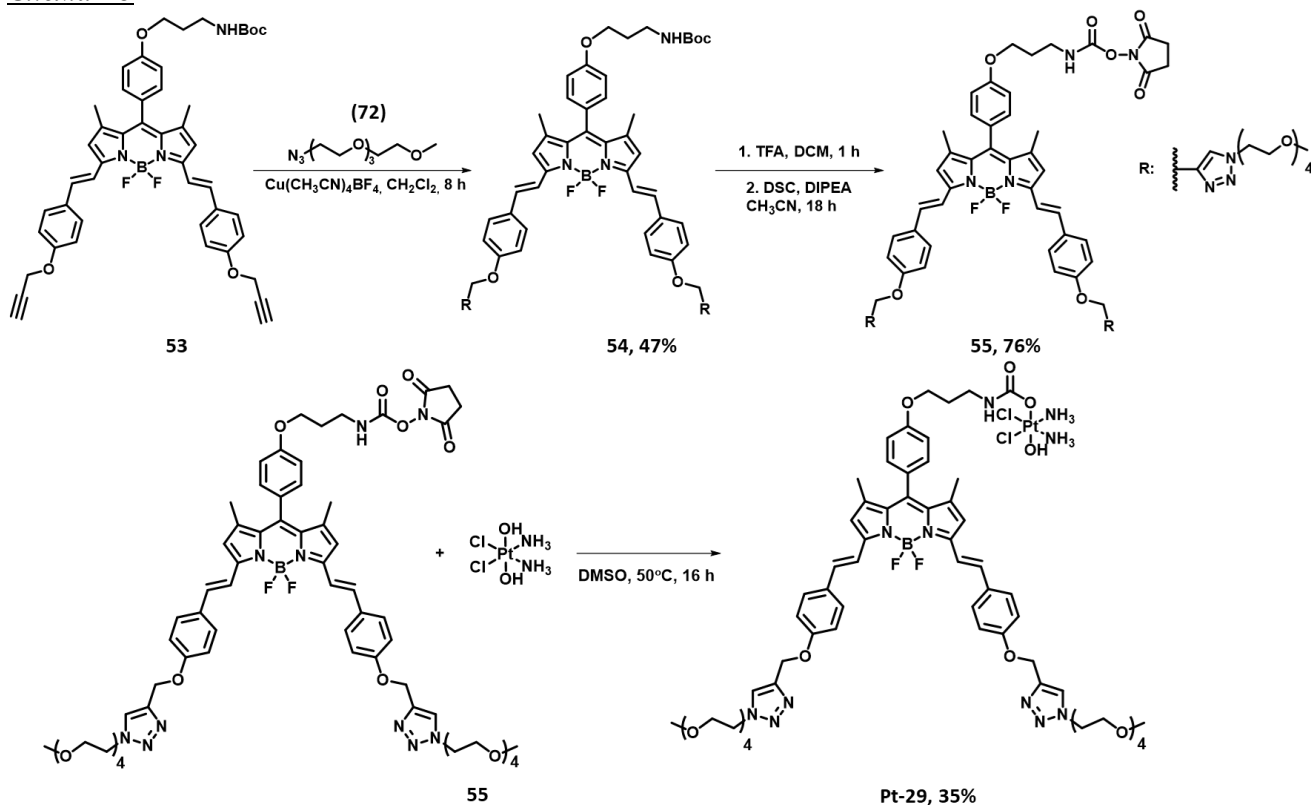
Схема 27



Затем была проведена клик-реакция между азидом монометилового эфира тетраэтиленгликоля **72** и дистирил-BODIPY **53** с использованием $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{BF}_4$ в качестве

катализатора, что позволило получить BODIPY **54**, содержащий два фрагмента тетраэтиленгликоля. Далее, были проведены стадии удаления Boc-защиты и реакции соли амина с ДСК с получением NHS-эфира карбаминной кислоты **68**. В результате этерификации оксоплатина **7** карбаматом BODIPY **68** было получено пролекарство Pt(IV) **Pt-29** (Схема 28).

Схема 28



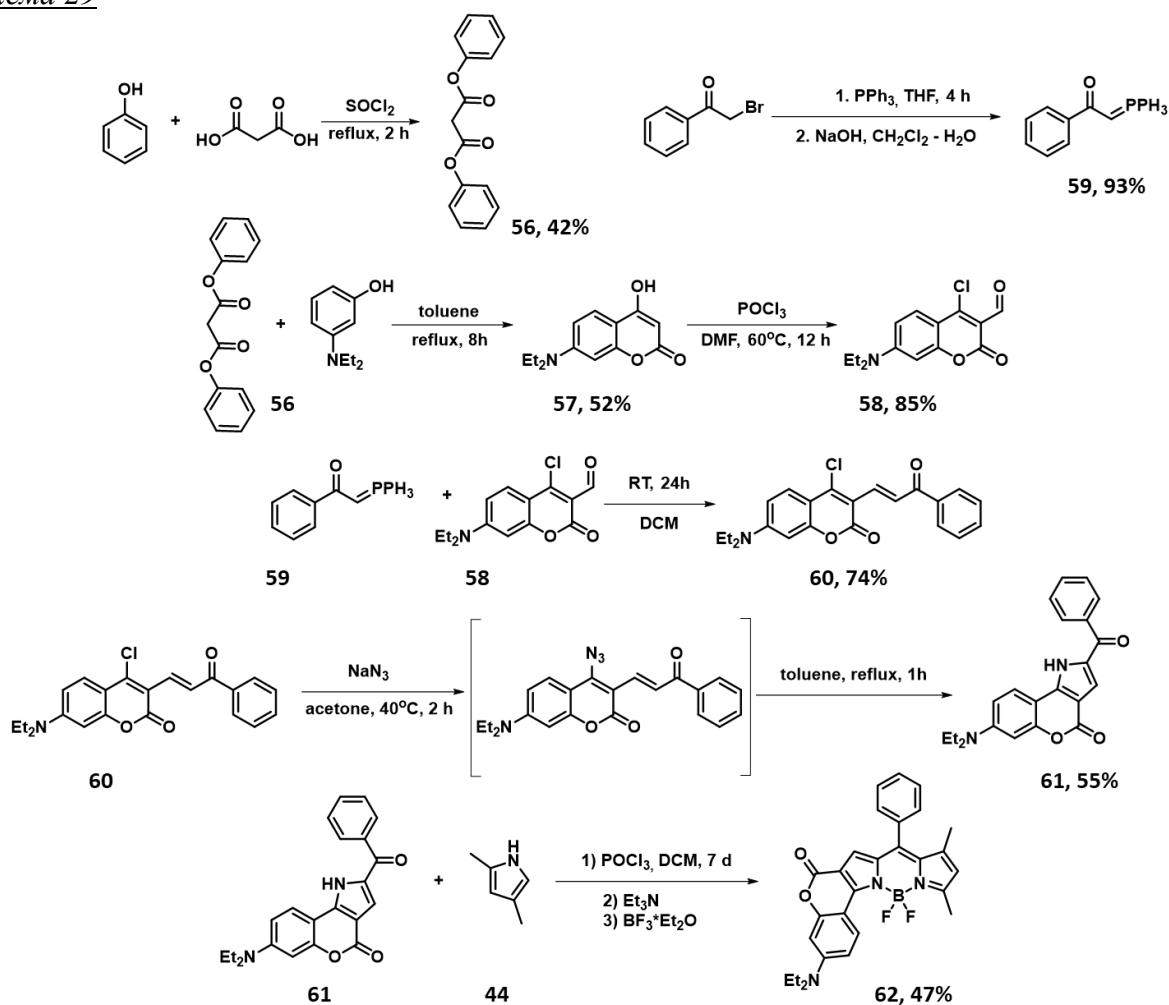
Ввиду того, что тетраэтиленгликоль является полярной незаряженной молекулой, выделение BODIPY **54**, **55** и пролекарства **Pt-29** проводили с использованием колоночной хроматографии на прямой фазе. В результате, нами было синтезировано пролекарство Pt(IV) **Pt-29** с максимумом поглощения в БИК-области, а также содержащее фрагменты тетраэтиленгликоля. Полученное пролекарство **Pt-29** образовывало стабильные водные растворы концентрацией 10^{-3} М в присутствии 1% ДМСО, в то время как аналогичный комплекс **Pt-28**, не содержащий полярных фрагментов тетраэтиленгликоля выпадал в осадок в смеси ДМСО:вода при содержании ДМСО <75%. Повышенная водорастворимость **Pt-29** делает данное соединение доступным для исследования в живых системах *in vivo*.

Синтез BODIPY с конденсированными ароматическими системами является привлекательным подходом к получению БИК-поглощающих флуорофоров. Единственный представленный в литературе пример BODIPY на основе кумарина обладает высокими квантовыми выходами и высоким Стоксовым сдвигом [205]. При этом, в литературе не представлены примеры модификации кумарин-содержащих BODIPY с помощью конденсации

Кневенагеля, поэтому нами было решено синтезировать новый БИК-поглощающий флуорофор с на основе кумарина, и ввести его в аксиальное положение комплекса Pt(IV).

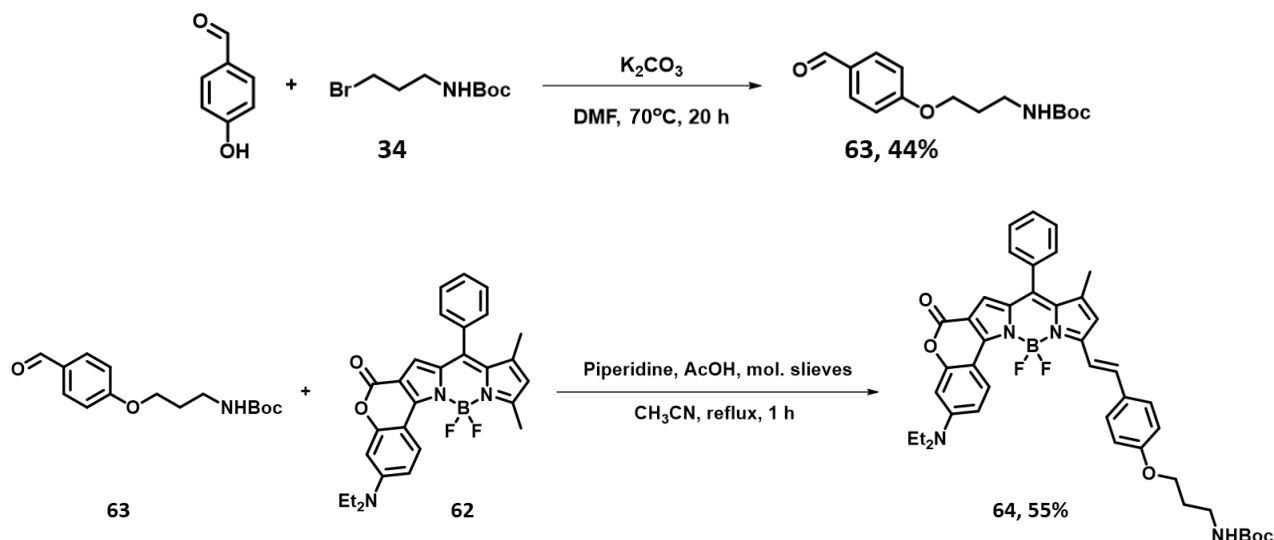
BODIPY **62** был получен в 6 последовательных стадий (Схема 29) [205]. На первой стадии был получен дифениловый эфир малоновой кислоты **56** реакцией этерификации фенола малоновой кислотой в присутствии SOCl_2 , после чего эфир **56** был введён в реакцию Пехмана в толуоле, в результате чего был получен 7-диэтиламино-4-гидрококумарин **57**. Далее, кумарин **57** формилировали по 3-положению по реакции Вильсмейера-Хаака, что сопровождалось замещением гидроксильной группы в 4-положении на хлор с образованием 3-формил-4-хлоркумарина **58**. После этого была проведена реакция Виттига кумарина **58** с предварительно полученным из 2-бромацетофенона илидом **59**. Продукт реакции Виттига **60** далее ввели в реакцию нуклеофильного замещения с азидом натрия с получением 4-азидокумарина, который сразу был введён во внутримолекулярную циклизацию в толуоле, в результате чего был получен пиррол **61**. Пиррол **61** ввели в реакцию с 2,4-диметилпирролом **44** в присутствии POCl_3 , после комплексации с эфиром трифторида бора, был получен BODIPY **62** (Схема 29):

Схема 29



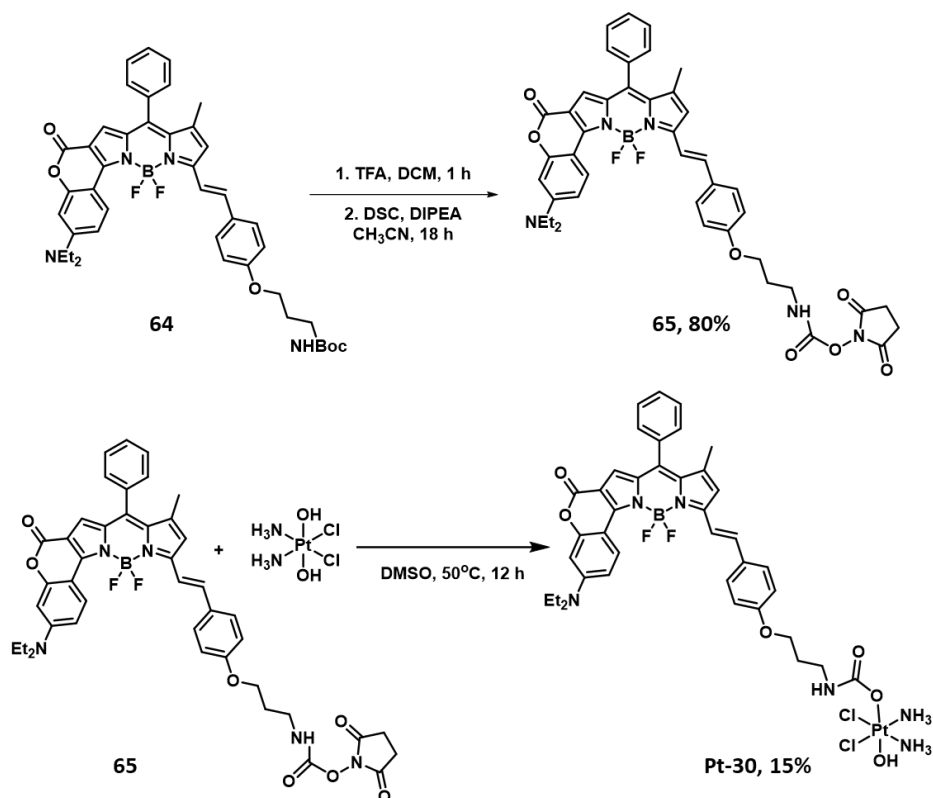
Дальнейшая функционализация BODIPY **62** была проведена путем конденсации Кневенегеля с предварительно полученным бенальдегидом **63**, содержащим фрагмент N-Вос пропиламина. В результате, был получен BODIPY **64**, который поглощает в БИК-области и содержит Вос-защищённую аминогруппу (Схема 30). Данное соединение представляет собой первый пример стирильного производного BODIPY на основе 7-диэтиламинокумарина.

Схема 30



Далее, было проведено удаление Вос-защитной группы, этерификация соли амина реагентом ДСК и введение NHS-эфира карбаминовой кислоты **65** в реакцию этерификации с оксоплатином с получением пролекарства Pt(IV) **Pt-30** (Схема 31):

Схема 31



Таким образом, нами было впервые синтезировано пролекарство Pt(IV) **Pt-30** с фрагментом нового стирил-BODIPY **65** в аксиальном положении. Ранее в литературе не были описаны пролекарства Pt(IV), содержащие в аксиальном положении BODIPY с конденсированной ароматической системой. Таким образом, в рамках подхода к синтезу пролекарств Pt(IV) с использованием активного карбамата было получено 5 новых фотоактивных монокарбаматных пролекарств Pt(IV) с BODIPY структурного типа Пб **Pt-26-Pt-30**. Данные пролекарства представляют интерес как агенты фотоактивируемой химиотерапии, а пролекарство Pt-28 – как агент фотоактивируемой химиотерапии и ФДТ.

3.1.3.2.2. Синтез пролекарств Pt(IV) с BODIPY методом азид-алкинового циклоприсоединения

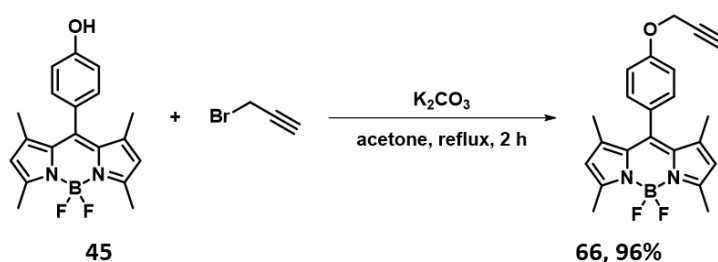
Несмотря на то, что азид-алкиновое циклоприсоединение представляет собой широко используемый синтетический подход, проведение медь-катализируемой клик-реакции с пролекарством Pt(IV) представляет собой нетривиальную задачу, ввиду того что соль Cu(I) может восстанавливать комплекс Pt(IV) до Pt(II). В связи с этим, в литературе представлено ограниченное число примеров использования клик-реакции с пролекарствами Pt(IV).

Предложенный нами синтетический подход, применённый для синтеза комплексов **Pt-26-Pt-30** включает в себя 3 последовательные стадии, в том числе удаление защитной группы с получением NHS эфира карбаминовой кислоты и синтез целевого пролекарства. В качестве альтернативного способа синтеза BODIPY-содержащих пролекарств Pt(IV) нами было предложено использовать медь-катализируемую реакцию азид-алкинового циклоприсоединения.

Пролекарства Pt(IV) с производными бор-дипиррометенов, обладающими поглощением в синей области спектра

Для синтеза BODIPY, содержащего терминальный алкиновый фрагмент, BODIPY **48** ввели в реакцию алкилирования пропаргилбромидом, в результате чего с количественным выходом был получен BODIPY **52**(Схема 32):

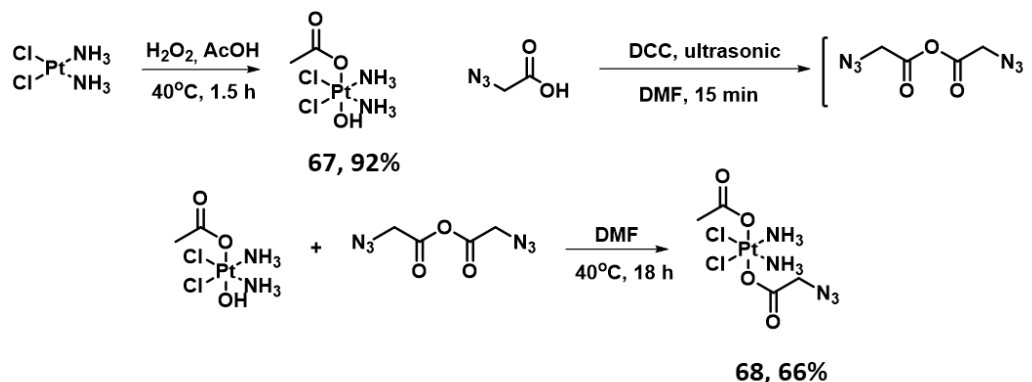
Схема 32



Ранее не представленный в литературе комплекс Pt(IV) **68**, содержащий фрагмент алкилазида был синтезирован в 2 стадии окислением цисплатина перекисью водорода в уксусной кислоте, с получением ацетатодиаминадихлорогидроксиплатины **67**, который затем ввели в

реакцию этерификации с ангидридом 2-азидоуксусной кислоты, предварительно полученного *in situ* из 2-азидоуксусной кислоты и дициклогексилкарбодимида (ДЦК) (Схема 33).

Схема 33



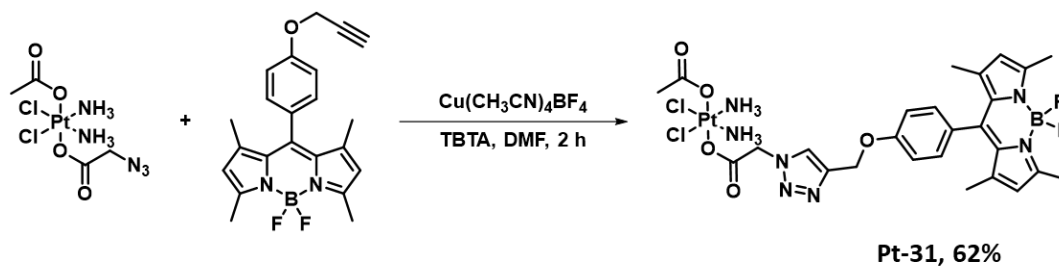
Оптимальная каталитическая система для проведения клик-реакции между BODIPY **66** и комплексом платины Pt(IV) **68** была определена в результате подбора условий (Табл. 3).

*Таблица 3. Подбор условий азид-алкинового циклоприсоединения между комплексом Pt(IV) **68** и BODIPY **66***

№	Катализатор	Стабилизатор Cu(I)	Количество катализатора/стабилизатора по отношению к 1 экв. комплекса *	Выход, %
1	CuI	-	0.5/-	Следы
2	Cu(CH ₃ CN) ₄ ClO ₄	-	0.2/-	0
3	Cu(CH ₃ CN) ₄ ClO ₄	-	0.5/-	0
4	Cu(CH ₃ CN) ₄ ClO ₄	-	0.7/-	0
5	Cu(CH ₃ CN) ₄ BF ₄	-	0.3/-	0
6	Cu(CH ₃ CN) ₄ BF ₄	ТБТА	0.3/0.3	62

Целевой комплекс **Pt-31** структурного типа Ша был получен с препаративным выходом только при использовании гомогенного катализатора Cu(CH₃CN)₄BF₄ в присутствии хелатирующего лиганда ТБТА, который предотвращает окисление Cu(I) до Cu(II) комплексом Pt(IV) (Схема 34) [77].

Схема 34



В спектре ЯМР ^1H пролекарства **Pt-31** присутствует характеристический синглет при 8.17 м.д., соответствующий протону в триазольном цикле, а также наблюдается смещение метиленовых сигналов фрагментов 2-азидоацетата комплекса Pt(IV) **68** и пропаргильной группы BODIPY **66** в область более слабого поля, с 3.88 и 4.76 м.д., соответственно, до 5.24–5.20 м.д. (Рис. 54). Данные ЯМР подтверждают, что нами впервые была успешно проведена медь-катализируемая клик-реакция, в которой пролекарство цисплатина содержит фрагмент азида.

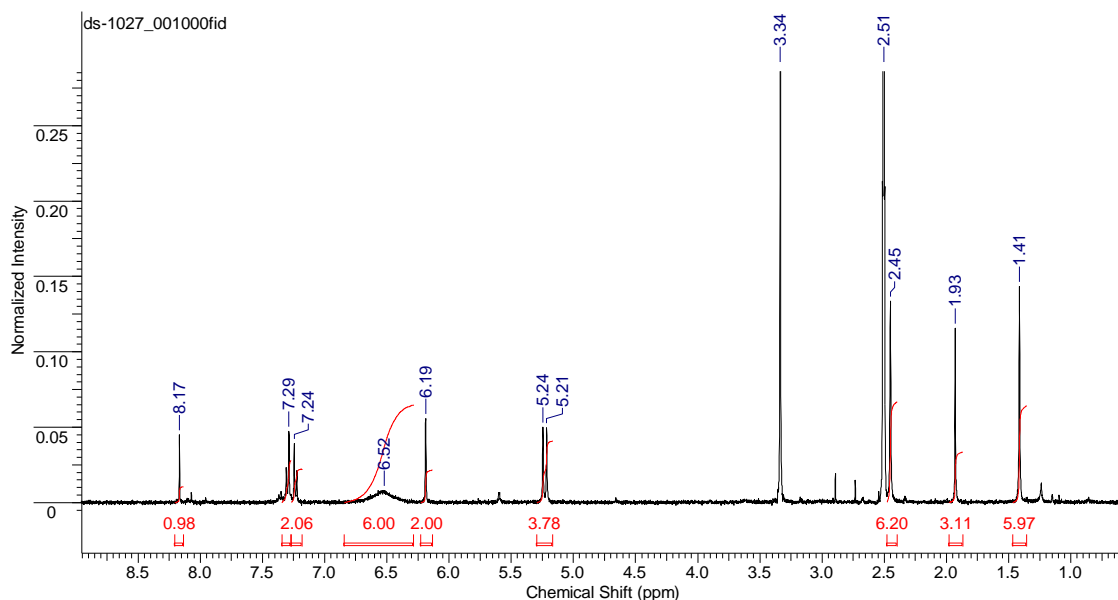


Рисунок 54. Спектр ^1H ЯМР пролекарства Pt(IV) **Pt-31**.

Таким образом, был разработан новый подход к введению органических соединений в аксиальное положение пролекарств Pt(IV), основанный на медь-катализируемой клик реакции. Данный подход был успешно применён для синтеза пролекарства **Pt-31**, содержащий BODIPY в аксиальном положении, с выходом 62%. Данный метод синтеза целевых пролекарств Pt(IV) включает меньше синтетических стадий, чем использованный для синтеза пролекарств **Pt-26-Pt-31** подход с использованием карбаматов, так как не требует стадий введения и удаления защитных групп. При использовании клик-реакции общий выход при синтезе пролекарства **Pt-30** более чем в 5 раз выше, чем при синтезе **Pt-26** (Табл. 4).

Таблица 4. Сравнение эффективности синтеза пролекарств Pt(IV) с BODIPY в аксиальном положении с использованием подхода на основе карбаматов и азид-алкинового циклоприсоединения.

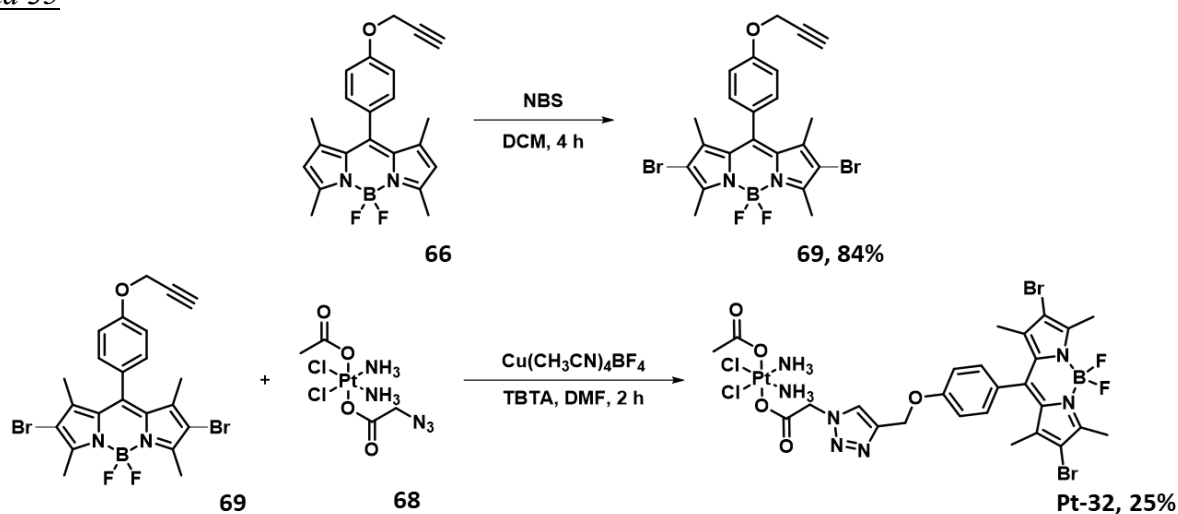
Синтетический подход	Карбаматный (Pt-26) (Схема 24)	Азид-алкиновое циклоприсоединение (Pt-30) (Схема 34)
Количество стадий*	3	2
Выход на последней стадии, %	36	62
Общий выход, %	11	59

*Количество последовательных стадий, начиная с BODIPY **45** в качестве исходного реагента

Пролекарства Pt(IV) с производными бор-дипиррометенов, способными образовывать АФК

Разработанный метод синтеза пролекарств Pt(IV) на основе азид-алкинового циклоприсоединения был далее использован для расширения серии пролекарств Pt(IV) с BODIPY в аксиальном положении. BODIPY **66** ввели в реакцию электрофильного бромирования присутствии NBS, в результате чего был получен 2,6-дибром-BODIPY **69**, который далее ввели в клик реакцию с комплексом Pt(IV) **68** в предложенных ранее условиях, в результате чего было получено пролекарство **Pt-32**, содержащее фотосенсибилизатор в аксиальном положении (Схема 35).

Схема 35



Несмотря на то, что выход реакции при синтезе **Pt-32** значительно ниже, чем при синтезе **Pt-31** (62% и 25%, соответственно), подход с использованием клик-реакции тем не менее оказался эффективнее, чем метод на основе карбамата при синтезе аналогичного пролекарства **Pt-27** (Табл. 5).

Таблица 5. Сравнение эффективности синтеза пролекарств Pt(IV) **Pt-27** и **Pt-32** с BODIPY в аксиальном положении.

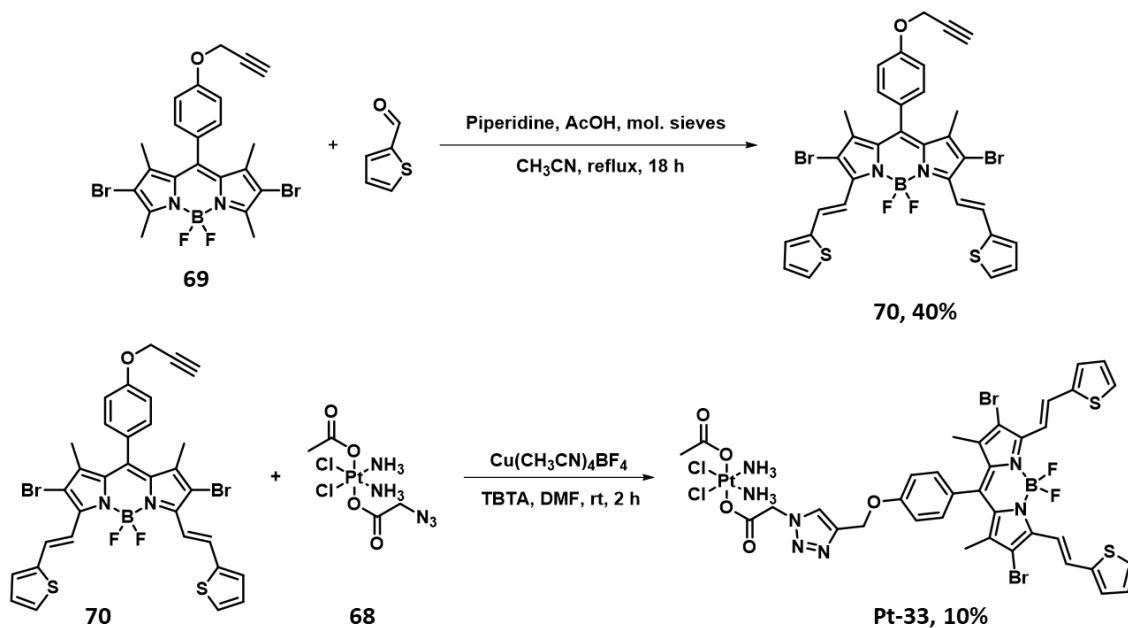
Метод (целевое пролекарство Pt(IV))	Карбаматный (Pt-27)	Азид-алкиновое циклоприсоединение (Pt-31)
Количество стадий*	4	3
Выход на последней стадии, %	14	25
Общий выход, %	3	20

*Количество последовательных стадий, начиная с BODIPY **45** в качестве исходного реагента

Также, с помощью азид-алкинового циклоприсоединения нами впервые получено пролекарство Pt(IV) с BODIPY, способное образовывать АФК под действием света в БИК-области. Данное пролекарство представляет особый интерес как БИК-поглощающий терапевтический агент двойного действия и является первый примером подобного конъюгата.

Синтез пролекарства Pt(IV) с БИК-поглощающим 2,6-дибром ВODIPY с использованием карбаматного метода невозможен ввиду того, что целевой лиганд не разлагается на стадии удаления Вос-защитной группы. Дибром-ВODIPY **69**, содержащий пропаргильную группу в мезо-положении ввели в конденсацию Кневенагеля, в результате было получено ВODIPY **70** (Схема 36). Далее, ВODIPY **70** ввели в клик-реакцию с комплексом платины **68**, что позволило получить пролекарство Pt(IV) **Pt-33** потенциально образующее АФК под действием высоко проникающего излучения в БИК-области (Схема 36).

Схема 36



Таким образом, в ходе работы были синтезированы новые пролекарства Pt(IV) с ВODIPY в аксиальном положении **Pt-26-Pt-33**, для получения которых были использованы два синтетических подхода. Нами была оптимизирована реакция азид-алкинового циклоприсоединения для введения сложных органических фрагментов в аксиальное положение пролекарств Pt(IV). Введение ВODIPY в аксиальное положение пролекарств Pt(IV) с помощью клик-реакции оказалось более эффективным подходом, чем карбаматный метод, так как позволял получить целевые пролекарства Pt(IV) с более высокими выходами и за меньшее количество стадий (см. Табл. 4 и Табл. 5). С использованием клик-реакции было впервые получено БИК-поглощающее пролекарство Pt(IV) двойного действия **Pt-33**, которое потенциально способно под действием красного света высвобождают цисплатин и генерировать АФК.

3.2. Исследование физико-химических свойств пролекарств Pt(IV).⁵

3.2.1. Определение потенциалов восстановления пролекарств Pt(IV) с использованием циклической вольтамперометрии⁶

Ключевым этапом антипролиферативного действия пролекарств Pt(IV) является двухэлектронное восстановление Pt(IV)/Pt(II), и высвобождение цитотоксического комплекса Pt(II). Для оценки склонности синтезированных в работе пролекарств Pt(IV) к восстановлению нами был измерен пик потенциала катодной волны (E_p) методом циклической вольтамперометрии. Значения потенциалов восстановления пролекарств Pt(IV) **Pt-1** – **Pt-14**, **Pt-19** и **Pt-22** представлены в Табл. 6.

Таблица 6. Потенциалы восстановления Pt(II)/Pt(IV) пролекарств Pt(IV) **Pt-1** – **Pt-14**, **Pt-19**, **Pt-22** и соответствующие аксиальные лиганды. Монокарбоксилатные комплексы типа **Па** или **Пб** выделены серым.

Соединение	E_p^\dagger	Аксиальные лиганды
Pt-1	-0.71	2-тиоимидазолин-4-он, 2-тиоимидазолин-4-он
Pt-2	-0.77	2-тиоимидазолин-4-он, 2-тиоимидазолин-4-он
Pt-3	-0.64	Парацетамол, парацетамол
Pt-4	-0.949	Напроксен, напроксен
Pt-5	-0.822	Напроксен, ОН
Pt-6	-0.992	Диклофенак, ОН

⁵ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования: **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Akasov, R. A.; Vaneev, A. N.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Nikitina, V. N.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Skvortsov, D. A.; Roznyatovsky, V. A.; Ul, N. V.; Pikovskoi, I. I.; Sypalov, S. A.; Garanina, A. S.; Vodopyanov, S. S.; Abakumov, M. A.; Volodina, Y. L.; Markova, A. A.; Petrova, A. S.; Mazur, D. M.; Sakharov, D. A.; Zyk, N. V.; Beloglazkina, E. K.; Majouga, A. G.; Krasnovskaya, O. O. Pt(IV) Prodrugs with Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs in the Axial Position. *J. Med. Chem.* **2022**, 65, 8227–8244; **Spector, D.**; Erofeev, A.; Gorelkin, P.; Skvortsov, D.; Trigub, A.; Markova, A.; Nikitina, V.; Ul'yanovskiy, N.; Shtil', A.; Semkina, A.; Vlasova, K.; Zyk, N.; Majouga, A.; Beloglazkina, E.; Krasnovskaya, O. Biotinylated Pt(IV) Prodrugs with Elevated Lipophilicity and Cytotoxicity. *Dalt. Trans.* **2023**, 52 (4), 866–871; Krasnovskaya, O.; **Spector, D.**; Erofeev, A.; Gorelkin, P.; Akasov, R.; Skvortsov, D.; Trigub, A.; Vlasova, K.; Semkina, A.; Zyk, N.; Beloglazkina, E.; Majouga, A. Alternative Mechanism of Action of the DNP Pt(IV) prodrug: Intracellular Cisplatin Release and the Mitochondria-Mediated Apoptotic Pathway. *Dalt. Trans.* **2021**, 50 (23), 7922–7927; **D. V. Spector**, A. S. Erofeev, P. V. Gorelkin, A. N. Vaneev, R. A. Akasov, N. V. Ul'yanovskiy, V. N. Nikitina, A. S. Semkina, K. Yu Vlasova, M. A. Soldatov, A. L. Trigub, D. A. Skvortsov, A. V. Finko, N. V. Zyk, D.A. Sakharov, A. G. Majouga, E. K. Beloglazkina, and O. O. Krasnovskaya. Electrochemical Detection of a Novel Pt(IV) Prodrug with the Metronidazole Axial Ligand in the Hypoxic Area. *Inorg. Chem.* **2022** 61 (37), 14705-1471; Krasnovskaya, O. O.; Akasov, R. A.; **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Bublely, A. A.; Kuzmin, V. A.; Kostyukov, A. A.; Khaydukov, E. V.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Sypalov, S. A.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Vaneev, A. N.; Nikitina, V. N.; Skvortsov, D. A.; Ipatova, D. A.; Mazur, D. M.; Zyk, N. V.; Sakharov, D. A.; Majouga, A. G.; Beloglazkina, E. K. Photoinduced Reduction of Novel Dual-Action Riboplatin Pt(IV) Prodrug. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2023**, 15 (10), 12882–12894

⁶ Данная часть работы выполнена совместно с к.х.н., н.с. Никитиной В.Н. кафедры аналитической химии Химического факультета МГУ

Соединение	E_p^\dagger	Аксиальные лиганды
Pt-7	-0.800	Флурбипрофен, ОН
Pt-9	-0.562	Напроксен, стеарат
Pt-10	-0.580	Диклофенак, стеарат
Pt-11	-0.486	Флурбипрофен, стеарат
Pt-12	-1.169	Биотин, ОН
Pt-13*	-	Биотин, напроксен
Pt-14	-0.572	Биотин, стеарат
Pt-19	-1.0	Метронидазол, метронидазол
Pt-22	-0.58	ТАРФ, ОН

* Пик восстановления не наблюдается на ЦВА, возможно перекрывание пиком растворителя

† ЦВА со стеклоглеродными (СУ) рабочим и вспомогательным электродами относительно Ag/AgCl; растворитель - ДМСО:вода 3:1 в присутствии 0.1 М ТЭБАХ. Скорость съёмки – 100 мВ/с

Известно, что потенциал восстановления зависит от лигандного окружения пролекарств Pt(IV) [80]: для пролекарств Pt(IV) структурного типа IIа **Pt-5-Pt-7** с ОН-группой в аксиальном положении потенциал находится в диапазоне (-0.8 В – (-0.99 В), для карбоксилатов в аксиальном положении структурных типов I и III потенциал несколько меньше, что наблюдается для пролекарств Pt(IV) со стеаратом **Pt-9-Pt-11** (-0.48 В – (-0.58)). Стоит, однако, отметить достаточно низкие потенциалы восстановления симметричных дикарбоксилатных пролекарств типа I **Pt-4** и **Pt-19** с напроксеном и метронидазолом, которые составили -0.95 и -1.0, соответственно, что указывает на влияние природы аксиальных лигандов на потенциал восстановления. Значения потенциала восстановления пролекарств **Pt-4** и **Pt-19** могут указывать на значительную стабильность соединений в присутствии восстановительных агентов (аскорбата натрия) и постепенное высвобождение цисплатина из пролекарств.

3.2.2. Исследование стабильности пролекарств Pt(IV) в водных средах.⁷

Предполагается, что пролекарства Pt(IV), представляющие собой лекарства Pt(II) с «отложенным» действием, должны быть достаточно стабильны в кровотоке и постепенно высвобождать активные компоненты. Эффективность пролекарств Pt(IV), которые претерпевают быстрый распад в физиологических условиях, неотличима от исходного комплекса Pt(II) [19]. Стабильность пролекарств **Pt-1, Pt-3, Pt-4, Pt-19, Pt-22, Pt-23, Pt-24, Pt-25** в водных средах была оценена с помощью ВЭЖХ-МС, а пролекарств **Pt-6, Pt-7, Pt-11, Pt-13** - с помощью УФ-спектроскопии (Табл. 7).

⁷ Данная часть работы выполнена совместно с к.х.н., с.н.с. Ульяновским Н. В., лаборатория жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии "Арктика" Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова.

Таблица 7. Стабильность пролекарств Pt(IV) Pt-1, Pt-3, Pt-4, Pt-7, Pt-11, Pt-13, Pt-19, Pt-22-Pt-26 в водных средах.

Соединение Pt(IV)	Метод определения стабильности	Результат
Pt-1	ВЭЖХ	Стабилен в течение 5 часов†
Pt-3	ВЭЖХ	Стабилен в течение 5 часов†
Pt-4	ВЭЖХ	Стабилен в течение 24 часов
Pt-6	УФ	Стабилен в течение 24 часов
Pt-7	УФ	Стабилен в течение 24 часов
Pt-11	УФ	Стабилен в течение 24 часов
Pt-13	УФ	Стабилен в течение 24 часов
Pt-19	ВЭЖХ	Стабилен в течение 24 часов
Pt-22	ВЭЖХ	70% осталось в течение 24 часов
Pt-23	ВЭЖХ	60% осталось в течение 24 часов
Pt-24	ВЭЖХ	60% осталось в течение 24 часов
Pt-25	ВЭЖХ	60% осталось в течение 24 часов
Pt-26	ВЭЖХ	Стабилен в течение 24 часов

*Измерения проводили в дистиллированной воде с содержанием ДМСО 10%

† Время эксперимента составляло 5 часов

Пролекарства Pt(IV) **Pt-1, Pt-3, Pt-4, Pt-6, Pt-7, Pt-11, Pt-13, Pt-19** оказались стабильными в водных средах в течение всего времени эксперимента. Пролекарство Pt(IV) **Pt-22** продемонстрировало распад 70% через 24 часа, и около 60% пролекарств Pt(IV) **Pt-23 – Pt-25** остались стабильными после 24 часов инкубации (Табл. 7). Дикарбоксилатные пролекарства структурных типов I и III демонстрируют повышенную стабильность в сравнении с комплексами структурных типов II. Комплексы структурного типа I **Pt-4** и **Pt-19** показывают большую стабильность, чем пролекарства структурных типов IIIб и IIIв **Pt-24** и **Pt-25** с карбаматной связью.

3.2.3. Определение липофильности пролекарств Pt(IV).⁸

Основными путями проникновения пролекарств Pt(IV) в опухолевые клетки являются пассивная диффузия через двойной липидный слой клеточной мембраны, и активный транспорт [4]. Для проникновения через клеточную мембрану комплекс должен обладать оптимальной липофильностью; так, чрезмерно гидрофильное соединение не сможет проникнуть в двойной липидный слой, а чрезмерно липофильный комплекс может застрять в мембране и не попасть в цитоплазму клетки [206]. Согласно эмпирическому «правилу Липинского» липофильность

⁸ Данная часть работы выполнена совместно с к.х.н., с.н.с. Ульяновским Н. В., лаборатория жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии "Арктика" Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова.

лекарственных соединений (логарифм распределения вода/октанол, $\log P$) не должна превышать 5 [207].

Липофильность пролекарств Pt(IV) **Pt-4** – **Pt-14** была определена с использованием метода, основанного на определении времени удерживания соединений на обращённо-фазовой колонке ВЭЖХ [126,208,209]. Полученные коэффициенты удерживания, которые прямо коррелируют с $\log P$ для пролекарств Pt(IV) **Pt-4** – **Pt-14**, представлены в Табл. 8.

Таблица 8. Коэффициенты удерживания пролекарств платины **Pt-4–Pt-7** и **Pt-9- Pt-14**

Соединение	Log k'_0	Аксиальные лиганды
Pt-4	4.38	Напроксен, напроксен
Pt-5	2.79	Напроксен
Pt-6	3.41	Диклофенак
Pt-7	3.41	Флурбипрофен
Pt-9	8.53	Напроксен, стеарат
Pt-10	9.72	Диклофенак, стеарат
Pt-11	9.55	Флурбипрофен, стеарат
Pt-12	1.12	Биотин
Pt-13	3.48	Биотин, напроксен
Pt-14	7.47	Биотин, стеарат

*Определение коэффициентов удерживания проводили на колонке Acclaim RSLC 120 C18, при варьировании содержания метанола в элюенте (вода:метанол).

Монокарбоксилатные пролекарства Pt(IV) **Pt-5** – **Pt-7** и **Pt-12** структурного типа Па обладают значениями $\log k'_0 < 4$, при этом наименее липофильным является **Pt-12** с биотином в аксиальном положении. Введение второго аксиального лиганда ожидаемо привело к увеличению липофильности пролекарств: так, разница значений $\log k'_0$ пролекарств Pt(IV) структурного типа Ша с фрагментом стеарата **Pt-9** – **Pt-11** и **Pt-14** и соответствующих монокарбоксилатов **Pt-5-Pt-7** и **Pt-12** достигает 6.35. Модификация второго аксиального положения напроксеном в пролекарствах **Pt-4** и **Pt-13** структурных типов I и Ша, соответственно, также ведёт к увеличению липофильности в сравнении с **Pt-5** и **Pt-12**, соответственно.

3.3. Исследование биологической активности пролекарств Pt(IV).⁹

3.3.1. Исследование антипролиферативной активности пролекарств Pt(IV).¹⁰

Антипролиферативная активность пролекарств Pt(IV) была исследована на ряде клеточных линий, включая клеточные линии аденокарциномы лёгкого A549, аденокарциномы молочной железы MCF-7, аденокарциномы яичников SKOV-3, а также нормальных клеточных линиях лёгочных фибробластов VA-13, эмбриональных клетках почек НЕК293Т и фибробластов молочной железы MCF-10А. Численные значения ингибирования роста клеток получены с использованием стандартного метода МТТ [210] и представлены далее в виде величин IC₅₀ с указанием экспериментальной погрешности (Табл. 9).

Таблица 9. Антипролиферативная активность пролекарств Pt(IV) Pt-1, Pt-3-Pt-14 и Pt-19 на клеточных линиях VA-13 (фибробласты лёгкого), НЕК-293Т (клетки почек эмбриона), A549 (аденокарцинома лёгкого), MCF-7 (аденокарцинома молочной железы) и MCF-10А (фибробласты молочной железы).

Соединение Pt(IV)	Log k'0	Клеточные линии, IC ₅₀ [µM]					Аксиальные лиганды (структурный тип)
		VA13	НЕК-293Т	A-549	MCF-7	MCF-10A	
Цисплатин		4.40±2.40	10.8±5.2	6.2±2.5	15.50±9.6	16.10±3.5	-
Pt-1	-	4.0±1.3	10.2±5.0	13.0±4.3	4.5±2.0	н/д	2-Тиоимидазолин-4-он (I)
Pt-3	-	19.7±1.3	15.1±7.2	~120	50.2±7.4	н/д	Парацетамол (I)
Pt-4	4.38	0.05±0.04	0.03±0.01	0.06±0.03	0.19±0.13	н/д	Напроксен (I)
Pt-5	2.79	0.19±0.13	0.04±0.01	0.03±0.01	0.19±0.07	н/д	Напроксен (IIa)
Pt-6	3.41	0.40±0.10	0.70±0.42	0.48±0.06	2.46±0.22	н/д	Диклофенак (IIa)
Pt-7	3.41	0.16±0.01	0.04±0.01	0.07±0.01	0.10±0.01	н/д	Флурбипрофен (IIa)
Pt-8	-	24.4±4.3	n/d	n/d	19.6±4.3	н/д	Кеторолак (IIa)

⁹ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования. **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Akasov, R. A.; Vaneev, A. N.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Nikitina, V. N.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Skvortsov, D. A.; Roznyatovsky, V. A.; Ul, N. V.; Pikovskoi, I. I.; Sypalov, S. A.; Garanina, A. S.; Vodopyanov, S. S.; Abakumov, M. A.; Volodina, Y. L.; Markova, A. A.; Petrova, A. S.; Mazur, D. M.; Sakharov, D. A.; Zyk, N. V.; Beloglazkina, E. K.; Majouga, A. G.; Krasnovskaya, O. O. Pt(IV) Prodrugs with Non-Steroidial Antiinflammatory Drugs in the Axial Position. *J. Med. Chem.* **2022**, 65, 8227–8244; **Spector, D.**; Erofeev, A.; Gorelkin, P.; Skvortsov, D.; Trigub, A.; Markova, A.; Nikitina, V.; Ul'yanovskiy, N.; Shtil', A.; Semkina, A.; Vlasova, K.; Zyk, N.; Majouga, A.; Beloglazkina, E.; Krasnovskaya, O. Biotinylated Pt(IV) Prodrugs with Elevated Lipophilicity and Cytotoxicity. *Dalt. Trans.* **2023**, 52 (4), 866–871; **D. V. Spector**, A. S. Erofeev, P. V. Gorelkin, A. N. Vaneev, R. A. Akasov, N. V. Ul'yanovskiy, V. N. Nikitina, A. S. Semkina, K. Yu Vlasova, M. A. Soldatov, A. L. Trigub, D. A. Skvortsov, A. V. Finko, N. V. Zyk, D.A. Sakharov, A. G. Majouga, E. K. Beloglazkina, and O. O. Krasnovskaya. Electrochemical Detection of a Novel Pt(IV) Prodrug with the Metronidazole Axial Ligand in the Hypoxic Area. *Inorg. Chem.* **2022** 61 (37), 14705-14717

¹⁰ Данная часть работы выполнена совместно с асп. Ипатовой Д.А., к.х.н., с.н.с. Скворцовым Д. А., кафедра химии природных соединений химического факультета МГУ, PhD, с.н.с. Р.А. Акасовым ФНИЦ «Кристаллография и фотоника РАН», д.м.н. Штилем А.А. ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», к.б.н. Марковой А.А. Института биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН

Pt-9	8.53	0.89±0.37	1.83±0.39	0.92±0.23	2.46±2.18	н/д	Напроксен, стеарат (IIIa)
Pt-10	9.72	1.23±0.36	3.40±1.97	1.10±0.53	2.82±1.49	н/д	Диклофенак, стеарат (IIIa)
Pt-11	9.55	0.64±0.52	2.05±1.77	0.54±0.20	1.80±0.48	н/д	Флурбипрофен, стеарат (IIIa)
Pt-12	1.12	10.68±3.02	3.80±0.51	7.69±2.75	8.02±2.36	6.60±0.54	Биотин (IIa)
Pt-13	3.48	5.65±1.34	3.08±0.69	10.07±2.5	16.9±1.4	8.07±0.81	Биотин, напроксен (IIIa)
Pt-14	7.47	0.71±0.42	0.31±0.21	0.87±0.51	2.35±1.42	0.03±0.01	Биотин, стеарат (IIIa)
Pt-19		13.5±1.1	7.7±0.6	11.6±1.4	6.6±0.6	н/д	Метронидазол (I)

Предполагается, что пролекарства Pt(IV), вследствие наличия органических фрагментов в аксиальных положениях, более липофильны чем цисплатин, и, следовательно, лучше проникают через клеточную мембрану и доставляют больше платины в ДНК клеток, чем сам цисплатин. Пролекарства **Pt-5-Pt-14** проявили повышенную в сравнении с цисплатином активность на исследованных клеточных линиях (Табл. 9). Наибольшую цитотоксичность, в 70–150 раз превышающую токсичность цисплатина на опухолевых линиях A549 и MCF-7, показали пролекарства Pt(IV) **Pt-4** и **Pt-7** структурных типов I и IIa с двумя фрагментами напроксена и флурбипрофеном в аксиальных положениях, соответственно. Цитотоксическую активность в низком микромолярном диапазоне, превышающую активность цисплатина на линии MCF-7 более чем в два раза показало также пролекарство **Pt-19** с метронидазолом.

Для пролекарств Pt(IV) с НСПВП в аксиальных положениях ожидаемо наблюдается зависимость цитотоксичности от липофильности соединений (Рис. 55 А, Б). Соотношение липофильность – активность проходит через максимум в диапазоне значений $\log k'$ 3 – 4.5, что соответствует наиболее активным пролекарствам Pt(IV) **Pt-4** – **Pt-7**. Более липофильные стеарат-содержащие пролекарства **Pt-9** – **Pt-11** демонстрируют цитотоксическую активность до 30 раз ниже, чем монокарбоксилатные аналоги **Pt-5** – **Pt-7**.

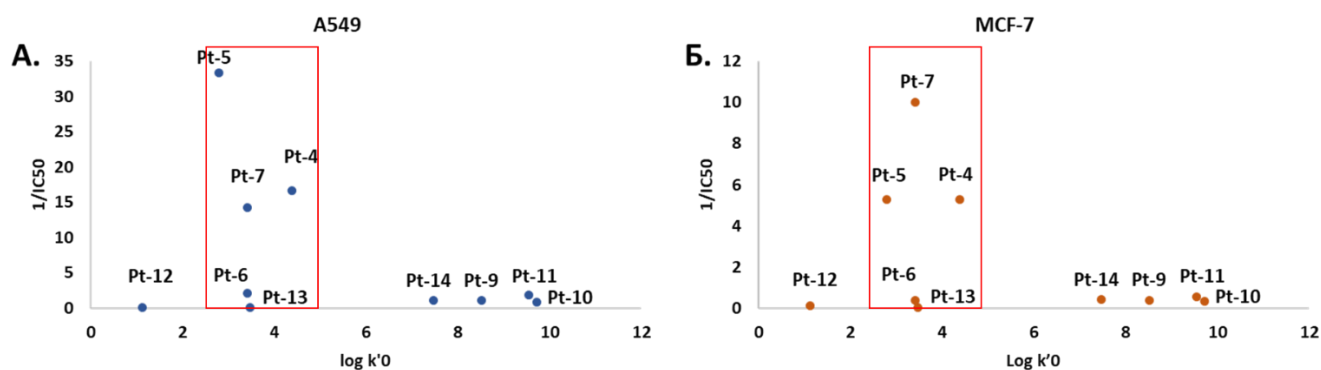


Рисунок 55. Зависимость антипролиферативной активности ($1/IC_{50}$) от липофильности пролекарств Pt(IV) **Pt-4** – **Pt-14** на клеточных линиях А. А549 и Б. MCF-7. Красным выделен диапазон оптимальных значений липофильности, в котором находятся наиболее цитотоксически активные пролекарства Pt(IV).

Также стоит отметить, что для пролекарств, содержащих биотин **Pt-12 – Pt-14**, цитотоксичность растёт с ростом липофильности: наиболее липофильное пролекарство **Pt-14** проявляет наибольшую антипролиферативную активность, что позволяет предположить альтернативный механизм внутриклеточного проникновения. Таким образом, липофильность является важным, но не определяющим параметром антипролиферативной активности, которая значительным образом определяется природой аксиального лиганда.

Способность пролекарств Pt(IV) **Pt-5 – Pt-7** и **Pt-9 – Pt-14** преодолевать резистентность к цисплатину была исследована на цисплатин-чувствительной клеточной линии SKOV-3 и цисплатин-резистентной SKOV-3/CDDP (Табл. 10).

Таблица 10. Антипролиферативная активность пролекарств Pt(IV) **Pt-5-Pt-7**, **Pt-9-Pt-11** и **Pt-13-Pt-14** на цисплатин-чувствительной линии SKOV-3 (аденокарцинома) яичников и цисплатин-резистентной линии SKOV-3/CDDP.

Соединение Pt(IV)	Клеточные линии, IC ₅₀ [µM]		ФР*
	SKOV-3	SKOV-3/CDDP	
Цисплатин	9.55±0.60	47.20±2.80	4.94
Pt-5	0.44±0.05	0.23±0.02	0.52
Pt-6	1.70±0.30	3.45±0.52	2.03
Pt-7	0.34±0.04	0.42±0.03	1.24
Pt-9	2.85±0.30	5.70±0.68	2
Pt-10	4.20±0.20	8.45±0.75	2.01
Pt-11	5.15±0.83	9.00±0.50	1.75
Pt-13	5.75±1.8	15.90±1.90	2.77
Pt-14	0.56±0.05	4.75±0.25	8.48

*ФР, фактор резистентности, IC₅₀ (цисплатин-резистентные клетки)/IC₅₀ (цисплатин-чувствительные клетки)

Все пролекарства Pt(IV), за исключением **Pt-14** показали уменьшенный фактор резистентности в сравнении с цисплатином (Табл. 10). Отдельно стоит отметить, что пролекарство **Pt-5** с напроксеном оказалось более активным на цисплатин резистентной линии SKOV-3/CDDP, чем на цисплатин-чувствительной SKOV-3.

Цитотоксическую активность пролекарств с аксиальными лигандами на основе азоароматических производных и нитроимидазолов оценили на клеточных линиях MCF-7 и VA-13 (Табл. 11):

Таблица 11. Антипролиферативная активность пролекарств Pt(IV) **Pt-16**, **Pt-17**, **Pt-20**, **Pt-21** на клеточных линиях VA-13, MCF-7 после 72 часов инкубации

Соединения Pt(IV)	IC ₅₀ [µM]	
	Va-13	MCF-7
Pt-16*	n/d	n/d

Pt-17	17.0±3.6	12.8±1.5
Pt-20	>200	>200
Pt-21	100.8±22.9	92.1±16.7

* Ввиду выпадения соединения в осадок в водной среде значения IC_{50} определить не удалось

Среди исследованных соединений наибольшую активность проявило пролекарство **Pt-17** с фрагментом азотистого иприта в аксиальном положении. Напротив, пролекарства **Pt-20** и **Pt-21** с фрагментами нитроимидазолов проявили низкую антипролиферативную активность.

Для оценки способности пролекарства Pt(IV) **Pt-17** оказывать цитотоксический эффект в условиях гипоксии было проведено дополнительное исследование цитотоксической активности на клетках линии НСТ-116 в условиях гипоксии и нормоксии (Табл. 12):

Таблица 12. Антипролиферативная активность пролекарства Pt(IV) **Pt-17** и цисплатина на клеточной линии НСТ-116 в условиях гипоксии и нормоксии после 72 часов инкубации

Соединения Pt	НСТ-116, IC_{50} [μM]	
	Нормоксия	Гипоксия
Цисплатин	17±1.6	29±1.5
Pt-17	1.9±0.2	5.6±0.4

В условиях нормоксии **Pt-17** до 10 раз более активно, чем цисплатин. В условиях гипоксии активность **Pt-17** снижена относительно активности в нормоксии, однако остаётся в низком микромолярном диапазоне, до 6 раз превосходящей цисплатин.

Таким образом, пролекарство **Pt-17**, высвобождающее фрагмент азотистого иприта значительно превосходит по антипролиферативной активности цисплатин в условиях нормоксии и гипоксии.

Таким образом, синтезированные в работе пролекарства превосходят цисплатин по эффективности в МТТ-тесте, а пролекарства с НСПВП **Pt-5-Pt-7** и **Pt-9-Pt-13** способны преодолевать резистентность опухолевых клеток к цисплатину.

3.3.2. Исследование фототоксичности пролекарств Pt(IV), способных контролируемо высвобождать координационные соединения Pt(II).^{11,12}

Дизайн пролекарств Pt(IV), способных к контролируемой фотоактивации, предполагает способность пролекарств высвобождать цисплатин при облучении светом, при этом оставаться в

¹¹ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования. Krasnovskaya, O. O.; Akasov, R. A.; **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Bublely, A. A.; Kuzmin, V. A.; Kostyukov, A. A.; Khaydukov, E. V.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Sypalov, S. A.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Vaneev, A. N.; Nikitina, V. N.; Skvortsov, D. A.; Ipatova, D. A.; Mazur, D. M.; Zyk, N. V.; Sakharov, D. A.; Majouga, A. G.; Beloglazkina, E. K. Photoinduced Reduction of Novel Dual-Action Riboplatin Pt(IV) Prodrug. **ACS Appl. Mater. Interfaces** **2023**, 15 (10), 12882–12894.

¹² Данная часть работы выполнена совместно с асп. Ипатовой Д.А., к.х.н., с.н.с. Скворцовым Д. А., кафедра химии природных соединений химического факультета МГУ.

форме пролекарства и не оказывать антипролиферативного эффекта в отсутствие излучения. Для исследования влияния облучения на цитотоксическую активность пролекарств Pt(IV) был использован модифицированный протокол МТТ-теста, в котором клетки инкубировались с соединениями в течение короткого промежутка времени (1–4 часа), после чего среда, в которой инкубировались клетки, менялась на свежую, не содержащую исследуемые соединения. Смена среды инкубации клеток перед облучением позволяет оценить влияние света на цитотоксическую активность пролекарств Pt(IV), и предотвратить проникновение в клетки продуктов фотовосстановления пролекарств Pt(IV). Половина клеток облучалась светом, другая оставалась в темноте, после чего обе группы клеток инкубировали в течение 48–72 часов.

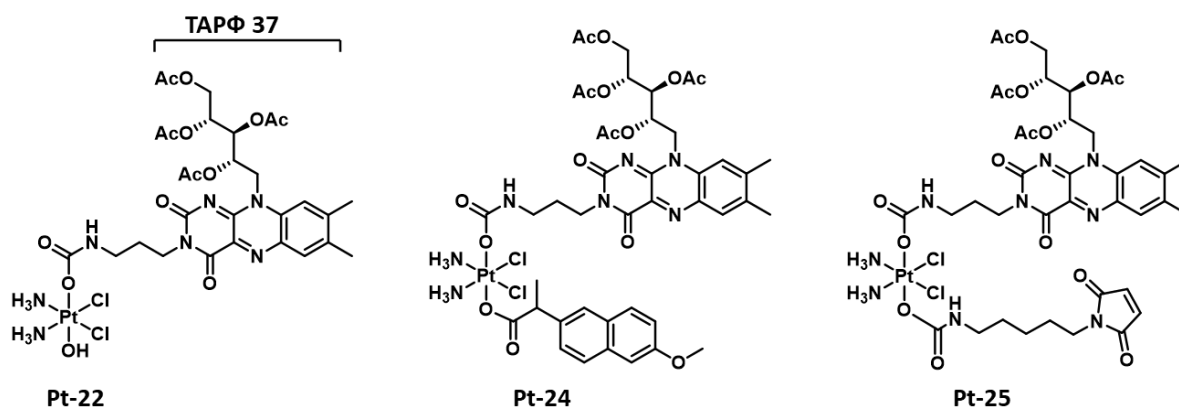


Рисунок 56. Структуры пролекарств Pt(IV) Pt-22, Pt-24, Pt-25 с ТАРФ 37 в аксиальном положении.

Исследование фототоксичности пролекарства Pt-22 проводили, облучая клетки низкой удельной дозой синего света (450 нм, 0.4 Дж/см²), цисплатин и ТАРФ использовали в качестве контроля (Табл. 13).

Таблица 13. Антипролиферативная активность пролекарства Pt(IV) Pt-22 на клеточных линиях аденокарциномы молочной железы MCF-7 и фибробласт лёгкого VA-13 в темноте и при облучении светом 450 нм (0.4 Дж/см²).

Соединения	Клеточные линии, IC ₅₀ [μM]					
	В темноте	MCF-7		VA-13		
		При облучении	ИФ*	В темноте	При облучении	ИФ*
Pt-22	>>200	32±3	>6.19	111±24	26±3	4.26
Цисплатин	~200	~200	1	32±3	36±4	0.88
Цисплатин + 37 (1:1)	~200	~200	1	28±4	21±3	1.33
37	>>200	>>200	1	>>200	~200	>1

*ИФ: Индекс фототоксичности, IC₅₀ (в темноте)/IC₅₀ (при облучении)

Как видно из Табл. 13, пролекарство Pt-22 проявляет низкую темновую токсичность, при этом при облучении токсичность комплекса возрастает более чем в 6 раз. Важно отметить, что ТАРФ 37 не проявляет фототоксичность при облучении, из чего можно заключить, что данной

удельной дозы облучения 0.4 Дж/см² недостаточно для проявления цитотоксического эффекта **Pt-22** как ФДТ-агента. Разумно предположить, что цитотоксичность **Pt-22** в условиях эксперимента обусловлена фотоиндуцированным высвобождением цисплатина из пролекарства. Стоит отметить, что **Pt-22** проявляет фототоксический эффект при гораздо более низкой дозе облучения (0.4 Дж/см²), чем опубликованные в литературе пролекарства с BODIPY или кумарином в аксиальном положении, для которых показана фототоксичность при дозах облучения 23.4 и 28.8 Дж/см², соответственно [61,146].

Фототоксичность пролекарств Pt(IV) тройного действия **Pt-24** и **Pt-25** (Рис. 56) была исследована на клеточной линии эпителия лёгкого WI-26 при облучении светом 450 нм (1 Дж/см²) (Табл. 14):

Таблица 14. Цитотоксическая активность пролекарств Pt(IV) **Pt-24** и **Pt-25** на клеточной линии эпителия лёгкого WI-26 в темноте и при облучении светом 450 нм (доза – 1 Дж/см²). Для эксперимента со сменой среды клетки инкубировали с соединениями 2 часа, после чего среда менялась на свежую и клетки облучали светом 450 нм (1 Дж/см²), после чего все группы клеток инкубировали в течение 72 часов. Для темновой группы клеток смена среды не проводилась.

Соединения	IC ₅₀ [мкМ]		ИФ*	При облучении (Смена среды)	ИФ*
	В темноте	При облучении (Без смены среды)			
Цисплатин	2.32±0.23	4.34±0.23	-	12.64±1.15	
Цисплатин + 37 (1:1)	2.17±0.88	0.15±0.02	-	3.92±0.30	-
37	72.28±9.02	0.14±0.03	14	4.20±0.54	17
Pt-24	9.37±0.63	0.20±0.05	46	0.76±0.14	12
Pt-25	28.33±2.89	0.11±0.02	257	1.35±0.19	21

*ИФ: Индекс фототоксичности, IC₅₀(в темноте)/IC₅₀(при облучении)

Пролекарства **Pt-24** и **Pt-25** демонстрируют высокие индексы фототоксичности, что подтверждает возможность их контролируемой фотоактивации. Стоит отметить, что при дозе облучения 1 Дж/см² ТАРФ проявляет фототоксичность, действуя как ФДТ агент, следовательно, можно предположить, что пролекарства **Pt-24** и **Pt-25** проявляют цитотоксическую активность в условиях данного эксперимента как двойные терапевтические агенты. В отсутствие смены среды ИФ комплексов Pt(IV) значительно растёт в сравнении с экспериментом, в котором перед облучением светом среду меняли, что может указывать на дополнительное проникновение в клетки цисплатина, высвобождённого из пролекарств **Pt-24** и **Pt-25** во внешнеклеточной среде.

Нами также была исследована фототоксичность пролекарств Pt(IV) **Pt-26**, **Pt-29**, **Pt-31** и **Pt-33** с лигандами на основе BODIPY, и соответствующих лигандов 46, 54, 66, 70 (Рис. 57). Время инкубации клеток с соединениями перед облучением составило 4 часа, пролекарства **Pt-26** и **Pt-31** облучали светом 450 нм (0.4 Дж/см²), пролекарства **Pt-29**, **Pt-33** – светом 660 нм (8.3 Дж/см²) (Табл. 15).

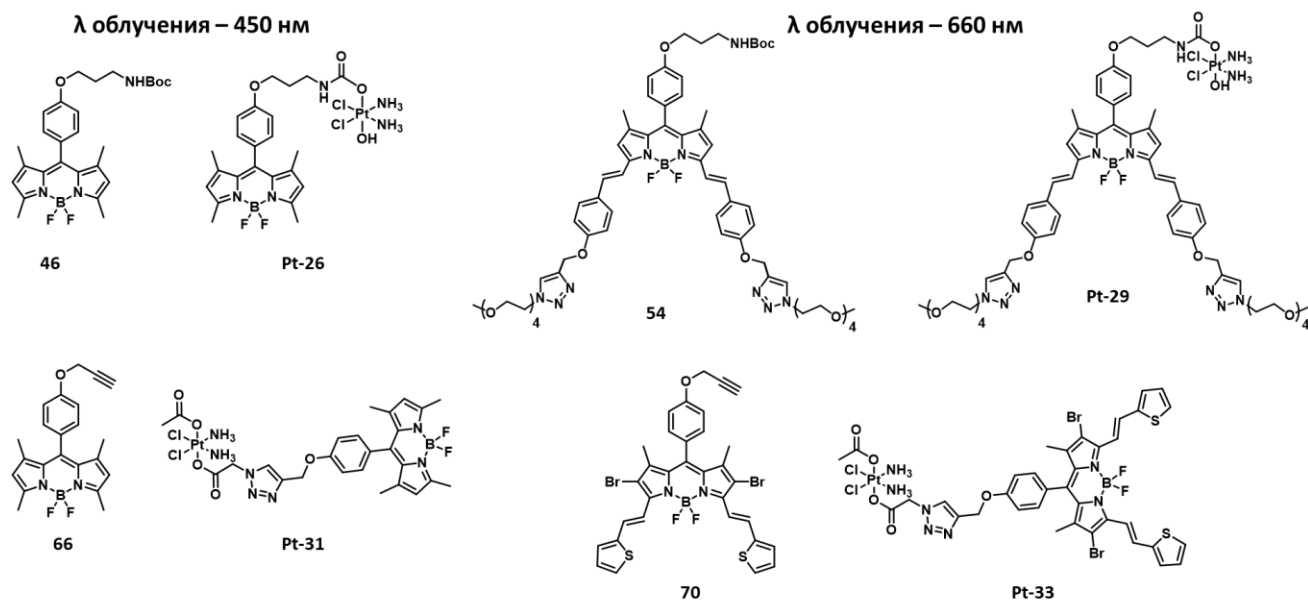


Рисунок 57. Пролекарства Pt(IV) **Pt-26**, **Pt-29**, **Pt-31** и **Pt-33** и соответствующие аксиальные лиганды **46**, **54**, **66** и **70**, для которых была исследована антипролиферативная активность.

При облучении синим светом пролекарства Pt(IV) **Pt-26** и **Pt-31** оказывают значительный цитотоксический эффект в микромолярном диапазоне, при этом в темноте оба пролекарства не токсичны (Табл. 15). Отсутствие цитотоксической активности аксиальных лигандов при облучении указывает на то, что антипролиферативный эффект пролекарств **Pt-26** и **Pt-27** обусловлен фотоиндуцированным высвобождением цисплатина.

Таблица 15. Антипролиферативная активность пролекарств Pt(IV) **Pt-26**, **Pt-29**, **Pt-31** и **Pt-33** и лигандов **46**, **54**, **66** и **70** на клеточных линиях аденокарциномы молочной железы MCF-7 и фибробласт лёгкого VA-13 в темноте и при облучении светом. Клетки инкубировали с соединениями 4 часа, после чего среда менялась на свежую, часть клеток облучили светом, другую оставили в темноте, после клетки инкубировали 72 часа. Пролекарства **Pt-26** и **Pt-31** и лиганды **46** и **66** облучали светом с длиной волны 450 нм (доза – 0.4 Дж/см²), пролекарства **Pt-29** и **Pt-33** и лиганды **54** и **70** облучали светом 660 нм (доза 8.3 Дж/см²).

Соединения	MCF-7			VA-13		
	В темноте	При облучении	ИФ*	В темноте	При облучении	ИФ*
Цисплатин	<100**	-	-	≈ 100	-	-
46	>100	>100	-	>100	>100	-
Pt-26	>100	1.87±0.19	>53.4	>100	9.46±1.51	>10.6
66	>100	>100	-	>100	>100	-
Pt-31	>100	9.10±1.03	>11.0	>100	10.15±3.19	>8.2
54	>80	>80	-	>80	>80	-
Pt-29	≈20	10.0±1.8	≈2	5.9±0.3	1.8±0.2	3.3
70	>80	>80	-	>80	>80	-
Pt-33†	20.6±1.9	3.0±0.3	7	1.4±0.1	<1	>1.4

*ИФ: Индекс фототоксичности, IC₅₀ (в темноте)/IC₅₀ (при облучении)

** Выживаемость клеток MCF-7 при инкубации 4 часа в присутствии 100 мкМ цисплатина составила 37%

† Для растворения **Pt-33** была использована формуляция: раствор ДМСО с 16% Tween 80 и 4% F127

БИК-поглощающие пролекарства **Pt-29** и **Pt-33** проявили более выраженную темновую токсичность, чем пролекарства **Pt-26** и **Pt-31**, которые поглощают в синем диапазоне, что, вероятно, указывает на сниженную стабильность БИК-поглощающих комплексов **Pt-29** и **Pt-33**. При облучении светом 660 нм пролекарства **Pt-29** и **Pt-33** оказывают цитотоксичность в низком микромолярном диапазоне, при этом активность **Pt-33** на линии MCF-7 более чем в 3 раза превышает таковую для **Pt-29**. Отсутствие фототоксичности лиганда **70**, потенциально способного образовывать АФК при облучении указывает на то, что для проявления свойств BODIPY **70** и пролекарства **Pt-33** как ФДТ агентов необходимы более высокие дозы облучения.

3.3.3. Исследование внутриклеточного накопления пролекарств Pt(IV).¹³

Определение способности пролекарств Pt(IV) накапливаться в опухолевых клетках позволяет оценить способность комплексов Pt(IV) выступать в качестве средства доставки цисплатина. Для исследования способности пролекарств Pt(IV) накапливаться в опухолевых клетках были выбраны пролекарства Pt(IV) с НСПВП **Pt-4**, **Pt-7** и **Pt-14**, для которых были показаны низкие значения IC₅₀ (Табл. 9), липофильный аналог пролекарства **Pt-7** комплекс **Pt-11**, и **Pt-19** (Рис. 58).

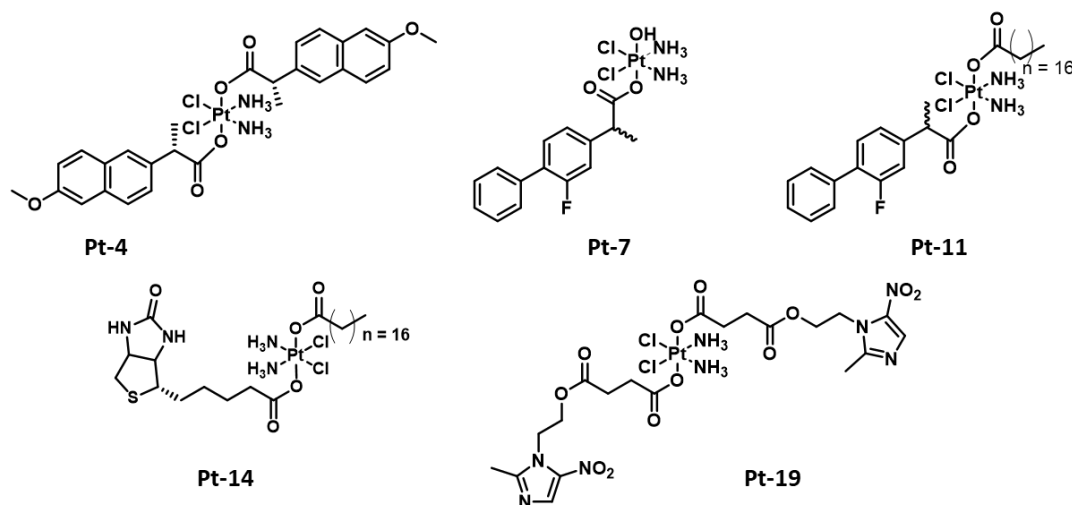


Рисунок 58. Пролекарства Pt(IV) **Pt-4**, **Pt-7**, **Pt-11**, **Pt-14** и **Pt-19**, для которых было исследовано внутриклеточное накопление в опухолевых клетках.

Опухолевые клетки линии MCF-7 инкубировали с пролекарствами **Pt-4**, **Pt-7**, **Pt-11**, **Pt-14** и **Pt-19** в течение 3.5 – 24 часов, после чего клетки подвергались фракционированию, и содержание платины в цитоплазме, митохондриях и ядрах измеряли с использованием масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) (Табл. 16).

¹³ Данная часть работы выполнена совместно с к.б.н. Семкиной А.С. Кафедра медицинской нанобиотехнологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, с к.х.н., с.н.с. Ульяновским Н. В., лаборатория жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии "Арктика" Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова.

Таблица 16. Внутриклеточное накопление и распределение по органеллам пролекарств Pt(IV) в сравнении с цисплатином. Для экспериментов с пролекарствами **Pt-4**, **Pt-7**, **Pt-11**, **Pt-14** время инкубации составляло 3.5 часа; для эксперимента с пролекарством **Pt-19** время инкубации составляло 24 часа.

	Цитоплазма	Митохондрии	Ядра	Сумма
Цисплатин	0.017±0.015	0.014±0.012	0.008±0.0087	0.04±0.04
Pt-4	0.65±0.37	0.694±0.28	0.12±0.1	1.46±0.75
Цисплатин	0.833±0.499	0.01±0.0528	0.003±0.0116	0.85±0.56
Pt-7	119.73±23.71	6.32±3.05	3.62±0.37	129.7±27.1
Pt-11	2.71±1.76	0.7±0.5	0.78±0.24	4.19±2.5
Pt-14	0.82±0.04	0.42±0.07	1.09±0.03	2.33±0.42
Цисплатин	0.80±0.33	0.09±0.07	0.22±0.19	1.11±0.59
Pt-19	0.58±0.26	0.44±0.20	0.41±0.25	1.43±0.71

Наибольшая проникающая способность в опухолевые клетки по сравнению с цисплатином была показана для пролекарств Pt(IV) **Pt-4** и **Pt-7**, которые продемонстрировали самые низкие значения IC₅₀ в МТТ-тесте (Раздел 3.3.1) (Табл. 9). Таким образом, ключевым фактором высокой антипролиферативной активности пролекарств с НСПВП является высокий уровень внутриклеточного накопления, который обусловлен оптимальной липофильностью пролекарств.

Внутриклеточное накопление пролекарств с чувствительными к гипоксии лигандами было исследовано на примере пролекарства **Pt-19** с метронидазолом в аксиальном положении. Цисплатин и **Pt-19** демонстрируют схожий уровень внутриклеточного накопления, при этом для **Pt-19** наблюдается повышенное в сравнении с цисплатином содержание платины в ядрах и митохондриях, основных мишенях платиносодержащих препаратов.

Исследование внутриклеточного накопления пролекарств Pt(IV) с контролируемой фотоактивацией также представляет значительный интерес, так как позволяет оценить влияние облучения на накопление и распределение комплексов Pt в клетках. Оценка проникающей способности проводилась при облучении клеток синим светом (0.8 Дж/см²). Необлучённые клетки использовали как контроль (Табл. 17).

Таблица 17. Внутриклеточное накопление пролекарства **Pt-22** в клетках MCF-7 в отсутствие облучения и при облучении светом. Клетки инкубировали с **Pt-22** и цисплатином 2 часа, после чего половину клеток, облучали синим светом (450 нм, 0.8 Дж/см²), после чего все клетки инкубировали с соединениями ещё 1 час.

Количество Pt , нг/10 ⁶ клеток	Pt-22		Цисплатин	
	В темноте	Облучение	В темноте	Облучение
Цитоплазм	5.8±1.1	17.4±4.6	1.26±0.33	1.54±0.65
Митохондрии	0.30±0.07	2.11±0.78	0.03±0.03	0.09±0.05
Ядра	0.86±0.28	6.61±3.03	0.53±0.31	0.33±0.07
Сумма	6.96±1.45	26.12±8.41	1.82±0.67	1.96±0.77

Pt-22 демонстрирует в 3 раза большее внутриклеточное накопление в темноте в сравнении с цисплатином. При этом облучение инкубированных в присутствии **Pt-22** клеток светом 450 нм ведёт к росту внутриклеточного накопления в 4 раза. При этом стоит отметить, в темноте **Pt-22** слабо накапливается в ядрах, однако после облучения количество **Pt-22** в ядрах возрастает более чем в 7 раз. Можно предположить, что при облучении **Pt-22** высвобождает цисплатин, который активно взаимодействует с ядерной ДНК.

3.4. Исследование фотохимических свойств пролекарств

Pt(IV) с фотоактивными лигандами^{14,15}

3.4.1. Спектры поглощения исследуемых пролекарств

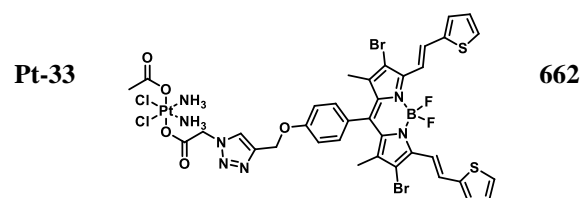
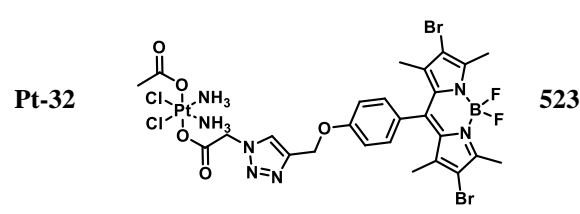
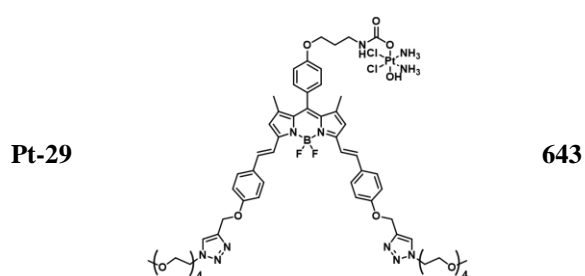
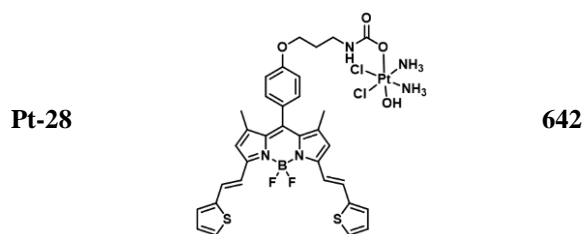
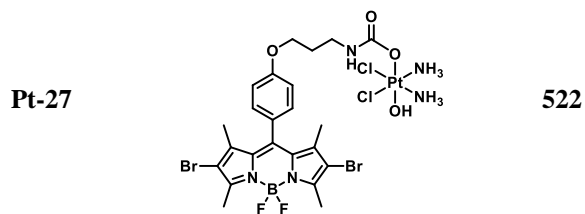
Для пролекарств Pt(IV) **Pt-22-Pt-33** были получены спектры поглощения, максимумы поглощения приведён в Табл. 18.

Таблица 18. Максимум поглощения пролекарств **Pt-22-** и **Pt-26-Pt-33** с фотоактивными лигандами в аксиальном положении

Пролек арства Pt(IV)	Структура	$\lambda_{\text{макс}}$, нм (MeOH)	Пролек арства Pt(IV)	Структура	$\lambda_{\text{макс}}$, нм (MeOH)
Pt-22		450	Pt-30		655
Pt-26		497	Pt-31		497

¹⁴ Данная часть работы выполнена совместно с н.с. Егоровым А.Е., к.х.н., н.с. Костюковым А.А. д.х.н., проф. Кузьминым В.А., Института биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН

¹⁵ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования. Krasnovskaya, O. O.; Akasov, R. A.; **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Bubley, A. A.; Kuzmin, V. A.; Kostyukov, A. A.; Khaydukov, E. V.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Sypalov, S. A.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Vaneev, A. N.; Nikitina, V. N.; Skvortsov, D. A.; Ipatova, D. A.; Mazur, D. M.; Zyk, N. V.; Sakharov, D. A.; Majouga, A. G.; Beloglazkina, E. K. Photoinduced Reduction of Novel Dual-Action Riboplatin Pt(IV) Prodrug. **ACS Appl. Mater. Interfaces** **2023**, 15 (10), 12882–12894.



Пролекарства **Pt-22** с ТАРФ и **Pt-26**, **Pt-31** с BODIPY в аксиальном положении обладают максимумом поглощения в синей области спектра 450 нм для **Pt-22** и 497 нм для **Pt-26** и **Pt-31**. Введение галогенов в 2 и 6 положения BODIPY смещает максимум поглощения в полученных пролекарствах **Pt-27** и **Pt-32** в зелёную область, до 523 нм, а конденсация Кневенагеля смещает максимум поглощения в полученных пролекарствах **Pt-28** и **Pt-29** в область красного света, до 643 нм. Наибольший сдвиг поглощения в БИК-область, до 662 нм, наблюдается для пролекарства **Pt-33**, лиганд BODIPY которого содержит атомы брома в положениях 2,6 и дистирильные фрагменты.

Таким образом, пролекарства **Pt-22**, **Pt-26** и **Pt-31** поглощают в коротковолновой области спектра (450-500 нм), пролекарства **Pt-27** и **Pt-32**, поглощают в зелёной области спектра (523 нм), пролекарства **Pt-27-Pt-30**, **Pt-33** поглощают в БИК-области (640-662 нм).

3.4.2. Исследование способности пролекарств Pt(IV) с фотоактивными лигандами к фотовосстановлению.¹⁶

Контролируемая фотоактивация пролекарств Pt(IV) предполагает, что под действием света аксиальный лиганд комплекса переходит в возбуждённое состояние, в котором способен восстанавливать центр Pt(IV) в ходе прямого переноса электрона с лиганда на металл или

¹⁶ Данная часть работы выполнена совместно с к.х.н., в.н.с. Мазуром Д.М., кафедра органической химии Химического факультета МГУ

принимая электрон от восстановителя или растворителя (Рис. 59). Изученные к настоящему моменту фотоактивные пролекарства Pt(IV) показали способность высвобождать комплекс Pt(II) в присутствии аскорбата натрия [29], путём окисления воды [61] или в результате внутримолекулярного переноса электрона с лиганда в возбуждённом состоянии [150].

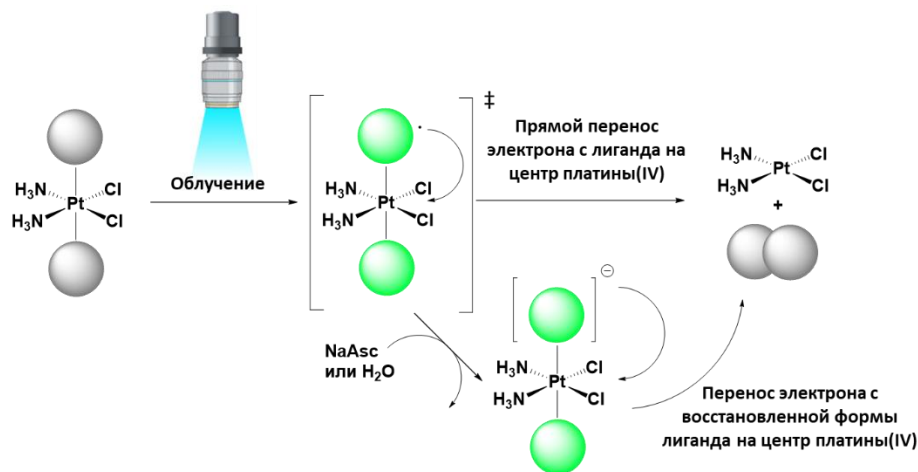


Рисунок 59. Общая схема возможных путей фотовосстановления пролекарств Pt(IV).

Оценка способности разработанных в ходе работы пролекарств Pt(IV) **Pt-22** и **Pt-26** высвобождать цисплатин под действием света была оценена с помощью ВЭЖХ-МС. Фотоконтролируемый распад пролекарств Pt(IV) должен заключаться в дозо-контролируемом снижении концентрации исходного комплекса под действием света, наряду с накоплением цисплатина в системе. Общая схема эксперимента показана на Рис. 60.

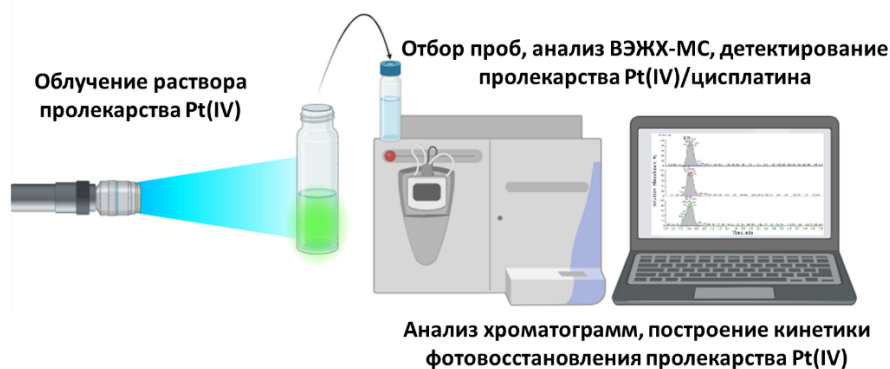


Рисунок 60. Общая схема эксперимента по исследованию фотоконтролируемого восстановления пролекарств Pt(IV).

Фотоиндуцируемое восстановление пролекарства **Pt-22** было исследовано под действием синего света $\lambda=450$ нм (Рис. 61). Для установления влияния различных факторов на скорость фотовосстановления нами варьировались удельная мощность облучения (2 мВт/см² или 8 мВт/см²), растворитель, а также наличие в системе восстановительного агента (аскорбата натрия).

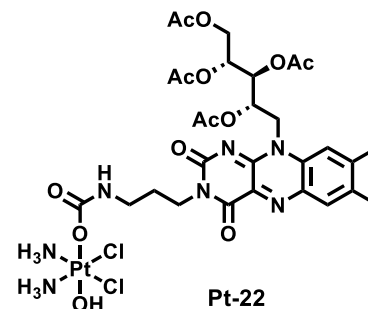


Рисунок 61. Фотография эксперимента по исследованию фотовысвобождения цисплатина из пролекарства **Pt-22** под действием излучения 450 нм и структура пролекарства Pt(IV) **Pt-22**.

Пролекарство **Pt-22** показало дозозависимый характер фотовосстановления, который быстрее протекал в водных растворах, по сравнению со скоростью фотовосстановления в растворе ДМСО. Присутствие аскорбата натрия ускоряло фотовосстановление **Pt-22**, однако не являлось необходимым для его протекания (Рис. 62 А, Б). Стоит отметить высокую чувствительность к облучению **Pt-22** в сравнении с опубликованными ранее пролекарствами Pt(IV): так, пролекарство оксалиплатина с кумарином в аксиальном положении полностью восстанавливалось при облучении светом 450 нм 8 мВт/см² за 1 час [61].

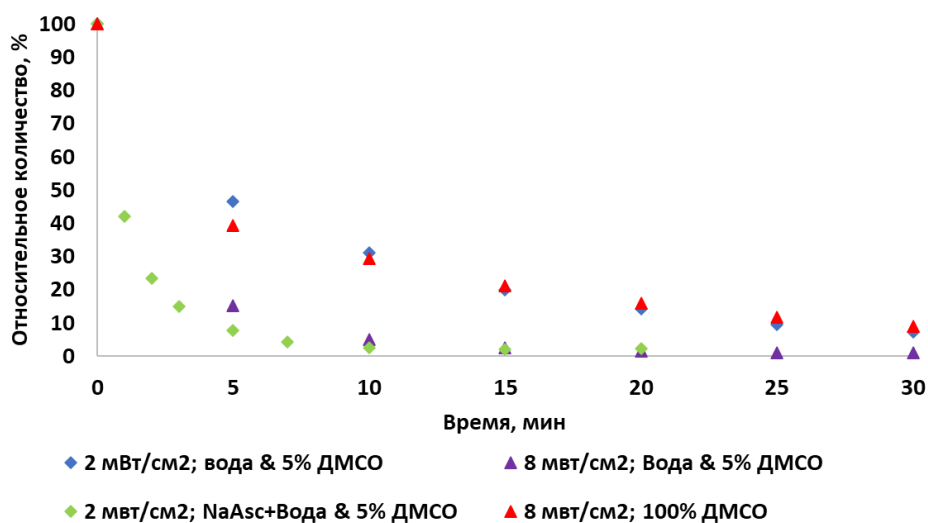


Рисунок 62. Изменение концентрации пролекарства Pt(IV) **Pt-22** в различных условиях под действием излучения удельной мощности 8 мВт/см² или 2 мВт/см². Концентрация **Pt-22** во всех экспериментах составляла 10⁻³ М.

Принимая во внимание способность рибофлавина окислять воду [211], фотораспад **Pt-22**, вероятно, происходит с участием растворителя, на что также указывает замедление фотоиндуцированного распада при замене растворителя на ДМСО.

Накопление цисплатина в растворе оценивали по изменению концентрации иона с массой 342.0010 (Рис. 63, А), который соответствует составу [Pt(NH₃)₂(HCOO)₂Na]⁺ (Рис. 63, Б). Данный

ион, вероятно, является продуктом лигандного обмена хлорид-лигандов в цисплатине на формиат-анионы, происходящий на ВЭЖХ колонке. Содержание аддукта цисплатина во всех экспериментах возрастает со скоростью, сравнимой с падением концентрации **Pt-22**.

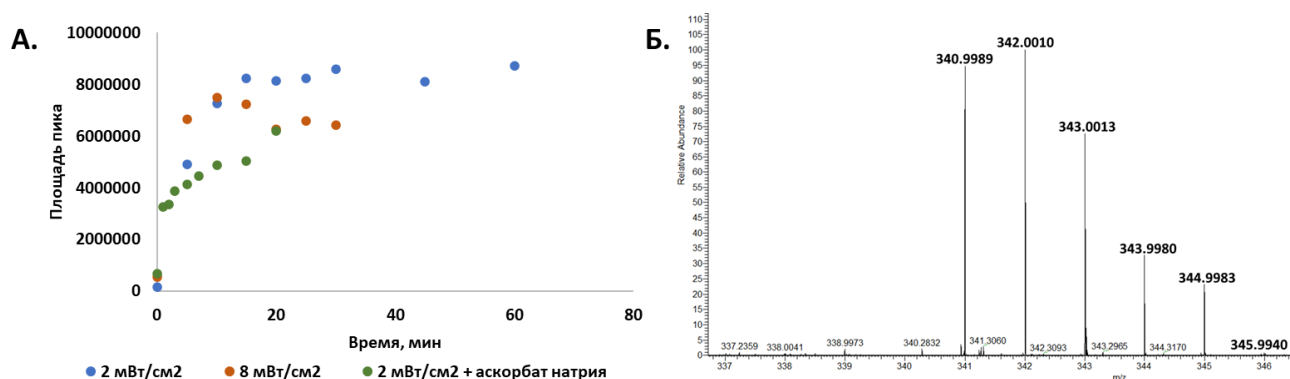


Рисунок 63. **А.** Рост концентрации аддукта 342.0010 ($Pt(NH_3)_2(HCOO)_2+Na$)⁺ в экспериментах по фотоактивации пролекарства Pt(IV) **Pt-22**. **Б.** Масс-спектр высокого разрешения аддукта 342.0010 ($Pt(NH_3)_2(HCOO)_2Na$)⁺.

В рамках аналогичного эксперимента была исследована способность к фотоактивации пролекарства **Pt-26** с BODIPY в аксиальном положении. Ввиду крайне низкой растворимости **Pt-26** в воде даже в смеси с ДМСО, эксперименты проводили в смеси метанол:вода:ДМСО 18:1:1. Для наблюдения полного распада **Pt-26** эксперимент проводили при удельной мощности облучения 32 мВт/см² (Рис. 64). Высокая мощность и длительное время облучения светом 450 нм, необходимые для фотоактивации **Pt-26** в сравнении с **Pt-22** обусловлены тем, что максимум поглощения **Pt-26** находится при 497 нм, а также, предположительно, более низкой активностью BODIPY в качестве фотокатализатора восстановления Pt(IV)/Pt(II), чем ТАРФ.

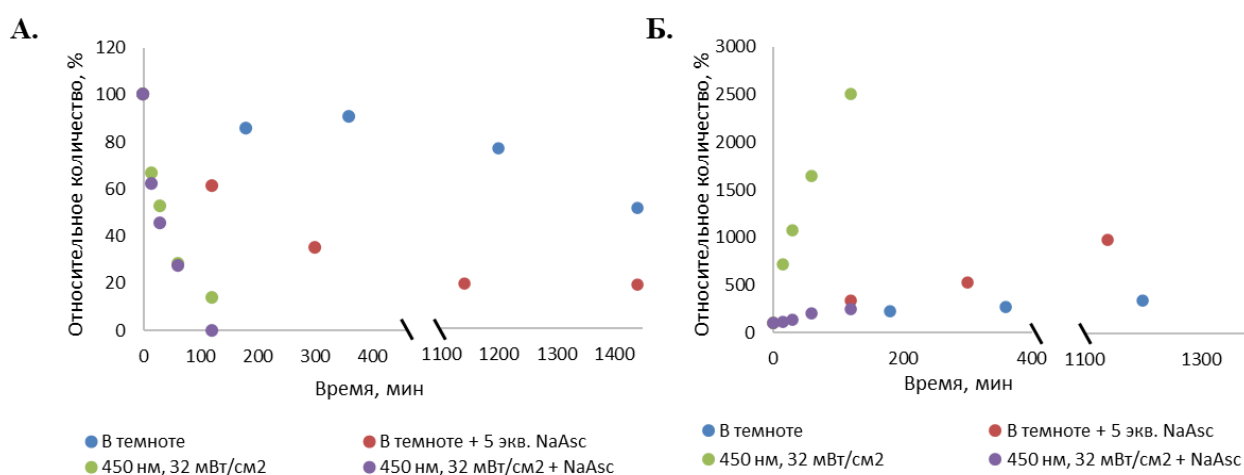


Рисунок 64. **А.** Изменение концентрации пролекарства Pt(IV) **Pt-26** в темноте и под действием синего света 450 нм (32 мВт/см²), а также в присутствии и отсутствии аскорбата натрия. **Б.** Изменение концентрации аддукта 342.0010 ($Pt(NH_3)_2(HCOO)_2Na$)⁺ в тех же условиях. Концентрация **Pt-26** во всех экспериментах составляла 10⁻³ М.

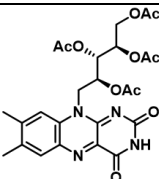
Пролекарство **Pt-26** полностью восстанавливалось под действием синего света 450 нм мощностью 32 мВт/см² за два часа. При этом добавление аскорбата натрия практически не изменяло скорость фотовосстановления пролекарства, а также снижало скорость накопления цисплатина, следовательно, фотораспад **Pt-26** протекает под действием растворителя или в при окислении BODIPY в ходе внутримолекулярного переноса электрона с лиганда на Pt(IV). Тем не менее, облучение синим светом раствора пролекарства **Pt-26** сопровождается ростом содержания диформиатного аддукта цисплатина (Рис. 64, Б), что подтверждает фотоиндуцированное восстановление пролекарства.

Таким образом, нами был подтвержден фотоиндуцированный характер высвобождения цисплатина из пролекарств **Pt-22** и **Pt-26** на основе ТАРФ и BODIPY, соответственно, под действием света 450 нм.

3.4.3. Исследование фотохимических свойств пролекарства Pt(IV) с лигандом на основе тетраацетилрибофлавина

Фотоиндуцированное восстановление пролекарств Pt(IV) может протекать через триплетное или синглетное возбуждённое состояние аксиального лиганда [29,145,212]. Для оценки вклада возбуждённых состояний в фотоиндуцированное восстановление пролекарства **Pt-22** были использованы методы спектроскопии время-коррелированного счёта одиночных фотонов (TCSPC) и флеш-фотолиз. Для пролекарства **Pt-22**, а также соответствующего лиганда **37** были получены спектры поглощения и флуоресценции, определён квантовый выход флуоресценции и синглетного кислорода. Время жизни флуоресценции соединений изучили с помощью TSCPC. Результаты представлены в Табл. 19.

Таблица 19. Максимум длин волн поглощения и флуоресценции, квантовый выход флуоресценции, время жизни синглетного состояния и квантовый выход синглетного кислорода ТАРФ **37** и пролекарства **Pt-22**

Соединение	Структура	Поглощение $\lambda_{\text{макс}}$, нм	Флуоресценция, $\lambda_{\text{макс}}$, нм	Квантовый выход флуоресценции Φ^*	τ^{\dagger} , флуоресценции, нс	τ^{\dagger} флуоресценции с NaAsc, нс	Квантовый выход синглетного кислорода $\Phi\Delta^{**}$
37 (ТАРФ)		450	530	0.32	5.9	2.4	0.55

Соединение	Структура	Поглощение λ макс, нм	Флуоресценция, λ макс, нм	Квантовый выход флуоресценции или Φ^*	τ^\dagger , флуоресценции, нс	τ^\dagger флуоресценции с NaAsc, нс	Квантовый выход синглетного кислорода $\Phi\Delta^{**}$
Pt-22		450	530	0.2	5.2	2.6	0.47

* Φ фл, квантовый выход флуоресценции, относительно рибофлавина Φ фл. = 0.3

$\dagger \tau$, время жизни, уменьшение количества фотонов (для флуоресценции) или ΔA (для триплетного состояния) в «e» раз относительно начального состояния

** $\Phi\Delta$, квантовый выход синглетного кислорода, в качестве стандарта был использован $Ru(Bpy)_3$, $\Phi\Delta[Ru(Bpy)_3] = 0.57$

Снижение квантового выхода флуоресценции пролекарства **Pt-22** по сравнению со свободным лигандом **37** (0.2 и 0.32 соответственно) может указывать на возможность прямого переноса электрона из синглетного возбуждённого состояния аксиального лиганда **Pt-22** на Pt(IV) с последующим восстановлением до Pt(III) и далее до Pt(II) [145]. В присутствии аскорбиновой кислоты время жизни флуоресценции лиганда **37** и пролекарства **Pt-22** значительно снижается (Рис. 65, А, Б), что указывает на реакцию синглетного возбуждённого состояния ТАРФ **37** в аксиальном положении **Pt-22** с восстановителем и образованием восстановленной формы аксиального лиганда, предположительно, анион-радикала ТАРФ⁻ [213].

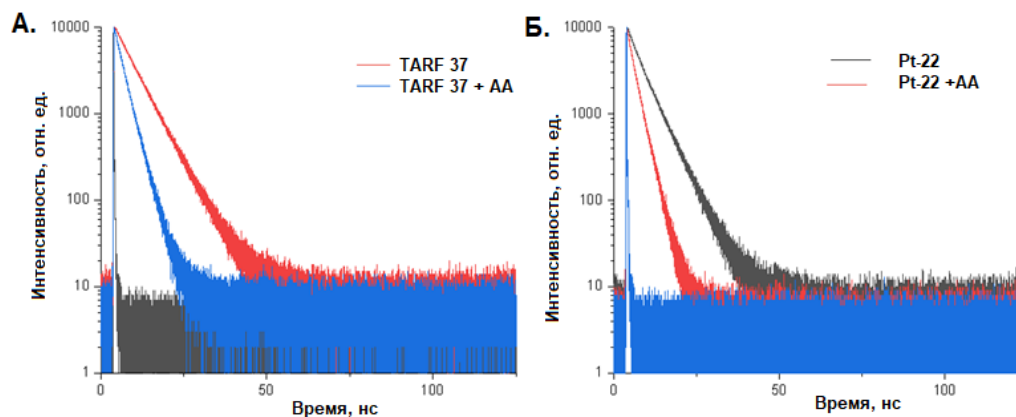


Рисунок 65. А. Тушение флуоресценции TARF 37 ($2 \cdot 10^{-6}$ М в метаноле) (красный); 37 в присутствии аскорбиновой кислоты (AA) (синий). Б. Тушение флуоресценции Pt-22 ($2 \cdot 10^{-6}$ М в метаноле) (черный); Pt-22 в присутствии аскорбиновой кислоты (красный).

Триплетное возбуждённое состояние **Pt-22** и лиганда **37** было исследовано с использованием метода флеш-фотолиза (Рис. 66). Для лиганда ТАРФ **37** и пролекарства **Pt-22** наблюдается образование триплетного состояния (Рис. 66, А, Б), время жизни триплетного состояния при анализе кинетики гибели при $\lambda=550$ нм составило 70 и 60 мкс для ТАРФ **37** и **Pt-22**, соответственно. Добавление аскорбиновой кислоты (АК) к ТАРФ способствует значительному росту времени жизни радикалов, таких как флавоксиминоновый радикал

ТАРФН* и анион-радикал ТАРФ*⁻ (Рис. 66, В) [214]. Для **Pt-22** при добавлении АК также наблюдается образование интермедиатов, которые гибнут, предположительно с переносом электрона с лиганда на центр Pt(IV).

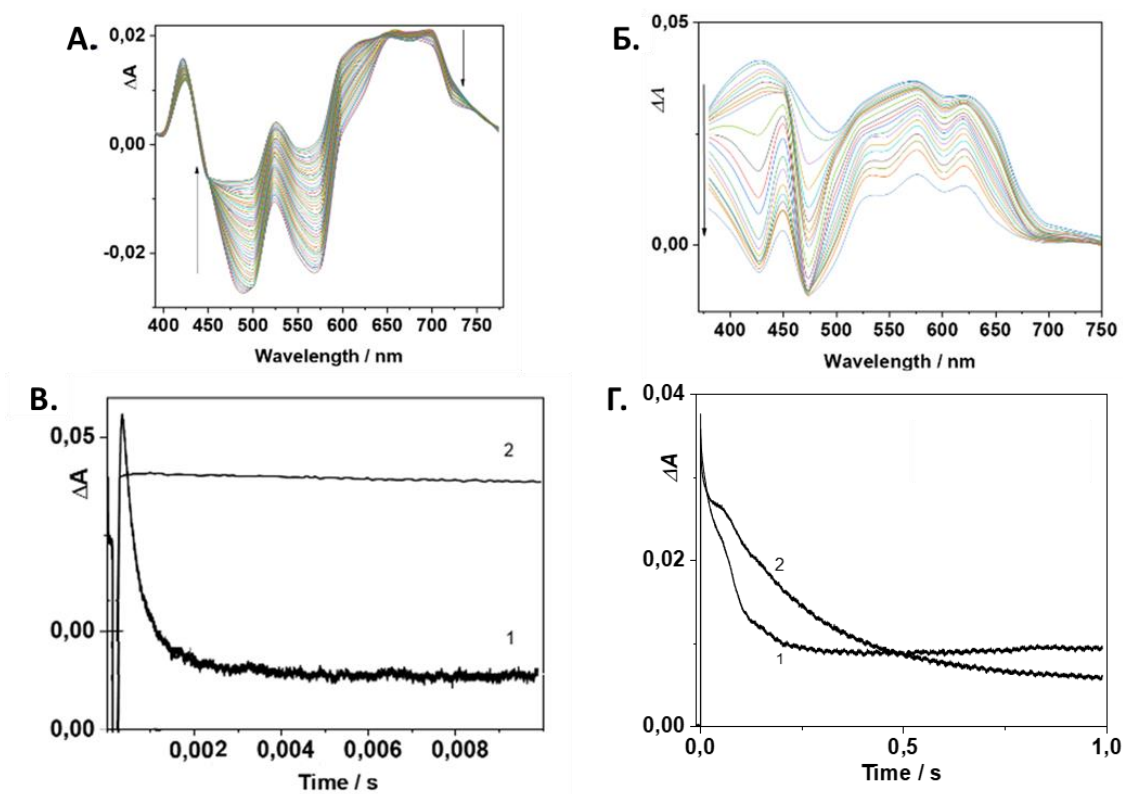


Рисунок 66. А. Спектры поглощения переходного состояния ТАРФ 37, полученные 2E-6; 5E-4; 3E-4; 5E-4; 7E-4; 9E-4; 0,0014; 0,0019; 0,0024; 0,0029; 0,0034; 0,0039; 0,0044; 0,0054; 0,0064; 0,0074; 0,008; 0,009; 0,01 с после вспышки.. Б. Спектры поглощения переходного состояния пролекарства Pt(IV) **Pt-22**, полученные 0; 0,001; 0,002; 0,0027; 0,004; 0,005; 0,006; 0,007; 0,008; 0,009; 0,01; 0,015; 0,02; 0,025; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09; 0,1; 0,15 с после вспышки. В. Кинетика гибели переходного состояния ТАРФ 37 (1) в отсутствие АК; (2) в присутствии АК. $\lambda = 450$ нм. Г. Кинетика гибели интермедиатов **Pt-22** в метаноле (1) в отсутствие АК; (2) в присутствии АК; $\lambda = 600$ нм.

На основании полученных данных предполагаемый механизм фотоактивации пролекарства Pt(IV) **Pt-22** состоит из следующих стадий (Рис. 67): комплекс **Pt-22** переходит в синглетное возбуждённое состояние 1S , из которого либо в результате прямого переноса электрона восстанавливает Pt(IV) до Pt(III), либо в ходе интеркомбинационной конверсии переходит в триплетное состояние 3T , которое далее образует флавосемихиноновый радикал в результате реакции с восстановителем или триплет-триплетной аннигиляции. В ходе одноэлектронного переноса с флавосемихинонового радикала на центр Pt(IV) происходит восстановление пролекарства Pt(IV).

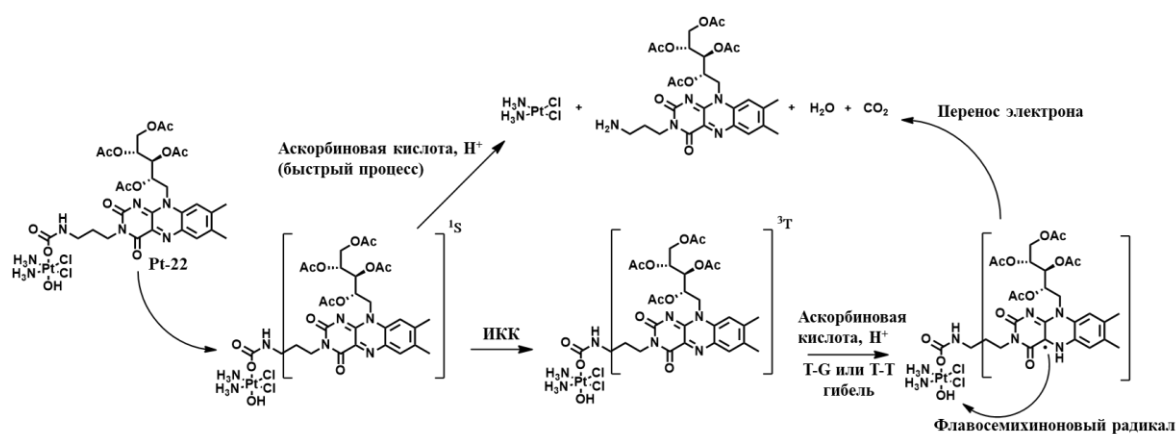


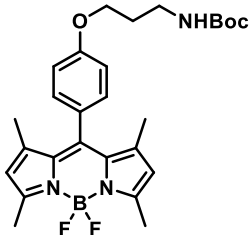
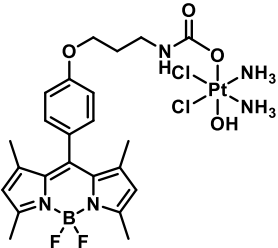

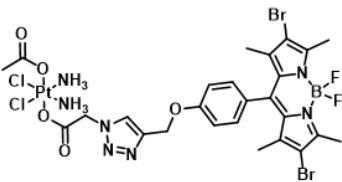
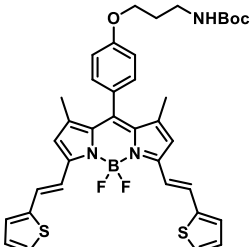
Рисунок 67. Схема фотоиндуцированного восстановления пролекарства Pt(IV) Pt-22.

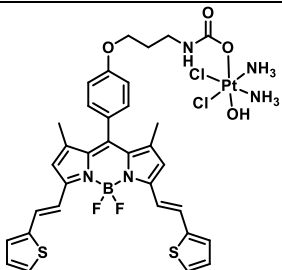
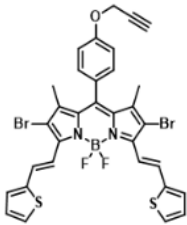
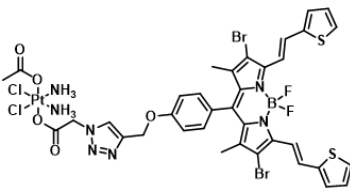
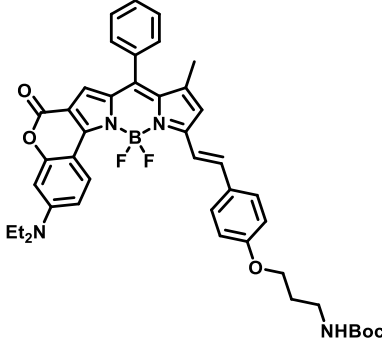
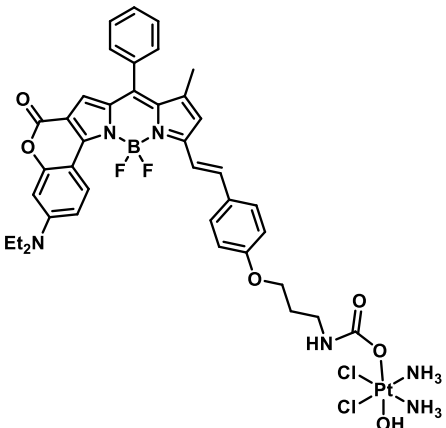
Так как для **Pt-22** нами было доказано образование триплетного возбуждённого состояния, данное пролекарство также потенциально способно выступать в качестве ФДТ агента и образовывать синглетный кислород при облучении. Для изучения способности **Pt-22** индуцировать образование синглетного кислорода, одного из основных АФК, насыщенный кислородом раствор пролекарства в метаноле облучали светом 450 нм и детектировали флуоресценцию синглетного кислорода в диапазоне λ 1220–1230 нм. **Pt-22** и ТАРФ **37** показали схожий квантовый выход синглетного кислорода (Табл. 19), 0,47 и 0,55, соответственно, что подтверждает способность пролекарства Pt(IV) **Pt-22** выступать в качестве агента фотодинамической терапии.

3.4.4. Исследование фотохимических свойств пролекарств Pt(IV) с лигандами на основе бор-дипиррометенов

Для оценки вклада возбужденных состояний в фотоиндуцированное восстановление пролекарств Pt(IV) с BODIPY **Pt-26**, **Pt-28**, **Pt-30**, **Pt-32**, **Pt-33** были определены квантовые выходы и времена жизни флуоресценции, времена жизни триплетных состояний, а также определены квантовые выходы синглетного кислорода в растворах исследуемых соединений (Табл. 20).

Таблица 20. Структуры пролекарств Pt(IV) и соответствующих свободных лигандов, максимум длин волн поглощения и флуоресценции, квантовый выход флуоресценции, время жизни синглетного состояния и квантовый выход синглетного кислорода. Измерения проводились в ацетонитриле, если не указано обратного.

Соединение	Структура	Флуоресценция, максимум, нм	Квантовый выход флуоресценции	Время жизни синглетного состояния, нс	Квантовый выход синглетного кислорода
46		506	0.57	2.9	-
Pt-26		506	0.52	2.8	-
66		537	0.20	1.38	0.66
Pt-32		537	0.17	1.38	0.63
50		657	0.8	3.2	-

Соединение	Структура	Флуоресценция, максимум, нм	Квантовый выход флуоресценции	Время жизни синглетного состояния, нс	Квантовый выход синглетного кислорода
Pt-28		657	0.7	3.2	-
70		691	0.37	3.41	0.06
Pt-33		690	0.32	3.34	0.05
64		769	0.02	1.16	-
Pt-30		747	0.14*	3.2*	-

*данные получены в ТГФ

Для изучения вклада синглетного состояния в фотоактивацию пролекарств Pt(IV) было исследовано время жизни флуоресценции пролекарств Pt(IV) **Pt-26**, **Pt-28**, **Pt-30**, **Pt-32** и **Pt-33** и соответствующих лигандов **46**, **50**, **64**, **66**, **70** (Табл. 20). Для всех пролекарств наблюдается снижение квантового выхода флуоресценции по сравнению с соответствующим лигандом, что позволяет предположить внутримолекулярный перенос электрона с синглетного или короткоживущего триплетного состояния лиганда на центр Pt(IV) в процессе фотоактивации с образованием нестабильного катион-радикала BODIPY [215]. Стоит также отметить, что квантовый выход флуоресценции кумарин-содержащего BODIPY составляет всего 0.02, что указывает на преобладание безизлучательных путей релаксации синглетного состояния.

Флуорофоры, не содержащие в структуре атомов галогена, ожидаемо не показали способность образовывать стабильные триплетные состояния. Для галоген-содержащих BODIPY **69** и **70** (Рис. 68, А, В), а также для соответствующих пролекарств **Pt-32** и **Pt-33** (Рис. 68 Б, Г) была показана кинетика гибели триплетного состояния с использованием флеш-фотолиза. Константы скорости гибели триплетных состояний для лиганда **69** и комплекса **Pt-32** составляют $k = 2.58 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ и $2.4 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ соответственно, а для лиганда **70** и комплекса **Pt-33** - $k = 6.5 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ и $7.3 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$ соответственно. Близкие значения констант скорости гибели пролекарств Pt(IV) и аксиальных лигандов позволяют предположить, что в отсутствие донора электронов триплетное состояние 2,6-дибром-BODIPY не участвует в фотовосстановлении комплексов Pt(IV).

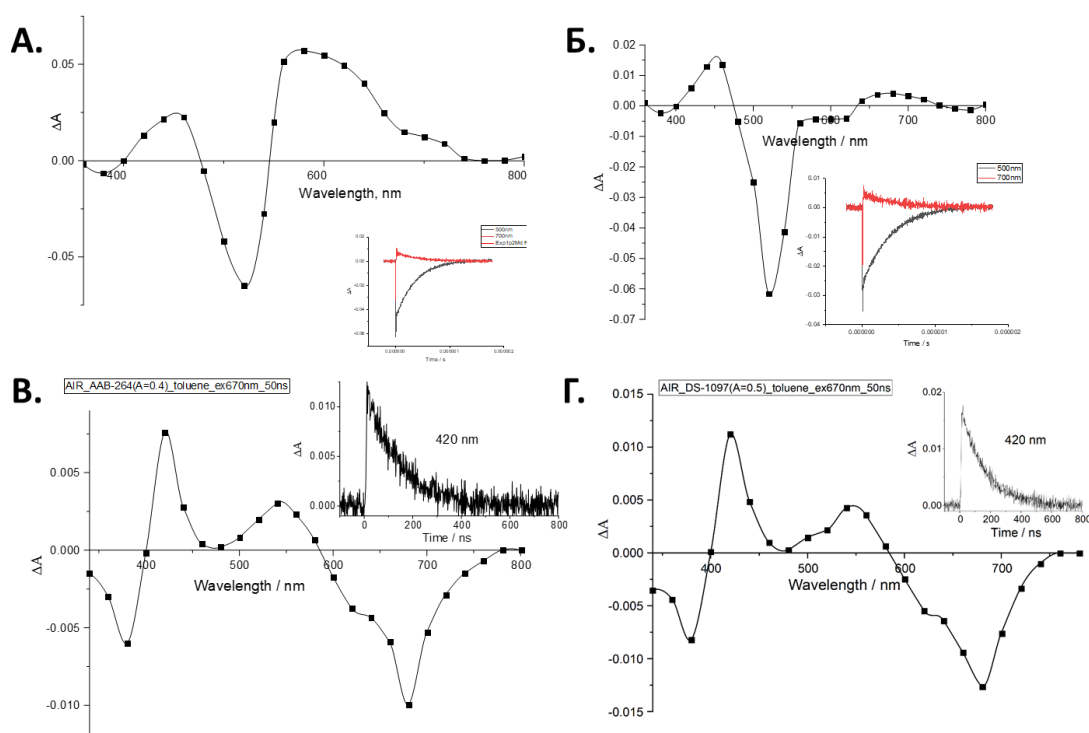


Рисунок 68. Спектр триплет-триплетного поглощения **А.** Лиганд **69** (30 нс после вспышки). **Б.** Проллекарство **Pt-32** (30 нс после вспышки). **В.** Лиганд **70** (50 нс после вспышки). **Г.** Проллекарство **Pt-33**. (50 нс после вспышки) На врезках: кинетика гибели триплетного состояния на 700 (красный) и 500 нм (чёрный).

Также, для пролекарств Pt(IV) **Pt-32**, **Pt-33** и лигандов **69**, **70** была показана способность образовывать синглетный кислород при облучении, которая несколько лучше была выражена для лигандов (Табл. 20). Таким образом, данные лиганды и пролекарства Pt(IV) могут выступать в качестве ФДТ-агентов.

3.5. Исследование внутриклеточной стабильности пролекарств Pt(IV) в опухолевых клетках линии MCF-7 и A549 методом XANES.^{17,18}

Скорость восстановления пролекарств Pt(IV) является важнейшим фактором, определяющим их терапевтическую эффективность. Так, эффективность быстро восстанавливающихся в биологических средах пролекарств неотличима от таковой у цисплатина, так как пролекарства не достигают опухолевых тканей в виде исходного комплекса Pt(IV). В ряде публикаций скорость восстановления пролекарств Pt(IV) в клетках была исследована путём анализа клеточных лизатов методами ВЭЖХ и ЯМР [33, 207]. Также, в ряде работ для определения соотношения Pt(II)/Pt(IV) в клетках после инкубации с пролекарствами Pt(IV) используют спектроскопию XANES (X-ray near edge absorption spectroscopy). Под действием синхротронного излучения возбуждаются переходы остовных электронов (1 и 2 периодов) исследуемого элемента, причем, энергия данных переходов специфична для каждого элемента, что позволяет получать характеристические спектры XANES определённого элемента в многокомпонентных системах [217]. В связи с тем, что XANES-спектроскопия чувствительна к изменению степени окисления и координационного окружения платины, данный метод особо привлекателен для исследования скорости внутриклеточного восстановления комплексов Pt(IV). С использованием спектроскопии XANES была исследована скорости внутриклеточного восстановления пролекарств Pt(IV) **Pt-1**, **Pt-4**, **Pt-5**, **Pt-13**, **Pt-19** (Рис. 69).

¹⁷ Данная часть работы выполнена совместно с к.ф.-м.н. Тригубом А.Л., НИЦ "Курчатовский институт", в.н.с., к.ф.-м.н. Солдатовым М.А. Международного исследовательского института интеллектуальных материалов Южного федерального университета.

¹⁸ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования. **Spector, D.**; Erofeev, A.; Gorelkin, P.; Skvortsov, D.; Trigub, A.; Markova, A.; Nikitina, V.; Ul'yanovskiy, N.; Shtil', A.; Semkina, A.; Vlasova, K.; Zyk, N.; Majouga, A.; Beloglazkina, E.; Krasnovskaya, O. Biotinylated Pt(IV) Prodrugs with Elevated Lipophilicity and Cytotoxicity. **Dalt. Trans.** **2023**, 52 (4), 866–871; **D. V. Spector**, A. S. Erofeev, P. V. Gorelkin, A. N. Vaneev, R. A. Akasov, N. V. Ul'yanovskiy, V. N. Nikitina, A. S. Semkina, K. Yu Vlasova, M. A. Soldatov, A. L. Trigub, D. A. Skvortsov, A. V. Finko, N. V. Zyk, D.A. Sakharov, A. G. Majouga, E. K. Beloglazkina, and O. O. Krasnovskaya. Electrochemical Detection of a Novel Pt(IV) Prodrug with the Metronidazole Axial Ligand in the Hypoxic Area. **Inorganic Chemistry** **2022** 61 (37), 14705-14717.

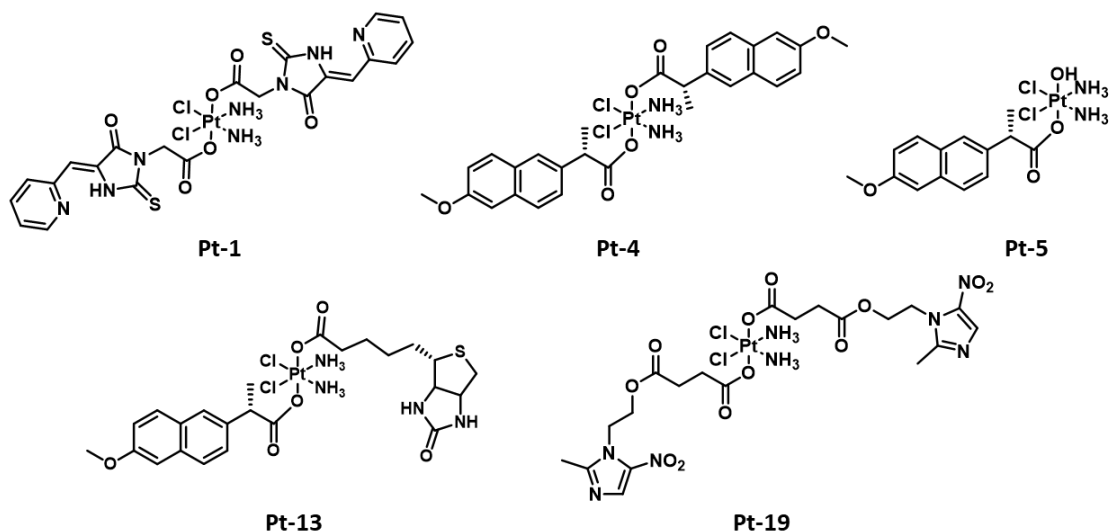


Рисунок 69. Пролекарства Pt(IV) **Pt-1**, **Pt-4**, **Pt-5**, **Pt-13**, **Pt-19**, которые были выбраны для определения скорости внутриклеточного накопления в клетках A549 с использованием спектроскопии XANES.

Спектроскопия XANES позволяет оценить относительное количество платины в степенях окисления +4 и +2 в образце по характеристическому пику L3 края платины (2p – 5d переход) при 11570 eV с использованием метода, предложенного Hall et al. [218]. Соотношение характеристических параметров спектра a (интенсивность максимума) и b (интенсивность минимума после пика) (Рис. 70) линейно зависит от соотношения соединений Pt(II) и Pt(IV) в смеси (Рис. 70, врезка).

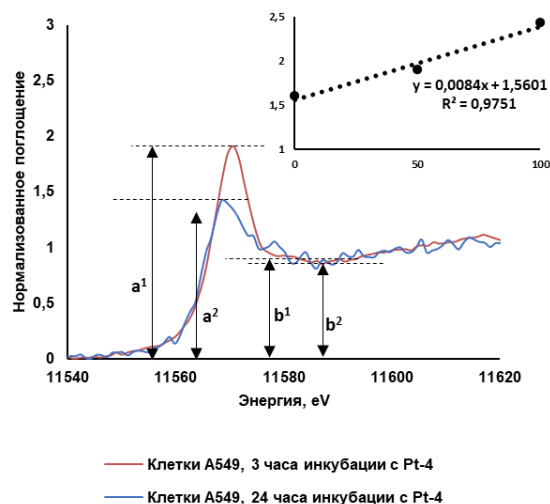


Рисунок 70. Спектр XANES, полученный после облучения клеток A549, инкубированных с пролекарством **Pt-4**. На врезке: градуировочный график зависимости a/b от % Pt(IV), полученная из спектров XANES твёрдых образцов: 0% Pt(IV) (цисплатин), 100% Pt(IV) (сухой образец пролекарства Pt(IV)) и в мольном соотношении 1:1 Pt(II):Pt(IV) (Эквимольная смесь цисплатина и пролекарства).

Спектры XANES образцов пролекарств и сухих опухолевых клеток были получены на синхротронной установке Курчатовского института. Спектры XANES сухих образцов цисплатина и пролекарств Pt(IV) были использованы для построения градуировочного графика

зависимости параметра a/b от % содержания Pt(IV) (Рис. 70, врезка). После инкубации с комплексами платины клетки высушивали, сухой порошок клеточного материала облучался синхротронным излучением в течение ночи. Содержание Pt(IV) и Pt(II) в клетках определяли после короткого (2–3 часа) или длительного времени инкубации (20–26 часов) с пролекарствами **Pt-1**, **Pt-4**, **Pt-5**, **Pt-13**, **Pt-19**.

Значения a/b спектров XANES и остаточное количество Pt(IV) в клетках A549 после инкубации представлены в Табл. 21.

Таблица 21. Определение доли Pt(IV) в клетках A549, инкубированных с пролекарствами **Pt-1**, **Pt-4**, **Pt-5**, **Pt-13** и **Pt-19**.

	Время инкубации	0 ч*	2 часа инкубации	26 часов инкубации
Pt-1**	a/b	2.67	1.69 ± 0.02	1.50 ± 0.02
	% Pt ^{IV}	100	21 ± 0.3	6 ± 0.09
Pt-4	a/b	2.43	2.24 ± 0.16	1.76 ± 0.05
	% Pt ^{IV}	100	81.86 ± 6.48	24.09 ± 7.68
Pt-5	a/b	2.32	1.52	1.5
	% Pt ^{IV}	100	0	0
Pt-13†	a/b	2.3	2.04 ± 0.56	1.74 ± 0.07
	% Pt ^{IV}	100	81 ± 85	36 ± 9.23
Pt-19**	a/b	2.24	1.94 ± 0.03	1.76 ± 0.06
	% Pt ^{IV}	100	61.34 ± 1.10	41.66 ± 1.57

* «Время инкубации 0» обозначает спектр XANES, полученный с сухого порошка пролекарства Pt(IV).

** для соединений Pt-1 и Pt-19 время инкубации составляли 2 и 26 часов

† для соединения Pt-13 времена инкубации составляли 3 и 20 часов

Симметричные дикарбоксилатные пролекарства Pt(IV) типа I **Pt-4** и **Pt-19** показали способность постепенно высвобождать цисплатин во внутриклеточной среде. После 24 часов инкубации в клетках A549 пролекарства **Pt-4** наблюдается восстановление около 76% пролекарства Pt(IV), после 26 часов инкубации восстановилось 59% пролекарства Pt(IV) **Pt-19** (Табл. 21). Постепенное высвобождение цисплатина из пролекарств структурного типа I **Pt-4** и **Pt-19** потенциально позволит комплексам достигать опухолевых тканей в виде пролекарств и не подвергаться преждевременному восстановлению. Пролекарство **Pt-1** структурного типа I и пролекарство **Pt-5** типа II продемонстрировали быстрое восстановление во внутриклеточной среде (Табл. 21). Полученные данные демонстрируют, что структурный тип пролекарства Pt(IV), а также природа линкера влияет на скорость внутриклеточного восстановления пролекарств, однако ключевым фактором является природа аксиального лиганда.

3.6. Исследование внутриклеточного метаболизма пролекарств Pt(IV) в трёхмерных клеточных культурах с использованием платинированного нанoeлектрода¹⁹

Ключевым показателем потенциальной противоопухолевой эффективности пролекарств Pt(IV) является их способность накапливаться внутри опухолевых тканей. Трёхмерные клеточные культуры (сфероиды) являются удобной моделью солидных опухолей, ввиду того что для данных объектов характерны многие свойства, наблюдаемые в опухолях, такие как градиенты питания и кислорода, а также межклеточные взаимодействия [219].

Для исследования способности пролекарств Pt(IV) накапливаться в опухолевых сфероидах был применён электрохимический метод детектирования цисплатина с использованием наноразмерного платинированного нанoeлектрода (Рис. 71, А-Г) [220]. Диаметр электрода составляет ≈ 60 нм, что позволяет проводить электрохимические измерения в единичных клетках. В трёхмерных клеточных культурах (сфероидах) возможно проводить измерения на различных глубинах модели (Рис. 71, Д), что позволяет определить зависимость интенсивности пика окисления цисплатина Pt(II)/Pt(IV) от глубины сфероида.

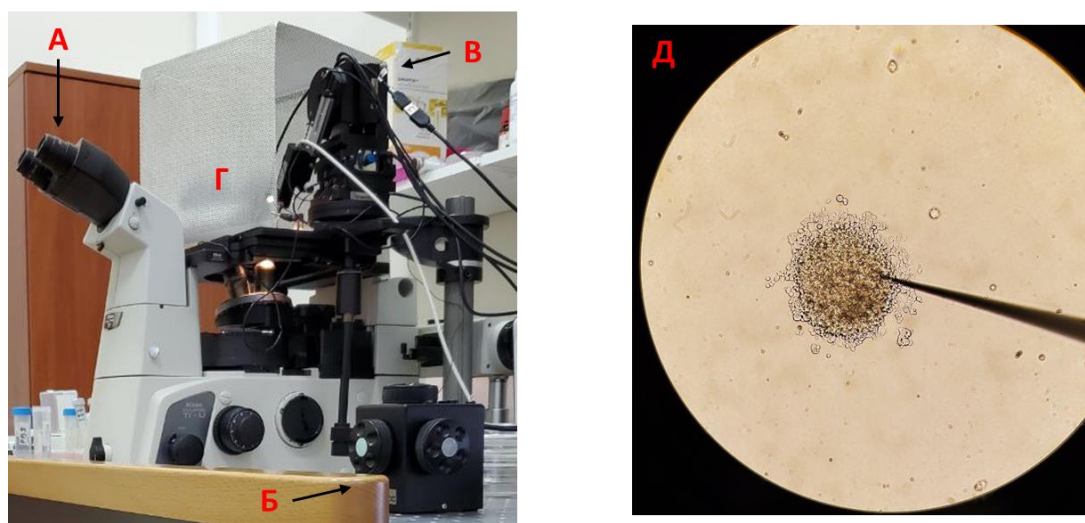


Рисунок 71. Устройство установки для внутриклеточных измерений с помощью платинированного нанoeлектрода: А. Окуляр. Б. Управление микроманипулятором. В. Микроманипулятор, оборудованный нанoeлектродом. Г. Клетка Фарадея, внутри которой находится чашка Петри с биологической средой и объектами измерений. Д. Фотография клеточного сфероида MCF-7, в который проникает нанoeлектрод.

Предварительно, была получена циклическая вольтамперограмма в растворе цисплатина с использованием нанoeлектрода (Рис. 72, А). О присутствии цисплатина в растворе свидетельствует пик около 600 мВ, что соответствует окислению Pt(II)/Pt(IV) [221]. Высота пика

¹⁹ Данная часть работы выполнена совместно с асп. Ваневым А.Н. кафедры химической энзимологии МГУ, PhD, с.н.с. Р.А. Акасовым ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН, к.ф.-м.н. Ерофеевым, к.ф.-м.н. Горелкиным П.В. НИТУ «МИСиС».

относительно фонового значения (Рис. 72, Б) линейно связана с концентрацией цисплатина, что подтверждается градуировочным графиком зависимости силы тока от концентрации цисплатина в серии растворов (Рис. 72, В). Стоит отметить, что в присутствии биомолекул, таких как глутатион или БСА также наблюдается пик окисления цисплатина, что делает возможным определение цисплатина в живых системах (Рис., 72, Г, Д).

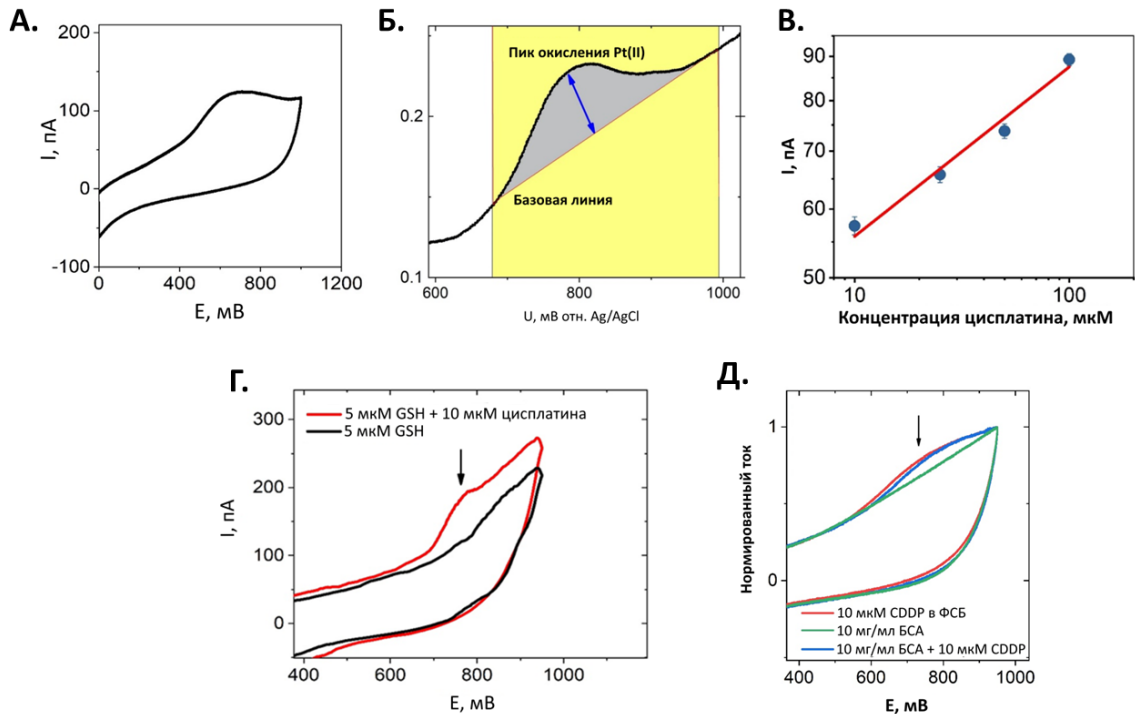


Рисунок 72. Детектирование цисплатина в растворе. А. ЦВА, полученная в растворе 0.1 М цисплатина в HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) буфере. Б. Определение высоты пика окисления цисплатина на ЦВА. В. Градуировочная кривая зависимости силы тока окисления Pt(II)/Pt(IV) от концентрации цисплатина, полученная на серии градуировочных растворов. Г. ЦВА раствора глутатиона в отсутствие (чёрная кривая) и в присутствии цисплатина (красная кривая). Д. ЦВА раствора БСА в отсутствие (зелёная кривая) и в присутствии цисплатина (синяя кривая).

3.6.1. Детектирование цисплатина в сфероиды линии MCF-7 после инкубации с пролекарствами Pt(IV)²⁰

Для исследования способности пролекарств Pt(IV) проникать на глубину сфероидов опухолевых клеток и высвобождать цисплатин были выбраны пролекарства Pt(IV) **Pt-7** с

²⁰ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования. **D. V. Spector**, A. S. Erofeev, P. V. Gorelkin, A. N. Vaneev, R. A. Akasov, N. V. Ul'yanovskiy, V. N. Nikitina, A. S. Semkina, K. Yu Vlasova, M. A. Soldatov, A. L. Trigub, D. A. Skvortsov, A. V. Finko, N. V. Zyk, D.A. Sakharov, A. G. Majouga, E. K. Beloglazkina, and O. O. Krasnovskaya. Electrochemical Detection of a Novel Pt(IV) Prodrug with the Metronidazole Axial Ligand in the Hypoxic Area. *Inorganic Chemistry* **2022** 61 (37), 14705-14717; **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Akasov, R. A.; Vaneev, A. N.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Nikitina, V. N.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Skvortsov, D. A.; Roznyatovsky, V. A.; Ul, N. V.; Pikovskoi, I. I.; Sypalov, S. A.; Garanina, A. S.; Vodopyanov, S. S.; Abakumov, M. A.;

флурбипрофеном и **Pt-4** с двумя фрагментами напроксена в аксиальном положении структурных типов IIa и I, соответственно. Кроме того, в качестве соединений сравнения было использовано пролекарство структурного типа IIIa **Pt-11** с флурбипрофеном и стеаратом в аксиальном положении и цисплатин (Рис. 73).

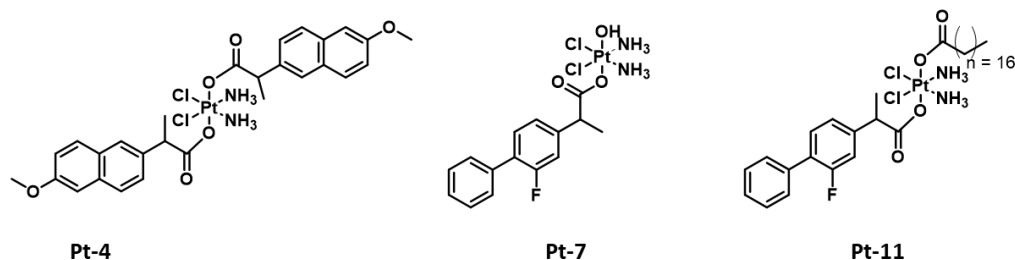


Рисунок 73. Структуры пролекарств Pt(IV) **Pt-4**, **Pt-7**, **Pt-11**, для которых было исследовано распределение высвобождаемого цисплатина в сфероиды линии MCF-7 с применением платинированного нанозлектрода.

После инкубации сфероидов линии MCF-7 в течение 6 часов со 100 мкМ пролекарств Pt(IV), клеточные культуры помещались под микроскоп в свежей среде. Затем нанозлектрод помещали в сфероид с помощью микроманипулятора, и записывали ЦВА в диапазоне 400–1200 мВ (Рис. 74, А). Профиль распределения цисплатина в сфероиды MCF-7 был получен путём анализа пиков окисления Pt(II)/Pt(IV) в диапазоне 600–800 мВ на серии ЦВА, полученных на различных глубинах сфероидов (Рис. 74, Б).

Для трёх пролекарств Pt(IV) **Pt-4**, **Pt-7**, **Pt-11** наблюдается схожий профиль распределения высвобождаемого цисплатина в сфероиды MCF-7: максимальное содержание цисплатина детектировалось у поверхности сфероидов, после чего с увеличением глубины сфероидов наблюдалось плавное снижение количества цисплатина. При этом, количество цисплатина в сфероиды после инкубации с пролекарствами Pt(IV) оказалось выше, чем после инкубации с той же дозой цисплатина, что обусловлено повышенной липофильностью пролекарств (Рис. 74 Б, В).

Количество детектированного цисплатина при инкубации MCF-7 сфероидов с пролекарством **Pt-7** является наиболее высоким среди исследованных соединений на всей глубине измерений и остаётся высоким на глубине 100 мкм, в то время как при инкубации с **Pt-4**, **Pt-11** и цисплатином сигнал быстро снижается почти до фоновых значений. Липофильное пролекарство **Pt-11** обладает меньшей проникающей способностью, чем **Pt-7**, а также стоит отметить меньшую проникающую способность дикарбоксилатного пролекарства **Pt-4**, несмотря на схожую с монокарбоксилатным **Pt-7** липофильность и антипролиферативную активность.

Разумно предположить, что на проникающую способность пролекарств Pt(IV) на глубину сфероидов оказывает влияние не только липофильность, но и природа аксиальных лигандов.

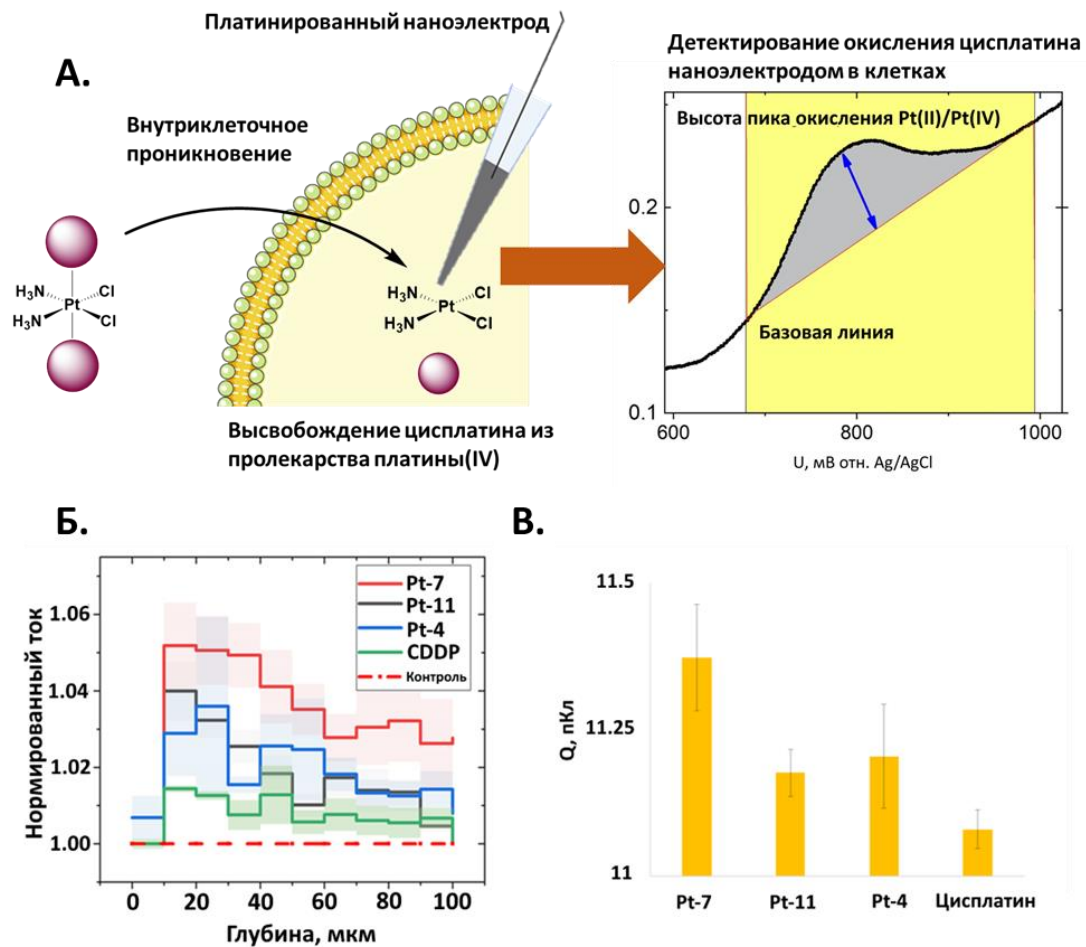


Рисунок 74. Детектирование цисплатина в сфероидов линии MCF-7, преинкубированных с 100 мкМ Pt-4, Pt-7, Pt-11 и цисплатина. А. Общая схема эксперимента. Б. Профиль распределения цисплатина, измеренный по детектированию тока окисления Pt(II)/Pt(IV) в сфероидов линии MCF-7 после инкубации с Pt-4 (синий, n=3), Pt-7 (красный, n=3), Pt-11 (чёрный, n=4) и цисплатином (зелёный, n=3). В. Суммарный ток окисления цисплатина, зарегистрированный в сфероидов MCF-7, инкубированных с пролекарствами Pt(IV) и цисплатином. CDDP – цисплатин.

Таким образом, пролекарства Pt-4, Pt-7 и Pt-11 выступают как эффективные средства доставки цисплатина в трёхмерных опухолевых культурах, а наиболее активное пролекарство Pt-7 способно проникать на глубину сфероидов и высвобождать цисплатин в удалённых от поверхности областях сфероидов.

Одним из преимуществ использования сфероидов в качестве опухолевых моделей является наличие градиента содержания кислорода, в результате чего в центре таких сфероидов присутствуют гипоксические и даже некротические области [222]. Для исследования проникающей способности пролекарств Pt(IV) с чувствительным к гипоксии фрагментом был выбран комплекс Pt-19 с метронидазолом в аксиальном положении структурного типа I. В

качестве соединений сравнения были выбраны пролекарства **Pt-1** и **Pt-3**, также являющиеся дикарбоксилатными пролекарствами Pt(IV) структурного типа I, но не содержащие чувствительных к гипоксии аксиальных лигандов (Рис. 75).

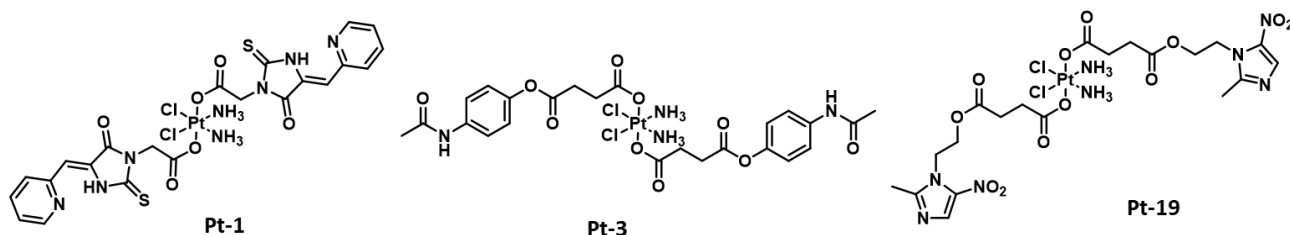


Рисунок 75. Структуры пролекарств **Pt-1**, **Pt-3** и **Pt-19**, для которых было исследовано распределение высвобождаемого цисплатина в сфероиде линии MCF-7 для определения способности пролекарства **Pt-19** накапливаться в области гипоксии.

С использованием электрохимического детектирования был получен профиль концентрации кислорода в сфероиде линии MCF-7 (Рис. 76, А). Содержание кислорода на глубине 50–100 мкм резко падает в сравнении с приповерхностным слоем, следовательно, данная область сфероида является моделью гипоксических условий.

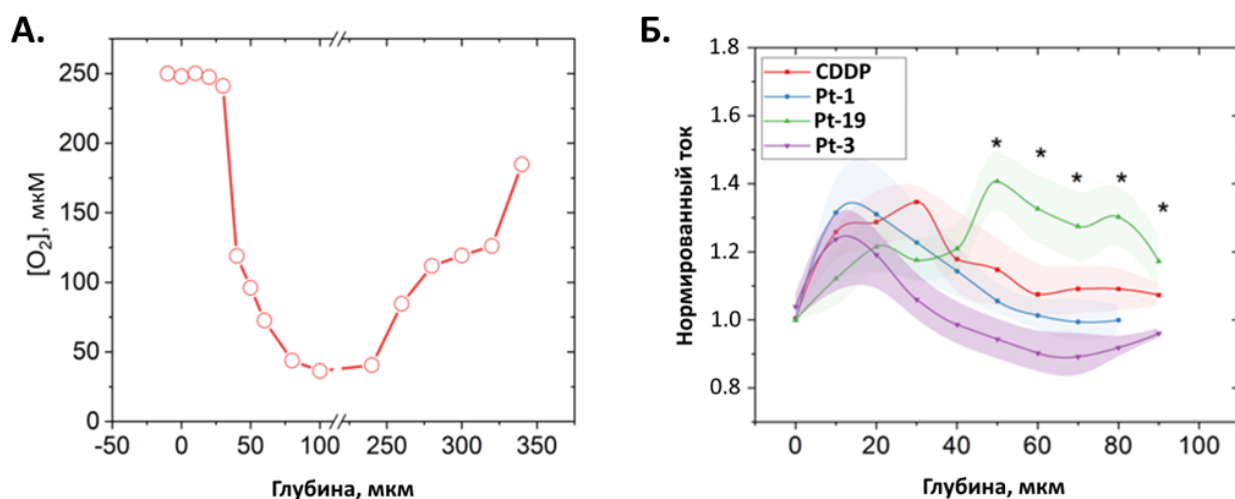


Рисунок 76. А. Профиль концентрации кислорода в сфероиде линии MCF-7. Б. Профиль распределения цисплатина измеренный по детектированию тока окисления Pt(II)/Pt(IV) в сфероиде линии MCF-7 после 6 часов инкубации с пролекарствами **Pt-1**, **Pt-3**, **Pt-19** и цисплатином. CDDP – цисплатин.

Пролекарство **Pt-19** с метронидазолом в аксиальном положении демонстрирует аномальный профиль распределения цисплатина в сфероиде по сравнению с соединениями сравнения (Рис. 76, Б): максимальное содержание цисплатина наблюдается на глубине 50 мкм, после чего следует плавное снижение концентрации. Принимая во внимание данные внутриклеточной стабильности пролекарства **Pt-19**, полученные методом XANES (Раздел 3.5., Табл. 21), разумно предположить, что пролекарство длительный период остаётся стабильным в

сфероиде, что способствует накоплению пролекарства в гипоксической области с последующим восстановлением и образованием цисплатина.

3.6.2. Исследование фотоиндуцированного высвобождения цисплатина и образования АФК в сфероидах, преинкубированных с фотоактивными пролекарствами Pt(IV).²¹

Пролекарство Pt(IV) **Pt-22** представляет собой пролекарство двойного действия, способное при облучении высвобождать цисплатин, а также образовывать АФК (см. разделы 3.4.2. и 3.4.3.). Для подтверждения двойного действия пролекарства Pt(IV) **Pt-22** непосредственно в трёхмерных клеточных сфероидах нами также был использован платинированный нанозлектрод, способный детектировать цисплатин и АФК непосредственно внутри клеток [221].

Для детектирования фотоиндуцированного образования АФК в сфероидах MCF-7 клеточные культуры инкубировались с пролекарством **Pt-22**, после чего в свежей среде помещались под микроскоп, затем под чашкой Петри включали источник синего света в «мигающем» режиме (Рис. 77, А). Образование H₂O₂ внутри сфероидов детектировали, измеряя силу тока при постоянном напряжении +800 мВ, при котором протекает реакция окисления перекиси водорода с образованием кислорода и протонов (H₂O₂ – 2e = 2H⁺ + O₂) (Рис. 77, А).

Под действием синего света пролекарство **Pt-22** образовывало АФК, на что указывает рост внутриклеточного тока при +800 мВ (Рис. 77, Б). Стоит отметить, что интенсивность сигнала АФК в сфероидах, инкубированных с **Pt-22**, выше, чем в сфероидах, инкубированных с ТАРФ **37**, на всей глубине измерений (Рис 77, В), что указывает на повышенную проникающую способность **Pt-22** в сфероидах MCF-7 в сравнении с ТАРФ. Таким образом, нами впервые была показана способность пролекарства Pt(IV) **Pt-22** с фотосенсибилизатором в аксиальном положении образовывать АФК под действием света в видимой области непосредственно в живой системе.

²¹ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования. Krasnovskaya, O. O.; Akasov, R. A.; **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Bublely, A. A.; Kuzmin, V. A.; Kostyukov, A. A.; Khaydukov, E. V.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Sypalov, S. A.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Vaneev, A. N.; Nikitina, V. N.; Skvortsov, D. A.; Ipatova, D. A.; Mazur, D. M.; Zyk, N. V.; Sakharov, D. A.; Majouga, A. G.; Beloglazkina, E. K. Photoinduced Reduction of Novel Dual-Action Riboplatin Pt(IV) Prodrug. **ACS Appl. Mater. Interfaces** **2023**, 15 (10), 12882–12894.

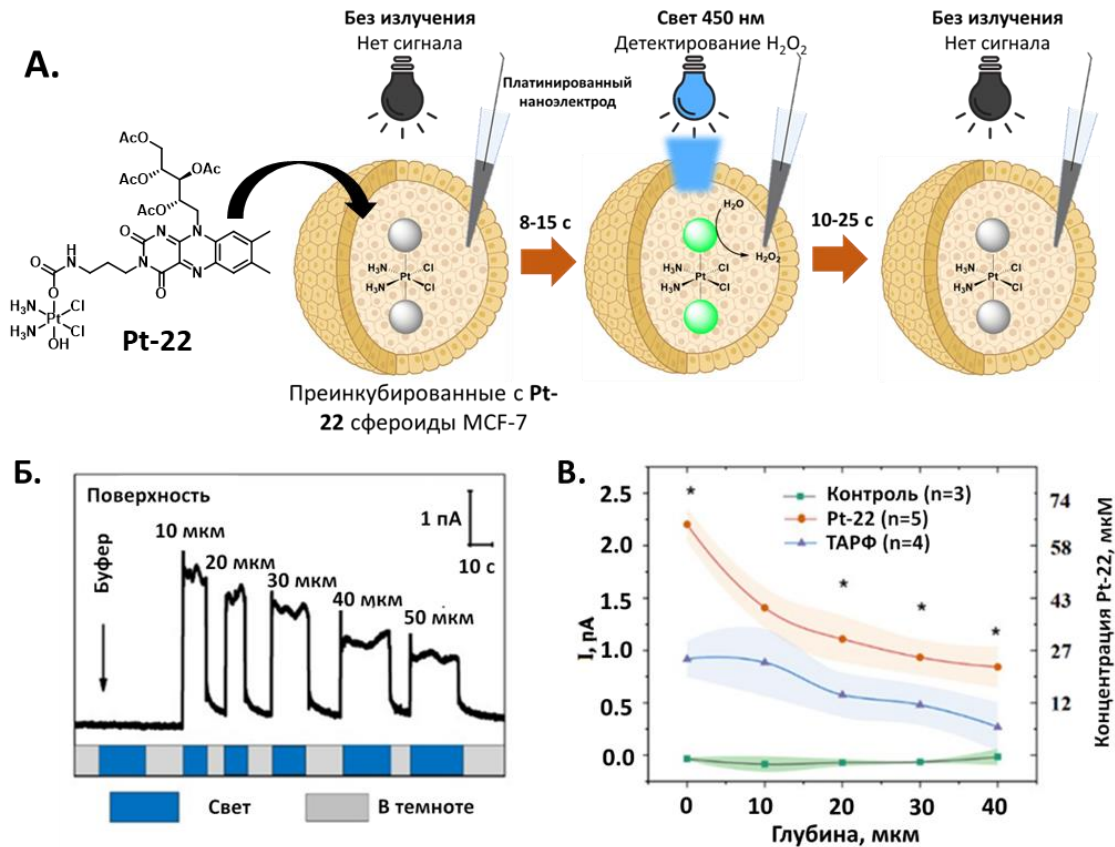


Рисунок 77. А. Общая схема эксперимента по детектированию АФК в **Pt-22**-преинкубированных сфероидов линии MCF-7. Б. Хроноамперограмма, демонстрирующая увеличение тока после облучения светом 450 нм сфероидов, предварительно инкубированных с **Pt-22**. В. Суммированные значения количества АФК на разной глубине сфероидов, преинкубированных с **Pt-22** и ТАРФ 37, а также контрольной группы (сфероиды без соединений). В скобках указано количество сфероидов в каждой группе измерений.

Особый интерес представляет изучение фотоиндуцированного высвобождения цисплатина непосредственно в сфероидов опухолевых клеток. Для детектирования цисплатина, образующегося в процессе фотовосстановления пролекарства **Pt-22**, сфероиды инкубировали с пролекарством в течение 1 часа, после чего с помощью нанозэлектрода в отсутствие излучения получали ЦВА на различной глубине сфероидов в диапазоне -0.5 – -0.8 В. После, сфероиды облучали синим светом (450 нм) и повторяли измерения.

На ЦВА, полученных в сфероидов до облучения, не наблюдается пик окисления Pt(II)/Pt(IV) (Рис. 78, А), следовательно, высвобождения цисплатина из пролекарства Pt(IV) **Pt-22** не происходит в течение 6 часов инкубации. Напротив, после облучения синим светом внутри сфероидов детектировался пик окисления цисплатина, указывающий на фотоиндуцированное восстановление **Pt-22** и высвобождение цисплатина из пролекарства (Рис. 78, Б). Наибольшая интенсивность сигнала наблюдается около поверхности сфероидов, с ростом глубины содержание цисплатина снижается (Рис. 78, В).

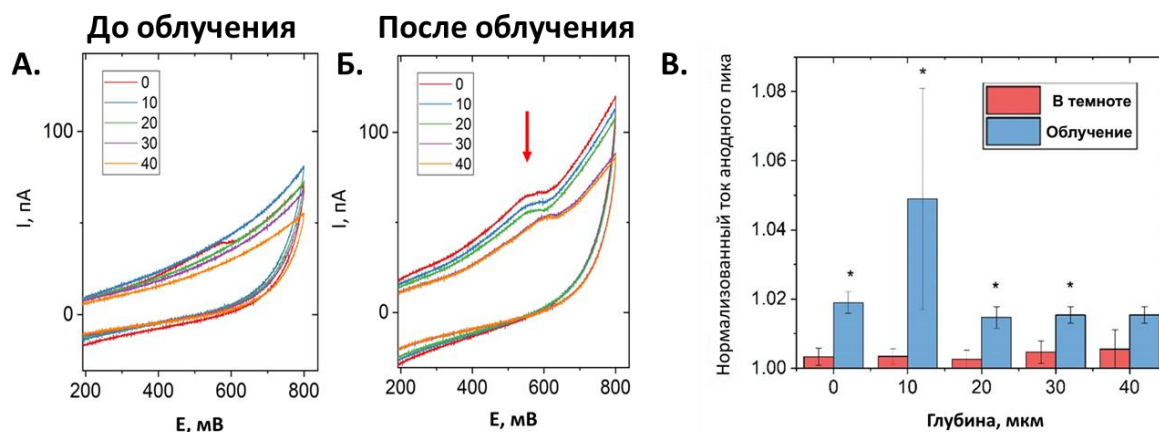


Рисунок 78. Детектирование цисплатина в сфероидов линии MCF-7, инкубированных с Pt-22. А. ЦВА на разной глубине сфероидов MCF-7, полученные в темноте. Б. ЦВА на разной глубине сфероидов MCF-7, полученные после облучения светом 450 нм. В. Суммарный ток окисления Pt(II)/Pt(IV) на разной глубине сфероидов MCF-7, полученный в темноте и после облучения сфероидов светом 450 нм.

Таким образом, впервые показана фотоиндуцированная активация пролекарства Pt(IV) при исследовании в реальном времени в трёхмерной клеточной опухолевой модели. Данные, полученные внутри трёхмерного клеточного сфероида, подтверждают двойное действие пролекарства Pt-22. Кроме того, впервые продемонстрировано одновременное высвобождение цисплатина и образование АФК (перекиси водорода) в индивидуальных клеточных сфероидов из одного пролекарства.

3.7. Исследование противоопухолевой эффективности пролекарств Pt(IV) *in vivo*.^{22,23}

3.7.1. Предварительное испытание противоопухолевой эффективности пролекарства Pt(IV) на опухоли ЕМТ-6 в мышах BALB/C

В качестве модели для изучения противоопухолевой эффективности пролекарства Pt-7 была выбрана мышьяная аденокарцинома молочной железы ЕМТ-6. Предварительно, для

²² Данная часть работы выполнена совместно с к.б.н. Гариной А.С., к.б.н., доц. Абакумовым М.А., НИТУ «МИСиС», д.м.н., проф. Штилем А.А., НМИЦ онкологии им.Н.Н.Блохина

²³ При подготовке данного раздела диссертации использованы следующие публикации автора, в которых, согласно «Положению о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.

Ломоносова», отражены основные результаты, положения и выводы исследования **Spector, D. V.**; Pavlov, K. G.; Akasov, R. A.; Vaneev, A. N.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Nikitina, V. N.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Skvortsov, D. A.; Roznyatovsky, V. A.; Ul, N. V.; Pikovskoi, I. I.; Sypalov, S. A.; Garanina, A. S.; Vodopyanov, S. S.; Abakumov, M. A.; Volodina, Y. L.; Markova, A. A.; Petrova, A. S.; Mazur, D. M.; Sakharov, D. A.; Zyk, N. V.; Beloglazkina, E. K.; Majouga, A. G.; Krasnovskaya, O. O. Pt(IV) Prodrugs with Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs in the Axial Position. *J. Med. Chem.* **2022**, 65, 8227–8244;

пролекарства **Pt-7** была определена максимально переносимая доза на мышах BALB/C, доза до 8 мг/кг переносилась животными без осложнений.

В предварительном испытании противоопухолевой эффективности *in vivo* была использована минимальная доза **Pt-7** и цисплатина 2 мг/кг. Комплексы вводили внутривенно один раз в три дня, в течение 20 дней. После 20 дней эксперимента терапия с пролекарством **Pt-7** привела к большему снижению объёма опухоли ЕМТ-6, чем терапия с цисплатином (Рис. 79, А). Кроме того, к 20 дню 4 из 8 мышей в группе цисплатина были выведены из эксперимента вследствие критического объёма опухоли, поэтому доля выживаемости среди мышей, которым вводили цисплатин, составила 50%, против 87,5% (одна из 8 мышей) в группе мышей, которым вводили **Pt-7** (Рис. 79, Б).

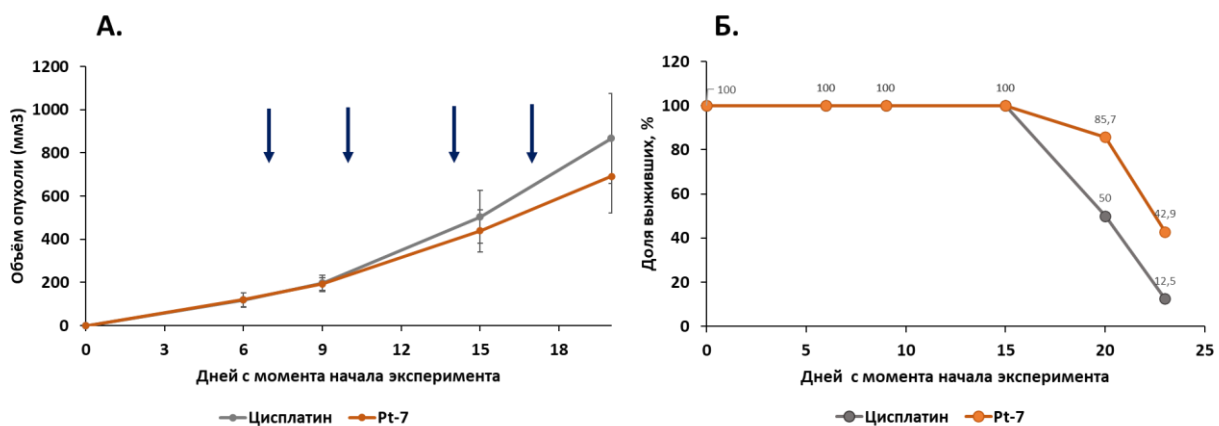


Рисунок 79. Предварительная оценка противоопухолевой эффективности пролекарства Pt(IV) **Pt-7** в сравнении с цисплатином. **А.** Рост объёма опухоли при введении 2 мг/кг цисплатина (n=8) или пролекарства **Pt-7** (n=7). Синими стрелками указаны дни введения комплексов Pt. **Б.** Доля выживших мышей в группах цисплатина и пролекарства Pt(IV) **Pt-7**.

Таким образом, при терапии с использованием минимальных доз 2 мг/кг цисплатина и пролекарства **Pt-7**, пролекарство **Pt-7** продемонстрировало повышенную в сравнении с цисплатином противоопухолевую эффективность.

3.7.2. Детектирование цисплатина в опухолях ЕМТ-6 с использованием платинированного нанозлектрода.²⁴

Критически важным показателем эффективности пролекарств Pt(IV) *in vivo* является их способность достигать опухоли в виде комплекса Pt(IV) и способствовать накоплению цисплатина в опухолевых тканях. Пролекарства, которые претерпевают быстрое высвобождение в кровотоке, достигают опухоли в виде комплекса Pt(II), поэтому их эффективность и

²⁴ Данная часть работы выполнена совместно с асп. Ваневым А.Н. кафедры химической энзимологии МГУ, к.ф.-м.н. Ерофеевым, к.ф.-м.н. Горелкиным П.В. НИТУ «МИСиС»

проникающая способность в опухоли соответствует таковой для цисплатина. Для оценки способности пролекарств **Pt-4** и **Pt-7** доставлять цисплатин в опухоль EMT-6 мышей BALB/C, количество цисплатина в опухолях детектировали с помощью наноэлектрода (Рис. 80, А).

Для определения профиля распределения цисплатина в опухоли EMT-6 было использовано два режима введения комплексов Pt: внутривенный и непосредственно в опухоль. Измерения проводили через 24 часа после внутривенного, и через 2 часа после внутриопухолевого введения. По окончании выбранных интервалов времени после инъекции мышь BALB/C седировали, после чего участок кожи с опухолью отделяли от тканей. Измерения тока окисления Pt(II)/Pt(IV) проводились непосредственно в опухолевой ткани (Рис. 80, А). Платинированным наноэлектродом проникали в опухоль, регистрировали ЦВА, после чего глубину погружения электрода изменяли, с шагом 100 мкм. Таким образом был получен профиль распределения цисплатина на различных глубинах опухоли до 1000 мкм.

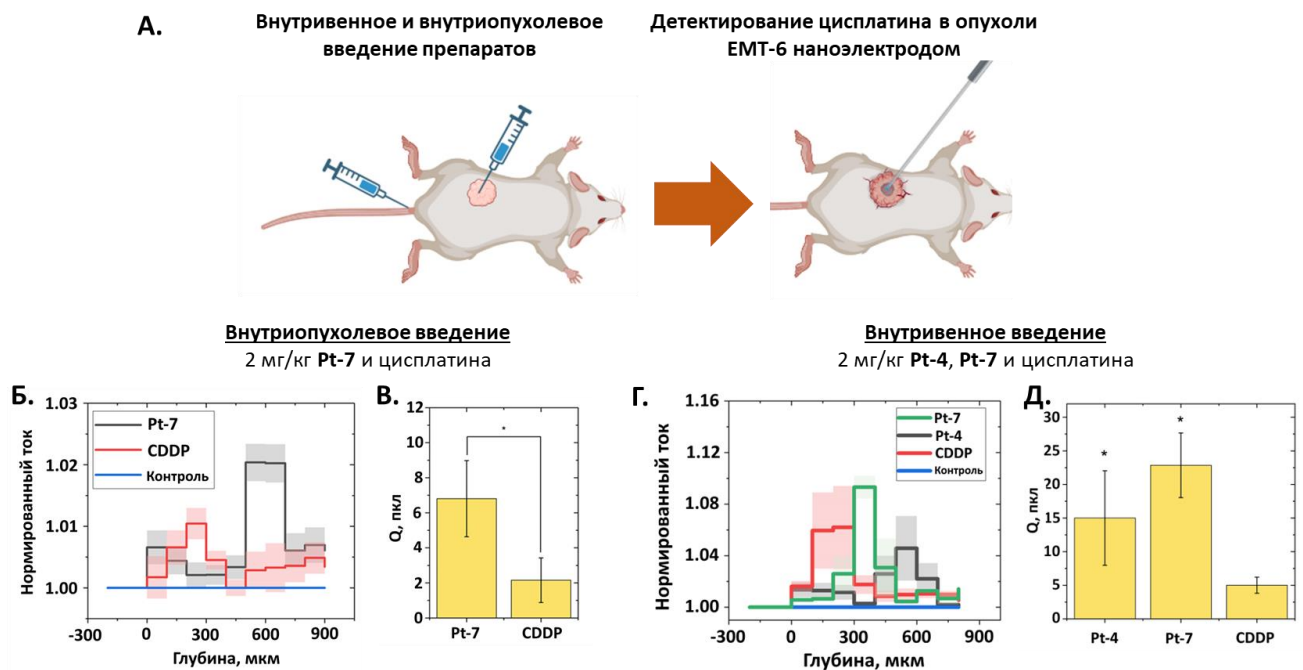


Рисунок 80. Детектирование цисплатина в опухоли EMT-6 мышей BALB/C. А. Общая схема режимов введения комплексов Pt. Б. Зависимость тока окисления Pt(II)/Pt(IV) от глубины опухоли EMT-6 при внутриопухолевом введении цисплатина и пролекарства Pt-7. В. Суммарный ток окисления Pt(II)/Pt(IV) в опухоли EMT-6 при внутриопухолевом введении цисплатина и пролекарства Pt(IV) Pt-7. Г. Зависимость тока окисления Pt(II)/Pt(IV) от глубины опухоли EMT-6 при внутривенном введении цисплатина (красная линия), пролекарства Pt(IV) Pt-4 (серая линия) и пролекарства Pt(IV) Pt-7 (зеленая линия). Д. Суммарный ток окисления Pt(II)/Pt(IV) в опухоли EMT-6 при внутривенном введении цисплатина, пролекарства Pt(IV) Pt-4 и пролекарства Pt(IV) Pt-7. CDDP – цисплатин.

После внутриопухолевого введения пролекарства **Pt-7** пик окисления Pt(II)/Pt(IV) наблюдается в опухоли до вплоть до глубины 600 мкм (Рис. 80, Б). Примечательно, после введения пролекарства **Pt-7** в опухоли было обнаружено больше цисплатина, чем после введения

эквивалентной дозы цисплатина, что указывает на способность пролекарства **Pt-7** выступать в качестве эффективного средства доставки цисплатина на глубину опухолей (Рис. 80, В).

Пролекарство **Pt-7** лучше, чем **Pt-4** накапливается в опухоли ЕМТ-6 после внутривенного введения; таким образом, проникающая способность пролекарств **Pt-7** и **Pt-4** в опухоли коррелирует с наблюдаемой в сфероиде МСF-7 (Рис. 80). Полученные результаты указывают на то, что пролекарства **Pt-4** и **Pt-7** являются эффективными средствами доставки цисплатина в опухоль. Профиль распределения цисплатина в опухоли после введения пролекарств **Pt-4** и **Pt-7** значительно отличается от профиля распределения эквивалентной дозы цисплатина, следовательно, пролекарства способны достичь опухоли в виде пролекарства, где проникают на глубину опухоли и высвобождают активный метаболит.

Таким образом, нами впервые был применён электрохимический метод детектирования цисплатина непосредственно *in vivo* в опухолях ЕМТ-6 мышей BALB/С. Было продемонстрировано, что пролекарства Pt(IV) способны высвободить цисплатин на глубине опухолей ЕМТ-6, при этом пролекарство Pt(IV) **Pt-7** обладает большей биодоступностью и доставляет больше цисплатина в опухоли, чем цисплатин.

4. Экспериментальная часть

4.1. Общие сведения

В данной работе использовались коммерчески доступные реагенты (Aldrich, abcr, Alfa, AKSci), которые были использованы без предварительной очистки. Используемые в работе растворители были очищены и абсолютированы по методикам, приведенным в руководствах [223,224].

Контроль над протеканием реакций и подтверждение индивидуальности продуктов осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на закрепленном слое силикагеля (Silufol). Препаративная колоночная хроматография выполнялась с использованием силикагеля марки “Acros” (60–200 меш).

Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{195}Pt были зарегистрированы на приборах Bruker-Avance и Agilent (с рабочей частотой 400 МГц для ^1H , 101 МГц для ^{13}C и 86 МГц для ^{195}Pt). В качестве растворителя использовали дейтерохлороформ (CDCl_3), дейтерометанол (CD_3OD) и диметилсульфоксид-d6 (ДМСО-d6). Химические сдвиги приведены в миллионных долях по шкале δ относительно гексаметилдисилоксана как внутреннего стандарта.

Масс-спектры высокого разрешения HRMS регистрировали на масс-спектрометре TripleTOF 5600+ (AB Sciex, Канада), оснащенном источником ионизации электрораспылением TurboIon Spray. Напряжение при распылении: ± 5.5 кВ, температура капилляра 300°C . Потенциал декластеризации: 90 В. Масс-спектры записывали в диапазоне m/z 150–3000 Да; время накопления 250 мс.

ИК-спектры регистрировали на ИК-спектрометре с преобразованием Фурье Thermo Nicolet ISFT-IR (США).

Количественное определение платины проводили на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Aurora Elite (Bruker, Бремен, Германия). Использовались следующие параметры масс-спектрометра: ВЧ-мощность: 1.45 кВт, глубина пробоотбора: 5.5 мм, поток плазмы: 17.0 л/мин, вспомогательный поток: 1.75 л/мин, газ оболочки: 0.20 л/мин, поток распылителя: 0.98 л/мин, время выдержки: 10 мс. Детектирование проводилось с использованием ионов ^{195}Pt для платины и ^{209}Bi для внутреннего стандарта. Управление масс-спектрометром, сбор и обработка данных осуществлялись с помощью программного обеспечения Quantum (Bruker, Бремен, Германия). Калибровка масс-спектрометра (положение горелки, форма и разрешение пика, напряжение детектора) проводилась в автоматическом режиме путем подачи в спектрометр ИСП-МС

настроечного раствора (AnalytikJena, Jena, Германия), содержащего Be, Mg, Co, In, Ba, Pb, Th, Ce и Tl. Концентрация каждого элемента составляла 1 мкг/л.

Определение чистоты пролекарств Pt(IV) с помощью ВЭЖХ, а также определение липофильности пролекарств Pt(IV) проводили с использованием системы ВЭЖХ LC-30 (Shimadzu, Киото, Япония), состоящей из вакуумного дегазатора, двух хроматографических насосов LC-30AD, автосамплера SIL-30AC, термостата колонки STO-30 и диодно-матричного детектора СПД-М20А. Хроматографическое разделение проводили в изократическом режиме на колонке Acclaim RSLC 120 C18 (Dionex, Sunnyvale, США; 3.0 × 75 мм, размер частиц 3 мкм с октадециловой неподвижной фазой) при 40 °С. Смесь воды/метанола использовалась в качестве подвижной фазы, точные условия для каждого пролекарства Pt(IV) приведены в Табл. 22. Скорость подвижной фазы составляла 0.4 мл/мин, объем вводимой пробы – 5 мкл. Детектирование осуществляли в диапазоне длин волн 220–260 нм. Управление устройством, сбор и обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения Xcalibur (Thermo, Waltham, США).

Таблица 22. Варьирование содержание метанола в подвижной фазе и соответствующие значения $\log k$ для пролекарств **Pt-5-Pt-7**, **Pt-9-Pt-14**

Пролекарство Pt(IV)	% метанола в подвижной фазе	Log k
Pt-5	40%	1.03300026
	50%	0.56009549
	60%	0.116281417
	70%	-0.293476858
Pt-6	50%	1.106053392
	60%	0.611203371
	70%	0.179160491
Pt-7	50%	1.020826328
	60%	0.519436499
	70%	0.060366444
Pt-9	100%	-0.018885344
	95%	0.384806993
	90%	0.812913357
	85%	1.266171626
Pt-10	100%	0.013643881
	90%	0.951151432
	80%	1.956903761
Pt-11	100%	-0.014086461
	90%	0.91505164
	80%	1.900541439
Pt-12	10%	0.673069434
	15%	0.394881584
	20%	0.205546238
Pt-13	60%	0.342842492

Pt-14

55%	0.584379348
50%	0.84509804
45%	1.131359258
100%	-0.20969986
90%	0.583174647
80%	1.344935481

ВЭЖХ анализ проб при исследовании фотоконтролируемой активации пролекарств Pt(IV) был проведён с использованием системы UHPLC UltiMate 3000 (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) в сочетании с масс-спектрометром TSQ Endura (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) с источником ионизации электрораспылением, работающим в режиме положительных ионов. Хроматографическое разделение проводили на колонке XBridge Peptide BEH C18 (Waters, Milford, MA, США) 50 × 2,1 мм, 5 мкм в градиентном режиме. Состав элюента: деионизированная высокочистая Milli-Q H₂O (с 0.1% муравьиной кислоты), метанол (с 0.1% муравьиной кислоты), градиентная программа: 0–1 мин 20% метанол, 1–7 мин увеличение содержания метанола до 90%, 7–12 мин 90% метанол, 12–15 мин снижение содержания метанола до 20%. Скорость потока 0.4 мл/мин, температура колонки 25 °С, объем инъекции 25 мкл. Все растворители имели степень чистоты для ВЭЖХ. Параметры источника ионов: ионизация электрораспылением в положительном режиме, расход оболочки установлен на 45 усл. ед., расход вспомогательного и продувочного газа – 13 и 1 ед. соответственно. Температура капилляра была установлена равной 342°С, а напряжение распыления - 3,5 кВ.

Все электрохимические измерения по детектированию цисплатина или АФК проводили в биологических образцах (клетках, клеточных культурах сфероидов, *in vivo* в опухолях мышей BALB/C) при комнатной температуре, используя двухэлектродную конфигурацию с хлорсеребряным электродом в качестве вспомогательного электрода (серебряная проволока диаметром 0.3 мм, покрытая AgCl); все потенциалы указаны относительно эталона Ag/AgCl. Вольтамперометрические эксперименты *in vitro/in vivo* проводили при комнатной температуре (24 ± 2 °С) внутри клетки Фарадея. Фарадеев ток измеряли с помощью патч-клеммы MultiClamp 700B (Molecular Devices, США). Передача и запись измерений на компьютер осуществлялись с помощью преобразователя ADC-DAC Axon Digidata 1440B (Molecular Devices, США) и программного обеспечения pClamp 10. Для питания наносенсора использовался микроманипулятор PatchStar (Scientifica, Великобритания). Все манипуляции проводили на столике оптического инвертированного микроскопа (Nikon, Япония). Текущие сигналы были отфильтрованы с использованием фильтров нижних частот 0.5 кГц. Платинированный нанозлектрод готовили на основе коммерчески доступных дискообразных углеродных нанозлектродов (УНЭ), выделенных из кварца (ICAPPIC Limited, Великобритания) диаметром 50–150 нм.

Циклическая вольтамперометрия. ЦВА проводили на потенциостате/ гальваностат PalmSens 3 (PalmSens, Нидерланды) при комнатной температуре со скоростью сканирования 100 мВ/с. Трехэлектродная ячейка содержала рабочий (диаметром 2.0 мм) и вспомогательный стеклоуглеродные электроды, а также электрод сравнения Ag/Ag⁺. Поверхности стеклоуглеродных электродов ($r = 1$ мм) в тефлоновых корпусах перед каждым измерением полировали с помощью Al₂O₃ (10 и 0.05 мкм) и влажной прокладкой из микрофибры в дистиллированной воде. Между отдельными этапами полировки электроды промывали дистиллированной водой. Для проведения измерений электрохимическую ячейку заполнили смесью 3:1 смесью ДМСО и H₂O с растворенным триэтилбензиламмония хлоридом (TEBAC) (0.1 моль/л) в качестве фонового электролита. Отделение рабочего электрода было заполнено раствором (1–2 мМ) исследуемого соединения, приготовленного на том же фоне электролите. Перед измерением кювету продували аргоном в течение 3–5 мин, в фоновый электролит добавляли следовое количество ферроцена в качестве внутреннего стандарта в контрольном эксперименте.

Исследование стабильности пролекарств Pt(IV) в водной среде.

Исследование стабильности с использованием ВЭЖХ. Пролекарства Pt(IV) растворили в аликвоте ДМСО до концентрации 2×10^{-2} М, затем раствор разбавили дистиллированной водой в 20 раз. На протяжении эксперимента раствор перемешивали в темноте и в каждый момент времени отбирали три аликвоты по 25 мкл.

Исследование стабильности с использованием спектрофотометрии. Пролекарства платины **Pt-6**, **Pt-7**, **Pt-11**, **Pt-13** инкубировали в 90% PBS и 10% ДМСО (4.8×10^{-5} , 4.8×10^{-5} , 3.57×10^{-5} и 7.14×10^{-5} М соответственно) при 37 °С. Пролекарства **Pt-7** и **Pt-10** инкубировали в присутствии 0.8% Tween 20 и 0.2% F-127. Поглощение полученных растворов измеряли в определённые промежутки времени.

Исследование фотовосстановления пролекарств Pt(IV). Пролекарства Pt(IV) растворили в ДМСО для достижения концентрации 2×10^{-2} М, затем раствор разбавили дистиллированной водой (для **Pt-22**) или смесью метанол:вода 18:1 (для **Pt-26**) в 20 раз для получения 10^{-3} М раствора пролекарств Pt(IV). Для экспериментов, проведённых в присутствии восстановительного агента, аликвоту комплекса Pt(IV) в ДМСО разбавили 5×10^{-3} М раствором аскорбата натрия в воде (для **Pt-22**) или в смеси метанол:вода 18:1. Для экспериментов, проведенных в абсолютном ДМСО, **Pt-22** растворили в аликвоте ДМСО для получения желаемой концентрации. Раствор пролекарства Pt(IV) в прозрачной вials (диаметр = 1 см) поместили под излучение синего света (450 нм) на таком расстоянии от лампы, чтобы удельная

мощность излучения составляла 2 или 8 мВт/см² для **Pt-22** и 32 мВт/см² для **Pt-26** в соответствии с законом обратных квадратов:

$$\frac{W_1}{W_2} = \frac{R_2^2}{R_1^2}$$

, где W_1 и W_2 – мощность излучения на различных расстояниях R_1 и R_2 между лампой и образцом, соответственно. В заданные моменты времени отбирали аликвоту облучаемого раствора (50 мкл), разбавляли в 10 раз метанолом. ВЭЖХ-анализ полученных проб проводили, повторяя анализ каждой пробы два раза. Содержание исследуемого пролекарства Pt(IV) или цисплатина в пробе определяли по площади пика исследуемого соединения на хроматограмме, количество комплекса Pt(IV) в заданный момент времени определяли относительно содержания комплекса Pt(IV) в момент времени $t=0$ (непосредственно перед началом облучения).

Определение липофильности пролекарств Pt(IV) методом ВЭЖХ. Определение коэффициента липофильности каждого соединения проводили, варьируя состав подвижной фазы таким образом, чтобы времена удерживания t_R были приемлемыми (аналит не элюировался с фронтом и не оставался на колонке длительное время). После определения фактора удерживания аналита $\log k'$:

$$k' = (t_R - t_0)/t_0, \text{ где } t_0 - \text{мёртвое время колонки}$$

при различных составах подвижной фазы ϕ (спиртовой доли) строили зависимость логарифма этого фактора от содержания органического модификатора (спирта) в подвижной фазе:

$$\log k' = \log k'_0 - S\phi, \text{ где } S - \text{параметр силы растворителя.}$$

Экстраполяция на ось Y использовалась для определения логарифма коэффициента удерживания при 100% содержании воды, который, в свою очередь, характеризует липофильность аналита.

Цитотоксичность в монослойной клеточной культуре (МТТ тест). Анализ цитотоксичности проводили на автоматической станции Janus (Perkin). Для этого в 96-луночные планшеты добавляли суспензию клеток (2500 клеток для НЕК-293Т, МСF-7 и А549 и 4000 клеток для VA-13) в 140 мкл среды DMEM/F12. Клетки инкубировали при 37°C в инкубаторе с CO₂ в течение 24 часов. Исходные растворы соединений в ДМСО (10 мМ) готовили, а затем разбавляли средой непосредственно перед экспериментом. Максимальная концентрация соединений составляла 100 мкМ, а концентрация ДМСО не превышала 1% по объему. Все эксперименты проводились в трёх биологических репликах. Через 72 часа к клеткам добавляли реагент МТТ (Рапесо) до конечной концентрации 0.5 г/л и инкубировали в течение 2 часов при 37°C в CO₂-инкубаторе. Далее, среду с реагентом МТТ декантировали и добавляли 140 мкл ДМСО,

инкубировали не менее 15 минут при комнатной температуре. с использованием орбитального шейкера для растворения формазана, образовавшегося при восстановлении реагента МТТ. Оптическое поглощение формазана измеряли при длине волны 565 нм с помощью планшет-ридера VICTOR X5. Нелинейная регрессионная модель, в которой оценивались четыре параметра (нижний предел, верхний предел, наклон и ED50), была найдена для каждого соединения с использованием программных пакетов drc и drexplorer для RStudio.

Цитотоксичность в монослойной клеточной культуре при облучении. Линии клеток человека MCF7 и VA13 инкубировали в среде DMEM/F-12, содержащей 10% FBS, 50 ед/мл пенициллина и 0.05 мг/мл стрептомицина (все продукты Thermo Fisher Scientific, США) при 37°C в 5% CO₂. Цитотоксичность оценивали с использованием реагента МТТ с некоторыми модификациями. 5000 клеток на лунку для клеточных линий VA-13 и MCF-7 высевали в 100 мкл среды DMEM/F12 (Gibco, США) в 96-луночный планшет и инкубировали при 37 °C, 5% CO₂ в течение 18 часов перед внесением соединений. Затем добавляли по 11 мкл каждого разведения в среде (все исходные растворы готовили на деионизированной стерильной воде). Вносили каждое соединение в конечных концентрациях 3125–200 мкМ (восемь разведений) в трех биологических повторах. Клетки инкубировали с соединениями 1 или 4 часа в темноте. После инкубации среду меняли на тот же объем свежей среды DMEM/F12. Соответствующие лунки облучали синим светом с длиной волны 450 нм или красным светом с длиной волны 660 нм (АФС аппарат для физиотерапии, ООО «Полироник», Россия). Для облучения каждый планшет делили на квадраты (4x4 лунки) и каждый квадрат облучали в течение 30 секунд светом 450 нм, что соответствует 0.4 Дж (диаметр светового пятна 6 см, лампа с удельной мощностью 13 мВт/см²) или 10 минут светом 660 нм (диаметр светового пятна 6 см, лампа с удельной мощностью 13 мВт/см²). Затем клетки инкубировали в течение 48 часов в темноте. По окончании инкубации в среду добавляли МТТ (ООО «ПанЭко», Россия) (до 0.5 мг/мл), инкубировали клетки в течение 2 часов, после чего среду удаляли и добавляли 100 мкл ДМСО. Количество МТТ, восстановленного клетками до его синего производного формазана, измеряли спектрофотометрически при 565 нМ с использованием планшет-ридера и нормализовали к значениям для клеток, инкубированных без соединений. Значения IC₅₀ рассчитывали с помощью программного обеспечения «GraphPad Prism 5» (GraphPad Software, Inc., Сан-Диего, Калифорния).

Накопление и распределение платины в клетках.

Подготовка и инкубация клеток. Клетки аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 (или A549 для эксперимента с Pt-22) инкубировали в среде DMEM/F12 (Gibco, #31331028), дополненной 10% FBS (Gibco, #10270106), при температуре 37°C в атмосфере 5% CO₂. Клетки MCF-7 высевали в планшеты T25 (2 × 10⁵ клеток/1 мл, 5 мл/планшет, три технические реплики).

После 24 часов инкубации добавляли по 5 мкл исходных растворов цисплатина и пролекарств Pt(IV) **Pt-4**, **Pt-7**, **Pt-11**, **Pt-14** и **Pt-19** (10 мкМ в ДМСО), или цисплатин и **Pt-22** до концентрации 30 мкМ, в качестве контроля использовали ДМСО. Клетки инкубировали в течение 3.5 часов для **Pt-4**, **Pt-7**, **Pt-11** и **Pt-14**, 24 часов для **Pt-19**, 2 и 24 часа для эксперимента с **Pt-22**. После обработки клетки промывали PBS, трипсинизировали и собирали. После этого рассчитывали концентрацию клеток с помощью автоматического счетчика клеток EVE (NanoEntek, Корея).

Исследование внутриклеточного накопления платины под действием облучения. После инкубации клеток A549 с **Pt-22** или цисплатином среду заменили на новую среду Fluor DMEM (Gibco) без индикатора фенолового красного, содержащую 10% FBS (Gibco), 2 мМ Glutamax (Gibco) и 1x PenStrep (10000:10000, Gibco). Затем клетки облучали синим светом с длиной волны 450 нм в течение 60 с. Доза облучения составляла 0.8 Дж/см² (диаметр светового пятна d 6 см, расстояние l от светодиода до поверхности стола 5 см) с использованием физиотерапевтического аппарата АФС (ООО «Полироник», Россия). После облучения клетки инкубировали при 37°C и атмосфере 5% CO₂ в течение 1 часа, затем трипсинизировали и подсчитывали концентрацию клеток с помощью камеры Горяева.

Процедура субклеточного фракционирования. Образцы клеток подвергали трем циклам замораживания/оттаивания при -80°C, обрабатывали 200 мкл PBS с добавлением 0.1 М NaOH и 0.05% Tween 20 и энергично перемешивали на вортексе для лизирования клеток. Для выделения ядерной фракции гомогенат центрифугировали при 600g в течение 15 минут при 4°C. Затем надосадочную жидкость осторожно переносили в новую пробирку и центрифугировали при 15 000g в течение 15 мин при 4 °C для выделения митохондриальной фракции. Супернатант представлял собой цитозольную фракцию, которую аккуратно переносили в другую пробирку. Все три фракции обрабатывали высокочистой азотной кислотой (100 мкл для ядерной и митохондриальной фракций и 300 мкл для цитозольной фракции) в течение не менее 48 часов до полного растворения.

ИСП-МС анализ. Количественное определение платины проводилось по методу внешнего стандарта. Для построения калибровочных зависимостей использовались стандартные растворы платины Platinum Standard for ICP-MS (Sigma-Aldrich, Buchs, Switzerland) с концентрациями 0.01, 0.1, 1.0 и 10 мкг/л. В качестве внутреннего стандарта использовался стандартный раствор висмута Custom Standard (AnalytikJena, Jena, Германия) с концентрацией висмута 1 мкг/л, который вводился в спектрометр по второй линии в течение всего периода анализа. Пробоподготовка проводилась следующим образом. Аликвоту пробы объемом 50 мкл разбавляли до 10 мл деионизированной водой. Затем проба вводилась в спектрометр, и

определялась концентрация платины. Стандартное отклонение рассчитывалось на основе пяти измерений.

Подготовка высушенных клеток A549, инкубированных с пролекарствами Pt(IV) для получения спектров XANES. Клетки карциномы легкого человека A549 высевали в культуральные колбы T25 (700 000 клеток на колбу). После инкубации в течение 40 часов и достижения 80% слияния добавляли 10 мМ растворы пролекарств Pt(IV) в ДМСО. Для эксперимента использовали короткое (2/3 часа) или длительное (20/24/26 часов) время инкубации клеток с пролекарствами Pt(IV). После инкубации среду, содержащую соединения, удаляли, а клетки тщательно промывали ледяным раствором PBS (pH 7.5, SIGMA) для удаления остаточной среды. Клетки трипсинизировали и центрифугировали при 2500 об/мин в течение 3 минут, удаляли супернатант, ресуспендировали в растворе ацетата аммония (100 мМ, 5 мл) и повторно центрифугировали. Наконец, клеточный осадок промывали 70% раствором этанола, получая сухой клеточный осадок. Образцы немедленно лиофилизировали в течение 24 часов и хранили в эксикаторе до анализа. Во время анализа лиофилизированные клетки упаковывали в держатель образца из поликарбоната, а открытую поверхность закрывали окном с помощью каптоновой ленты (Karton) для анализа XANES. Спектры XANES L3-края платины регистрировали в режиме детектирования сигнала флуоресценции.

Спектры XANES твёрдых образцов координационных соединений Pt(II) и Pt(IV) и высушенных клеток A549. В ходе эксперимента были получены спектры XANES L3 края платины. Все спектры были измерены в режиме регистрации сигнала флуоресценции с использованием детектора Amptek FASTSDD. Спектр детектора Amptek нормировали по току ионизационной камеры, которая использовалась в качестве детектора падающего на образец рентгеновского излучения. Для монохроматизации пучка использовался щелевой монохроматор на основе монокристалла кремния с отражающей поверхностью со стандартным энергетическим разрешением, достигающим $\Delta E/E \sim 2 \times 10^{-4}$. Калибровку по энергии проводили путем измерения спектра платиновой фольги и калибровку монохроматора по максимуму спектра. Для получения удовлетворительного отношения сигнал/шум для каждого образца было измерено 16 спектров образцов клеток, каждое измерение занимало около 30 минут. Для твердых комплексов Pt(II) и Pt(IV) регистрировали по три спектра для каждого образца. В программе Athena (Iffefit) спектры усреднялись и нормализовались. Погрешность измерения оценивается как отношение квадратного корня из суммарного накопленного сигнала к суммарному полезному сигналу. Для экспериментальных данных ошибка составляет не более 5% от нормированного спектра поглощения. Для твердых образцов Pt(II) и Pt(IV) погрешность измерения была незначительной.

Измерения флуоресценции. Спектры флуоресценции пролекарств Pt(IV) **Pt-22**, **Pt-26**, **Pt-28**, **Pt-30**, **Pt-32** и **Pt-33** и соответствующих аксиальных лигандов **37**, **46**, **50**, **54**, **56**, **69**, **70** снимали на флуориметре FluoTime 300, оснащённом модулем NIR PMT H10330-45 (Hamamatsu, Япония). В качестве источника возбуждения использовалась ксеноновая лампа. Время жизни флуоресценции соединений измеряли путем коррелированного по времени подсчета одиночных фотонов с использованием флуориметра FluoTime 300 (PicoQuant). Возбуждение на длине волны 450 нм осуществляли лазерной головкой LDH-P-C-450, а эмиссию регистрировали в индивидуальном максимуме для каждого соединения. Частота импульсов возбуждения была установлена равной 20 МГц для всех исследуемых соединений; Полоса пропускания возбуждения/детектирования 3 нм/2 нм, ширина бина 4 пс. В каждом случае функцию отклика прибора (IRF) регистрировали на длине волны возбуждения с помощью датчика рассеяния Ludox. Графики остатков показали случайное распределение во всех случаях. Затухания флуоресценции подгоняли с использованием программного обеспечения FluoFit (PicoQuant GmbH).

Флэш-фотолиз. Спектры триплет-триплетного поглощения и кинетику распада триплетных состояний пролекарств Pt(IV) **Pt-22**, **Pt-32** и **Pt-33**, а также соответствующих лигандов **37**, **69** и **70** измеряли на установке импульсного фотолиза (длина оптического пути 20 см, возбуждение Хе-лампой через многополосные сине-зеленые светопоглощающие фильтры в области 400–510 нм., 80 Дж, 20 мкс). Сигналы регистрировали на фотоумножителе ФЭМ-38 (МЭЛЗ, Россия) в области 400–800 нм. Перед использованием раствора дегазировали. Концентрации красителей, использованных при ламповом импульсном фотолизе, составляли около $2 \cdot 10^{-6}$ моль/л в метаноле.

Определение квантового выхода синглетного кислорода. Квантовый выход синглетного кислорода пролекарств Pt(IV) **Pt-22**, **Pt-32** и **Pt-33**, а также соответствующих лигандов **37**, **69** и **70** определяли в растворах EtOH концентрации $2 \cdot 10^{-6}$ моль/л, используя Ru(Bpy)₃ в EtOH в качестве раствора сравнения ($\Phi\Delta[\text{Ru}(\text{Bpy})_3] = 0.57$)³. и 1330 нм. Полную интенсивность фосфоресценции синглетного кислорода рассчитывали путем интегрирования полосы излучения с пиком при 1278 нм. Квантовые выходы синглетного кислорода ($\Phi\Delta_s$) определяли по уравнению $\Phi\Delta_s = 0.57(I_{\Delta s}/I_{\Delta r})$, где $I_{\Delta s}$ и $I_{\Delta r}$ — интегральные интенсивности эмиссии синглетного кислорода при 1230–1330 нм для испытуемого соединения и эталона соответственно. Измерения $\Phi\Delta$ проводили трижды (стандартное отклонение <15%).

Формирование трёхмерных клеточных культур (сфероидов). Формирование опухолевых сфероидов выполняли с использованием метода жидкого наложения при помощи пластин, покрытых агарозой, как описано ранее [225,226]. Вкратце, 1.5 мас.% агарозы в PBS (pH

7.4) нагревали на водяной бане в течение 15 минут. Затем в каждую лунку 96-луночного планшета с плоским дном в стерильных условиях добавили по 50 мкл расплавленной агарозы. Планшеты с агарозой охлаждали до комнатной температуры в течение 15 минут. Клетки высевали на покрытые агарозой планшеты (10 000 клеток/лунку, 100 мкл среды на каждую лунку) и инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 72 часов для получения сфероидов. Формирование опухолевых сфероидов наблюдали с помощью инвертированного светового микроскопа.

Подготовка платинированного электрода. Углеродные наноэлектроды (УНЭ) были приготовлены в соответствии с описанными ранее протоколами [227,228]. Вкратце, платиновый электрод представляет собой нанопипетку, заполненную углеродом. Первоначально УНЭ помещали в 1 мМ ферроценметанол в растворе PBS для проверки их работоспособности для дальнейшей работы. Начальный радиус электрода r оценивали по стационарному току i_{ss} при 0.4 В в зависимости от Ag/AgCl в 1 мМ ферроценметаноле в PBS по формуле $i_{ss} = 4.64 \cdot r \cdot F \cdot c \cdot D$, где F – постоянная Фарадея, c — концентрация, D — коэффициент диффузии ($7.8 \times 10^{-6} \text{ см}^2\text{с}^{-1}$ для FcMeOH).

Адгезия платины к поверхности угольных электродов происходит с помощью специальных полостей, полученных с помощью электрохимического травления (рис. 81 А, В). Электрохимическое травление проводили с помощью ЦВА от 0 до 2.2 В в 0.1 М КОН и 10 мМ KCl в течение обычно 15–40 циклов до образования нанополостей. В результате травления на вольтамперограмме появляются два пика, соответствующие полному окислению FcMeOH и восстановлению ферроцена внутри нанополости. Затем была нанесена платина для повышения электрохимической активности поверхности (рис. 81, С). Электрохимическое осаждение платины осуществляли путем циклирования от 0 до -0.8 В со скоростью сканирования 200 мВ с⁻¹ в течение четырех-пяти циклов в 2 мМ растворе H₂PtCl₆ в 0.1 М соляной кислоте. Для оценки отложения платины на торце наноэлектрода были получены микрофотографии с помощью сканирующей электронной микроскопии (детектор обратного рассеяния). Диаметр платинированного наноэлектрода составлял около 50–150 нм, что свидетельствует о превосходных электрохимических характеристиках и превосходной воспроизводимости (рис. 81 D).

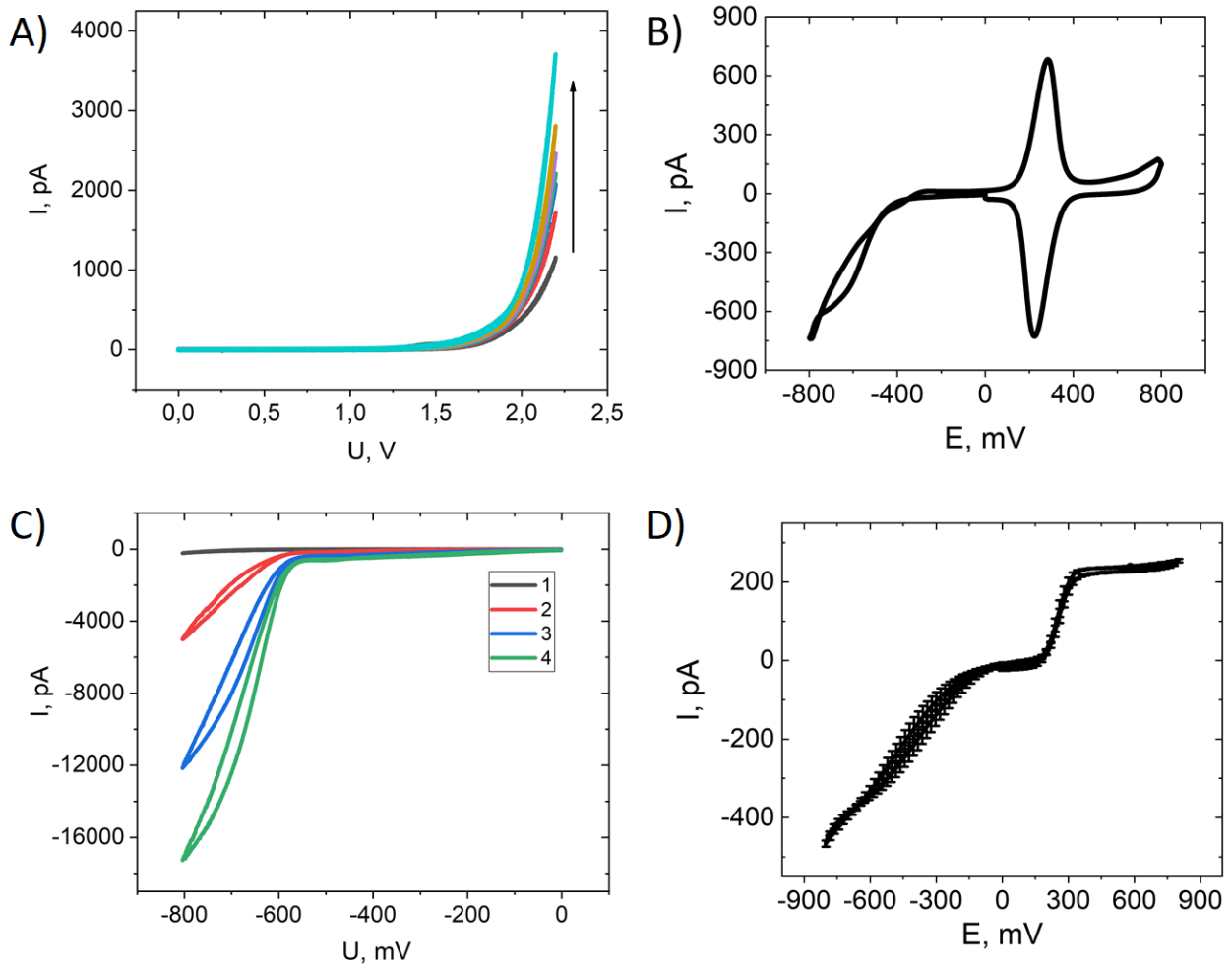


Рисунок 81. Приготовление платинированного нанозэлектрода. **A.** Вольтамперометрические характеристики, полученные при травлении углеродного нанозэлектрода в растворе 0.1 М NaOH, 10 мМ KCl для создания полостей на поверхности нанозэлектрода. **B.** Циклические вольтамперограммы, полученные в растворе ферроцена в метаноле. **C.** Циклические вольтамперограммы, полученные при осаждении платины путем изменения потенциала от 0 до -800 мВ (от 1 до 4 соответственно). Нанесение проводили в 2 мМ растворах H_2PtCl_6 . **D.** Воспроизводимость нанозэлектрода; ЦВА 7 в 1 мМ растворе ферроценметанола в воде.

Детектирование метаболитов цисплатина в сфероидях MCF-7 с использованием нанозэлектрода. Сфероиды, полученные в 96-луночном планшете, как описано выше, высевали в чашки Петри диаметром 35 мм, обработанные для клеточных культур (Eppendorf), за 1 день до эксперимента. В каждую чашку Петри добавили по 1.55 мл среды DMEM/F12 с добавлением 10% FBS. Сфероиды инкубировали в течение ночи в инкубаторе с CO_2 при $37^\circ C$, чтобы прикрепить их ко дну чашки Петри, после чего на следующий день добавили аликвоту пролекарств Pt(IV) или цисплатина до общей концентрации каждого соединения 100 мкМ. Затем сфероиды инкубировали в течение 2 или 6 часов при $37^\circ C$ в инкубаторе с CO_2 . Перед электрохимическими измерениями среду для культивирования клеток заменяли буфером со сбалансированным солевым раствором Хэнкса.

Измерение содержание цисплатина в клеточной культуре. Накопление цисплатина измеряли в диапазоне, соответствующем окислению Pt(II). Необработанные сфероиды использовали в качестве контроля. Нанозлектрод подносился к сфероиду с помощью точного микроманипулятора под оптическим контролем. В ходе измерения регистрировался потенциал от 0 до 1400 мВ относительно Ag/AgCl (скорость развертки 330 мВ с⁻¹). Сигнал окисления Pt в сфероидах определяли путем введения Pt-нанозлектрода в сфероид на различную глубину и регистрации ЦВА-сигналов на различной глубине внутри сфероида (0–200 мкм над поверхностью) в диапазоне 900–1200 мВ относительно Ag/AgCl.

Определение уровня кислорода в сфероидах линии MCF-7. Содержание кислорода в клеточных сфероидах (уровень pO₂) определяли с помощью платинированного нанозлектрода на различной глубине внутри сфероидов MCF-7 (0–100 мкм над поверхностью) в диапазоне от -500 до -600 мВ ($O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$). Работа с нанозлектродом выполнялась согласно процедуре, описанной выше.

Измерение активных форм кислорода (АФК) в сфероидах линии MCF-7. Опухолевые сфероиды из клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 инкубировали в течение 60 мин со 100 мкМ Pt-22 или 100 мкМ ТАРФ 37 в темноте, затем трижды промывали буфером HBSS, чтобы исключить возможное влияние внеклеточных соединений на точность измерения. Измерения проводились при постоянном потенциале +800 мВ относительно Ag/AgCl ($H_2O_2 - 2e^- = 2H^+ + O_2$). Платинированный нанозлектрод осторожно вводили в сфероид с помощью точного микроманипулятора под оптическим контролем; фотоактивацию проводили светодиодной лампой для флуоресцентной микроскопии Cool LED system (Мощность = 80%) ($\lambda_{возб} = 450$ нм). Облучение синим светом приводило к быстрому росту уровня АФК на разной глубине сфероида MCF-7, выключение света приводило к возврату к фоновому внутриклеточному уровню АФК. Текущие значения записывались в режиме реального времени и обрабатывались в Origin Software. Содержание АФК определяли согласно разнице между током при включении или выключении света на разной глубине опухолевых сфероидов.

Детектирование цисплатина в сфероидах линии MCF-7 при облучении. Опухолевые сфероиды из клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 помещали в 96-луночный круглодонный планшет на агарозную матрицу в виде суспензии. Сфероиды из планшета переносили в чашки Петри диаметром 35 мм, обработанные TC (Eppendorf), за 1 день до эксперимента. В каждую чашку Петри добавили по 2 мл среды DMEM/F12 с добавлением 10% FBS. Сфероиды инкубировали в течение ночи в инкубаторе с CO₂ при 37°C, чтобы прикрепить их ко дну чашки Петри. Сфероиды MCF-7 инкубировали со 100 мкМ Pt-22 в течение 1 часа в темноте. После инкубации сфероиды трижды промывали буфером HBSS и проводили

электрохимические измерения с использованием углеродного наноэлектрода, покрытого платиной. Регистрировали циклические вольтамперограммы в диапазоне от -800 до +800 мВ относительно Ag/AgCl (250 мВ с^{-1}). В сфероид проникали с помощью платинированного наноэлектрода с помощью точного микроманипулятора, затем включали синий свет и записывали ЦВА на разной глубине во время облучения. Характерный пик окисления Pt(II) на вольтамперограммах при $\sim 600 \text{ мВ}$ свидетельствовал о восстановлении **Pt-22**. ЦВА в необлученных сфероидах регистрировались в качестве контроля. Платинированный наноэлектрод вводили в сфероид и записывали ЦВА через каждые 10 мкм. Измерения проводились на разной глубине сфероидов MCF-7 и воспроизводились в трех сфероидах.

Опухолевые модели и животные. Все эксперименты на животных были одобрены комиссией по биоэтике Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н. И. Пирогова (протокол №№ 25/2017, 26/2017). Самки мышей BALB/C в возрасте 7–9 недель массой 20–22 г были получены из Андреевского центра животных (Андреевка, Россия) и использованы для экспериментов. Опухоли EMT-6 были установлены путем подкожной (пк) инъекции (правый задний бок) 1.2×10^6 клеток.

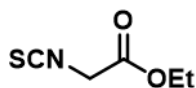
Определение единичной предельной переносимой дозы *in vivo*. Все манипуляции проводились в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (ETS 123). Самок мышей BALB/C (возраст 10–12 недель, вес 19–21 г) содержали в виварии Онкологического центра имени Блохина. Мышей содержали при температуре $21 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, влажность 50–60%; еда и вода предоставлялись вволю. Для проверки острой токсичности пролекарство **Pt-7** растворяли в ДМСО с добавлением стабилизатора до получения прозрачного раствора. 0.3 мл раствора сразу вводили внутривентриально. Дозы **Pt-7** начинались с 2 мг/кг с двойным увеличением дозы до 24 мг/кг; использовали по три животных на дозу. В качестве препарата сравнения использовали цисплатин (дозировки 2, 4 и 8 мг/кг). За мышами наблюдали до 30 дней.

Определение противоопухолевой эффективности в опухоли EMT-6 мышей BALB/C. Введение комплексов Pt начинали, когда размер опухоли достигал $\sim 40 \text{ мм}^2$. Мышам внутривенно вводили пролекарство Pt(IV) **Pt-7** ($n = 7$) или цисплатин ($n = 8$) в дозе 2 мг/кг на 7, 10, 14, 17 и 20 дни. В качестве контрольной группы были выбраны мыши, которым вводился раствор без препаратов ($n=5$). Размер опухоли и вес животных контролировали два раза в неделю. Объем опухоли (V) рассчитывали, используя $V = a^2/2b$, где a — меньший из двух ортогональных размеров, измеренных штангенциркулем. Вес отдельных мышей сравнивали с соответствующими значениями до лечения и наносили на график изменения веса в граммах. Мышей-опухоленосителей умерщвляли, когда объем опухоли достигал 900 мм^3 .

Детектирование метаболитов цисплатина в опухоли ЕМТ-6 мышей BALB/C. Когда опухоли ЕМТ-6 достигали $\approx 60 \text{ мм}^3$ (от 12 до 14 дней после имплантации клеток), мышей анестезировали внутрибрюшинным введением Золетила 50 мг/кг и ксилазина 5 мг/кг. В дальнейшем животным внутриопухолево (в/т) или внутривенно (в/в) вводили пролекарство Pt(IV) **Pt-7** дозой 2 мг/кг. Через 2 часов после в/т инъекции или через 24 часа после в/в инъекции, мышей снова анестезировали и опухоли готовили к электрохимическому измерению, как описано ранее с модификациями [221,229]. Разрез кожи делали от хвоста животного до его головы вдоль позвоночника. Кожный лоскут с опухолью осторожно отделяли от подлежащих тканей, натягивали и фиксировали в двух местах на тумбе (чашке Петри) шовным материалом с помощью атравматической иглы. Затем соединительную ткань капсулы опухоли удаляли, не нарушая и не повреждая сосудистую сеть. Опухоль промывали раствором PBS (pH: 7.2–7.4, Gibco). Затем мышь помещали на столик микроскопа. Референтный электрод помещали в складки кожи для обеспечения контакта с жидкостями организма. После подготовки мыши к измерениям электрод подносили к опухоли с помощью манипулятора и проникали в опухоль под углом 45° градусов с шагом 100 мкм. Затем измеряли циклические вольтамперограммы внутри опухоли на глубине до 1000 мкм. Вольтамперограммы обрабатывали в программе Origin. Все вольтамперограммы, зарегистрированные внутри сфероидов и опухоли, были нормированы по максимальному значению тока на вольтамперограмме; для каждого регистрируемого анодного пика определяли высоту и площадь с помощью Origin с учетом базовой линии.

4.2. Синтез органических соединений и пролекарств Pt(IV)

4.2.1. Синтез пролекарств Pt(IV) с биоактивными лигандами на основе 2-тиоимидазол-4-онов и нестероидных противовоспалительных препаратов (НСПВП)

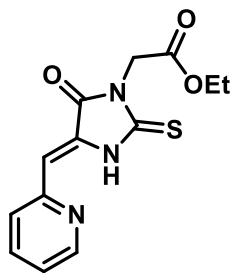


Синтез изотиоцианатэтилацетата (1): В трехгорлой колбе растворили 27 г (0.192 моль) гидрохлорида этилового эфира глицина в смеси 80 мл воды и 80 мл CH_2Cl_2 . Через две капельные воронки постепенно при перемешивании одновременно добавили растворы 50.4 г (0.6 моль) NaHCO_3 в 200 мл воды и 23 г (0.2 моль) CSCl_2 в 80 мл CH_2Cl_2 . Реакционную смесь перемешивали 3 часа. По окончании реакции органический раствор имел светло-желтый цвет, водный слой - бесцветный. Органический слой отделили на делительной воронке, промыли дистиллированной водой (3×30 мл). Объединенные органические фракции сушили над безводным сульфатом натрия. Растворитель упарили при пониженном

давлении. Полученное темно-оранжевое масло перегнали в вакууме ($T = 76^\circ\text{C}/5$ мм. рт. ст.). Получили 24 г изотиоцианатаэтилацетата **1** в виде светло-желтого прозрачного масла. Выход: 86%.

Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 4.28 (кв, 2H, $J=7.1$ Гц, $-\text{CH}_2-$). 4.23 (с, 2H, CH_2NCS), 1.32 (т, 3H, $J=7.1$ Гц, CH_3-).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 165.76, 62.24, 46.02, 13.72.



Синтез этил (Z)-2-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметилден)-2-

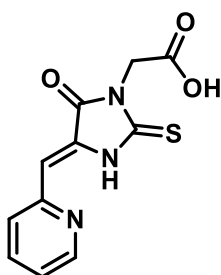
тиоксоимидазолидин-1-ил)ацетата (2): К раствору 2 г (5.9 ммоль) п-толуолсульфоновой соли бензилового эфира глицина в 10 мл метанола прикапали 735 мкл (5.9 ммоль) изотиоцианатаэтилацетата и 830 мкл (5.9 ммоль) триэтиламина. Смесь перемешивали ночь, затем растворитель упарили при пониженном давлении, к красному осадку добавили 30 мл

этилового спирта, 365 мг (6.5 ммоль) гидроксида калия, затем по каплям прибавили 625 мкл (6.5 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида и перемешивали 2 часа. Раствор подкислили до $\text{pH} = 7$ 0.1 М HCl , выпавший осадок отфильтровали, промыли этиловым спиртом и высушили на воздухе. Продукт очищали колоночной хроматографией, элюент $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (20:1). Получили 853 мг этил (Z)-2-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметилден)-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)ацетата **2** в виде жёлтого порошка. Выход: 37%.

Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 11.93 (ушс, 1H, NH), 8.73 (д, 1H, $J=4.9$ Гц, $\text{H}_\alpha\text{-Py}$), 7.87 (т, 1H, $J=7.8$ Гц, $\text{H}_\gamma\text{-Py}$), 7.74 (д, 1H, $J=7.8$ Гц, $\text{H}_\beta\text{-Py}$), 7.36 (м, 1H, $\text{H}_\beta'\text{-Py}$), 6.80 (с, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 4.60 (с, 2H, $\text{CH}_2\text{-COOEt}$), 4.13 (тд, 2H, $J_1=7.8$ Гц, $J_2=6.9$ Гц, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.18 (тд, 3H, $J_1=7.8$ Гц, $J_2=6.9$ Гц, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 177.31, 166.84, 163.06, 152.73, 149.88, 137.50, 129.20, 126.90, 123.54, 109.81, 61.22, 14.04.

HRMS: вычислено $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}^+$, 292.0756, $(2+\text{H})^+$; найдено $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}^+$, 292.0754, $(2+\text{H})^+$.



Синтез (Z)-3-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметилден)-2-

тиоксоимидазолидин-1-ил) уксусной кислоты (3): 853 мг (2.9 ммоль) этилового эфира **3** растворили в 120 мл воды, добавили 197 мг (3.5 ммоль) гидроксида калия. Раствор перемешивали 3 часа, затем довели до $\text{pH}=7$ 0.1 М соляной кислотой, при этом выпал светло-жёлтый осадок. Реакционную смесь экстрагировали диэтиловым эфиром (3x100 мл), органические фракции

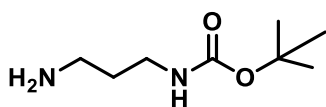
объединили, высушили над сульфатом натрия, растворитель упарили при пониженном давлении.

Продукт очищали колоночной хроматографией, элюент $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{AcOH}$ (20:1:1%). Получили 512 мг (Z)-3-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)уксусной кислоты **3** в виде жёлтого порошка. Выход: 66%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 13.26 (ушс, 1H, OH), 11.93 (ушс, 1H, NH), 8.75 (д, 1H, $J=4.9$ Гц, $\text{H}\alpha'$ -Py), 7.90 (тд, 1H, $J_1=7.8$ Гц, $J_2=2.0$ Гц, $\text{H}\gamma$ -Py), 7.76 (д, 1H, $J=7.8$ Гц, $\text{H}\beta$ -Py), 7.40 (м, 1H, $\text{H}\beta'$ -Py), 6.82 (с, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 4.51 (с, 2H, $\text{CH}_2\text{-COOH}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 178.00, 174.06, 163.51, 153.34, 150.32, 137.90, 129.81, 127.19, 123.81, 109.40.

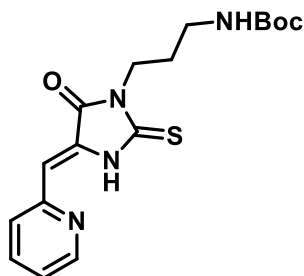
HRMS вычислено $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ 262.0286 (**3-H**⁻); найдено $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ 262.0292 (**3-H**⁻).



Синтез трет-бутил(3-аминопропил)карбамата (4) [230]: 5 г

(0.67 моль) 1,3-диаминопропана растворили в 400 мл хлороформа, при интенсивном перемешивании и охлаждении до 0°C в течение 1 часа прикапали раствор 2.95 г (0.013 моль) ди-третбутил-дикарбоната в 100 мл хлороформа. Раствор перешивали в течение 2 часов, после чего реакционную смесь отфильтровали, фильтрат упарили и растворили в 30 мл воды. Раствор подкислили 0.1 М HCl до $\text{pH}=3$ с помощью 0.1 М соляной кислоты, промыли раствор CH_2Cl_2 (3x50 мл), затем к водной фракции добавили раствор KOH (1 М) до $\text{pH}=12$. Раствор экстрагировали CH_2Cl_2 (3x100 мл), органические фракции второй экстракции объединили, высушили над сульфатом натрия, растворитель упарили. Получили 1.21 г трет-бутил(3-аминопропил)карбамата **4** в виде бесцветного масла. Выход: 51%.

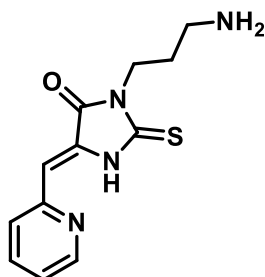
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 5.32 (ушс, 1H, NH), 3.02 (д, 2H, $J=5.87$, NH-CH_2), 2.58 (д, 2H, $J=6.7$ Гц, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 1.43 (м, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.26 (с, 9H, $\text{C-(CH}_3)_3$), 1.21 (уш. с, 2H, NH_2).



Синтез трет-бутила(Z)-3-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-

2-тиоксоимидазолидин-1-ил)пропил)карбамата (5): 639 мг (3.67 ммоль) трет-бутил(3-аминопропил)карбамата **4** растворили в 20 мл диэтилового эфира, прикапали 455 мкл (3.67 ммоль) изотиоцианатаэтилацетата. Реакционную смесь перемешивали до окончания выпадения осадка (около 3 часов). Раствор упарили, к осадку добавили 30 мл этилового спирта, 206 мг (3.67 ммоль) гидроксида калия, затем по каплям добавили 351 мкл (3.67 ммоль) 2-пиридинкарбальдегида. Реакционную смесь перемешивали 2 часа, затем подкислили до $\text{pH}=7$ 0.1 М HCl . Осадок отфильтровали, высушили на воздухе. Получили 600 мг трет-бутила(Z)-3-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)пропил)карбамата **6** в виде жёлтого порошка. Выход: 45%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 8.75 (д, 1H, $J=3.8$ Гц, $\text{H}\alpha'$ -Py), 7.90 (тд, 1H, $J_1=7.6$ Гц, $J_2=1.8$ Гц, $\text{H}\gamma$ -Py), 7.76 (д, 1H, $J=7.8$ Гц, $\text{H}\beta$ -Py), 7.40 (тд, 1H, $J_1=4.9$ Гц, $J_2=7.6$ Гц, $\text{H}\beta'$ -Py), 6.76 (с, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 3.88 (т, 2H, $J=6.8$ Гц, $\text{NR}_2\text{-CH}_2$), 2.86 (т, 2H, $J=7.8$ Гц, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 1.93 (м, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.43 (с, 9H, $\text{C}-(\text{CH}_3)_3$).



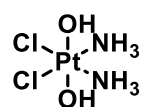
Синтез (Z)-(3-(3-аминопропил)-5-пиридин-2-илметилден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она (6):

600 мг (1.66 ммоль) трет-бутил(Z)-(3-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметилден)-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)пропил)карбамата **5** растворили в 20 мл 10% раствора трифторуксусной кислоты в дихлорметане, раствор перемешивали 1 час, протекание реакции контролировали по ТСХ. Растворитель упарили, осадок суспендировали в диэтиловом эфире в ультразвуковой бане в течение 30 минут. Осадок центрифугировали, высушили, продукт очищали колоночной хроматографией, элюент $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (20:1). Получили 404 мг (Z)-(3-(3-аминопропил)-5-пиридин-2-илметилден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она **6** в виде оранжевого порошка. Выход: 93%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 8.75 (д, 1H, $J=3.8$ Гц, $\text{H}\alpha'$ -Py), 7.90 (тд, 1H, $J_1=7.6$ Гц, $J_2=1.8$ Гц, $\text{H}\gamma$ -Py), 7.76 (д, 1H, $J=7.8$ Гц, $\text{H}\beta$ -Py), 7.40 (тд, 1H, $J_1=4.9$ Гц, $J_2=7.6$ Гц, $\text{H}\beta'$ -Py), 6.76 (с, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 3.88 (т, 2H, $J=6.8$ Гц, $\text{NR}_2\text{-CH}_2$), 2.86 (т, 2H, $J=7.8$ Гц, $\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 1.93 (м, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д): 171.72, 168.87, 163.99, 153.47, 150.03, 137.89, 126.68, 123.69, 108.75, 36.82, 27.83, 14.52.

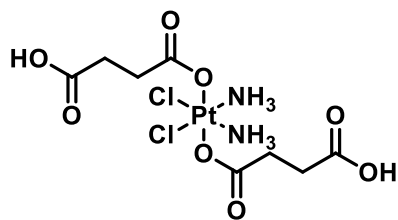
HRMS вычислено $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{OS}^+ 263.0967$ (**6**+H) $^+$; $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{OS}^+ 246.0701$ (**6**- NH_3) $^+$. Найдено $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{OS}^+ 263.0956$ (7+H) $^+$, $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{OS}^+ 246.0691$ (**6**- NH_3) $^+$.



Синтез оксоплатина (7) [36].

К 500 мг (1.67 ммоль) цисплатина прикапали 30 мл 30% раствора перекиси водорода и перемешивали при 75°C в течение 5 часов, после чего оставили раствор на ночь при комнатной температуре для образования осадка. Осадок отделили, раствор упарили, остаток собрали небольшим количеством воды, промыли водой, метанолом и диэтиловым эфиром, объединённый осадок высушили на воздухе. Получили 524 мг оксоплатина **7** в виде светло-жёлтых кристаллов. Выход: 93%.

ИК: 3459 (OH), 3149, 2738 (NH_3), 1583, 1440, 1378, 1074 (Pt-OH), 860, 574.



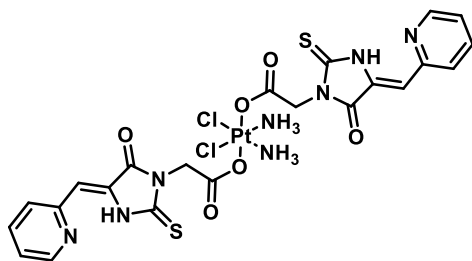
Синтез

диаминдихлор(3,6-

дикарбоксипропионат)платины (IV) (8) [48]: 150 мг (0.45 ммоль) оксоплатина растворили в ДМФА, добавили 900 мг (9 ммоль) янтарного ангидрида и раствор перемешивали при нагреве до 30-40°C в течение 3 часов до образования прозрачного

желтого раствора. Растворитель упарили, к осадку добавили 2 мл ацетона и 20 мл диэтилового эфира. Осадок промывали диэтиловым эфиром путём суспендирования и центрифугирования до исчезновения янтарного ангидрида в супернатанте. Получили 146 мг диаминдихлор(3,6-дикарбоксипропионата)платины (IV) 8 в виде светло-бежевого порошка. Выход: 61%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 6.48 (ушс, 6H, NH_3), 2.5 ($\text{CH}_2\text{-COOH}$, за растворителем), 2.35 (с, 4H, $\text{CH}_2\text{-COOPt}$).



Синтез конъюгата оксоплатина 7 с (Z)-3-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)

уксусной кислотой 4 (Pt-1): 98 мг (0.37 ммоль, 2.5 экв.) (Z)-3-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-2-тиоксоимидазолидин-1-ил) уксусной кислоты 3 растворили в 5 мл ДМФА,

добавили 52 мкл (0.37 ммоль, 2.5 экв.) триэтиламина и 142 мг (0.37 ммоль, 2.5 экв.) гексафторофосфата (2-(1H бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуруния (НВТУ). Раствор перемешивали 40 минут, затем добавили 50 мг (0.15 ммоль) оксоплатина и перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. Растворитель упарили при пониженном давлении, остаток суспендировали в минимальном количестве метанола, продукт высадили избытком диэтилового эфира, осадок отцентрифугировали и высушили на воздухе. Получили 30 мг конъюгата оксоплатина с (Z)-3-(5-оксо-4-(пиридин-2-илметил)-2-тиоксоимидазолидин-1-ил) уксусной кислотой Pt-1 в виде оранжевого порошка. Выход: 25%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 11.78 (ушс, 2H, NH), 8.72 (д, 2H, $J=3.9$ Гц, $\text{H}\alpha\text{'-Py}$), 7.86 (тд, 2H, $J_1=7.8$ Гц, $J_2=2.0$ Гц, $\text{H}\gamma\text{-Py}$), 7.7 (д, 2H, $J=7.8$ Гц, $\text{H}\beta\text{-Py}$), 7.36 (м, 2H, $J_1=4.7$ Гц, $\text{H}\beta\text{'-Py}$), 6.73 (с, 2H, $\text{CH}=\text{C}$), 6.49 (ушс, 6H, NH_3), 4.56 (с, 4H, $\text{CH}_2\text{-COOPt}$).

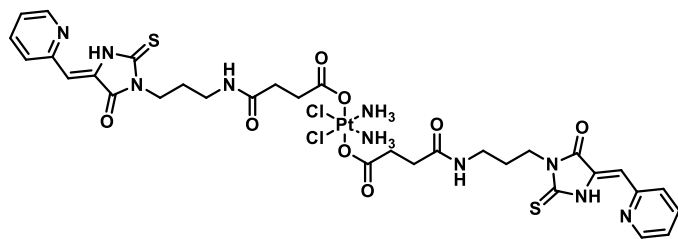
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 178.00, 174.06, 163.51, 153.34, 150.32, 137.90, 129.81, 127.19, 123.81, 109.40.

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 1250.92.

HRMS вычислено $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_8\text{O}_6\text{PtS}_2^+$ 824.0207 (Pt-1+H) $^+$. Найдено $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_8\text{O}_6\text{PtS}_2^+$ 824.0236 (Pt-1+H) $^+$.

Синтез

конъюгата



диаминдихлор(3,6-дикарбоксипропионата)платины (IV) 10 с (Z)-(3-(3-аминопропил)-5-пиридин-2-илметилден)-2-тиоксоимидазолидин-4-

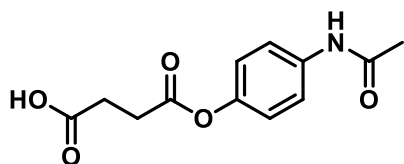
оном (Pt-2): 30 мг (0.056 ммоль) диаминдихлор(3,6-дикарбоксипропионат)платины (IV) 9 растворили в 0.55 мл ДМСО, добавили 44 мг (0.23 ммоль, 4 экв.) 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) и 27 мг (0.23 ммоль, 4 экв.) N-гидроксисукцинимида (NHS) и перемешивали в течение 45 минут. Затем прикапали раствор 30 мг (0.114 ммоль, 2 экв.) (Z)-(3-(3-аминопропил)-5-пиридин-2-илметилден)-2-тиоксоимидазолидин-4-она 7 и 32 мкл (0.23 ммоль, 4 экв.) триэтиламина в 0.55 мл ДМСО. Раствор перемешивали ночь, после чего разбавили этилацетатом и высадили диэтиловым эфиром. Раствор отцентрифугировали, осадок высушили, суспендировали метанолом и высадили диэтиловым эфиром, после чего отцентрифугировали раствор и высушили осадок на воздухе. Получили 20 мг конъюгата диаминдихлор(3,6-дикарбоксипропионата)платины (IV) с (Z)-(3-(3-аминопропил)-5-пиридин-2-илметилден)-2-тиоксоимидазолидин-4-оном Pt-2 в виде оранжевого порошка. Выход: 34%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 11.69 (ушс, 2H, NH) 8.75 (д, 2H, $J=4.3$ Гц, $\text{H}\alpha'$ -Py), 7.89 (т, 2H, $J=7.4$ Гц, $\text{H}\gamma$ -Py), 7.74 (д, 2H, $J=7.4$ Гц, $\text{H}\beta$ -Py), 7.39 (м, 2H, $\text{H}\beta'$ -Py), 6.74 (с, 2H, $\text{CH}=\text{C}$), 6.50 (ушс, 6H, NH_3), 3.80 (т, 4H, $J=7.4$ Гц, $\text{NR}_2\text{-CH}_2$), 3.08 (д, 4H, $J=6.7$ Гц, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2.46 (т, 4H, $J=7.0$ Гц, $\text{CH}_2\text{-COOPt}$), 2.27 (т, 4H, $J=7.4$ Гц, $\text{CH}_2\text{-COONH}$) 1.76 (т, 4H, $J=6.6$ Гц, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 180.34, 178.22, 171.72, 170.63, 168.87, 163.99, 153.47, 150.03, 137.89, 126.68, 123.69, 108.75, 39.17, 36.82, 31.84, 27.83

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 1224.42.

HRMS вычислено $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{Cl}_2\text{N}_{10}\text{O}_8\text{PtS}_2$ 1020.1419 (Pt-2-H) $^-$. Найдено $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{Cl}_2\text{N}_{10}\text{O}_8\text{PtS}_2$ 1020.1438 (Pt-2-H) $^-$.



Синтез

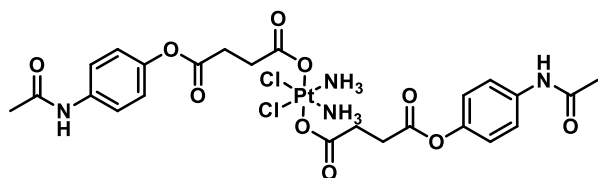
4-(4-ацетамидофенокси)-4-оксобутановой

кислоты (9) [231]. 662 мг (6.6 ммоль) янтарного ангидрида суспендировали в 2.5 мл толуола и раствор охладили до 0°C. В инертной атмосфере добавили 1 г (6.6 ммоль) парацетамола и 265

мг (6.6 ммоль) NaOH в 2.5 мл воды в течение 15 минут. Затем раствор перемешивали в течение 1.5 часов на бане со льдом в инертной атмосфере. Смесь центрифугировали и водный слой подкислили раствором 1 М HCl до образования беловатого осадка, который растворили в насыщенном растворе NaHCO_3 , а затем подкислили 1 М HCl до pH=3. Продукт очищали

колоночной хроматографией, элюент $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{AcOH}$ (20:1:1%). Получили 354 мг 4-(4-ацетидамофенокси)-4-оксобутановой кислоты **9** в виде белого порошка. Выход: 22%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 10.09 (с, 1H, NH), 7.57 (д, 2H, $J=8.5$ Гц, H-Ph), 6.97 (д, 2H, $J=8.5$ Гц, H-Ph), 2.72 (т, 2H, $J=6.1$ Гц, $\text{CH}_2\text{-COOR}$), 2.54 (т, 2H, $J=6.1$ Гц, $\text{CH}_2\text{-COOH}$), 2.01 (с, 3H, CH_3).



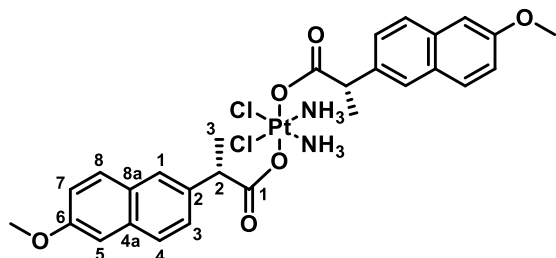
Синтез конъюгата оксоплатина и 4-(4-ацетидамофенокси)-4-оксобутановой кислоты (Pt-3). 67 мг (0.267 ммоль, 3 экв.) 4-(4-ацетидамофенокси)-4-оксобутановой кислоты **9**

растворили в 6.5 мл ДМФА, добавили 0.038 мл (0.267 ммоль, 3 экв.) триэтиламина и 102 мг (0.267 ммоль, 3 экв.) НВТУ, и раствор перемешивали в течение 40 минут при комнатной температуре, затем добавили 30 мг (0.09 ммоль) оксоплатина **7** и полученный раствор перемешивали в течение 48 часов при комнатной температуре. Растворитель упарили при пониженном давлении, к остатку добавили 2 мл метанола, продукт высадили избытком диэтилового эфира, образовавшийся беловатый осадок центрифугировали, остаток высушили на воздухе. Получили 24 мг конъюгата оксоплатина и 4-(4-ацетидамофенокси)-4-оксобутановой кислоты **Pt-3** в виде бежевого порошка. Выход: 33%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 10.23 (с, 2H, NH), 7.61 (д, 4H, $J=9.1$ Гц, Ph-H), 7.05 (д, 4H, $J=8.5$ Гц, Ph-H), 6.61 (уш.с., 6H, NH_3), 2.70 – 2.64 (м, 8H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOR}$), 2.04 (с, 6H, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 179.60, 171.72, 168.61, 146.17, 137.28, 122.35, 120.17, 30.84, 30.33, 9.08.

HRMS вычислено $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Pt}^+$ 800.10596 (**Pt-3+H**) $^+$. Найдено $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Pt}^+$ 800.1079 (**Pt-3+H**) $^+$.



Синтез диконъюгата оксоплатина и напроксена (Pt-4). 82 мг (0.36 ммоль, 3 экв.) напроксена и 136 мг НВТУ (0.36 ммоль, 3 экв.) растворили в 4 мл безводного ДМФА. Добавили 50 мкл (0.36 ммоль, 3 экв.) триэтиламина, после чего

раствор перемешивали при комнатной температуре 40 минут, после чего добавили 40 мг (0.12 ммоль) оксоплатина **7**, и перемешивали реакционную смесь в течение 48 часов. Растворитель упарили при пониженном давлении до объема 1 мл, после чего добавили по каплям к 10 мл диэтилового эфира и полученную суспензию перемешивали в течение ночи. Осадок отделили

центрифугированием, промыли метанолом и эфиром и высушили на воздухе. Получили 48 мг диконъюгата оксоплатина и напроксена **Pt-4** в виде желтого порошка. Выход: 52%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7.76-7.70 (м, 6H, H₁, H₄, H₈) 7.47 (дд, 2H, J₁=8.6 Гц, J₂=1.1 Гц, H₃) 7.27 (д, 2H, J=2.5 Гц, H₇) 7.14-7.11 (дд, 2H, J₁=8.9 Гц, J₂=2.3 Гц, H₅), 6.76-6.35 (уш.с., 6H, NH₃), 3.85-3.80 (м, 8H, OCH₃, CH-COOR) 1.41 - 1.39 (м, 6H, CH-CH₃).

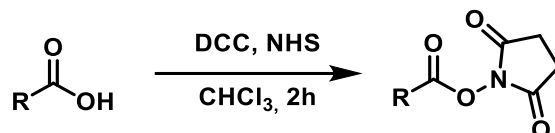
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 182.00, 156.92, 137.37, 133.04, 129.09, 128.36, 127.01, 126.36, 125.50, 118.38, 105.65, 55.14, 19.84.

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 1216.95.

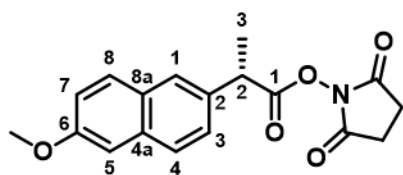
HRMS вычислено C₂₈H₃₃Cl₂N₂O₆Pt 758.1363 (**Pt-4+H**)⁺; найдено C₂₈H₃₃Cl₂N₂O₆Pt 758.1361 (**Pt-4+H**)⁺.

Чистота (ВЭЖХ): 96.21%

Общий протокол синтеза NHS-эфиров А.



Смесь исходной карбоновой кислоты (1 экв.), NHS (1 экв.) и DCC (1.2 экв.) растворяли в безводном CHCl₃ (20 мл/300 мг исходной карбоновой кислоты) и перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Осадок дициклогексилмочевины отделяли фильтрованием, промывали CHCl₃, фильтрат упаривали при пониженном давлении. Остаток суспендировали в этилацетате и фильтровали. Фильтрат снова упаривали при пониженном давлении, после чего продукт очищали флэш-хроматографией, элюент дихлорметан.

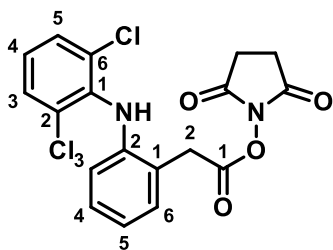


Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил (S)-2-(6-метоксинафталин-2-ил)пропаноата (10). Из 500 мг напроксена получили 421 мг 2,5-диоксопирролидин-1-ил 2-(6-

метоксинафталин-2-ил)пропаноата **10** в виде белого порошка. Выход: 60%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7.86-7.78 (м, 3H, H₁, H₄, H₈), 7.45 (д, 1H, J=8.4 Гц, H₃), 7.31 (с, 1H, H₇), 7.17 (дд, 1H, J=2.4 Гц, J=9.0 Гц, H₅), 4.38 (кв, 1H, J=7.1 Гц, CH-COOR), 3.86 (с, 3H, OCH₃), 2.77 (уш. с., 4H, CH₂-CH₂), 1.58 (д, 3H, J=7.1 Гц, CH-CH₃).

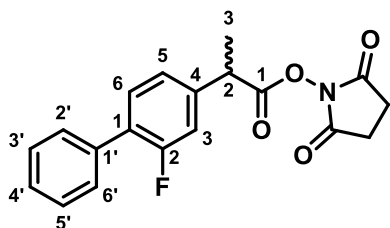
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl₃, δ м.д.): 169.93, 157.82, 133.90, 133.26, 129.34, 128.61, 127.45, 126.30, 125.84, 119.14, 105.54, 55.26, 42.83, 25.47, 18.88.



Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 2-(2-((2,6-дихлорфенил)амино)фенил)ацетата (11). Из 300 мг диклофенака получили 287 мг 2,5-диоксопирролидин-1-ил 2-(2-((2,6-дихлорфенил)амино)фенил)ацетата **11** в виде белого порошка. Выход: 72%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.33 (д, 3H, $J=8.1$ Гц, $\text{H}_3\text{H}_5\text{-PhCl}_2$, $\text{H}_3\text{-Ph}$), 7.17 (тд, 1H, $J_1=7.6$ Гц, $J_2=1.4$ Гц, $\text{H}_5\text{-Ph}$), 7.04 (т, 1H, $J=7.5$ Гц, $\text{H}_4\text{-Ph}$), 6.98 (т, 1H, $J=8.1$ Гц, $\text{H}_4\text{-PhCl}_2$), 6.62 (д, 1H, $J=8.0$ Гц, $\text{H}_6\text{-Ph}$), 6.21 (с, 1H, NH), 4.14 (с, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 2.81 (с, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$).

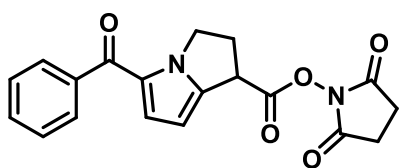
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ м.д.): 168.79, 167.27, 142.76, 138.07, 131.01, 129.21, 128.77, 128.72, 124.06, 123.34, 123.04, 119.80, 34.84, 25.51.



Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 2-(2-фтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)пропаноата (12). Из 300 мг флурбипрофена получили 232 мг 2,5-диоксопирролидин-1-ил 2-(2-фтор-[1,1'-бифенил]-4-ил)пропаноата **12** в виде белого порошка. Выход: 55%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.55 (д, 2H, $J=7.2$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.45 (т, 3H, $J=7.8$ Гц, $\text{H}_3\text{-s-Ph}$), 7.37 (т, 1H, $J=7.4$ Гц, $\text{H}_5\text{-PhF}$), 7.21 (т, 2H, $J=9.7$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_3\text{-PhF}$), 4.10 (квад, 1H, $J=7.2$ Гц, CH-Ph), 2.84 (уш.с., 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 1.69 (д, 3H, $J=7.2$ Гц, CH_3).

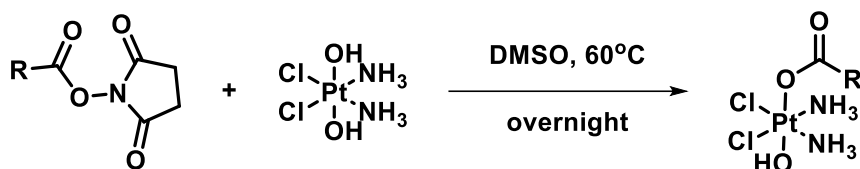
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ м.д.): 168.96, 168.46, 160.55, 158.08, 138.90, 134.86, 130.72, 128.55, 128.05, 127.37, 123.20, 115.02, 41.98, 25.17, 18.45.



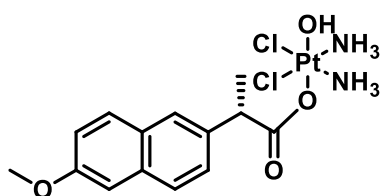
2,5-диоксопирролидин-1-ил-5-бензоил-2,3-дигидро-1H-пирролизин-1-карбоксилат (13). Из 32 мг кеторолака получили 15 мг 2,5-диоксопирролидин-1-ил 5-бензоил-2,3-дигидро-1H-пирролизин-1-карбоксилата **13** в виде белого порошка. Выход: 34%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.85 (д, 2H, $J=7.0$ Гц, H_2, H_6), 7.56 (т, $J=7.0$ Гц, H_4), 7.48 (т, 2H, $J=7.9$ Гц, H_3, H_5), 6.89 (д, 1H, $J=4.4$ Гц, $\text{H}_3\text{-Pyr}$), 6.31 (д, 1H, $J=4.4$ Гц, $\text{H}_4\text{-Pyr}$), 4.71-4.63 (м, 1H, CH-COOR), 4.56-4.49 (м, 1H, CHN'), 4.44-4.40 (м, 1H, CHN'), 3.12-2.97 (м, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}$), 2.89 (с, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$).

Общий протокол синтеза монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) Б.



Оксоплатин **7** (1 экв.) и соответствующий NHS-эфир (1.2 экв.) растворили в ДМСО (690 мкл/10 мг **7**) и смесь перемешивали при 60°C ночь. Непрореагировавший оксоплатин **7** отделили центрифугированием, раствор добавили по каплям к избытку диэтилового эфира (10–15 мл эфира на 1 мл ДМСО). После встряхивания смеси из образовавшейся двухфазной системы удалили фракцию диэтилового эфира. Процедура повторялась до получения липкого бежевого осадка, который суспендировали в метаноле и осаждали диэтиловым эфиром. Монокарбоксилатный комплекс центрифугировали, промыли диэтиловым эфиром и высушили на воздухе.



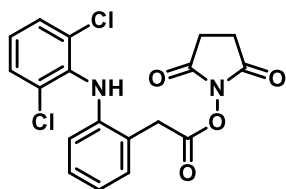
Синтез конъюгата оксоплатина и напроксена (Pt-5). Из 50 мг (0.15 ммоль) оксоплатина **7** и 59 мг **10** согласно общему протоколу **Б**, получили 48 мг конъюгата оксоплатина и напроксена **Pt-5** в виде бежевого порошка. Выход: 71%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7.74-7.68 (м, 3H, H₁, H₄, H₈), 7.46 (д, 1H, J=8.1 Гц, H₃), 7.24 (уш.с., 1H, H₇), 7.11 (д, 1H, J=9.0 Гц, H₅), 6.09 (уш.с., 6H, NH₃), 3.84 (с, 3H, OCH₃), 3.78-3.65 (м, 1H, CH-COOR), 1.37 (д, 3H, J=7.1 Гц, CH-CH₃).

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, ДМСО- d_6 , δ ppm): 1044.71.

HRMS: вычислено C₁₄H₂₁Cl₂N₂O₄Pt⁺, 546.0521 (**Pt-5**+H)⁺; найдено C₁₄H₂₁Cl₂N₂O₄Pt⁺, 546.0525, (**Pt-5**+H)⁺.

Чистота (HPLC): 100%.



Синтез конъюгата оксоплатина и диклофенака (Pt-6). Из 50 мг (0.15 ммоль) оксоплатина **7** и 71 мг **11**, согласно общему протоколу **Б**, получили 58 мг конъюгата оксоплатина и диклофенака **Pt-6** в виде бежевого порошка. Выход: 79%.

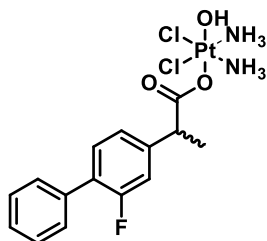
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7.62 (с, 1H, NH), 7.49 (д, 2H, J=8.1 Гц, H₃H₅-PhCl₂), 7.18-7.14 (м, 2H, H₄-PhCl₂), 7.05-7.00 (тд, 1H, J₁=7.8 Гц, J₂=1.5 Гц, H₅-Ph), 6.83-6.79 (тд, 1H, J₁=7.8 Гц, J₂=1.0 Гц, H₄-Ph), 6.24 (д, 1H, J=7.8 Гц, H₆-Ph), 6.18-5.67 (м, 6H, NH₃), 3.68 (с, 2H, CH₂-Ph).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО- d_6 , δ м.д.): 179.62, 143.56, 137.93, 131.31, 130.38, 129.47, 127.36, 126.39, 125.49, 120.78, 116.14, 40.87.

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, ДМСО- d_6 , δ м.д.): 1043.76.

HRMS: вычислено $C_{14}H_{18}Cl_4N_3O_3Pt^+$, 610.9745, (**Pt-6+H**)⁺; найдено $C_{14}H_{18}Cl_4N_3O_3Pt^+$, 610.9741, (**Pt-6+H**)⁺.

Чистота (HPLC): 95.48%.



Синтез конъюгата оксоплатина и флурбипрофена (Pt-7). Из 50 мг (0.5 ммоль) оксоплатина **7** получили 51 мг конъюгата оксоплатина и флурбипрофена **Pt-7** в виде бежевого порошка. Выход: 78%.

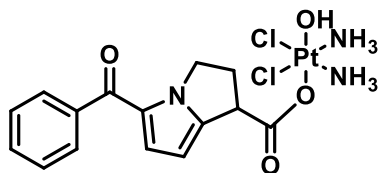
Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): 7.51-7.37 (м, 6H, H₂-₆-Ph, H₅-PhF), 7.31-7.20 (м, 2H, H₂,H₃-PhF), 6.21-5.70 (м, 6H, NH₃), 3.68 (квад, 1H, J=6.8 Гц, CH-Ph), 1.34 (д, 3H, J=7.2 Гц, CH₃).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, ДМСО-d₆, δ м.д.): 181.23, 160.03, 157.60, 145.15, 135.22, 130.10, 128.72, 128.62, 127.65, 124.31, 115.38, 46.60, 20.18.

Спектр ЯМР ¹⁹⁵Pt (86 МГц, ДМСО-d₆, δ м.д.): 1048.44.

HRMS: вычислено $C_{15}H_{20}Cl_2FN_2O_3Pt^+$, 560.0477, (**Pt-7+H**)⁺; найдено $C_{15}H_{20}Cl_2FN_2O_3Pt^+$, 560.0494 (**Pt-7+H**)⁺.

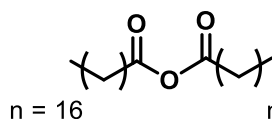
Чистота (HPLC): 96.99%.



Синтез конъюгата оксоплатина и кеторолака (Pt-8). Из 12 мг оксоплатина **7** и 15 мг **13**, следуя общему протоколу **Б**, получили 9 мг конъюгата оксоплатина и кеторолака **Pt-8**. Выход: 44%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): 7.74 (д, 2H, J=6.8 Гц, H₂, H₆), 7.56 (т, 1H, J=7.5 Гц, H₄), 7.53-7.49 (м, 2H, H₃,H₅), 6.73 (д, 1H, J=4.1 Гц, H₃-Pyr), 6.15 (д, 1H, J=4.1 Гц, H₄-Pyr), 6.10-5.80 (м, 6H, NH₃), 4.44-4.37 (м, 1H, CH-COOR), 4.25-4.18 (м, 1H, CHN'), 4.05-4.01 (м, 1H, CHN'), 2.76-2.61 (м, 2H, CH₂-CH₂-CH).

HRMS: вычислено $C_{15}H_{20}Cl_2N_3O_4Pt^+$, 571.0479, (**Pt-8+H**)⁺; найдено $C_{15}H_{20}Cl_2N_3O_4Pt^+$, 571.0466, (**Pt-8+H**)⁺.



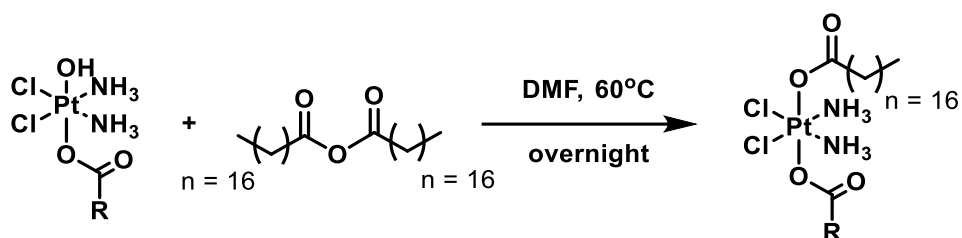
Синтез стеаринового ангидрида (14): В прибор для вакуумной перегонки, состоящего из двухгорлой колбы на 25 мл, капельной воронки, дефлегматора, насадки Вюрца, термометра, прямого холодильника, аллонджа и колбы-приёмника поместили 3 грамма стеариновой кислоты. Колбу нагрели до 140°C, что сопровождалось расплавлением кислоты. К расплаву кислоты в течение часа прикапывали 1.2 мл (1.2 экв) уксусного ангидрида, отгоняя уксусную кислоту при 120°C. По завершении отгонки подключили шланг водоструйного насоса и продолжали нагрев

до завершения отгонки воды и уксусной кислоты. Расплав охладили до 45°C, добавили 10 мл петролейного эфира, разобрали прибор для перегонки, колбу снабдили обратным холодильником и кипятили 15 минут. Реакционную смесь охладили, петролейный эфир декантировали. Получили 2.6 г стеаринового ангидрида в виде светло-бежевого порошка. Выход: 90%.

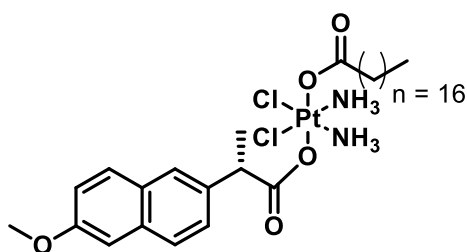
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 2.46 (т, 2Н $J=7.3$ Гц $\alpha\text{-CH}_2$), 1.67 (квинт, 2Н, $J=7.3$ Гц, $\beta\text{-CH}_2$), 1.38-1.27 (м, 28Н, $(\text{CH}_2)_{14}$), 0.90 (т, 2Н, $J=7.3$ Гц, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ м.д.): 169.64, 35.30, 31.95, 29.72, 29.69, 29.66, 29.59, 29.43, 29.92, 28.89, 24.24, 22.72, 14.15.

Общий протокол синтеза дикарбоксилатных пролекарств Pt(IV) со стеаратом в аксиальном положении (В):



Монокарбоксилатное пролекарство Pt(IV) (1 экв.) и стеариновый ангидрид (1.5 экв.) растворяли в ДМФА (122 мкл/10 мг стеаринового ангидрида) и смесь перемешивали при 60°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, выпавший в осадок стеариновый ангидрид отделили центрифугированием. Раствор ДМФА упарили при пониженном давлении, после чего к остатку последовательно добавили несколько капель метанола и 6–8 мл диэтилового эфира. Осадок удаляли центрифугированием, раствор упаривали. Остаток суспендировали в петролейном эфире, осадок выделяли центрифугированием и сушили на воздухе.



Синтез конъюгата оксоплатина, напроксена и стеарата (Pt-9). Из 40 мг (0.073 ммоль) Pt-5, следуя общему протоколу В, получили 19 мг конъюгата оксоплатина, напроксена и стеарата Pt-9 в виде желтоватого порошка. Выход: 32%.

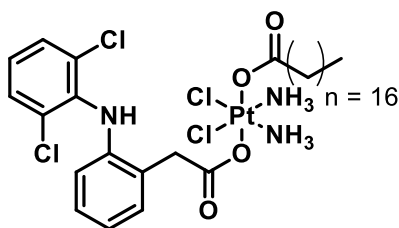
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 7.79-7.68 (м, 3Н, $\text{H}_1, \text{H}_4, \text{H}_8$), 7.46 (д, 1Н, $J=8.4$ Гц, H_3), 7.26 (д, 1Н, $J=2.4$ Гц, H_7), 7.11 (дд, 1Н, $J_1=2.6$ Гц, $J_2=9.0$ Гц, H_5), 6.53 (уш.с., 6Н, NH_3), 3.86-3.77 (м, 4Н, $\text{OCH}_3, \text{CH-COOR}$), 2.19 (т, 3Н, $J=7.4$ Гц, $\alpha\text{-CH}_2$), 1.48-1.31 (м, 5Н, $\beta\text{-CH}_2, \text{CH-CH}_3$), 1.22 (с, 28Н, $(\text{CH}_2)_{14}$), 0.89-0.79 (м, 3Н, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО-d₆, δ , м.д.): 181.97, 180.84, 156.90, 137.36, 133.02, 129.05, 128.34, 126.97, 126.32, 125.46, 118.33, 105.63, 55.11, 46.44, 35.62, 33.64, 31.29, 29.05, 28.70, 28.54, 25.44, 24.48, 22.09, 19.79, 13.95.

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, ДМСО-d₆, δ , м.д.): 1221.61.

HRMS: вычислено $\text{C}_{32}\text{H}_{55}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{Pt}^+$, 812.3130, (**Pt-9**+H)⁺; найдено $\text{C}_{32}\text{H}_{55}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{Pt}^+$, 812.3133, (**Pt-9**+H)⁺.

Чистота (HPLC): 100%.



Синтез конъюгата оксоплатина, диклофенака и стеарата (Pt-10). Из 40 мг (0.065 ммоль) **Pt-6**, следуя общему протоколу **B**, получили 40 мг конъюгата оксоплатина, диклофенака и стеарата **Pt-10** в виде бежевого порошка. Выход: 68%.

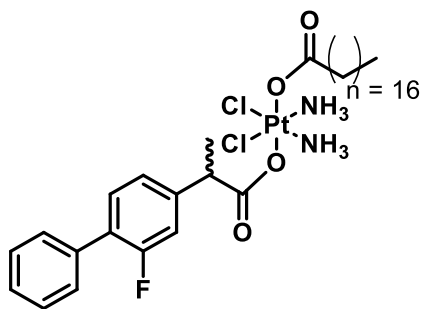
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ , м.д.): 7.50 (д, 2H, J=8.1 Гц, H₃H₅-PhCl₂), 7.27 (с, 1H, NH), 7.16 (т, 2H, J=8.0 Гц, H₄-PhCl₂), 7.02 (т, 1H, J=7.8 Гц, H₅-Ph), 6.80 (т, 1H, J=7.5 Гц, H₄-Ph), 6.54 (уш.с., 6H, NH₃), 6.23 (д, 1H, J=7.9 Гц, H₆-Ph), 3.74 (с, 2H, CH₂-Ph), 2.22-2.19 (м, 2H, α -CH₂) 1.48-1.42 (м, 2H, β -CH₂), 1.22 (с, 28H, (CH₂)₁₄), 0.83 (т, 3H, J=7.0 Гц, CH₃).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО-d₆, δ , м.д.): 181.51, 179.19, 143.53, 137.82, 131.39, 130.71, 129.47, 127.58, 125.74, 125.63, 120.76, 116.07, 40.87, 36.25, 34.09, 31.73, 29.49, 29.44, 29.15, 29.07, 25.91, 22.54, 14.41.

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, ДМСО-d₆, δ , м.д.): 1226.34.

HRMS: вычислено $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{Cl}_4\text{N}_3\text{O}_4\text{Pt}^+$, 877.2354, (**Pt-10**+H)⁺; найдено $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{Cl}_4\text{N}_3\text{O}_4\text{Pt}^+$, 877.2363, (**Pt-10**+H)⁺.

Чистота (ВЭЖХ): 99.73%.



Синтез конъюгата оксоплатина, флурбипрофена и стеарата (Pt-11). Из 40 мг (0.071 ммоль) **Pt-7** получили 28 мг конъюгата оксоплатина, флурбипрофена и стеарата **Pt-11** в виде желтоватого порошка. Выход: 48%.

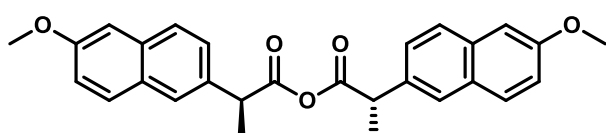
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ , м.д.): 7.54-7.50 (м, 2H, H₂, H₆-Ph), 7.49,-7.43 (м, 2H, H₃, H₅-Ph), 7.42-7.37 (м, 2H, H₄-Ph, H₅-PhF), 7.31-7.22 (м, 2H, H₂,H₃-PhF), 6.53 (уш.с., 6H, NH₃), 3.75 (д, 1H, J=7.2 Гц, CH-Ph), 2.22-2.19 (м, 2H, α -CH₂), 1.42 (д, 2H, J=6.5 Гц, β -CH₂), 1.35 (д, 2H, J=7.2 Гц, CH-CH₃), 1.22 (с, 28H, (CH₂)₁₄), 0.84 (т, 3H, J=6.7 Гц, CH₃).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 181.57, 181.29, 160.43, 157.99, 144.75, 133.55, 130.59, 129.12, 129.01, 128.08, 126.47, 124.66, 115.82, 46.37, 36.06, 34.09, 31.74, 29.49, 29.45, 29.15, 29.10, 25.89, 24.93, 22.54, 20.30, 14.39.

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 1220.66.

HRMS: вычислено $\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{Cl}_2\text{FN}_2\text{O}_4\text{Pt}^+$, 826.3087, (**Pt-11**+H) $^+$; найдено $\text{C}_{33}\text{H}_{54}\text{Cl}_2\text{FN}_2\text{O}_4\text{Pt}^+$ 826.3091, (**Pt-11**+H) $^+$.

Чистота (ВЭЖХ): 100%.

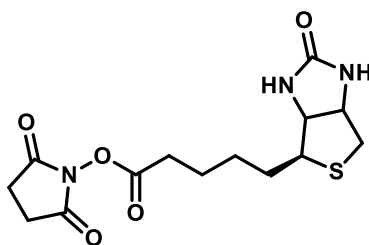


Синтез 2-(6-метоксинафталин-2-ил)пропановый ангидрида (15). 500 мг напроксена (2.17 ммоль) и 268 мг (1.3 ммоль, 0.6 экв.) DCC растворили в 20 мл безводного CH_2Cl_2 и перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Осадок дициклогексилмочевины отфильтровали, фильтрат упарили при пониженном давлении, остаток суспендировали в EtOAc. Осадок отфильтровали, фильтрат упарили при пониженном давлении. Продукт очищали флэш-хроматографией, элюент дихлорметан. Получили 427 мг 2-(6-метоксинафталин-2-ил)пропановый ангидрида **15** в виде белого порошка. Выход: 89%.

Осадок дициклогексилмочевины отфильтровали, фильтрат упарили при пониженном давлении, остаток суспендировали в EtOAc. Осадок отфильтровали, фильтрат упарили при пониженном давлении. Продукт очищали флэш-хроматографией, элюент дихлорметан. Получили 427 мг 2-(6-метоксинафталин-2-ил)пропановый ангидрида **15** в виде белого порошка. Выход: 89%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.53 (д, 1H, $J=7.1$ Гц, H_3), 7.50 (д, 1H, $J=7.4$ Гц, H_4), 7.43 (д, 1H, $J=1.3$ Гц, H_1), 7.16 (дд, 1H, $J_1=8.5$ Гц, $J_2=1.8$ Гц, H_8), 7.12 (дд, 1H, $J_1=8.9$ Гц, $J_2=2.5$ Гц, H_7), 7.05 (д, 1H, $J=2.5$ Гц, H_5), 3.94 (с, 3H, OCH_3), 3.82 (квад, 1H, $J=7.1$ Гц, CH-Ph), 1.52 (д, 3H, $J=7.1$ Гц, CH-Ph).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ м.д.): 169.64, 157.35, 133.36, 133.24, 128.84, 128.40, 126.92, 125.91, 125.42, 118.65, 105.13, 54.88, 45.88, 17.39.

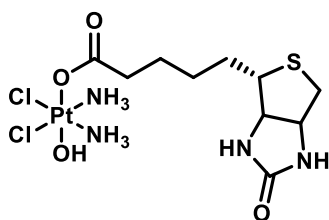


Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 5-((4S)-2-оксогексагидро-1H-тиено[3,4-d]имидазол-4-ил)пентаноата (16) [21]. 500 мг (2.05 ммоль, 1 экв.) биотина, 588 мг EDC (3.07 ммоль, 1.5 экв.) и 271 мг N-гидроксосукцинимид (2.35 ммоль, 1.15 экв.) растворили в 15 мл безводного ДМФА. Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов, затем добавили к 100

мл смеси лед-вода. Осадок дважды промыли водой и метанолом, высушили на воздухе. Получили 425 мг 2,5-диоксопирролидин-1-ил-5-((4R)-2-оксогексагидро-1H-тиено[3,4-d]имидазол-4-ил)пентаноата **16** в виде белого порошка. Выход: 61%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 6.40-6.38 (м, 2H, NH), 4.24-4.36 (м, 1H, CH-NH), 4.13 (уш.с., 1H, CH-NH), 3.09 (д, 1H, $J=4.9$ Гц, S-CH), 2.84 (д, 1H, $J=4.9$ Гц, S- CHN'), 2.80 (с,

4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 2.66 (т, 1H, $J=7.3$ Гц, S- CHNH'), 2.57 (д, 1H, $J=12.7$ Гц, $\text{CH}_2\text{-COO}$), 1.35–1.70 (м, 6H, $\text{-CH}_2\text{-}$).

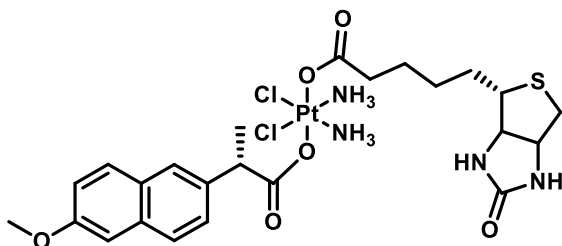


Синтез конъюгата оксоплатина и биотина (Pt-12) [21]. Из 80 мг (0.24 ммоль) оксоплатина **7** и 71 мг, следуя общему протоколу **Б**, получили 82 мг конъюгата оксоплатина и биотина **Pt-12** в виде бежевого порошка. Выход: 61%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 6.40 (с, 1H, NH), 6.35 (с, 1H, NH), 6.15-5.77 (м, 6H, NH_3), 4.36-4.27 (м, 1H, CH-NH), 4.15-4.07 (м, 1H, CH-NH), 3.12-3.05 (м, 1H, S-CH), 2.81 (дд, 1H, $J_1=5.0$, $J_2=12.5$ Гц, S- CHNH'), 2.58 (с, 1H, S- CHNH'), 2.14 (т, 2H, $J=7.3$ Гц, $\alpha\text{-CH}_2$), 1.51-1.26 (м, 6H, $\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-}$).

HRMS: вычислено $\text{C}_{10}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_4\text{PtS}^+$, 560.0459, (**Pt-12+H**) $^+$; найдено $\text{C}_{10}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_4\text{PtS}^+$, 560.0475, (**Pt-12+H**) $^+$.

Чистота (ВЭЖХ): 100%.



Синтез конъюгата оксоплатина, биотина и напроксена (Pt-13). 40 мг (0.071 ммоль, 1 экв.) **Pt-12** и 54 мг (0.122 ммоль, 1.7 экв.) ангидрида напроксена **15** растворили в 1.3 мл безводного ДМФА и раствор перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Растворитель упарили при

пониженном давлении, остаток суспендировали в нескольких каплях метанола и высадили диэтиловым эфиром. Осадок отделили центрифугированием, промыли диэтиловым эфиром и высушили на воздухе. Получили 18 мг конъюгата оксоплатина и биотина **Pt-13** в виде бежевого порошка. Выход: 33%.

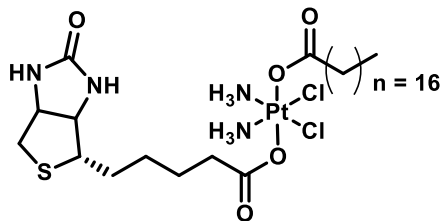
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 7.81-7.66 (м, 3H, H_1 , H_3 , H_4), 7.46 (д, 1H, $J=8.9$ Гц, H_8), 7.25 (с, 1H, H_5), 7.11 (д, 1H, $J=6.8$ Гц, H_7), 6.86-6.09 (м, 8H, NH_3 , NH), 4.29 (м, 1H, CH-NH), 4.12 (м, 1H, CH-NH), 3.87-3.77 (м, 4H, CH-Ph , OCH_3), 3.07 (м, 1H, CH-S), 2.79 (д, 1H, $J=5.1$ Гц, $\text{CHNH}'\text{-S}$), 2.56 (д, 1H, $J=12.5$ Гц, $\text{CHNH}'\text{-S}$), 2.34-2.13 (м, 3H, $\alpha\text{-CH}_2$), 1.79-1.02 (м, 9H, $\text{-(CH}_2\text{)}_3$, $\text{CH}_3\text{-CH}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMCO-d_6 , δ м.д.): 182.43, 181.18, 163.15, 157.34, 137.81, 133.46, 129.51, 128.78, 127.43, 126.78, 125.91, 118.79, 106.08, 61.45, 59.62, 55.88, 55.57, 46.89, 36.23, 28.59, 28.53, 25.90, 20.25.

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, DMCO-d_6 , δ м.д.): 1220.66.

HRMS: вычислено $C_{24}H_{35}Cl_2N_4O_6PtS^+$, 772.1297, (**Pt-13**+H)⁺; найдено $C_{24}H_{35}Cl_2N_4O_6PtS^+$, 772.1303, (**Pt-13**+H)⁺.

Чистота (ВЭЖХ): 95.11%.



Синтез конъюгата оксоплатина, биотина и стеарата (Pt-14). Из 40 мг (0.071 ммоль) **Pt-12**, следуя общему протоколу **В**, получили 40 мг конъюгата оксоплатина, биотина и стеарата **Pt-14** в виде бежевого порошка. Выход: 68%.

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 6.40 (уш.с., 8H, NH_3 , NH), 4.35-4.26 (м, 1H, $CH-NH$), 4.14 (д, 1H, $J=4.5$ Гц, $CH-NH$), 3.08 (д, 1H, $J=4.9$ Гц, $CH-S$), 2.89-2.86 (м, 1H, $CHN'-S$), 2.81 (дд, 1H, $J=5.1$ Гц, $J=12.3$ Гц, $CHN'-S$), 2.63-2.52 (м, 1H, $CHN'-S$), 2.28-2.15 (м, 4H, $\alpha-CH_2$, $\alpha-CH_2'$), 1.45-1.31 (м, 8H, $-(CH_2)_3$, $\beta CH_2'$), 1.22 (с, 28H, $-(CH_2)_{14-}$), 0.87-0.81 (м, 3H, CH_3).

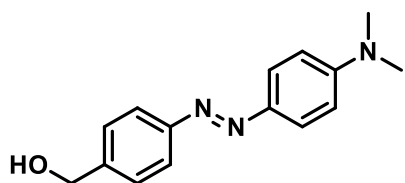
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО- d_6 , δ м.д.): 181.32, 181.21, 163.14, 61.45, 59.63, 55.88, 36.15, 35.98, 34.09, 33.92, 31.74, 29.51, 29.49, 29.45, 29.38, 29.14, 29.10, 28.59, 28.53, 25.90, 22.54, 14.41

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, ДМСО- d_6 , δ м.д.): 1227.28.

HRMS: вычислено $C_{28}H_{57}Cl_2N_4O_5PtS^+$, 826.306, (**Pt-14**+H)⁺; найдено $C_{28}H_{57}Cl_2N_4O_5PtS^+$, 826.3081, (**Pt-14**+H)⁺.

Чистота (HPLC): 97.05%.

4.2.2. Синтез пролекарств Pt(IV) с лигандами, чувствительными к гипоксии



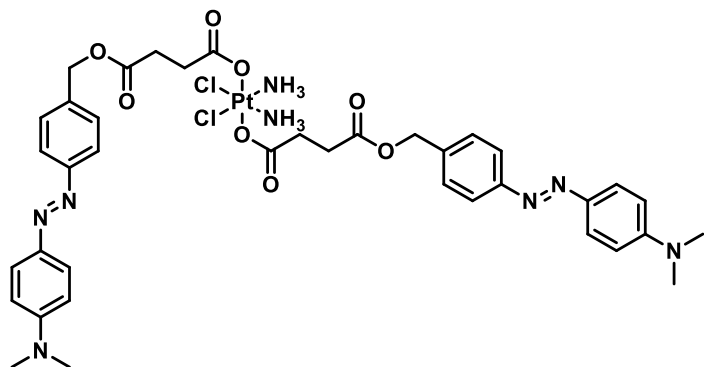
Синтез (4-((4-(диметиламино)фенил)дiazенил)фенил) метанола (17)
[174]: В круглодонной колбе растворили 1.3 г (10.56 ммоль) 4-аминобензиловый спирт в разбавленной соляной кислоте

(2.5:1). Полученный раствор охладили до 0°C на водяной бане. Далее к раствору по частям добавили 0.98 г (14.14 ммоль) $NaNO_2$, растворенного в 3 мл воды. Реакционная смесь перемешивалась в течение 1 часа при 0°C. Затем медленно добавили 1.72 г (14.21 ммоль) N,N-диметиланилина в растворе уксусной кислоты (7 мл). Реакцию перемешивали дополнительно 30 минут при комнатной температуре, после чего подщелочили насыщенным раствором ацетата натрия до pH=7-8. По окончании реакции образовавшийся черный осадок отфильтровали и промыли горячей водой. Продукт очищали колоночной хроматографией, элюент $CH_2Cl_2:MeOH$

(20:1). Получили 1.36 г (4-((4-(диметиламино)фенил)дiazенил)фенил) метанола **17** в виде оранжевого порошка. Выход: 50%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7.73-7.76 (м, 4H, H-Ph, H $_2'$, H $_6'$ -Ph, H $_3$, H $_5$ -Ph), 7.45 (д, 2H, J=8.8 Гц, H $_2$, H $_6$ -Ph), 6.83 (д, 2H, J=8.8 Гц, H $_3'$, H $_5'$ -Ph), 5.25-5.29 (м, 1H, -OH), 4.56 (д, 2H, J=5.9 Гц, -CH $_2$ -), 3.05 (с, 6H, -CH $_3$).

HRMS вычислено: C $_{15}$ H $_{18}$ N $_3$ O $^+$ 256.1450 (**17**+H) $^+$. Найдено: C $_{15}$ H $_{18}$ N $_3$ O $^+$ 256.1445 (**17**+H) $^+$.

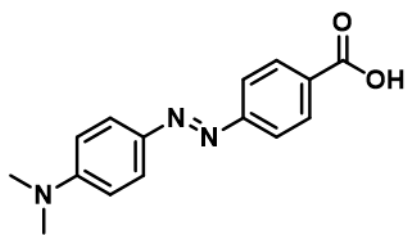


Синтез конъюгата
диаминадихлор(3,6-
дикарбоксипропионат)платины (IV) с (4-
((4-

(диметиламино)фенил)дiazенил)фенил)метанолом (Pt-15): 20 мг (0.037 ммоль) диаминадихлор(3,6-дикарбоксипропионат)платины (IV) **8** растворили в 1 мл ДМФА, добавили 16 мкл (0.114 ммоль, 3 экв.) триэтиламина и 42 мг (0.114 ммоль, 3 экв.) НВТУ. Раствор перемешивали в течение 40 минут, после чего добавили 24 мг (0.094 ммоль, 2.5 экв.) (4-((4-(диметиламино)фенил)дiazенил)фенил) метанола **17**. Реакционную смесь перемешивали в течение 48 часов, после чего растворитель упарили при пониженном давлении, продукт очищали колоночной хроматографией, элюент CH $_2$ Cl $_2$:MeOH 20:1. Получили 4.5 мг конъюгата диаминадихлор(3,6-дикарбоксипропионат)платины (IV) с (4-((4-(диметиламино)фенил)дiazенил)фенил)метанолом **Pt-15** в виде красного порошка. Выход: 12%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7.78 (т, 8H, J=8.8 Гц, H $_2'$, H $_6'$ -Ph, H $_3$, H $_5$ -Ph), 7.50-7.53 (м, 4H, H $_2$, H $_6$ -Ph), 6.83 (д, 4H, J $_1$ =8.8 Гц, H $_3'$, H $_5'$ -Ph), 6.51 (уш.с., 6H, NH $_3$) 5.16 (с, 4 H, -CH $_2$ -) 3.06 (с, 12H, -CH $_3$).

HRMS вычислено C $_{38}$ H $_{45}$ Cl $_2$ N $_8$ O $_8$ Pt $^-$ 1006.2385 (**Pt-15-H**) $^-$. Найдено: C $_{38}$ H $_{45}$ Cl $_2$ N $_8$ O $_8$ Pt $^-$ 1006.2393 (**Pt-15-H**) $^-$.

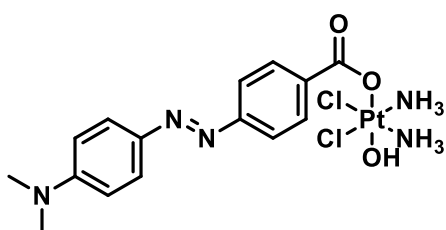


Синтез (E)-4-((4-
(диметиламино)фенил)дiazенил)бензойной кислоты (18)
[232]: 1 г (7.3 ммоль) п-аминобензойной кислоты растворили в смеси 14 мл воды и 2 мл соляной кислоты, добавили раствор 500 мг (7.3 ммоль, 1 экв.) NaNO $_2$, перемешивали при комнатной

температуре 30 минут. Реакционную смесь добавили к раствору 924 мкл (7.3 ммоль, 1 экв.) N,N-диметиланилина в 55 мл этанола, после чего реакционную смесь перемешивали при комнатной

температуре 1 час. Осадок красного цвета отфильтровали, промыли водой, высушили на воздухе. Получили 1.6 г (Е)-4-((4-(диметиламино)фенил)дiazенил)бензойной кислоты **18** в виде красного порошка. Выход: 82%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 8.07 (д, 2H, $J=8.3$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.83 (дд, 4H, $J_1=8.8$ Гц, $J_2=2.5$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$, $\text{H}_2', \text{H}_6'\text{-Ph}$), 6.85 (д, 2H, $J=8.8$ Гц, $\text{H}_3', \text{H}_5'\text{-Ph}$), 3.08 (с, 6H, CH_3).

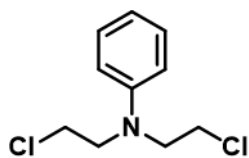


Синтез конъюгата оксоплатина с (Е)-4-((4-(диметиламино)фенил)дiazенил)бензойной кислотой **18**

(Pt-16): 48 мг (Е)-4-((4-(диметиламино)фенил)дiazенил)бензойной кислоты **18** (1.8 ммоль, 2 экв.) растворили в 3 мл ДМФА, добавили 68 мг (1.8 ммоль, 2 экв.) НВТУ и 26 мкл (1.8 ммоль, 2 экв.) триэтиламина, перемешивали при комнатной

температуре 30 минут, после чего добавили 30 мг (0.09 ммоль, 1 экв.) оксоплатина **7** и перемешивали при комнатной температурe сутки. Осадок отделили, суспендировали в метаноле, высадили диэтиловым эфиром. Получили 40 мг конъюгата оксоплатина с (Е)-4-((4-(диметиламино)фенил)дiazенил)бензойной кислотой **Pt-16** в виде красного порошка. Выход: 76%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 8.01 (д, 2H, $J=8.3$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.80 (м, 4H, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$, $\text{H}_2', \text{H}_6'\text{-Ph}$), 6.85 (д, 2H, $\text{H}_3', \text{H}_5'\text{-Ph}$), 6.22-5.94 (м, 6H, NH_3), 3.08 (с, 6H, CH_3).



Синтез N,N-бис(2-хлорэтил)анилина (19**) [233]:** 5 г (27.6 ммоль) N-

фенилдиэтанолamina и прибавили 10 мл (111 ммоль) оксихлорида фосфора.

Реакционную смесь нагрели до 90°C и перемешивали в течение 2 часов.

Затем смесь охладили до комнатной температуры, прибавили 18 мл бензола

и вылили в 27 мл холодной воды. Водный слой проэкстрагировали бензолом (4×20 мл).

Органические фракции объединили, сушили над сульфатом натрия и растворитель упарили при

пониженном давлении. Для кристаллизации, продукт поместили в морозильную камеру.

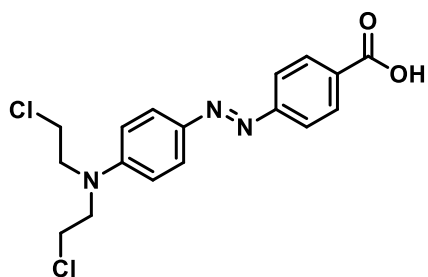
Получили 3.9 г N,N-бис(2-хлорэтил)анилина **19** в виде светло-бежевого порошка. Выход: 65%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.28 (т, 2H, $J=7.4$ Гц $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 6.80 (т, 2H, $J=7.3$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 6.71 (д, 1H, $J=8.3$ Гц, $\text{H}_4\text{-Ph}$) 3.77-3.62 (м, 8H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-Cl}$), 3.50 (с, 2H, OH).

HRMS вычислено $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}$ 218.0498 (**19**+H) $^+$. Найдено $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}$ 218.0498 (**19**+H) $^+$.

Синтез

(E)-4-((4-(бис(2-



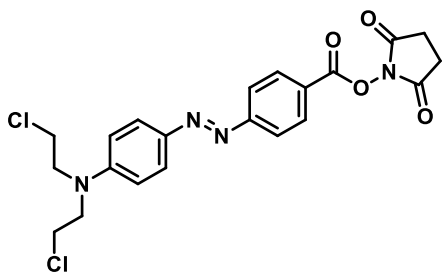
хлорэтил)амино)фенил)дiazенил)бензойной кислоты (20) [234]: 962 мг (7.02 ммоль, 1.016 экв.) п-аминобензойной кислоты растворили в смеси 13.5 мл воды и 2 мл HCl. Смесь остудили на ледяной бане до 0°C и прикапали насыщенный раствор 490 мг (7.02 ммоль, 1.016 экв.) NaNO₂ таким образом,

чтобы температура смеси находилась в диапазоне 0-5°C. Полученную смесь прибавили к охлажденному до 0°C раствору 1.5 г (6.9 ммоль) N,N-бис(2-хлорэтил)анилина **19** в этаноле так, чтобы температура реакционной смеси не поднималась выше 10°C. Далее реакционную смесь перемешивали при температуре ниже 10°C в течение 1 часа. Реакционную смесь нагрели до комнатной температуры и осадок отфильтровали на стеклянном пористом фильтре (16 пор). Осадок на фильтре промыли несколько раз водой и сушили на воздухе. Получили 1.8 г (E)-4-((4-(бис(2-хлорэтил)амино)фенил)дiazенил)бензойной кислоты **20** в виде тёмно-красного порошка. Выход 68%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м,д.): 8.08–8.06 (м, 2H, H₂,H₆-Ph) 7.86-7.82 (м, 4H, H₃,H₅-Ph, H₂',H₆'-Ph) 6.96 (д, 2H, J=9.3 Гц, H₃',H₅'-Ph) 3.89-3.79 (м, 8H, N-CH₂-CH₂-Cl).

HRMS вычислено C₁₇H₁₇Cl₂N₃O₂⁺ 366.07706 (**20**+H)⁺. Найдено C₁₇H₁₇Cl₂N₃O₂⁺ 366.0768 (**20**+H)⁺.

Синтез (E)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-4-((4-(бис(2-



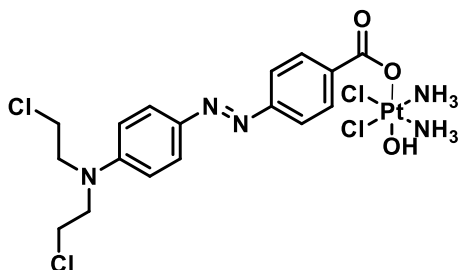
хлорэтил)амино) фенил) diaзенил) бензоата (21): 200 мг (0.54 ммоль 1 экв.) (E)-4-((4-(бис(2-хлорэтил)амино)фенил)дiazенил)бензойной кислоты **20**, 450 мг (2.2 ммоль, 4 экв.) DCC и 126 мг (1.09 ммоль, 2 экв.) NHS растворили в 5 мл дихлорметана, после чего к смеси добавили

каталитическое количество N,N-диметиламинопиридина. Смесь перемешивали в течение 3 часов, протекание реакции отслеживали и использованием ТСХ (CHCl₃:Ацетон (50:1)). После завершения реакции растворитель упарили при пониженном давлении. Продукт очищали флеш-хроматографией, элюент дихлорметан. Получили 225 мг (E)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-4-((4-(бис(2- хлорэтил)амино)фенил)дiazенил)бензоата **21** в виде красного порошка. Выход 89%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м,д.): 8.26 (д, 2H, J=8.6 Гц, H₂,H₆-Ph), 7.94 (д, 4H, J=8.6 Гц, H₃,H₅-Ph, H₂',H₆'-Ph), 6.79 (д, 2H, J=9.1 Гц, H₃',H₅'-Ph), 3.87 (т, 4H, J=6.9 Гц, CH₂-Cl), 3.72 (т, 4H, J=6.9 Гц, CH₂-N), 2.93 (с, 4H, CH₂-CH₂).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 168.83, 161.14, 156.38, 149.05, 144.27, 131.28, 125.64, 124.82, 122.17, 111.25, 53.06, 39.77, 25.29.

HRMS вычислено $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ 463.09344 ($\text{21}+\text{H}$)⁺. Найдено $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$ 463.0925 ($\text{21}+\text{H}$)⁺.

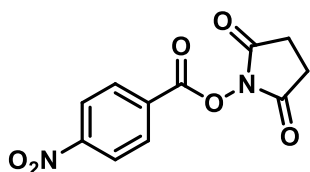


Синтез конъюгата оксоплатина и (E)-4-((4-(бис(2-хлорэтил)амино)фенил)дiazенил)бензойной кислоты (Pt-17): Из 20 мг (0.06 ммоль) оксоплатина **7** и 34 мг (0.073 ммоль) **21**, следуя общему протоколу синтеза монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) **Б**, получили 13 мг конъюгата оксоплатина и (E)-4-((4-(бис(2-

хлорэтил)амино)фенил)дiazенил)бензойной кислоты **Pt-17** в виде тёмно-красного порошка. Выход: 32%.

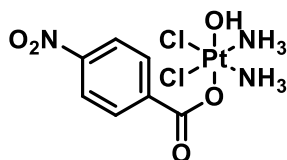
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 8.00 (д, 2H, $J=8.6$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.83-7.77 (м, 4H, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$, $\text{H}_2', \text{H}_6'\text{-Ph}$), 6.95 (м, 2H, $J=9.1$ Гц, $\text{H}_3', \text{H}_5'\text{-Ph}$), 6.2-5.92 (м, 6H, NH_3), 3.88-3.78 (м, 8H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$).

HRMS вычислено $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{Cl}_4\text{N}_5\text{O}_3\text{Pt}^+$ 681.0281 (**Pt-17**+H)⁺. Найдено $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{Cl}_4\text{N}_5\text{O}_3\text{Pt}^+$ 681.0251 (**Pt-17**+H)⁺.



Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-нитробензоата (22) [235]: Из 100 мг *p*-нитробензойной кислоты, следуя общему протоколу синтеза NHS эфиров **А**, получили 82 мг 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-нитробензоата **22** в виде белого порошка. Выход: 52%

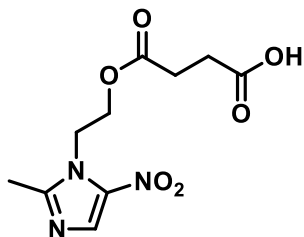
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 8.44 (д, 2H, $J=8.8$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 8.34 (д, 2H, $J=8.8$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 2.91 (с, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$).



Синтез конъюгата оксоплатина и *p*-нитробензойной кислоты (Pt-18): Из 40 мг (0.12 ммоль) оксоплатина **7** и 38 мг (0.14 ммоль, 1.2 экв.) **22**, следуя общему протоколу синтеза монокарбоксилатных пролекарств Pt(IV) **Б**, получили 10 мг конъюгата оксоплатина и *p*-

нитробензойной кислоты **Pt-18** в виде бежевого порошка. Выход: 17%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 8.27 (д, 2H, $J=8.8$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 8.06 (д, 2H, $J=8.8$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 6.24-5.81 (м, 6H, NH_3).



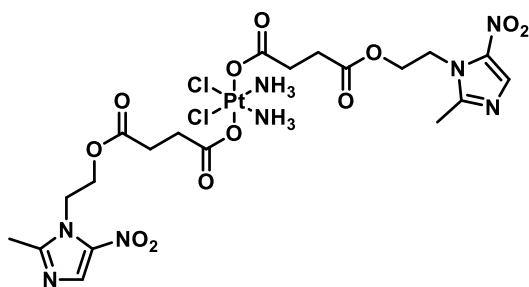
Синтез 4-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этокси)-4-оксобутановой кислоты (23): 300 мг (1.75 ммоль) метронидазола растворили в 15 мл ацетонитрила, добавили 264 мг (1.75 ммоль) янтарного ангидрида и 10 мг 4-диметиламинопиридина (DMAP) (5 % мол). Реакционную смесь перемешивали 72 часа, растворитель упарили

при пониженном давлении. Остаток растворили в метаноле, центрифугировали, раствор упарили и высушили. Получили 354 мг 4-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этокси)-4-оксобутановой кислоты **23** в виде белого порошка. Выход: 75%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CD_3OD , δ , м.д.): 7.92 (с, 1H, $\text{C}=\text{CH}-\text{N}$), 4.64 (т, 2H, $\text{J}=4.9$ Гц, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 4.44 (т, 2H, $\text{J}=4.9$ Гц, CH_2-COOR), 2.50 (с, 7H, CH_3 , $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$, δ , м.д.): 173.77, 173.30, 171.89, 151.63, 133.12, 62.43, 44.78, 28.97, 28.53, 13.96.

HRMS вычислено $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_6$ 272.0883 ($\text{23}+\text{H}$)⁺. Найдено $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_6$ 272.0875 ($\text{23}+\text{H}$)⁺.



Синтез диконъюгата оксоплатина и 4-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)-4-оксобутановой кислоты (Pt-19). 90 мг (0.332 ммоль, 3 экв.) (4-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этокси)-4-оксобутановой кислоты **23** растворили в ДМФА, добавили 0.05 мл (0.332 ммоль, 3 экв.) триэтиламина и

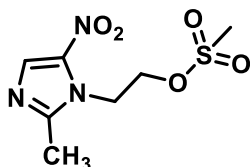
133 мг (0.332 ммоль, 3 экв.) НВТУ. Смесь перемешивали в течение 40 минут при комнатной температуре. Затем добавили 39 мг (0.117 ммоль) оксоплатина **7**, после чего полученный раствор перемешивали в течение 48 часов при комнатной температуре. Растворитель упарили при пониженном давлении, к остатку добавили 1.5 мл метанола и высадили избытком диэтилового эфира. Раствор центрифугировали, остаток сушили на воздухе, суспендировали эфиром, центрифугировали и снова высушили на воздухе. Получили 52 мг диконъюгата оксоплатина и 4-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)-4-оксобутановой кислоты **Pt-19** в виде бежевого порошка. Выход: 53%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMCO}-d_6$, δ , м.д.): 8.04 (с, 2H, $\text{C}=\text{CH}-\text{N}$), 6.48 (уш.с., 6H, NH_3), 4.56 (т, 4H, $\text{J}=4.9$ Гц, $-\text{CH}_2-\text{OR}$), 4.37 (т, 4H, $\text{J}=4.9$ Гц, CH_2-N), 2.46 (с, 6H, CH_3), 2.46–2.44 (м, 4H, $\text{CH}_2-\text{COO}-\text{CH}_2$), 2.36 (т, 4H, $\text{J}=5.9$ Гц, $-\text{CH}_2-\text{COOPt}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $\text{DMCO}-d_6$, δ , м.д.): 207.34, 179.38, 172.32, 152.05, 133.51, 62.60, 45.20, 31.13, 29.90, 14.46.

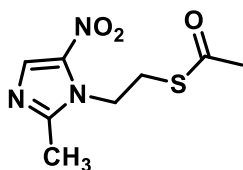
Спектр ЯМР ^{195}Pt (86.07 МГц, $\text{DMCO}-d_6$, δ , м.д.): 1226.46.

HRMS: вычислено $C_{20}H_{29}Cl_2N_8O_{12}Pt^-$, 838.0930, (**Pt-19-H**)⁻; найдено $C_{20}H_{29}Cl_2N_8O_{12}Pt^-$, 838.0395, (**Pt-19-H**)⁻.

**Синтез****2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-**

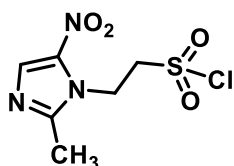
ил)этилметансульфоната (24) [180]: 500 мг метронидазола (2.9 ммоль, 1 экв.) суспендировали в 20 мл дихлорметана, добавили 0.81 мл (5.8 ммоль, 2 экв.) триэтиламина и 70 мг (0.1 экв.) DMAP, после чего реакционную смесь охладили до 0°C на ледяной бане. К реакционной смеси по каплям добавили 0.25 мл метансульфонилхлорида (3.2 ммоль, 1.1 экв.), после чего реакционной смеси дали нагреться до 18°C и перемешивали в течение 16 часов. Реакционную смесь разбавили дихлорметаном (100 мл), промыли водой (3x50 мл) и рассолом (50 мл), органическую фазу высушили, растворитель упарили при пониженном давлении. Получили 443 мг 2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этилметансульфоната **25** в виде светло-жёлтого порошка. Выход: 61%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8.07 (с, 1H, CH=C), 4.73-4.68 (м, 2H, CH₂-S), 4.63-4.60 (м, 2H, CH₂-N), 3.00 (с, 3H, CH₃-S), 2.65 (с, 3H, CH₃-C=N).

**Синтез****S-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-**

ил)этил)этанттиоата (25) [180]: 440 мг (1.77 ммоль) 2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этилметансульфоната **25** растворили в безводном ДМФА, к реакционной смеси добавили 302 мг (2.65 ммоль, 1.5 экв.) тиацетата калия, после чего реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре, затем 6 часов при 60°C. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры добавили 60 мл воды и промыли EtOAc (3x80 мл), после чего органическую фазу промыли водой (3x50 мл) и рассолом (50 мл). Растворитель высушили над безводным сульфатом натрия, и упарили при пониженном давлении. Получили 330 мг S-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этил)этанттиоата **26** в виде коричневого порошка. Выход: 68%.

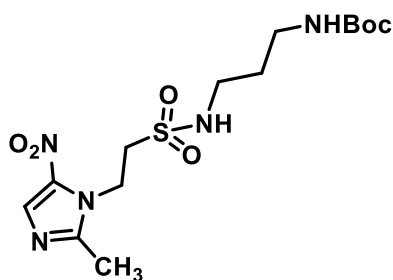
Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 7.94 (с, 1H, CH=C), 4.44 (т, 2H, J=6.9 Гц, CH₂-N), 3.24 (т, 2H, J=6.9 Гц, CH₂-S), 2.56 (с, 3H, CH₃-C=N), 2.36 (с, 3H, CH₃-C(O)S)

**Синтез 2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этан-1-сульфонил**

хлорида (26) [180]: 290 мг (1.26 ммоль, 1 экв.) S-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этил)этанттиоата растворили в 3.5 мл смеси HCl:CH₃CN 1:5, раствор охладили до 0°C на ледяной бане и прибавили порционно 670 мг (5 ммоль, 4 экв.) N-хлорсукцинимид в течение 30 минут, что сопровождалось изменением окраски раствора с бурого на светло-жёлтый. После этого реакционную смесь перемешивали при

комнатной температуре 3 часа. Реакционную смесь разбавили водой (20 мл), экстрагировали дихлорметаном (3x40 мл), органическую фракцию высушили над безводным сульфатом натрия, после чего растворитель упарили при пониженном давлении. Получили 287 мг 2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этан-1-сульфонил хлорида в виде жёлтого масла. Выход: 89%

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.53 (с, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 4.59 (т, 2H, $J=6.9$ Гц, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.01 (т, 2H, $J=6.9$ Гц, $\text{CH}_2\text{-S}$), 2.64 (с, 3H, $\text{CH}_3\text{-C}=\text{N}$).

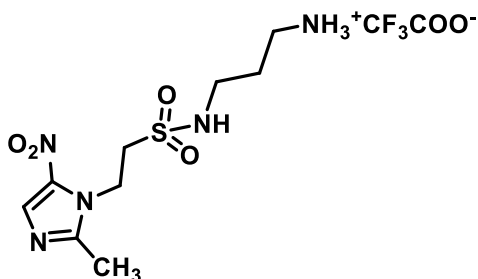


Синтез трет-бутил (3-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этилсульфонамидо)пропил)карбамата (27):

590 мг (3.4 ммоль, 3 экв.) трет-бутил (3-аминопропил) карбамата **4** растворили в 8 мл дихлорметана, добавили 712 мкл (5 ммоль, 4.5 экв.) триэтиламина и охладили раствор до 0°C на ледяной бане. К раствору по каплям добавили раствор 287 мг (0.13 сульфонила хлорида **26** в 4 мл дихлорметана, после чего реакционную смесь перешивали при комнатной температуре 18 часов. Раствор разбавили 40 мл дихлорметана, промыли 50 мл воды и 50 мл рассола, органическую фракцию высушили над безводным сульфатом натрия и растворитель упарили при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией, элюент $\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ 40:1. Получили 267 мг трет-бутил (3-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этилсульфонамидо)пропил)карбамата **27** в виде светло-бежевого порошка. Выход: 38%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.92 (с, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 6.13 (уш.с., 1H, NH-S), 4.96 (уш.с., 1H, $\text{NH-C}=\text{O}$), 4.67 (т, 2H, $J=6.9$ Гц, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.42 (т, 2H, $J=6.9$ Гц, $\text{CH}_2\text{-S}$), 3.22-3.11 (м, 4H, $\text{CH}_2\text{-NH}\text{SO}_2$, $\text{CH}_2\text{-NH-C(O)}$), 2.54 (с, 3H, $\text{CH}_3\text{-C}=\text{N}$), 1.65 (квинт, 2H, $J=6.0$ Гц, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

HRMS: вычислено $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}^+$, 392.1604, (**27**+H) $^+$; найдено $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}^+$, 392.1597, (**27**+H) $^+$.



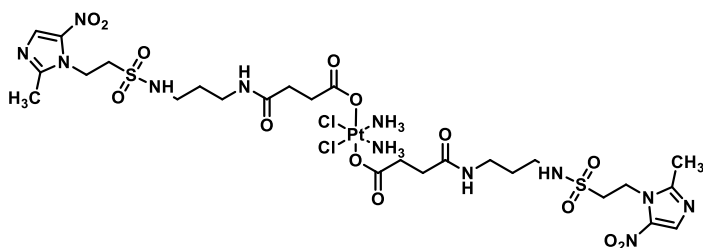
Синтез 3-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этилсульфонамидо)пропан-1-аммоний трифторацетата (28):

80 мг (0.2 ммоль) трет-бутил (3-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этилсульфонамидо)пропил)карбамата **27** растворили в 12 мл дихлорметана, добавили 1.2 мл (10%) ТФК, реакционную смесь перемешивали 1 час, контролируя протекание реакции по ТСХ (элюент $\text{EtOAc}:\text{MeOH}$ 40:1). По завершению реакции растворитель упарили при пониженном давлении.

3-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этилсульфонамидо)пропан-1-аммоний трифторацетат был получен в виде светло-бурого масла.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CD_3OD , δ , м.д.): 8.06 (с, 1H, $\text{CH}=\text{C}$), 4.78 (т, 2H, 6.9 Гц, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.60 (т, 2H, 6.9 Гц, $\text{CH}_2\text{-S}$), 3.21 (т, 2H, $J=6.6$ Гц, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 3.05-3.01 (м, 2H, CH_2NH_3), 2.60 (с, 3H, CH_3), 1.89 (квинт, 2H, $J=7.6$ Гц, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$)

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CD_3OD , δ , м.д.): 152.81, 140.13, 132.91, 51.33, 42.32, 40.96, 38.31, 29.56, 14.09.



Синтез

конъюгата

диаминдихлор(3,6-

дикарбоксипропионата)платины (IV) 8

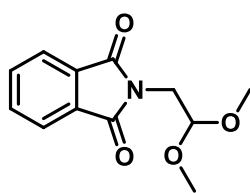
с N-(3-аминопропил)-2-(2-метил-5-

нитро-1H-имидазол-1-

ил)этансульфонамидом 28 (Pt-20): 20 мг (0.037 ммоль) диаминдихлор(3,6-дикарбоксипропионата) платины **8** суспендировали в 350 мкл ДМФА, добавили 22 мг (0.11 ммоль, 3 экв.) EDC и 13 мг (0.11 ммоль, 3 экв.) NHS, реакционную смесь перемешивали в течение 40 минут, после чего добавили раствор 45 мг (0.11 ммоль, 3 экв.) 3-(2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этилсульфонамидо)пропан-1-аммоний трифторацетата **28** и 21 мкл (0.11 ммоль, 3 экв.) триэтиламина в 350 мкл ДМФА, после чего реакционную смесь перемешивали 16 часов. Растворитель упарили при пониженном давлении, остаток суспендировали в метаноле (0.5 мл), высадили диэтиловым эфиром (8 мл). Получили 10 мг конъюгата диаминдихлор(3,6-дикарбоксипропионата)платины (IV) с N-(3-аминопропил)-2-(2-метил-5-нитро-1H-имидазол-1-ил)этансульфонамидом **Pt-20** в виде светло-бурого порошка. Выход: 25%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMCO-d_6 , δ , м.д.): 8.03 (с, 2H, $\text{CH}_3\text{-C}=\text{N}$), 7.83 (уш.с., 2H, NH-S), 7.32 (уш.с., 1H, $\text{NH-C}=\text{O}$), 6.69-6.36 (уш.с., 6H, NH_3), 4.59-4.56 (т, 4H, $J=7.1$ Гц, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.55-3.51 (т, 4H, $J=7.1$ Гц, $\text{CH}_2\text{-S}$), 3.08-2.93 (м, 8H, $\text{CH}_2\text{-SO}_2\text{NH}$, $\text{CH}_2\text{-C(O)NH}$), 2.81-2.73 (м, 4H, $\text{CH}_2\text{-COOPt}$), 2.45-2.40 ($\text{CH}_2\text{-COON}$, CH_3 , за сигналом растворителя), 2.27-2.23 (м, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$).

HRMS: вычислено $\text{C}_{26}\text{H}_{47}\text{Cl}_2\text{N}_{12}\text{O}_{14}\text{PtS}_2^+$, 1080.1801, $(\text{Pt-20}+\text{H})^+$; найдено $\text{C}_{26}\text{H}_{47}\text{Cl}_2\text{N}_{12}\text{O}_{14}\text{PtS}_2^+$, 1080.1791, $(\text{Pt-20}+\text{H})^+$.



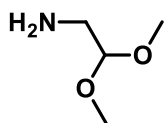
Синтез 2-(2,2-диметоксиэтил)изоиндолин-1,3-диона (29) [236]:

2.063 г (11.15 ммоль) фталимида калия суспендировали в 5.71 мл ДМФА. К реакционной смеси прибавили 1 мл (8.57 ммоль) 2-бром-диметоксиэтана и перемешивали смесь при температуре 130-135°C в течение 20 часов.

После этого смесь отфильтровали, фильтрат упарили в вакууме и к остатку прибавили 1.5 мл

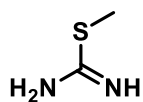
горячей воды. Образовавшийся осадок отфильтровали, промыли на фильтре 1.5 мл смеси метанол-вода (1:1) и высушили. Остаток суспендировали в 10 мл горячего бензола, перемешали в течение 5 минут и не растворившийся осадок отделили горячим фильтрованием. Органический растворитель упарили при пониженном давлении, вязкий остаток вылили на фильтр (16 пор) и промыли 2 мл изопропанола, затем перекристаллизовали из метанола. Получили 1.128 г 2-(2,2-диметоксиэтил)изоиндолин-1,3-диона **29** в виде бежевого порошка. Выход 56%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.87 (м, 5H, Ar), 4.64 (т, 1H, $J=5.7$ Гц, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{OMe})_2$), 3.66 (д, 2 H, $J=5.6$ Гц, $\text{N-CH}_2\text{-CH}$), 3.26 (с, 6H, OCH_3).



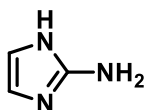
Синтез 2,2-диметоксиэтанамина (30) [237]: В круглодонную колбу объемом 50 мл, снабженную дефлегматором, насадкой Вюрца, термометром, холодильником Либиха и колбой приёмником, внесли навеску 1.128 г (4.80 ммоль) 2-(2,2-диметоксиэтил)изоиндолин-1,3-диона **29** и прибавили 1.44 мл (23.89 ммоль) 2-аминоэтанола. Смесь нагрели до 170-175°C и отогнали фракцию с температурой кипения 130–135°C. Получили 331 мг 2,2-диметоксиэтанамина **30** в виде маслянистой жидкости. Выход 75%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 4.19 (т, 1H, $J=5.4$ Гц, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{OMe})_2$), 3.24 (с, 6H, CH_3O), 2.53 (м, 2H, $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}$), 1.31 (уш.с., 2H, $\text{NH}_2\text{-CH}_2$).



Синтез полусульфата метил-изотиомочевины (31) [238]: 5 г (66 ммоль) тиомочевины растворили в 4 мл воды, после чего к раствору прибавили 3.413 мл (36 ммоль) диметилсульфата по каплям в течение часа. Затем реакцию смесь нагрели до 80°C и перемешивали 30 минут, после чего смесь кипятили с обратным холодильником в течение 5 часов. После этого смесь охладил, прибавили 7 мл изопропанола и оставили перемешиваться при комнатной температуре 1 час. Образовавшийся осадок отделили фильтрованием, промыли 4.7 мл воды, 10 мл изопропанола и высушили в вакууме. Получили 2.9 г полусульфата метил-изотиомочевины **31** в виде белого порошка. Выход: 23%.

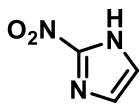
ИК (ν , cm^{-1}): 3358.43, 3195.95, 3029.2, 2804.96, 1682.59, 1563.5; 1435.74, 1418.39, 1321.48



Синтез 2-аминоимидазола (32) [239]: 1.060 г (5.64 ммоль) полусульфата метил-изотиомочевины **31** растворили суспендировали в 1.4 мл воды, после чего прикапали 592 мг (5.64 ммоль) 2,2-диметоксиэтанамина **30**. Реакционную смесь нагрели до 110°C и перемешивали в течение 1.5 часов. По окончании реакции, смесь остудили до комнатной температуры, растворитель упарили при пониженном давлении, к остатку прибавили 831 мкл концентрированной соляной кислоты. Смесь нагрели до 65°C и перемешивали в течение 1 часа после чего добавили 4 мл воды. Растворитель упарили при

пониженном давлении и остаток суспендировали в 2.3 мл ацетона. Полученный порошок центрифугировали, промыли ацетоном и высушили при комнатной температуре на воздухе в течение ночи. Получили 100 мг 2-аминоимидазола **32** в виде светло-бежевого порошка. Выход: 10%.

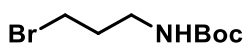
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, D_2O , δ , м.д.): 6.68 (с, 2 Н, $\text{CH}-\text{CH}$).



Синтез 2-нитроимидазола (33) [240]: 500 мг (3.79 ммоль) 2-аминоимидазола **32** растворили в 3.2 мл воды, после чего добавили 2.4 мл 50% HBF_4 . Смесь охладили до -25°C и осторожно прикапали раствор 1.3 г (18.9 ммоль) NaNO_2 в 3.2 мл воды, таким образом, чтобы температура реакционной смеси не поднималась выше -15°C . После этого смесь нагрели до -10°C и перемешивали в течение 30 минут. Далее смесь нагрели до 0°C и добавили к раствору 6.15 г безводного сульфата меди в 64 мл воды. После смешения обоих растворов к смеси прибавили 1.3 г (18.9 ммоль) NaNO_2 и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Раствор подкислили до pH 2 раствором 1М HCl и экстрагировали этилацетатом (10×200 мл). Органические фракции объединили и сушили над сульфатом натрия, растворитель упарили при пониженном давлении. Продукт очищали с помощью флеш-хроматографии, элюент $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (20:1). Получили 130 мг 2-нитроимидазола **33** в виде желтого порошка. Выход 30%.

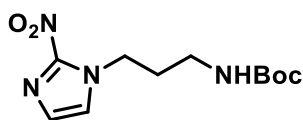
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д.): 14.46 (уш.с., 1Н, NH), 7.40 (уш.с., 2Н, $\text{N}-\text{CH}=\text{CH}-\text{NH}$).

HRMS: вычислено $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_3\text{O}_2^+$, 114.0298, (**33**+H) $^+$; найдено $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_3\text{O}_2$, 114.0302, (**33**+H) $^+$.



Синтез трет-бутил (3-бромаминопропил)карбамата (34) [241]: 1.263 г (5.79 ммоль) гидробромида 3-бромпропиламина растворили в 50 мл дихлорметана. К смеси прибавили 1.2 мл (5.23 ммоль) ди-третбутил-дикарбоната, после чего по каплям добавили 1.213 мл (8.70 ммоль) триэтиламина и перемешивали ночь при комнатной температуре. Растворитель упарили при пониженном давлении, к остатку прибавили 20 мл воды и гомогенизировали смесь с помощью ультразвуковой ванны. Полученную эмульсию экстрагировали этилацетатом (4×60 мл). Органическую фракцию высушили над безводным сульфатом натрия и растворитель упарили при пониженном давлении. Получили 1.72 г трет-бутил (3-бромаминопропил)карбамата **34** в виде медленно кристаллизующегося бесцветного масла. Выход 75%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 4.65 (уш.с., 1Н, $\text{CH}_2-\text{NH}-\text{Boc}$), 3.45 (т, 2Н, $J=6.5$ Гц, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Br}$), 3.28 (кв., 2Н, $J=6.4$ Гц, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 2.06 (квинт., 2Н, $J=6.5$ Гц, CH_2-CH_2), 1.45 (с, 9Н, t-Bu-O).

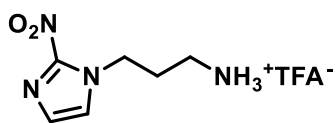


Синтез трет-бутил (3-(2-нитро-1H-имидазол-1-

ил)пропил)карбамата (35): 50 мг (0.44 ммоль, 1 экв.) 2-нитроимидазола **33** и 116 мг (0.49 ммоль, 1.1 экв.) трет-бутил (3-бромаминопропил)карбамата **34** растворяли в 2.5 мл ДМФА, добавили 288 мг (0.88 ммоль, 2 экв.) карбоната цезия, перемешивали 16 часов при 60°C. Реакционную смесь разбавили 20 мл EtOAc, экстрагировали водой (3x40 мл) и рассолом (40 мл). Органическую фракцию высушили над безводным сульфатом натрия, растворитель упарили при пониженном давлении. Получили 88 мг трет-бутил (3-(2-нитро-1H-имидазол-1-ил)пропил)карбамата **35** в виде светло-жёлтого масла. Выход: 87%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м,д.): 7.29 (уш.с., 1H, N-CH=CH-N-CH₂), 7.11 (д, 1H, J=0.9 Гц, N-CH=CH-N-CH₂), 4.45 (т, 2H, J=6.9 Гц, N-CH₂-CH₂), 3.18 (квад., 2 H, J=5.9 Гц, NH-CH₂-CH₂), 2.03 (м, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 1.41 (с., 9H, t-BuO).

HRMS вычислено C₁₁H₁₈N₄O₄⁺ 271.1400 (35+H)⁺. Найдено C₁₁H₁₈N₄O₄ 271.1401 (35+H)⁺.

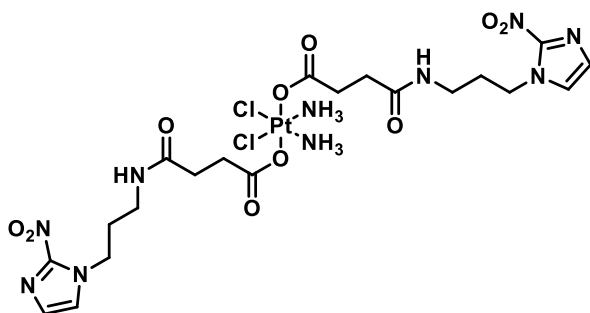


Синтез 3-(2-нитро-1H-имидазол-1-ил)пропан-1-амоний

трифторацетата (36): 88 мг (0.32 ммоль) трет-бутил (3-(2-нитро-1H-имидазол-1-ил)пропил)карбамата **35** растворили в 12 мл дихлорметана, добавили 1.2 мл (10%) ТФК, перемешивали 1 час при комнатной температуре, контролируя протекание реакции по ТСХ (элюент CH₂Cl₂:MeOH (20:1)). По завершению реакции растворитель упаривали при пониженном давлении, остаток суспендировали диэтиловым эфиром. Получили 85 мг 3-(2-нитро-1H-имидазол-1-ил)пропан-1-амоний трифторацетата в виде светло-бежевого порошка. Выход 92%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, DMSO-d₆, δ, м,д.): 7.82-7.72 (м, 2H, NH₃⁺), 7.68-7.67 (м, 1H, N=CH-CH), 7.21-7.20 (м, 1H, N-CH=CH-N-CH₂), 4.44 (т, 2H, J=6.8 Гц, N-CH₂-CH₂), 2.77 (м, 2H, NH₃⁺-CH₂), 2.10-2.03 (м, 2H, CH₂-CH₂-CH₂).

HRMS вычислено C₆H₁₁N₄O₂⁺ 171.08765 (36+H)⁺. Найдено C₆H₁₁N₄O₂⁺ 171.088 (36+H)⁺.



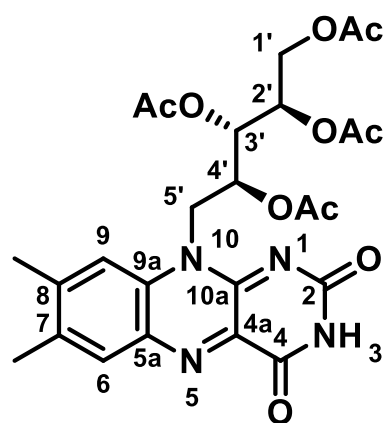
Синтез конъюгата диаминдихлор(3,6-дикарбоксипропионата)платины (IV) с 3-(2-нитро-1H-имидазол-1-ил)пропан-1-амином (Pt-21): 28 мг (0.052 ммоль) диаминдихлор(3,6-дикарбоксипропионата) платины **8** суспендировали в 500 мкл ДМФА, добавили 30 мг (0.16 ммоль, 3

экв.) EDC и 18 мг (0.16 ммоль, 3 экв.) NHS, реакционную смесь перемешивали в течение 40 минут, после чего добавили раствор 45 мг (0.16 ммоль, 3 экв.) 3-(2-нитро-1H-имидазол-1-ил)пропан-1-амоний трифторацетата **36** и 37 мкл (0.16 ммоль, 3 экв.) триэтиламина в 500 мкл ДМФА, после чего реакционную смесь перемешивали 16 часов. Растворитель упарили при пониженном давлении, остаток суспендировали в метаноле (0.5 мл), высадили диэтиловым эфиром (8 мл). Получили 25 мг конъюгата диаминдихлор(3,6-дикарбоксипропионата)платины (IV) **8** с 3-(2-нитро-1H-имидазол-1-ил)пропан-1-амином **Pt-21** в виде светло-бежевого порошка. Выход: 57%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 7.67 (д, 2H, $J=1.0$ Гц, $\text{N}=\text{CH}-\text{CH}$), 7.16 (д, 2H, $J=1.0$ Гц, $\text{N}-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}-\text{CH}_2$), 6.72-6.33 (м, 6H, NH_3), 4.35 (д, 2H, $J=7.1$ Гц, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 3.06-3.01 (м, 2H, CH_2-NH), 2.45-2.43 (м, 2H, $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{OPt}$), 2.26-2.22 (м, 2H, $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{NH}$), 1.89 (д, 2H, $J=6.9$ Гц, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$)

HRMS: вычислено $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{Cl}_2\text{N}_{10}\text{O}_{10}\text{Pt}^+$, 838.1406, $(\text{Pt-21}+\text{H})^+$; найдено $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{Cl}_2\text{N}_{10}\text{O}_{10}\text{Pt}^+$, 838.1402, $(\text{Pt-21}+\text{H})^+$.

4.2.3. Синтез пролекарств Pt(IV) с фотоактивными лигандами в аксиальном положении.



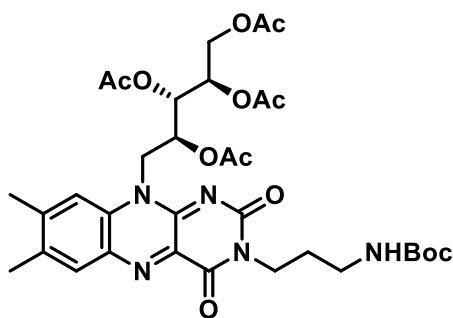
Синтез (2R,3S,4S)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраилтетраацетата (37**):** 1.0 г (2.66 ммоль) рибофлавина суспендировали в 40 мл смеси $\text{Ac}_2\text{O}:\text{AcOH}$ (1:1), затем добавили 200 мкл HClO_4 и перемешивали при 45°C в течение 6-10 часов. За протеканием реакции следили с помощью ТСХ (элюент: $\text{CHCl}_3:\text{Ацетон}$ (1:1)). По окончании реакции к раствору прибавили равный объем воды и экстрагировали смесь хлороформом (4×40 мл), органические фракции объединили, высушили над безводным сульфатом натрия и растворитель упарили при пониженном давлении. Получили 1.39 г (2R,3S,4S)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраилтетраацетата **37** в виде порошка золотисто-желтого цвета. Выход 96%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.73 (уш.с., 1H, NH), 8.02 (с, 1H, $\text{H}_9(\text{Ar})$), 7.57 (с, 1H, $\text{H}_6(\text{Ar})$), 5.72 – 5.63 (м, 1H, 4'-CH (rib)), 5.52-5.38 (м, 2H, 2',3'-CH (rib)), 5.26-4.81 (м, 2H, 5'- CH_2 (rib)), 4.44 (дд, 1H, $J_1=9.5$ Гц, $J_2=2.7$ Гц, 1'-H- CHOAc), 4.26 (дд, 1H $J_1=12.3$ Гц, $J_2=5.7$ Гц,

H-1'CHOAc), 2.57 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.45 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.29 (с, 3H, AcO), 2.22 (с, 3H, AcO), 2.09 (с, 3H, AcO), 1.77 (с, 3H, AcO).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 170.24, 169.91, 169.48, 169.34, 158.96, 154.16, 150.26, 147.74, 136.61, 135.61, 134.19, 132.49, 130.80, 115.13, 70.00, 68.98, 68.56, 61.45, 44.58, 21.07, 20.65, 20.40, 20.30, 19.93, 19.06.

HRMS вычислено C₂₅H₂₈N₄O₁₀⁺ 545.1878 (**37**+H)⁺; найдено C₂₅H₂₈N₄O₁₀ 545.1860 (**37**+H)⁺.



Синтез

(2R,3S,4S)-5-(3-(3-((трет-бутилоксикарбонил)амино)пропил)-7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-

1,2,3,4-тетраил тетраацетата (38): 500 мг (0.92 ммоль)

тетраацетил рибофлавина **37** и 254 мг (1.84 ммоль, 2 экв.)

карбоната калия суспендировали в 10 мл ДМФА. К

реакционной смеси в течение 5 минут прибавили раствор 537

мг (2.30 ммоль, 2.5 экв.) трет-бутил (3-бромаминопропил)карбамата **34** в 1 мл ДМФА. После

прибавления всего объёма карбамата **34**, реакционную смесь перемешивали при комнатной

температуре в течение 12 часов. После прохождения реакции, растворитель упарили при

пониженном давлении, к остатку прибавили 10 мл смеси CHCl₃:HCl 1:1 (1M). Смесь

гомогенизировали в УЗ-бане, затем водную фазу экстрагировали хлороформом (3x80 мл).

Органические фракции объединили, высушили над безводным сульфатом натрия, растворитель

упарили при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией, элюент

CHCl₃:Ацетон (5:1), при необходимости повторяли очистку колоночной хроматографией, элюент

EtOAc:MeOH (40:1). Получили 450 мг (2R,3S,4S)-5-(3-(3-((трет-

бутилоксикарбонил)амино)пропил)-7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-

10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата **37** в виде оранжевого масла. Выход 68%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 8.03 (с, 1H, H₉(Ar)), 7.55 (с, 1H, H₆(Ar), 5.66

(уш. с., 1H, 4'-CH (rib)), 5.48-5.39 (м, 2H, 2',3'-CH (rib)), 5.25-4.70 (м, 2H, 5'-CH₂ (rib)), 4.83-4.69

(м, 2H, N-CH₂-COOEt), 4.44 (дд, 1H, J₁=12.3 Гц, J₂=2.8 Гц, 1' H-CHOAc), 4.25 (дд, 1H, J₁=12.3 Гц,

J₂=5.8 Гц, 1' H-CHOAc), 4.15 (т, 2H, J=6.2 Гц, N-CH₂-CH₂), 3.14-3.10 (м, 2H, CH₂-CH₂-NHBOc

) 2.51 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.56 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.44 (с, 3H, AcO), 2.28 (с, 3H, AcO), 2.21 (с, 3H, AcO),

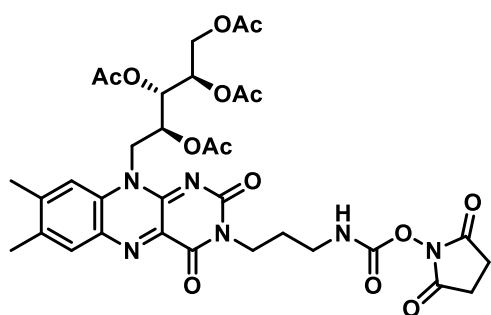
2.07 (с, 3H, AcO), 1.90 (квинт., 2H, J=5.9 Гц, CH₂-CH₂-CH₂), 1.38 (с., 9H, tBu-O).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 170.19, 169.84, 169.38, 169.23, 159.74, 155.64,

154.64, 148.66, 147.42, 136.36, 135.61, 134.28, 132.38, 130.77, 114.99, 78.39, 69.87, 68.95, 68.55,

61.38, 44.12, 38.66, 36.58, 28.00, 27.93, 27.69, 21.05, 20.60, 20.36, 20.26, 19.90, 19.04.

HRMS вычислено $C_{33}H_{44}N_5O_{12}$ 702.2981 (**38**+H)⁺. Найдено $C_{33}H_{44}N_5O_{12}^+$ 702.2964 (**38**+H)⁺.



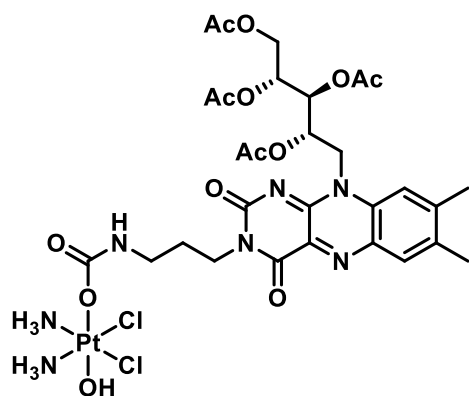
Синтез **(2R,3S,4S)-5-(3-(3-(((2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси)карбонил)амино)пропил)-7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата (39):** 554 мг (0.790 ммоль) **(2R,3S,4S)-5-(3-(3-((трет-бутилоксикарбонил)амино)пропил)-7,8-диметил-2,4-**

диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата 38 растворили в 83 мл хлористого метилена. К раствору прибавили 4.2 мл ТФК (5%). Реакционную смесь перемешивали 1 час при комнатной температуре, контролируя протекание реакции по ТСХ (элюент $CHCl_3$:Ацетон 5:1). По завершению реакции растворитель упарили при пониженном давлении. Остаток суспендировали диэтиловым эфиром, взвесь центрифугировали, раствор декантировали, осадок высушили на воздухе. 546 мг (0.762 ммоль) полученного оранжевого порошка растворили в 15 мл дихлорметана и прикапали к суспензии 354 мг (1.368 ммоль, 1.8 экв.) N,N' -дисукцинимидил карбамата и 330 мкл (0.304 ммоль, 2.2 экв.) диизопропилэтиламина в 10 мл дихлорметана, полученный раствор перемешивали 2 часа при комнатной температуре. Растворитель упарили при пониженном давлении, продукт очищали колоночной хроматографией, элюент $CHCl_3$:Ацетон (3:1 затем 1:1). Получили 462 мг **(2S,3R,4R)-5-(3-(3-(((2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси)карбонил)амино)пропил)-7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата 39** в виде оранжевого порошка. Выход 80%.

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 8.06 (с, 1H, $H_9(Ar)$), 7.58 (с, 1H, $H_6(Ar)$), 6.53 (м, 1H, $CH_2-NH-(C=O)$), 5.60 (уш с., 1H, 4'-CH (rib)), 5.44-5.35 (м, 2H, 2',3'-CH (rib)), 5.3-4.6 (м, 2H, 5'-CH₂ (rib)), 4.48 (дд, 1H, $J_1=12.4$ Гц, $J_2=2.4$ Гц, 1'H-CHOAc), 4.29-4.22 (м, 3H, 1'H-CHOAc, N-CH₂-CH₂), 3.20 (м, 2H, $CH_2-CH_2-NH-(C=O)$), 2.77 (с, 4H, N(O=C)-CH₂-CH₂-(C=O)), 2.59 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.48 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.29 (с, 3H, AcO), 2.24 (с, 3H, AcO), 2.10 (с, 3H, AcO), 2.04-1.99 (м, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$), 1.77 (с, 3H, AcO).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 170.52, 170.15, 169.88, 169.69, 160.20, 155.14, 151.38, 148.97, 136.78, 135.16, 134.65, 132.61, 131.13, 128.84, 128.03, 125.10, 70.15, 69.24, 68.85, 61.66, 44.43, 38.80, 38.57, 27.28, 25.31, 21.34, 20.88, 20.65, 20.54, 20.20, 19.31

HRMS вычислено $C_{33}H_{38}N_6O_{14}$ 743.25188 (**39**+H)⁺; найдено $C_{33}H_{38}N_6O_{14}$ 743.2519 (**39**+H)⁺.



Синтез конъюгата оксоплатина и (2R,3S,4S)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата (Pt-22):

30 мг (0.09 ммоль) оксоплатина суспендировали в 1.5 мл ДМСО, после чего добавили 83 мг (0.11 ммоль, 1.2 экв.)

(2S,3R,4R)-5-(3-(3-(((2,5-диоксопирролидин-1-

ил)окси)карбонил)амино)пропил)-7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-

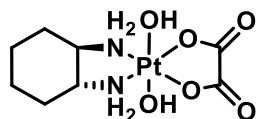
тетраил тетраацетата **39** и реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 18 часов. По завершению реакции, раствор отделили от непрореагировавшего оксоплатина **7** и вылили в избыток диэтилового эфира. Смесь декантировали, слой ДМСО встряхивали с избытком диэтилового эфира. Процедуру повторяли до получения липкого остатка. Остаток суспендировали метанолом, высадили избытком диэтилового эфира, отцентрифугировали, промыли диэтиловым эфиром и сушили при комнатной температуре на воздухе. Продукт очищали колоночной хроматографией, элюент CH₂Cl₂:CH₃OH (5:1). Получили 43 мг конъюгата оксоплатина и (2R,3S,4S)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата **Pt-22** в виде тёмно-оранжевого порошка. Выход 51%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): 7.96 (с, 1H, H₉(Ar)), 7.75 (с, 1H, H₆(Ar)), 6.30-5.94 (м, 7H, NH₃, 5'H(rib)), 5.49-5.44 (м, 2H, 2',3'-CH(rib)), 5.31-5.28 (м, 1H, 4'-CH(rib)), 5.14-4.80 (м, 1H, 5'-CH₂(rib)), 4.37 (дд., 1H, J₁=12.5 Гц, J₂=2.8 Гц, 1' H-CHOAc), 4.21 (дд, 1H, J₁=12.3 Гц, J₂=6.0 Гц, 1' H-CHOAc), 3.89-3.85 (м, 2H, N-CH₂-CH₂), 2.98-2.94 (м, 2H, CH₂-CH₂-NH-(C=O)), 2.51 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.40 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.20 (с, 3H, AcO), 2.18 (с, 3H, AcO), 1.99 (с, 3H, AcO), 1.70-1.65 (м, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 1.58 (с, 3H, AcO).

Спектр ЯМР ¹⁹⁵Pt (86 МГц, ДМСО-d₆ δ, м.д.): 1089.04.

HRMS рассчитано C₂₉H₄₁C₁₂N₇O₁₃Pt⁺ (**Pt-22**+H)⁺ 961.18599. Найдено C₂₉H₄₁C₁₂N₇O₁₃Pt⁺ 961.1871 (**Pt-22**+H)⁺.

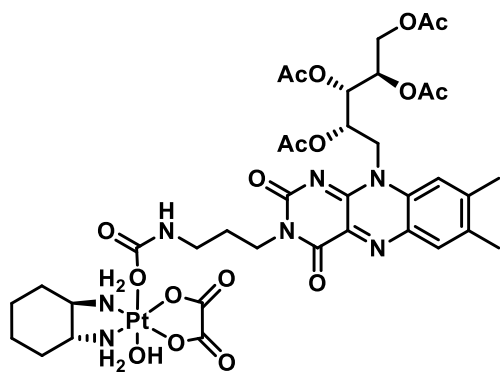
Чистота (HPLC): 100%.



Синтез дигидроксооксалиплатина 40. 100 мг (0.25 ммоль) оксалиплатина суспендировали в 2.5 мл воды, добавили 860 мкл 35% H₂O₂, после чего реакционную смесь перемешивали 5 часов при 50°C.

После этого реакционную смесь охладили до 4°C, осадок отделили, промыли метанолом и эфиром, сушили на воздухе. Получили 95 мг дигидроксооксалиплатина **40** в виде белого порошка. Выход: 87%.

ИК(ν, см⁻¹): 3519, 3145, 3062, 2940, 2859, 1720, 1706, 1659, 1378, 1345, 1064, 1029, 803.



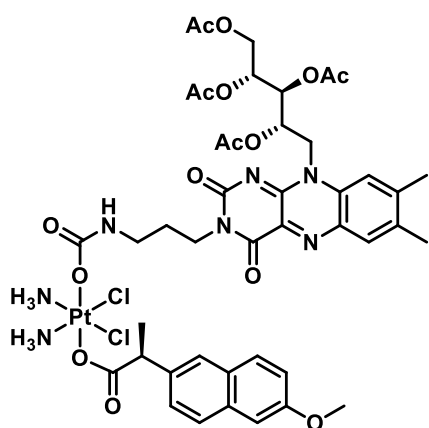
Синтез конъюгата оксалиплатина и (2R,3S,4S)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата (Pt-23):

из 15 мг (0.034, 1 экв.) дигидрооксалиплатина **40** и 29 мг (0.041 ммоль, 1.1 экв.) **39** следуя протоколу, приведённому для синтеза **Pt-22** получили 10 мг конъюгата оксалиплатина и

(2R,3S,4S)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата **Pt-23** в виде оранжевого порошка. Выход: 27%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): 8.30 (м, 2H, NH₂), 7.94 (с, 1H, H₉(Ar)), 7.76 (с, 1H, H₆(Ar)), 7.71 (м, 2H, NH₂), 6.37 (с, 1H, 5'H(rib)), 5.49-5.44 (м, 2H, 2',3'-CH(rib)), 5.31-5.28 (м, 1H, 4'-CH(rib)), 5.14-4.80 (м, 1H, 5'-CH₂(rib)), 4.39-4.35 (м, 1H, 1' H-CHOAc), 4.23-4.18 (м, 1H, 1' H-CHOAc), 3.89-3.82 (м, 2H, N-CH₂-CH₂), 2.98-2.92 (м, 2H, CH₂-CH₂-NH-(C=O)), 2.51 (CH₃-Ar, за сигналом растворителя), 2.40 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.20 (с, 3H, AcO), 2.18 (с, 3H, AcO), 2.11-2.05 (м, 2H, H₁,H₂-DACH), 1.99 (с, 3H, AcO), 1.70-1.65 (м, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, H₃,H₄,H₅,H₆-DACH), 1.58 (с, 3H, AcO).

HRMS рассчитано C₃₇H₄₉N₇NaO₁₇Pt⁺ 1081.2730 (**Pt-23**+Na)⁺; найдено C₃₇H₄₉N₇NaO₁₇Pt⁺ 1081.2736 (**Pt-23**+Na)⁺.



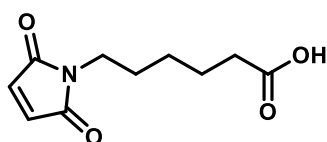
Синтез конъюгата оксоплатина, (2S,3R,4R)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата и напроксена (Pt-24).

15 мг (0.015 ммоль, 1 экв.) комплекса **Pt-22** растворили в 400 мкл ДМФА, добавили 10.2 мг (0.023 ммоль, 1.5 экв.) ангидрида напроксена **15**, перемешивали при комнатной температуре 18 часов. Растворитель упарили при пониженном давлении, остаток суспендировали в 0.5 мл метанола, высадили 8 мл диэтилового эфира. Осадок отделили, высушили на воздухе, продукт очищали колоночной хроматографией, элюент CH₂Cl₂:MeOH 10:1. Получили 8 мг конъюгата оксоплатина, (2R,3S,4S)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата и напроксена **Pt-24** в виде оранжевого порошка. Выход: 43%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): 7.96 (с, 1H, H₉(Ar)), 7.75 (с, 1H, H₆(Ar)), 7.73-7.69 (м, 3H, H₁, H₄, H₈), 7.45 (д, 1H, J=8.1 Гц, H₃), 7.24 (уш.с., 1H, H₇), 7.10 (дд, 1H, J₁=8.9 Гц, J₂=2.5 Гц, H₅), 6.76-6.51 (м, 7H, NH₃, 5'H(rib)), 5.49-5.44 (м, 2H, 2',3'-CH(rib)), 5.31-5.28 (м, 1H,

4'-CH (rib)), 5.14-4.80 (м, 1H, 5'-CH₂ (rib)), 4.37 (дд, 1H, J₁=12.5 Гц, J₂=2.8 Гц, 1'H-CHOAc), 4.21 (дд, 1H, J₁=12.3 Гц, J₂=6.0 Гц, 1' H-CHOAc), 3.87 (м, 6H, N-CH₂-CH₂, OCH₃, CH-Ph), 2.98-2.94 (м, 2H, CH₂-CH₂-NH-(C=O)), 2.51 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.40 (с, 3H, CH₃-Ar), 2.20 (с, 3H, AcO), 2.18 (с, 3H, AcO), 1.99 (с, 3H, AcO), 1.70-1.65 (м, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 1.58 (с, 3H, AcO), 1.38 (д, 3H, J=7.2 Гц, CH-CH₃).

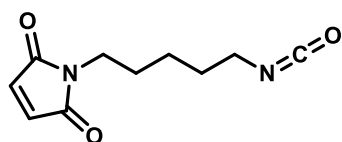
HRMS: вычислено C₄₃H₅₃Cl₂N₇NaO₁₅Pt⁺, 1195.2522, (Pt-24+Na)⁺; найдено C₄₃H₅₃Cl₂N₇NaO₁₅Pt⁺, 1195.2517, (Pt-24+Na)⁺.



Синтез 6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексановой кислоты 41 [242]. 390 мг (2.67 ммоль, 1 экв.) 6-аминогексановой кислоты и 350 мг (3.57 ммоль, 1.2 экв.) суспендировали в 20 мл

уксусной кислоты, реакционную смесь кипятили 6 часов, после чего охладили до комнатной температуры и вылили в 50 мл воды. Смесь экстрагировали EtOAc (3x80 мл), органическую фракцию высушили над безводным сульфатом натрия, растворитель упарили при пониженном давлении, продукт очищали колоночной хроматографией, элюент EtOAc:ацетон 50:1. Получили 450 мг 6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексановой кислоты **41** в виде белого порошка. Выход: 72%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): 12.10 (уш.с., 1H, COOH), 6.99 (с, 2H, CH=CH), 3.36 (т, 2H, J=7.1 Гц, CH₂-N), 2.16 (т, 2H, J=7.3 Гц, α-CH₂), 1.50-1.43 (м, 4H, β,δ-CH₂), 1.23-1.19 (м, 2H, γ-CH₂).



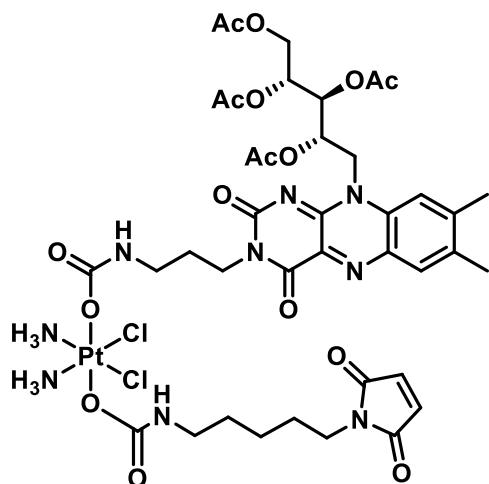
Синтез 1-(5-изоцианатопентил)-1H-пиррол-2,5-диона 42. 450 мг (2.13 ммоль 1 экв.) 6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексановой кислоты **41** растворили в дихлорметане, добавили 206

мкл (2.34 ммоль, 1.1 экв.) оксалилхлорида в течение 30 минут, после чего реакционную смесь перемешивали в течение 5 часов. Растворитель упарили при пониженном давлении, остаток сушили ночь в вакуумном эксикаторе. Полученное жёлтое масло растворили в 1 мл ацетона и прикапали к охлаждённому до 0°C раствору 204 мг (3.14 ммоль, 1.5 экв.) азиды натрия в 4 мл воды. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение часа, после чего водный слой промыли хлороформом (3x50 мл). Органические фракции высушили над сульфатом натрия, растворитель упарили при пониженном давлении до объёма раствора 6-8 мл, сушили над предварительно прокалёнными молекулярными ситами 3Å. Полученный раствор кипятили с обратным холодильником в течение двух часов. Реакционную смесь охладили до комнатной температуры, после чего растворитель упарили при пониженном давлении, продукт очищали

флеш-хроматографией, элюент петролейный эфир:EtOAc 2:1. Получили 150 мкл 1-(5-изоцианатопентил)-1Н-пиррол-2,5-диона **45** в виде бледно-жёлтой жидкости. Выход: 34%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 6.63 (с, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 3.43 (т, 2H, $J=7.1$ Гц, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.21 (т, 2H, $J=6.6$ Гц, $\alpha\text{-CH}_2$), 1.56-1.50 (м, 4H, $\beta,\delta\text{-CH}_2$), 1.31-1.24 (м, 2H, $\gamma\text{-CH}_2$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 170.38, 133.62, 121.37, 42.24, 36.92, 30.10, 27.35, 2314.

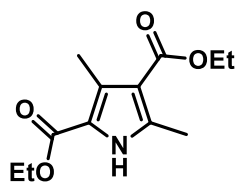


Синтез конъюгата оксоплатина, (2R,3S,4S)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата и 1-(5-изоцианатопентил)-1Н-пиррол-2,5-диона (Pt-25). Из 15 мг (0.015 ммоль, 1 экв.) комплекса **Pt-22** и 20 мг (0.09 ммоль, 6 экв.) 1-(5-изоцианатопентил)-1Н-пиррол-2,5-диона **45** следуя протоколу, приведённому для комплекса **Pt-24** получили 9 мг конъюгата оксоплатина, (2R,3S,4S)-5-(7,8-диметил-2,4-диоксо-3,4-дигидробензо[g]птеридин-

10(2H)-ил)пентан-1,2,3,4-тетраил тетраацетата и 1-(5-изоцианатопентил)-1Н-пиррол-2,5-диона **Pt-25** в виде оранжевого порошка. Выход 50%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 7.96 (с, 1H, $\text{H}_9(\text{Ar})$), 7.75 (с, 1H, $\text{H}_6(\text{Ar})$), 6.99 (с, 2H, $\text{CH}=\text{CH}$), 6.77-6.50 (м, 7H, NH_3 , $5'\text{H}(\text{rib})$), 5.49-5.44 (м, 2H, $2',3'\text{-CH}(\text{rib})$), 5.31-5.28 (м, 1H, $4'\text{-CH}(\text{rib})$), 5.14-4.80 (м, 1H, $5'\text{-CH}_2(\text{rib})$), 4.37 (дд, 1H, $J_1=12.5$ Гц, $J_2=2.8$ Гц, $1'\text{H-CHOAc}$), 4.23-4.18 (дд, 1H, $J_1=12.3$ Гц, $J_2=6.0$ Гц, $1'\text{H-CHOAc}$), 3.89-3.85 (м, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.99-2.84 (м, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-(CO)}$, $\text{CH}_2\text{-N}$, $\alpha\text{-CH}_2$), 2.51 (с, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ar}$), 2.40 (с, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ar}$), 2.20 (с, 3H, AcO), 2.18 (с, 3H, AcO), 1.99 (с, 3H, AcO), 1.71-1.27 (м, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, AcO , $\beta,\gamma,\delta\text{-CH}_2$), 1.58 (с, 3H, AcO).

HRMS: вычислено $\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{Cl}_2\text{N}_9\text{NaO}_{16}\text{Pt}^+$, 1191.2533, $(\text{Pt-25}+\text{Na})^+$; найдено $\text{C}_{39}\text{H}_{53}\text{Cl}_2\text{N}_9\text{NaO}_{16}\text{Pt}$, 1191.2523, $(\text{Pt-25}+\text{Na})^+$.

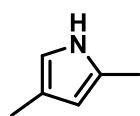


Синтез 2,4-диметил-3,5-бис(этоксикарбонил)пиррола (43) К смеси ацетоуксусного эфира (30 мл, 0.24 моль) и уксусной кислоты (60 мл) по каплям добавили раствор NaNO_2 (8.2 г, 0.12 моль) в 12 мл воды в течение 30 минут, при температуре реакционной смеси ниже 10°C . Раствор перемешивали 2.5 часа при 10°C . Далее в реакционную смесь порциями вносили цинковую пыль (15.4 грамма, 0.24 моль) при поддержании температуры реакционной смеси не выше 25°C . После этого реакционную смесь плавно нагревали до $40\text{--}50^\circ\text{C}$, перемешивали при данной температуре

около 10 минут, после чего плавно нагревали до 95°C. После полного растворения осадка, реакционную смесь перемешивали при 95 – 100°C около часа, после чего быстро, не давая реакции остыть, вылили в 150–200 мл воды. Осадок отфильтровали, промыли холодной водой, затем холодным этанолом. Получили 48 г 2,4-диметил-3,5-бис(этоксикарбонил)пиррола **46** в виде светло-бежевого порошка. Выход: 90%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 9.48 (уш. с, 1H, NH), 4.35–4.25 (м, 4H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$), 2.57 (с, 3H, αCH_3 -Pyr), 2.50 (с, 3H, $\beta'\text{CH}_3$ -Pyr), 1.38–1.33 (м, 6H, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_2$ - CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 165.54, 162.06, 139.20, 131.00, 117.89, 113.50, 60.36, 59.50, 14.42, 14.28, 12.01.

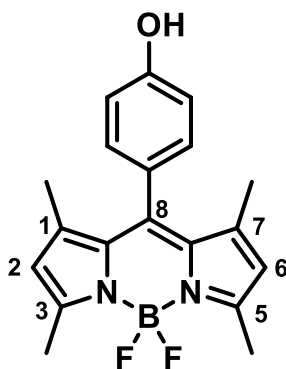


Синтез 2,4-диметилпиррола (44)

2,4-диметил-3,5-бис(этоксикарбонил)пиррол **43** (30 г, 0.14 моль) и KOH (40.6 г, 0.72 моль, 5.2 экв.) в 100 мл этиленгликоля кипятили 4 часа при 160°C. Раствор охладили до комнатной температуры, добавили 200 мл рассола и экстрагировали CH_2Cl_2 (3x300 мл). Объединенные органические фракции высушили над безводным Na_2SO_4 , растворитель упарили при пониженном давлении. Продукт **47** очищали вакуумной перегонкой, $T_{\text{кип}} = 65\text{-}70^\circ\text{C}$ (12-14 мм. рт. ст.). Получено 5 г 2,4-диметилпиррола в виде бесцветной жидкости. Выход: 86%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.62 (уш. с, 1H, NH), 6.43 (с, 1H, $\alpha'\text{H}$ -Pyr), 5.78 (с, 1H, βH -Pyr), 2.26 (с, 3H, αCH_3 -Pyr), 2.12 (с, 3H, $\beta'\text{CH}_3$ -Pyr).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 127.33, 118.71, 113.41, 107.22, 12.60, 11.48.



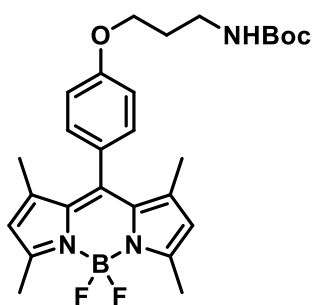
Синтез 4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-8-(4-гидроксифенил)-4-бора-3a,4a-диаза-s-индацена (45):

К раствору 4-гидроксибензальдегида (1 г, 8.19 ммоль) и 2,4-диметилпиррола **44** (1.85 мл, 18.02 ммоль) в ТГФ (150 мл) добавили несколько капель ТФК в атмосфере аргона. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов, затем добавили раствор DDQ (2.05 г, 9.01 ммоль) в ТГФ (100 мл). Полученную смесь перемешивали еще 5 часов. Затем к реакционной смеси при охлаждении на ледяной бане по каплям добавили 25 мл Et_3N и 31 мл $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ и перемешивали при комнатной температуре ночь. Реакционную смесь отфильтровали через силикагель. Остаток на фильтре промыли CH_2Cl_2 и объединенный фильтрат упарили досуха при пониженном давлении. Полученный остаток повторно растворили в CH_2Cl_2 и промыли 15% водным раствором NaHCO_3 , а затем водой. Органическую фракцию высушили над безводным Na_2SO_4 , затем упарили при пониженном давлении. Продукт очищали флеш-

хроматографией, элюент дихлорметан. Получили 2.2 г 4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-8-(4-гидроксифенил)-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **45** в виде оранжевого порошка. Выход: 78%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.14 (д, 2Н, $J=8.1$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 6.96 (д, 2Н, $J=8.1$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 5.98 (с, 2Н, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-BP}$), 2.55 (с, 6Н, 3- CH_3 -, 5- $\text{CH}_3\text{-BP}$), 1.45 (с, 6Н, 1- CH_3 -, 7- $\text{CH}_3\text{-BP}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 155.91, 154.89, 142.81, 141.37, 131.41, 128.96, 126.70, 120.76, 115.71, 14.17.



Синтез

4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена (**46**):

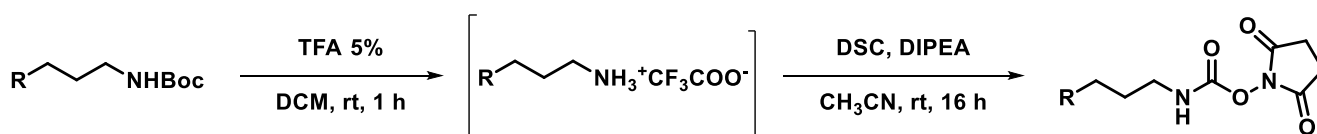
400 мг (1.18 ммоль) 4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-8-(4-гидроксифенил)-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **45**, 480 мг (2.01 ммоль, 1.8 экв.) трет-бутил (3-бромаминопропил)карбамата **34** и 800 мг K_2CO_3 (5.8 ммоль, 5 экв.) растворили в 30 мл ацетона и кипятили в течение 12 часов. Затем растворитель упарили при пониженном давлении, остаток очистили от примесей флэш-хроматографией, элюент ПЭ:EtOAc (2:1). Фракцию, содержащую продукт очищали после этого колоночной хроматографией, элюент дихлорметан. Получили 423 мг 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **46** в виде оранжевого порошка. Выход: 73%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.16 (д, 2Н, $J=8.7$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 6.99 (д, 2Н, $J=8.7$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 5.98 (с, 2Н, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-BP}$), 4.79 (уш. с, 1Н, NH), 4.07 (т, 2Н, $J=5.9$ Гц, OCH_2), 3.37 (квад, 2Н, $J=6.5$ Гц, CH_2NH), 2.56 (с, 6Н, 3- CH_3 , 5- $\text{CH}_3\text{-BP}$), 2.03 (квинт, 2Н, $J=6.5$ Гц, OCH_2CH_2), 1.46 (с, 9Н, t-Bu), 1.44 (с, 6Н, 1- CH_3 , 7- $\text{CH}_3\text{-BP}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 158.97, 155.63, 154.77, 142.73, 141.42, 131.39, 128.75, 126.63, 120.69, 114.60, 78.77, 65.43, 37.50, 29.25, 27.99, 14.17.

HRMS: вычислено $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_3^+$, 498.2740, (**46**+H) $^+$; найдено $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{BF}_2\text{N}_3\text{O}_3^+$, 498.2734, (**46**+H) $^+$;

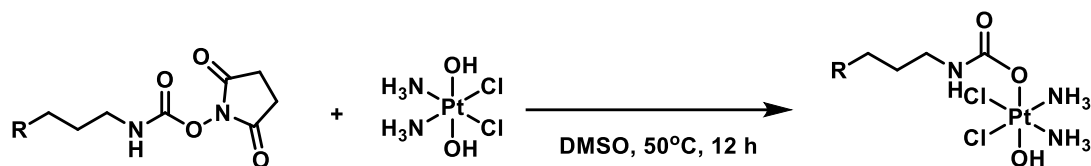
Общий протокол синтеза NHS-эфиров карбаминовой кислоты BODIPY(G):



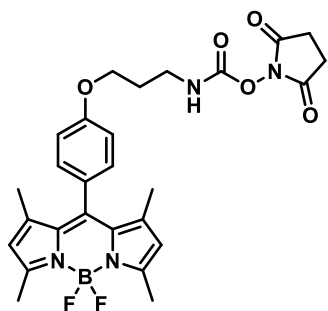
В CH_2Cl_2 растворили 1 мольный эквивалент (0.2 ммоль на 10 мл CH_2Cl_2) BODIPY с защищенной аминогруппой и прибавили 5 об.% ТФК. Реакционную смесь перемешивали при

комнатной температуре в течение 60–80 минут. Контроль протекания реакции осуществлялся методом ТСХ, элюент CH_2Cl_2 . Растворитель упарили при пониженном давлении, остаток растворили в CH_3CN , к раствору добавили 1.2 мольных эквивалента DIPEA и суспензию 1.8 мольных эквивалентов ДСК в минимальном количестве CH_3CN . Реакционная смесь перемешивалась ночь при комнатной температуре в атмосфере аргона. Растворитель упарили при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией.

Общий протокол синтеза конъюгатов платины (IV) с введением аксиального лиганда через карбаматный линкер (Д):



В ДМСО (13 мг оксоплатина/мл ДМСО) растворили 1 мольный эквивалент карбамата, полученного по общему протоколу Г, и 1.2 мольного эквивалента оксоплатина **7** и перемешивали при температуре 50°C 10–20 часов в темноте. Непрореагировавший оксоплатин **7** отделили центрифугированием. Затем раствор вылили в избыток диэтилового эфира и смесь встряхнули. Когда две фазы разделились, эфирный слой отделили, добавили еще порцию эфира к ДМСО и смесь снова встряхнули. Процедуру повторяли до образования липкого остатка, которое суспендировали в минимальном количестве метанола и осаждали диэтиловым эфиром. Суспензию центрифугировали, осадок промывали диэтиловым эфиром и сушили на воздухе. Продукт очищали колоночной хроматографией.



Синтез 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил) карбамата)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена (47):

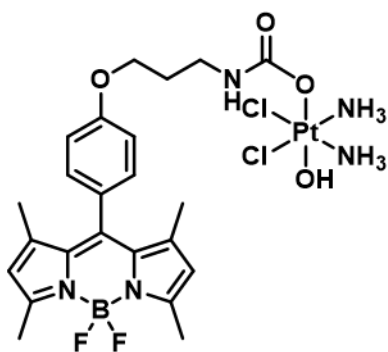
Из 90 мг (0.18 ммоль), 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **46**, 65 мкл (0.36 ммоль, 2 экв.) DIPEA и 83 мг (0.32 ммоль, 1.8 экв.) ДСК, следуя общему протоколу Г с выделением колоночной хроматографией, элюент CH_2Cl_2 :ацетон (10:1). Получили 39 мг 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил) карбамата)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **47** в виде оранжевого порошка. Выход: 40%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.19 (д, 2H, $J=8.4$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.01 (д, 2H, $J=8.6$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 5.99 (с, 2H, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-BP}$), 5.64 (уш. с, 1H, NH), 4.15-4.12 (т, 2H, $J=5.7$ Гц, OCH_2),

3.54 (квад, 2H, $J=6.3$ Гц, $\underline{\text{CH}_2\text{NH}}$), 2.84 (с, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$) 2.55 (с, 6H, 3- CH_3 -, 5- CH_3 -BP), 2.14 (квинт, 2H, $J=7.0$ Гц, $\text{OCH}_2\underline{\text{CH}_2}$), 1.43 (с, 6H, 1- CH_3 , 7- CH_3 -BP).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 165.28, 159.79, 156.01, 153.74, 142.25, 140.62, 129.73, 129.11, 128.97, 126.43, 115.39, 115.30, 77.35, 77.03, 76.71, 65.92, 62.74, 37.90, 29.69, 28.41, 28.38, 15.28, 13.93, 13.69.

HRMS: вычислено $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_5^+$, 539.2277, $(\mathbf{51}+\text{H})^+$; найдено $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_5^+$, 539.2282, $(\mathbf{51}+\text{H})^+$;



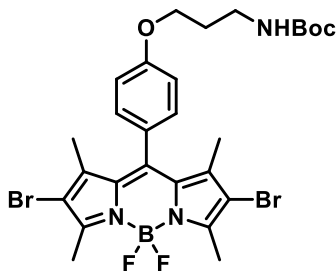
Синтез конъюгата платины (IV) с 4,4-дифтор-8-((3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена (Pt-26):

Из 17 мг (0.05 ммоль) оксоплатина **7** и 32 мг (0.06 ммоль, 1.2 экв.) получили конъюгат оксоплатина с 4,4-дифтор-8-((3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индаценом **Pt-26** согласно общему протоколу Д в виде оранжевого порошка. Колоночная хроматография проводилась с использованием градиента элюента $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (10:1), затем CH_3OH . Продукт **Pt-26** был выделен в виде оранжевого порошка. Выход: 13 мг (35%).

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 7.24-7.22 (д, 2H, $J=8.1$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.09-7.07 (д, 2H, $J=8.1$ Гц, $\text{H}_3\text{-}, \text{H}_5\text{-Ph}$), 6.36 (уш. с, 1H, NH), 6.30-5.90 (уш. с, 8H, NH_3 , H_2 , $\text{H}_6\text{-BP}$), 4.04-4.00 (т, 2H, $J=6.1$ Гц, OCH_2), 3.08 (м, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{NH}}$), 2.43 (с, 6H, 3- CH_3 , 5- $\text{CH}_3\text{-BP}$), 1.89-1.81 (м, 2H, $\text{OCH}_2\underline{\text{CH}_2}$), 1.39 (с, 6H, 1- CH_3 , 7- $\text{CH}_3\text{-BP}$).

Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 1091.88.

HRMS: вычислено $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4\text{Pt}^+$, 758.1511, $(\mathbf{Pt-26}+\text{H})^+$; найдено $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4\text{Pt}^+$, 758.1511, $(\mathbf{Pt-26}+\text{H})^+$.



Синтез 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена (48): 114 мг (0.23 ммоль) 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **46** и 82 мг (0.46 ммоль, 2 экв.) N-бромосукцинимидра растворили в 8 мл CH_2Cl_2 и перемешивали при комнатной температуре

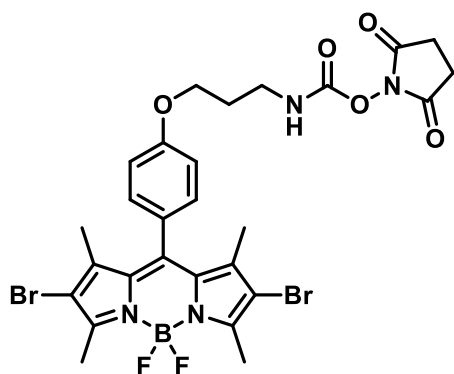
без доступа света 3.5 часа. Затем растворитель упарили при пониженном давлении, продукт очищали колоночной хроматографией, в качестве элюента использовалась система $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (100:1). Получили 131 мг 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-2,6-дибром-

1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **48** в виде розово-красного порошка. Выход: 87%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.14 (д, 2H, $J=8.6$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.03 (д, 2H, $J=8.7$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 4.76 (уш. с, 1H, NH), 4.10 (т, 2H, $J=6.0$ Гц, OCH_2), 3.38 (квад, 2H, $J=6.4$ Гц, CH_2NH), 2.61 (с, 6H, 3- CH_3 , 5- $\text{CH}_3\text{-BP}$), 2.04 (квинт, 2H, $J=6.3$ Гц, OCH_2CH_2), 1.46 (с, 9H, t-Bu), 1.43 (с, 6H, 1- CH_3 , 7- $\text{CH}_3\text{-BP}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 159.77, 156.00, 155.73, 142.24, 140.61, 133.75, 129.72, 129.10, 128.96, 126.42, 115.29, 65.91, 62.73, 37.88, 29.69, 28.41, 13.93, 13.66.

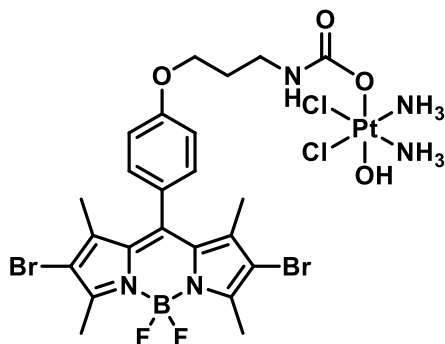
HRMS: вычислено $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{BBr}_2\text{F}_2\text{N}_3\text{NaO}_3^+$, 676.0769, $(48+\text{Na})^+$; найдено $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{BBr}_2\text{F}_2\text{N}_3\text{NaO}_3^+$, 677.0777, $(48+\text{Na})^+$.



Синтез 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамат)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (49**):** Из 77 мг (0.12 ммоль) 4,4-дифтор-8-(4-(аммонийпропил-3-окси)фенил)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **48**, 37 мкл (0.20 ммоль) DIPEA и 78 мг (0.31 ммоль) ДСК, следуя общему протоколу Г, получили 48 мг 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамат)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **49** в виде розово-красного порошка. Выход: 60%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.15 (д, 2H, $J=8.7$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.04 (д, 2H, $J=8.6$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 5.77 (уш. с, 1H, NH), 4.14 (т, 2H, $J=5.6$ Гц, OCH_2), 3.57 (кв, 2H, $J=6.1$ Гц, CH_2NH), 2.84 (с, 4H, NC(O)CH_2), 2.60 (с, 6H, 3- CH_3 , 5- $\text{CH}_3\text{-BP}$), 2.14-2.11 (м, 2H, OCH_2CH_2), 1.43 (с, 6H, 1- CH_3 , 7- $\text{CH}_3\text{-BP}$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 176.10, 164.73, 158.05, 157.02, 148.41, 145.61, 135.46, 134.38, 130.40, 120.59, 109.99, 70.24, 33.84, 30.49, 18.81.



Синтез конъюгата платины (IV) с 4,4-дифтор-8-((3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индаценом (Pt-27): Из 21 мг (0.06 ммоль, 1.2 экв.) оксоплатина и 36 мг (0.05 ммоль) 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамат)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **49** согласно общему протоколу Д получили 6.4 мг конъюгата

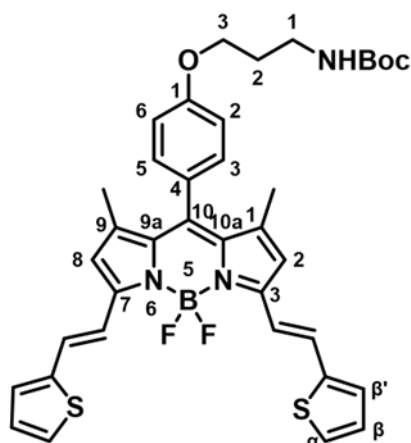
оксоплатина с 4,4-дифтор-8-((3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индаценом **Pt-27** в виде тёмно-красного порошка. Выход: 14%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 7.28 (д, 2H, $J=8.5$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.11 (м, 2H, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 6.36 (уш. с, 1H, NH), 6.25-5.87 (уш. с, 6H, NH_3), 4.04 (т, 2H, $J=6.6$ Гц, OCH_2), 3.14 (кв, 2H, $J=6.14$ Гц, CH_2NH), 2.53 (с, 6H, 3- CH_3 , 5- $\text{CH}_3\text{-BP}$), 1.89–1.81 (м, 2H, OCH_2CH_2), 1.39 (с, 6H, 1- CH_3 , 7- $\text{CH}_3\text{-BP}$).

HRMS: вычислено $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{BBr}_2\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4\text{Pt}^-$, 910.9672, (**Pt-27-H**) $^-$; найдено $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{BBr}_2\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_4\text{Pt}^-$, 910.9714, (**Pt-27-H**) $^-$.

Общий протокол конденсации Кневенагеля E:

В CH_3CN (10 мл/100 мг BODIPY) растворили 1 мольный эквивалент исходного 1,3,5,7-тетраметил-BODIPY, 0.95-5 мольных эквивалентов ароматического альдегида, добавили молекулярные 3\AA сита (0.5-1.5 г), 20 мкл пиперидина и 10 мкл уксусной кислоты, если не указаны иные количества. Реакционную смесь кипятили 1–18 часов в зависимости от субстрата. Контроль протекания реакции осуществлялся при помощи ТСХ, система $\text{EtOAc}:\text{ПЭ}$ (1:2). По завершению реакции реакцию смесь охладили до комнатной температуры, растворитель упарили при пониженном давлении, остаток растворили в системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (10:1) и профильтровали через тонкий слой силикагеля. Фильтрат упарили на роторном растворителе. Продукт очищали колоночной хроматографией.



Синтез

4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-

(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (50):

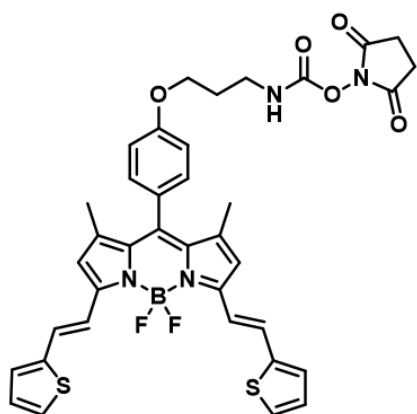
Из 150 мг (0.3 ммоль) 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **46**, 140 мкл (1.5 ммоль, 5 экв.) 2-тиофенкарбальдегида, в присутствии 20 мкл пиперидина и 10 мкл уксусной кислоты и 1.5 г мол. сит 3\AA при выделении колоночной хроматографией с использованием элюента $\text{EtOAc}:\text{ПЭ}$ (1:2), следуя общему протоколу E, получили 100 мг 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **50** в виде тёмно-синего порошка. Выход: 48%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.52 (д, $J=16.0$ Гц, $\text{CH}=\text{CH}\text{-BP}$), 7.38-7.34 (м, 4H, $\text{CH}=\text{CH}\text{-BP}$, $\text{H}_{\alpha'}\text{-Th}$), 7.24 (д, 2H, $J=3.5$ Гц, $\text{H}_{\beta}\text{-Th}$), 7.19 (д, 2H, $J=8.6$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.07-7.04 (м, 2H, $\text{H}_{\beta'}\text{-Th}$), 7.00 (д, 2H, $J=8.6$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 6.59 (с, 2H, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-BP}$), 4.79 (уш. с, 1H, NH), 4.07

(т, 2H, J=5.9 Гц, OCH₂), 3.37 (квад, 2H, J=6.4 Гц, NH-CH₂), 2.05-2.00 (м, 2H, OCH₂CH₂), 1.48 (с, 6H, 1-CH₃, 7-CH₃-BP), 1.47 (с, 9H, t-BuO).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 164.88, 158.95, 155.61, 151.49, 141.96, 141.60, 138.03, 136.11, 133.51, 129.33, 129.27, 129.17, 128.23, 127.65, 127.59, 126.84, 126.59, 125.37, 118.20, 117.29, 114.53, 65.46, 62.34, 37.58, 29.25, 28.02, 19.35, 14.49.

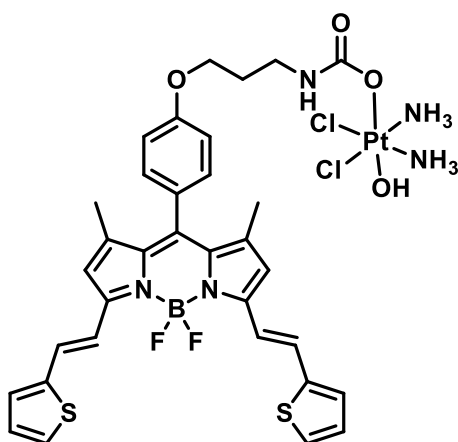
HRMS: вычислено C₃₇H₃₉BF₂N₃O₃S₂⁺, 686.2494, (50+H)⁺; найдено C₃₇H₃₉BF₂N₃O₃S₂⁺, 686.2470, (50+H)⁺.



Синтез 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамата)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (51): Из 95 мг (0.14 ммоль) 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **50**, 50 мкл (0.28 ммоль) DIPEA и 63 мг (0.25 ммоль) ДСК, следуя общему протоколу Г получили 37 мг 4,4-дифтор-8-(2,5-

диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамата)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **51** в виде тёмно-синего порошка. Выход: 39%.

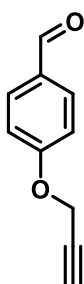
Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 7.55-7.50 (д, J=16.0 Гц, CH=CH-BP), 7.36 (м, 4H, CH=CH-BP, Ha'-Th), 7.25 (д, 2H, J=3.5 Гц, Hβ -Th), 7.22 (д, 2H, J=8.6 Гц, H₂,H₆-Ph), 7.06 (м, 2H, Hβ' -Th), 7.02 (д, 2H, J=8.6 Гц, H₃,H₅-Ph), 6.59 (с, 2H H₂,H₆-BP), 5.64 (уш. с, 1H, NH), 4.13 (т, 2H, J=5.7 Гц, OCH₂), 3.56 (квинт, 2H, J=6.4 Гц, OCH₂CH₂), 2.85 (с, 4H, CH₂-CH₂), 2.15-2.11 (м, 2H, OCH₂CH₂), 1.49 (с, 6H, 1-CH₃, 7-CH₃-BP).



Синтез конъюгата платины (IV) с 4,4-дифтор-8-((3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (Pt-28): Из 20 мг (0.06 ммоль, 1.2 экв.) оксоплатина **7** и 37 мг (0.05 ммоль) 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамата)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **51**, следуя общему протоколу Д, с выделением колоночной хроматографией с использованием элюента CH₂Cl₂:CH₃OH (5:1), получили 20 мг конъюгата платины (IV) с 4,4-дифтор-8-((3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **Pt-28** в виде тёмно-синего порошка. Выход: 42%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 7.76 (д, $J=16.1$ Гц, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$), 7.68 (д, 2H, $J=5.1$ Гц, $\text{H}\alpha'$ -Th), 7.35 (д, 2H, $J=3.5$ Гц, $\text{H}\beta'$ -Th), 7.29 (д, 2H, $J=8.4$ Гц, H_2, H_6 -Ph), 7.23 (д, $J=16.0$ Гц, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$), 7.15 (м, 2H, $\text{H}\beta'$ -Th), 7.09 (д, 2H, $J=7.9$ Гц, H_3, H_5 -Ph), 6.94 (с, 2H, H_2, H_6 -BP), 6.37 (уш. с, 1H, NH), 6.31-5.87 (уш.с., 6H, NH_3), 4.04 (т, 2H, $J=6.6$ Гц, OCH_2), 3.11-3.05 (квад, 2H, $J=6.0$ Гц, $\text{NH}-\text{CH}_2$), 1.89-1.82 (м, 2H, OCH_2CH_2), 1.45 (с, 6H, 1- CH_3 , 7- CH_3 -BP).

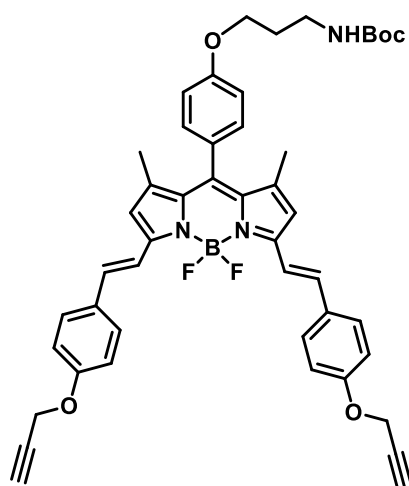
HRMS: вычислено $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_5\text{NaO}_4\text{PtS}_2^+$, 967.1192, (**Pt-28**+Na) $^+$; найдено $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_5\text{NaO}_4\text{PtS}_2^+$, 967.1191, (**Pt-28**+H) $^+$.



Синтез 4-(проп-2-ин-1-илокси)бензальдегида (52) [243]: 4-гидроксибензальдегид (1 г, 8.2 ммоль), K_2CO_3 (4.53 г, 37.8 ммоль), пропаргилбромид (3.9 г, 37.8 ммоль) растворили в 50 мл ацетона. Реакционную смесь кипятили в течение 4 часов, затем охладили до комнатной температуры. После добавления 50 мл воды смесь проэкстрагировали CH_2Cl_2 (2×100 мл). Объединенные органические слои высушили над безводным Na_2SO_4 .

Растворитель упарили при пониженном давлении, продукт очищали флеш-хроматографией, элюент дихлорметан. Получили 945 мг 4-(проп-2-ин-1-илокси)бензальдегида **52** в виде бледно-желтого твердого вещества. Выход: 72%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 9.91 (с, 1H, CHO), 7.87 (д, 2H, $J=8.6$ Гц, H_2, H_6 -Ph), 7.10 (д, 2H, $J=8.5$ Гц, H_3, H_5 -Ph), 4.79 (д, 2H, $J=1.3$ Гц, OCH_2), 2.58 (т, 1H, $J=1.5$ Гц, $\text{C}\equiv\text{CH}$).



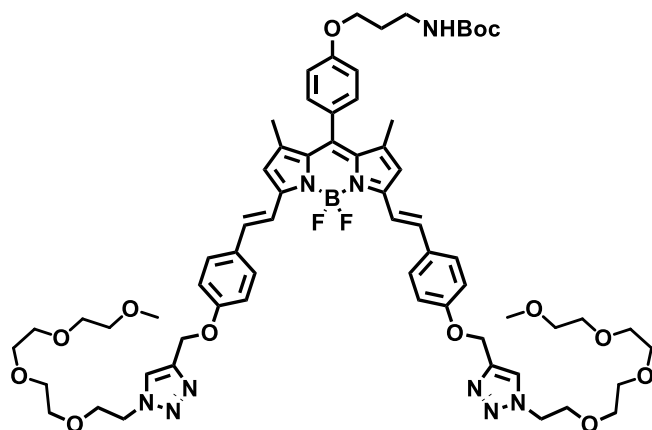
Синтез 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-4-(проп-2-ин-1-илокси)стирил))-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена (53):

Из 150 мг (0.3 ммоль) 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **46**, 192 мг (1.2 ммоль, 4 мольных экв) 4-(проп-2-ин-1-илокси)бензальдегида **52**, 80 мкл пиперидина и 40 мкл уксусной кислоты в присутствии 2.2 г мол. сит 3А, следуя общему протоколу **Е** с выделением колоночной хроматографией с использованием элюента ацетон:ПЭ (1:2), получили 125 мг 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-4-(проп-2-ин-1-илокси)стирил))-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **53** в виде тёмно-синего порошка. Выход: 55%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.65-7.58 (м, 6H, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$, H_2, H_6 -Ph'), 7.23-7.18 (м, 4H, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$, H_2, H_6 -Ph), 7.02-7.00 (м, 6H, H_3, H_5 -Ph, H_3, H_5 -Ph'), 6.61 (с, 2H, H_2, H_6 -BP),

4.75 (д, 4H, J=2.4 Гц), 4.08 (т, 2H, J=6.4 Гц, OCH₂), 3.37 (квад, 2H, J=6.4 Гц, NH-CH₂), 2.56 (т, 2H, J=2.4 Гц, C≡CH), 2.05-2.00 (м, 2H, OCH₂CH₂), 1.48 (с, 6H, 1-CH₃, 7-CH₃-BP), 1.47 (с, 9H, t-BuO).

Спектр ЯМР ¹³C (101 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 182.27, 159.32, 158.18, 152.48, 141.91 138.41, 135.37, 133.60, 130.39, 129.30, 128.93, 127.36, 117.73, 117.46, 115.18, 78.28, 75.82, 55.85, 37.99, 29.70, 28.43, 14.88

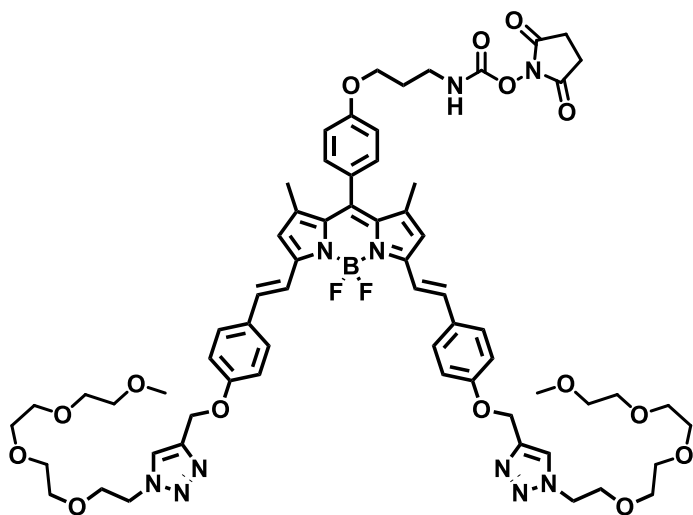


Синтез 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-4-((1-(2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)стирил))-4-бора-3a,4a-диаза-s-индацена (54): 90 мг (0.12 ммоль) 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-4-(проп-2-ин-1-

илокси)стирил))-4-бора-3a,4a-диаза-s-индацена **53**, 223 мкл (0.96 ммоль, 8 экв.) 13-азидо-2,5,8,11-тетраоксатридекана **72** растворили в 13 мл дихлорметана, после чего в атмосфере аргона добавили 38 мг (0.12 ммоль, 1 экв.) Cu(CH₃CN)₄BF₄ и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 8 часов. Растворитель упарили при пониженном давлении, продукт очищали колоночной хроматографией, элюент CH₂Cl₂:CH₃OH (30:1). Получили 73 мг 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-4-((1-(2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)стирил))-4-бора-3a,4a-диаза-s-индацена **54** в виде темно-синего порошка. Выход: 47%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 7.88 (с, 2H, C=CH-N), 7.63-7.56 (м, 6H, CH=CH-BP, H₂,H₆-Ph'), 7.23-7.18 (м, 4H, CH=CH-BP, H₂,H₆-Ph), 7.05-7.00 (м, 6H, H₃,H₅-Ph, H₃,H₅-Ph'), 6.62 (с, 2H, H₂,H₆-BP), 5.27 (с, 4H, Ph'OCH₂), 4.58 (т, 4H, J=4.8 Гц, N=N-N-CH₂), 4.06 (т, 2H, J=6.4 Гц, OCH₂), 3.89 (т, 4H, J=4.6 Гц, N-CH₂-CH₂O), 3.63-3.60 (м, 20H, (OCH₂CH₂)₂CH₂), 3.53-3.50 (м, 4H, CH₂OMe) 3.40-3.35 (м, 2H, NH-CH₂), 3.35 (с, 6H, OCH₃), 2.05-2.00 (м, 2H, OCH₂CH₂), 1.49 (с, 6H, 1-CH₃, 7-CH₃-BP), 1.47 (с, 9H, t-BuO).

HRMS: вычислено C₆₅H₈₄BF₂N₉NaO₁₃⁺, 1270.6147, (**54**+Na)⁺; найдено C₆₅H₈₄BF₂N₉NaO₁₃, 1270.6165, (**54**+Na)⁺.

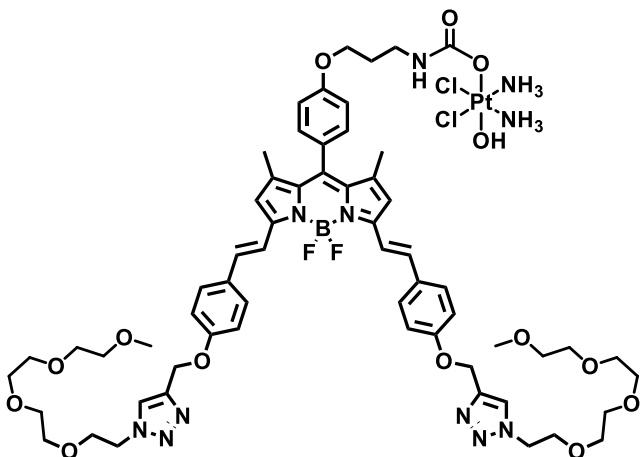


Синтез 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамата)-1,7-диметил-3,5-бис((Е)-4-((1-(2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)стирил))-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (55): Из 73 мг (0.058 ммоль) 4,4-дифтор-8-(трет-бутил(3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-

(бис((Е)-4-((1-(2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)стирил))-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **54**, 24 мкл (0.13 ммоль, 2 экв.) DIPEA и 26 мг (0.1 ммоль, 1.8 экв.) ДСК, следуя общему протоколу Г, с выделением колоночной хроматографией, элюент ацетон. Получили 59 мг 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамата)-1,7-диметил-3,5-бис((Е)-4-((1-(2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)стирил))-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **55** в виде тёмно-синего вязкого масла. Выход: 76%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.88 (с, 2H, $\text{C}=\text{CH}-\text{N}$), 7.62-7.56 (м, 6H, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$, $\text{H}_2, \text{H}_6-\text{Ph}'$), 7.23-7.17 (м, 4H, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$, $\text{H}_2, \text{H}_6-\text{Ph}$), 7.04-7.00 (м, 6H, $\text{H}_3, \text{H}_5-\text{Ph}$, $\text{H}_3, \text{H}_5-\text{Ph}'$), 6.61 (с, 2H, $\text{H}_2, \text{H}_6-\text{BP}$), 5.78 (уш.с., 1H, $\text{NH}-\text{C}(\text{O})$), 5.26 (с, 4H, $\text{Ph}'\text{OCH}_2$), 4.57 (т, 4H, $J=4.8$ Гц, $\text{N}=\text{N}-\text{N}-\text{CH}_2$), 4.13 (т, 2H, $J=5.3$ Гц, OCH_2), 3.89 (т, 4H, $J=4.8$ Гц, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O}$), 3.63-3.51 (м, 26H, $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{OMe}$, $\text{NH}-\text{CH}_2$), 3.35 (с, 6H, OCH_3), 2.83 (с, 4H, $(\text{O})\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{O})\text{C}$), 2.15-2.11 (м, 2H, $\text{PhOCH}_2\text{CH}_2$), 1.49 (с, 6H, 1- CH_3 , 7- CH_3-BP).

HRMS: вычислено $\text{C}_{65}\text{H}_{79}\text{BF}_2\text{N}_{10}\text{NaO}_{15}^+$, 1311.5685, (**55**+Na) $^+$; найдено $\text{C}_{65}\text{H}_{79}\text{BF}_2\text{N}_{10}\text{NaO}_{15}$, 1311.5693, (**55**+Na) $^+$.



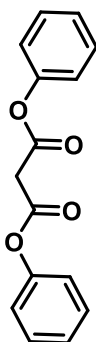
Синтез конъюгата оксоплатина с 4,4-дифтор-8-((3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-бис((Е)-4-((1-(2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)стирил))-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индаценом (Pt-29): Из 14 мг (0.04 ммоль, 1.2 экв) оксоплатина **7** и 44 мг (0.03 ммоль) 4,4-дифтор-8-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамата)-1,7-диметил-3,5-

(бис((Е)-4-((1-(2,5,8,11- тетраоксатридекан -13-ил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)стирил))-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **55**, следуя общему протоколу Д, с выделением колоночной хроматографией с использованием элюента $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (5:1) получили 16 мг конъюгата оксоплатина с 4,4-дифтор-8-((3-феноксипропил)карбамат)-1,7-диметил-3,5-(бис((Е)-4-((1-(2,5,8,11- тетраоксатридекан -13-ил)-1Н-1,2,3-триазол-4-ил)метокси)стирил))-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индаценом **Pt-29** в виде тёмно-синего порошка. Выход: 35%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 8.21 (с, 2Н, $\text{C}=\text{CH}-\text{N}$), 7.62-7.46 (м, 6Н, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$, $\text{H}_2, \text{H}_6-\text{Ph}'$), 7.43-7.23 (м, 4Н, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$, $\text{H}_2, \text{H}_6-\text{Ph}$), 7.20-7.04 (м, 6Н, $\text{H}_3, \text{H}_5-\text{Ph}$, $\text{H}_3, \text{H}_5-\text{Ph}'$), 6.92 (с, 2Н, $\text{H}_2, \text{H}_6-\text{BP}$), 6.50-5.85 (уш. с, 7Н, NH , NH_3) 5.19 (с, 4Н, $\text{Ph}'\text{OCH}_2$), 4.53 (т, 4Н, $J=4.8$ Гц, $\text{N}=\text{N}-\text{N}-\text{CH}_2$), 4.04 (т, 2Н, $J=5.3$ Гц, OCH_2), 3.80 (т, 4Н, $J=4.8$ Гц, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O}$), 3.54-3.50 (м, 4Н, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OCH}_2$), 3.48-3.44 (м, 12Н, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.40-3.38 (м, 2Н, $\text{NH}-\text{CH}_2$), 3.35-3.32 (8Н, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$, за пиком растворителя), 3.21 (с, 6Н, OMe), 1.92-1.85 (м, 2Н, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 1.47 (с, 6Н, $1-\text{CH}_3, 7-\text{CH}_3-\text{BP}$).

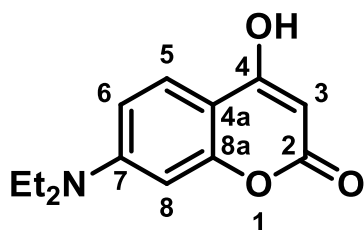
Спектр ЯМР ^{195}Pt (86 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 1089.99

HRMS: вычислено $\text{C}_{61}\text{H}_{81}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_{11}\text{O}_{14}\text{Pt}^+$, 1505.5050, (**Pt-29-H**) $^-$; найдено $\text{C}_{61}\text{H}_{81}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_{11}\text{O}_{14}\text{Pt}^+$, 1505.5086, (**Pt-29-H**) $^-$.



Синтез 1,5-дифенилпентан-2,4-диона (56) [205]: К смеси малоновой кислоты (5.5 г, 53 ммоль) и фенола (10 г, 106 ммоль) медленно добавили при 0°C POCl_3 (5.6 мл, 62 ммоль). Смесь нагрели до 115°C и перемешивали до прекращения сильного выделения HCl (около 30 минут). Верхний слой вылили в 75 мл воды, продукт проэкстрагировали диэтиловым эфиром (3×80 мл). Органическую фракцию высушили над безводным Na_2SO_4 и упарили растворитель при пониженном давлении. Получили 10.5 г 1,5-дифенилпентан-2,4-диона **56** в виде бледно-коричневого порошка. Выход: 80%.

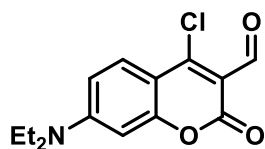
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.42 (т, 4Н, $J=7.8$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5-\text{Ph}$), 7.28 (т, 2Н, $J=7.5$ Гц, H_4-Ph), 7.17 (д, 4Н, $J=7.8$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6-\text{Ph}$), 3.87 (с, 2Н, CH_2).



Синтез 7-(диэтиламино)-4-гидрокси-2Н-хромен-2-она (57) [205]: Раствор 1,5-дифенилпентан-2,4-диона **56** (6.4 г, 0.025 моль) и 3-(*N,N*-диэтиламино)фенола (4.13 г, 0.025 моль) растворили в 75 мл абсолютированного толуола, реакционную смесь кипятили в течение 8 часов. Затем реакционную смесь охладили, и образовавшиеся кристаллы отфильтровали и промыли петролейным эфиром,

высушили на воздухе. Получили 3.6 г 7-(диэтиламино)-4-гидрокси-2H-хромен-2-она **57** в виде серо-зеленых кристаллов. Выход: 49%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 11.92 (уш.с., 1H, OH), 7.53 (д, 1H, $J=9.0$ Гц, H_5), 6.65 (дд, 1H, $J_1=8.9$ Гц, $J_2=2.3$ Гц, H_6), 6.44 (д, 1H, $J=2.3$ Гц, H_8), 5.23 (с, 1H, H_3), 3.40 (квад, 4H, $J=6.8$ Гц, N- CH_2), 1.10 (т, 6H, $J=6.9$ Гц, CH_3).



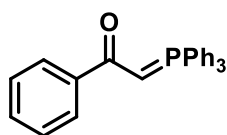
Синтез

7-(диэтиламино)-2-оксо-4-хлор-2H-хромен-3-

карбальдегида (58) [205]: В атмосфере аргона к свежеперегнанному ДМФА (1.9 мл, 24.5 ммоль) по каплям добавили POCl_3 (1.9 мл, 20 ммоль) при 0°C и перемешивали в течение 30 минут. К раствору по каплям

добавили раствор 7-(диэтиламино)-4-гидрокси-2H-хромен-2-она **57** (1.59 г, 6.8 ммоль) в 9 мл ДМФА, с получением суспензии алого цвета. Смесь перемешивали при 60°C в течение 12 часов, затем вылили в 50 мл воды со льдом. К смеси добавили раствор NaOH (20%) до выпадения оранжевого осадка. Продукт отфильтровали, промыли водой и петролейным эфиром. Осадок высушили на воздухе. Получили 1.1 г 7-(диэтиламино)-2-оксо-4-хлор-2H-хромен-3-карбальдегида **58** в виде оранжевого порошка. Выход: 62%.

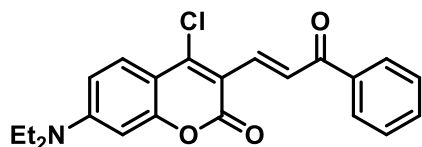
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 10.31 (с, 1H, CHO), 7.85 (д, 1H, $J=9.3$ Гц, H_5), 6.70 (дд, 1H, $J_1=9.3$ Гц, $J_2=2.5$ Гц, H_6), 6.45 (д, 1H, $J=2.4$ Гц, H_8), 3.49 (квад, 4H, $J=7.2$ Гц, N- CH_2), 1.28-1.25 (т, 6H, $J=7.2$ Гц, CH_3).



Синтез 1-фенил-2-(трифенилфосфоранилиден)этан-1-она (59)

[244]: Раствор трифенилфосфина (1.34 г, 5.05 ммоль) и 2-бром-1-фенилэтан-1-она (1 г, 5 ммоль) в 11 мл ТГФ кипятили в течение 4 часов. Затем реакционную смесь охладили до комнатной температуры. Осадок отфильтровали и промыли ТГФ (3 x 20 мл). Осадок растворили в 21 мл CH_2Cl_2 и добавили 21 мл 20% водный раствор NaOH . Смесь перемешивали в течение 10 минут. Органическую фазу отделили, и водную фазу проэкстрагировали CH_2Cl_2 (3 x 20 мл). Объединенные органические фазы высушили над безводным Na_2SO_4 , отфильтровали и упарили фильтрат при пониженном давлении. Получили 1.5 г 1-фенил-2-(трифенилфосфоранилиден)этан-1-она **59** в виде белого порошка. Выход 82%.

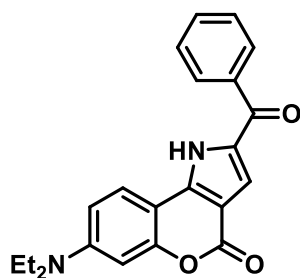
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.99 (м, 2H, H_2, H_6 -Ph), 7.73 (м, 6H, H_2, H_6 -PPh), 7.56 (м, 3H, H_4 -PPh), 7.47 (м, 6H, H_3, H_5 -PPh), 7.36-7.35 (м, 3H, $\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5$ -Ph), 4.43(д, 1H, $J=24.7$ Гц, $\text{CH}=\text{P}$).



Синтез (E)-7-(диэтиламино)-3-(3-оксо-3-фенилпроп-1-ен-1-ил)-4-хлоро-2H-хромен-2-она (60) [205]: 590 мг 7-(диэтиламино)-2-оксо-4-хлор-2H-хромен-3-карбальдегида **58**

(2.3 ммоль) и 902 мг 1-фенил-2-(трифенилфосфоранилиден)этан-1-она **59** (2.37 ммоль) растворили в 15 мл CH_2Cl_2 . Реакционную смесь перемешивали 48 часов, затем растворитель упарили при пониженном давлении. Продукт очищали флеш-хроматографией, элюент дихлорметан. Получили 594 мг (E)-7-(диэтиламино)-3-(3-оксо-3-фенилпроп-1-ен-1-ил)-4-хлоро-2H-хромен-2-она **60** в виде оранжевого порошка. Выход: 68%.

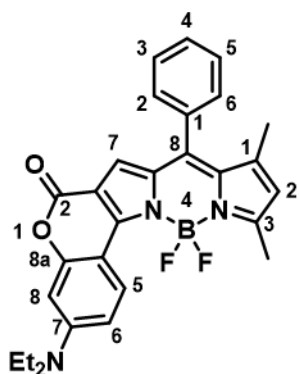
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.50 (д, 1H, $J=15.2$ Гц, $\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$), 8.19 (д, 1H, $J=15.2$ Гц, $\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$), 8.11 (м, 2H, $\text{H}_2, \text{H}_6-\text{Ph}$), 7.76 (д, 2H, $J=9.2$ Гц, H_5), 7.60-7.56 (м, 1H, H_4-Ph), 7.50 (т, 2H, $J=7.7$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5-\text{Ph}$), 6.68 (дд, 1H, $J_1=9.2$ Гц, $J_2=2.5$ Гц, H_6), 6.50 (д, 1H, $J=2.5$ Гц, H_8), 3.48 (квад, 4H, $J=7.1$ Гц, $\text{N}-\text{CH}_2$), 1.26 (т, 6H, $J=7.2$ Гц, CH_3).



Синтез 2-бензоил-7-(диэтиламино)хромен[4,3-b]пиррол-4(1H)-она 61 [205]: 594 мг (E)-7-(диэтиламино)-3-(3-оксо-3-фенилпроп-1-ен-1-ил)-4-хлоро-2H-хромен-2-она **60** (1.55 ммоль) суспендировали в 41 мл ацетона, добавили 165 мг NaN_3 (2.5 ммоль, 1.6 экв.). Реакционную смесь интенсивно перемешивали при 40°C в течение 2 часов. После завершения реакции растворитель упарили при пониженном давлении и остаток суспендировали в воде. Осадок отфильтровали и высушили на воздухе, после чего суспендировали в 9.5 мл абсолютированного толуола и кипятили в течение 1 часа. Реакционную смесь охладил, осадок отфильтровали, промыли толуолом и высушили на воздухе. Получили 387 мг 2-бензоил-7-(диэтиламино)хромен[4,3-b]пиррол-4(1H)-она **75** в виде желтого порошка. Выход: 69%.

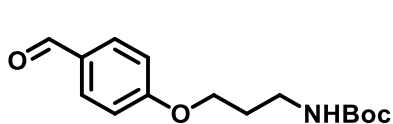
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 13.07 (с, 1H, NH), 8.20 (д, 1H, $J=9.0$ Гц, H_5), 7.87 (д, 2H, $J=7.2$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6-\text{Ph}$), 7.65 (т, 1H, $J=7.4$ Гц, H_4-Ph), 7.56 (т, 2H, $J=7.3$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5-\text{Ph}$), 7.15 (с, 1H, $\text{H}\beta-\text{Pyr}$), 6.72 (дд, 1H, $J_1=9.0$ Гц, $J_2=2.1$ Гц, H_6), 6.56 (д, 1H, $J=2.1$ Гц, H_8), 3.40 (квад, 4H, $J=7.0$ Гц, $\text{N}-\text{CH}_2$), 1.10 (т, 6H, $J=6.9$ Гц, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 158.69, 155.29, 150.05, 141.41, 138.09, 133.26, 132.74, 129.17, 129.08, 124.80, 118.20, 109.24, 107.15, 100.64, 97.97, 44.37, 12.81.



Синтез 4,4-дифтор-8-фенил-5,7-диметил-2,3-(7-(диэтиламино)-2Н-хромен-2-он)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (62) [205]: 387 мг (1.08 ммоль) 2-бензоил-7-(диэтиламино)хромен[4,3-*b*]пиррол-4(1Н)-она **61** суспендировали в 20 мл CH_2Cl_2 , в атмосфере аргона добавили 111 мкл (1.08 ммоль) 2,4-диметилпиррола **44** и 100 мкл (1.08 ммоль) POCl_3 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 7 суток. Затем к реакционной смеси добавили 1512 мкл (11 ммоль) Et_3N и перемешивали в течение 15 мин, после чего добавили 1466 мкл (12 ммоль) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ и реакционную смесь перемешивали еще 6 часов при комнатной температуре. После этого реакционную смесь вылили в 70 мл воды, органический слой отделили, водный слой промыли CH_2Cl_2 (3×80 мл), высушили над безводным Na_2SO_4 и упарили при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией, элюент дихлорметан. Получили 261 мг 4,4-дифтор-8-фенил-5,7-диметил-2,3-(7-(диэтиламино)-2Н-хромен-2-он)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **62** в виде черного порошка. Выход 50%.

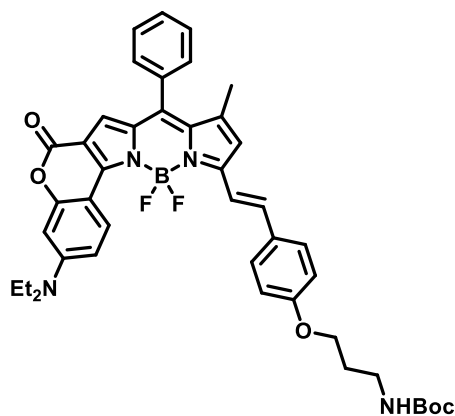
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.57 (д, 1Н, $J=9.2$ Гц, $\text{H}_5\text{-coum}$), 7.54-7.49 (м, 3Н, $\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5\text{-Ph}$), 7.37-7.35 (м, 2Н, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.00 (с, 1Н, $\text{H}_7\text{-BDP}$), 6.72 (дд, 1Н, $J_1=9.3$ Гц, $J_2=2.6$ Гц, $\text{H}_6\text{-coum}$), 6.56 (д, 1Н, $J=2.6$ Гц, $\text{H}_8\text{-coum}$), 6.27 (с, 1Н, $\text{H}_2\text{-BDP}$), 3.45 (квад, 4Н, $J=7.2$ Гц, N-CH_2), 2.74 (с, 3Н, 3- CH_3), 1.58 (с, 3Н, 1- CH_3), 1.23 (т, 6Н, $J=7.1$ Гц, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$).



Синтез трет-бутил (3-(4-формилфенокси)пропил)карбамата (63) [245]: 500 мг (4.1 ммоль) 4-гидроксибензальдегида и 809 мг (3.4 ммоль, 0.8 экв.)

трет-бутил (3-бромаминопропил)карбамата **34** растворили в 18 мл ДМФА, добавили 2.8 г (20.5 ммоль) K_2CO_3 и растворили в 18 мл ДМФА. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при температуре 70°C в течение 20 часов. Затем смесь охладили и вылили в смесь льда и 50 мл HCl (2М). Продукт проэкстрагировали EtOAc (3×60 мл). Органическую фазу промыли HCl (2М), водой и NaHCO_3 и высушили над безводным Na_2SO_4 . Растворитель упарили при пониженном давлении. Получили 723 мг трет-бутил (3-(4-формилфенокси)пропил)карбамата **63** в виде желтоватого масла. Выход: 69%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 9.87 (с, 1Н, CHO), 7.82 (д, 2Н, $J=7.5$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 7.98 (д, 2Н, $J=8.4$ Гц, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}$), 4.78 (уш.с., 1Н, NH), 4.10 (т, 2Н, $J=6.1$ Гц, OCH_2), 3.35-3.30 (м, 2Н, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2.03-1.99 (м, 2Н, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2$), 1.43 (с, 9Н, t-BuO).



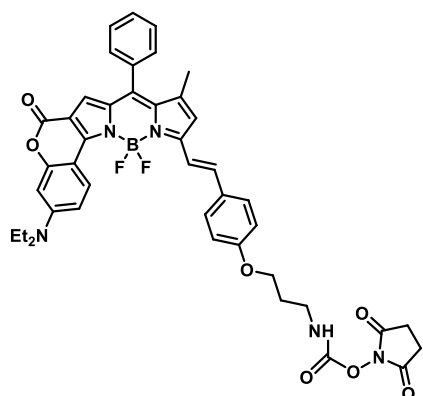
Синтез 4,4-дифтор-8-фенил-7-метил-5-(трет-бутил (E)-(3-(4-фенокси)пропил)карбамат)-2,3-(7-(диэтиламино)-2Н-хромен-2-он)-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацена (64): Из 100 мг (0.21 ммоль) 4,4-дифтор-8-фенил-5,7-диметил-2,3-(7-(диэтиламино)-2Н-хромен-2-он)-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацена **62**, 54 мг (0.2 ммоль, 0.95 экв) трет-бутил (3-(4-формилфенокси)пропил)карбамата **63** в присутствии 20 мкл пиперидина и 10 мкл уксусной кислоты

и 1.5 г мол. сит 3А, следуя общему протоколу **Е**, после 1 часа кипячения, и очистки колоночной хроматографией, элюент EtOAc:ПЭ (1:2), получили 63 мг 4,4-дифтор-8-фенил-7-метил-5-(трет-бутил (E)-(3-(4-фенокси)пропил)карбамат)-2,3-(7-(диэтиламино)-2Н-хромен-2-он)-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацена **64** в виде темно-зеленого порошка. Выход: 43%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.66 (д, 1H, $J=9.2$ Гц, $\text{H}_5\text{-coum}$), 7.73 (д, 1H, $J=16.1$ Гц, $\text{CH}=\text{CH-BDP}$), 7.65 (д, 2H, $J=8.7$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}'$), 7.54-7.49 (м, 3H, $\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5\text{-Ph}$), 7.43 (д, 1H, $J=16.3$ Гц, $\text{CH}=\text{CH-BDP}$), 7.39-7.36 (м, 2H, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 6.97-6.95 (м, 3H, $\text{H}_7\text{-BDP}$, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}'$), 6.84 (с, 1H, $\text{H}_2\text{-BDP}$) 6.78 (дд, 1H, $J_1=9.3$ Гц, $J_2=2.6$ Гц, $\text{H}_6\text{-coum}$), 6.58 (д, 1H, $J=2.6$ Гц, $\text{H}_8\text{-coum}$), 4.78 (уш.с., 1H, NH), 4.11-4.08 (т, 2H, $J=6.1$ Гц, OCH_2) 3.49 – 3.44 (квад, 4H, $J=7.1$ Гц, N-CH_2), 3.39-3.34 (м, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2.03-2.00 (м, 2H, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2$), 1.62 (с, 3H, 1-CH_3), 1.43 (с, 9H, $t\text{-BuO}$), 1.16 (т, 6H, $J=6.9$ Гц, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, CDCl_3 , δ , м.д): 160.33, 159.05, 155.77, 155.62, 149.75, 148.08, 145.22, 143.80, 140.77, 138.25, 137.24, 135.87, 133.29, 129.64, 129.32, 129.07, 128.73, 128.34, 128.21, 127.50, 125.01, 120.30, 116.04, 114.56, 113.02, 108.70, 101.73, 98.05, 78.73, 44.40, 37.44, 29.28, 29.13, 28.01

HRMS: вычислено $\text{C}_{43}\text{H}_{46}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_5^+$, 747.3529, $(64+\text{H})^+$; найдено $\text{C}_{43}\text{H}_{46}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_5^+$, 747.3535, $(64+\text{H})^+$.



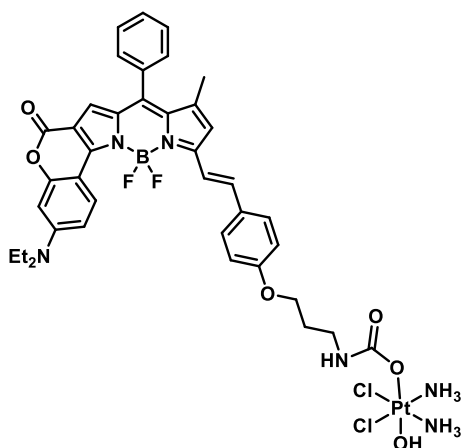
Синтез 4,4-дифтор-8-фенил-7-метил-5-((E)-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамат)-2,3-(7-(диэтиламино)-2Н-хромен-2-он)-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацена (65): Из 63 мг (0.085 ммоль) 4,4-дифтор-8-фенил-7-метил-5-(трет-бутил (E)-(3-(4-фенокси)пропил)карбамат)-2,3-(7-(диэтиламино)-2Н-хромен-2-он)-4-бора-3а,4а-диаза-с-индацена **64**, 30 мкл (0.17 ммоль, 2 экв.) DIPEA и 39 мг (0.15 ммоль, 1.8 экв.) ДСК в 4 мл CH_3CN , следуя общему протоколу

Г, с выделением колоночной хроматографией с использованием элюента CH_2Cl_2 :ацетон (10:1)

получили 40 мг 4,4-дифтор-8-фенил-7-метил-5-((E)-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамат)-2,3-(7-(диэтиламино)-2H-хромен-2-он)-4-бора-3a,4a-диаза-s-индацен в виде тёмно-зелёного порошка. Выход: 60%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.67 (д, 1H, $J=9.2$ Гц, $\text{H}_5\text{-coum}$), 7.73 (д, 1H, $J=16.2$ Гц, $\text{CH}=\text{CH}\text{-BDP}$), 7.66(д, 2H, $J=8.7$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}'$), 7.52-7.49 (м, 3H, $\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5\text{-Ph}$), 7.43 (д, 1H, $J=16.0$ Гц, $\text{CH}=\text{CH}\text{-BDP}$), 7.39–7.37 (м, 2H, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}$), 6.98-6.96 (м, 3H, $\text{H}_7\text{-BDP}$, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}'$), 6.84 (с, 1H, $\text{H}_2\text{-BDP}$) 6.80 (дд, 1H, $J_1=9.4$ Гц, $J_2=2.5$ Гц, $\text{H}_6\text{-coum}$), 6.58 (д, 1H, $J=2.5$ Гц, $\text{H}_8\text{-coum}$), 5.62 (уш.с., 1H, NH), 4.14 (т, 2H, $J=5.4$ Гц, OCH_2), 3.54 (квад, 4H, $J=6.1$ Гц, N-CH_2), 3.42 (квад, 2H, $J=7.1$ Гц, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2.84 (с, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 2.13-2.10 (м, 2H, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2$), 1.63 (с, 3H, 1-CH_3).

HRMS: вычислено $\text{C}_{43}\text{H}_{41}\text{BF}_2\text{N}_5\text{O}_7^+$, 788.3067, $(\mathbf{65}+\text{H})^+$; найдено $\text{C}_{43}\text{H}_{41}\text{BF}_2\text{N}_5\text{O}_7^+$, 788.3071, $(\mathbf{65}+\text{H})^+$.

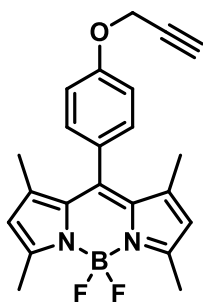


Синтез конъюгата платины (IV) с 4,4-дифтор-8-фенил-7-метил-5-((E)-(3-феноксипропил)карбамат)-2,3-(7-(диэтиламино)-2H-хромен-2-он)-4-бора-3a,4a-диаза-s-индаценом (Pt-30): Из 19 мг (0.06 ммоль, 1.2 экв.) оксоплатина и 40 мг (0.05 ммоль) 4,4-дифтор-8-фенил-7-метил-5-((E)-(2,5-диоксопирролидин-1-ил-(3-феноксипропил)карбамат)-2,3-(7-(диэтиламино)-2H-хромен-2-он)-4-бора-3a,4a-диаза-s-индацена **65**, следуя общему протоколу Д, с использованием колоночной

хроматографии, элюент $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (10:1, 3:1), затем CH_3OH . Получили 7.5 мг конъюгата оксоплатина с 4,4-дифтор-8-фенил-7-метил-5-((E)-(3-феноксипропил)карбамат)-2,3-(7-(диэтиламино)-2H-хромен-2-он)-4-бора-3a,4a-диаза-s-индаценом **Pt-30** в виде тёмно-зелёного порошка. Выход: 15%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, DMSO-d_6 , δ , м.д.): 8.47 (д, 1H, $J=9.2$ Гц, $\text{H}_5\text{-coum}$), 7.94 (д, 1H, $J=16.1$ Гц, $\text{CH}=\text{CH}\text{-BDP}$), 7.68 (д, 2H, $J=8.6$ Гц, $\text{H}_2, \text{H}_6\text{-Ph}'$), 7.61-7.51 (м, 6H, $\text{H}_{2-6}\text{-Ph}$, $\text{CH}=\text{CH}\text{-BDP}$), 7.34 (с, 1H, $\text{H}_7\text{-BDP}$) 7.10-7.07 (м, 2H, $\text{H}_3, \text{H}_5\text{-Ph}'$), 6.89-6.85 (м, 1H, $\text{H}_6\text{-coum}$), 6.63-6.60 (м, 2H, $\text{H}_8\text{-coum}$, $\text{H}_2\text{-BDP}$), 6.37 (уш.с., 1H, NH), 6.33-5.81 (уш.с., 6H, NH_3), 4.09-4.05 (т, 2H, $J=6.6$ Гц, OCH_2), 3.50–3.44 (м, 4H, N-CH_2), 3.11-3.06 (м, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 1.89-1.81 (м, 2H, $\text{OCH}_2\text{-CH}_2$), 1.59 (с, 3H, 1-CH_3).

HRMS: вычислено $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_6\text{Pt}^+$, 1006.2408, $(\mathbf{Pt-30}+\text{H})^+$; найдено $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{BCl}_2\text{F}_2\text{N}_6\text{O}_6\text{Pt}^+$, 1006.2403, $(\mathbf{Pt-30}+\text{H})^+$.

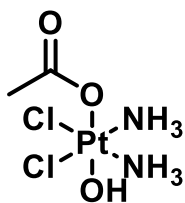


Синтез 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена (66): 200 мг (0.59 ммоль) 4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-8-(4-гидроксифенил)-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **45** (0.59 ммоль), 348 мг (2.94 ммоль, 5 ммоль) пропаргил бромида, и 408 мг (2.95 ммоль, 5 экв.) K_2CO_3 растворили в 12 мл ацетона и кипятили в течение 2 часов. Растворитель упарили при пониженном давлении, сухой остаток растворили в 50 мл воды и проэкстрагировали CH_2Cl_2 (3×50 мл). Объединенный органический слой высушили над безводным Na_2SO_4 и упарили при пониженном давлении. Продукт очищали флеш-хроматографией, элюент дихлорметан. Получили 213 мг 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **66** в виде красного порошка. Выход: 96%.

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 7.20 (д, 2H, $J=8.6$ Гц, H_2, H_6-Ph), 7.09 (д, 2H, $J=8.7$ Гц, H_3, H_5-Ph), 5.98 (с, 2H, H_2, H_6-BP), 4.76 (д, 2H, $J=1.8$ Гц, OCH_2), 2.56 (м, 7H $C\equiv CH$, 3- $CH_3, 5-CH_3-BP$), 1.43 (с, 6H, 1- $CH_3, 7-CH_3-BP$).

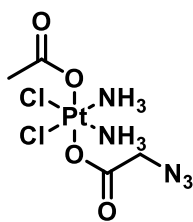
Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 157.67, 154.95, 142.71, 128.82, 127.58, 120.75, 115.20, 77.62, 75.49, 55.60, 14.18.

HRMS: вычислено $C_{22}H_{22}BF_2N_2O^+$, 379.1793, (**66**+H) $^+$; найдено $C_{22}H_{22}BF_2N_2O^+$, 379.1792, (**66**+H) $^+$.



Синтез ацетилгидроксицисплатина (67) [37]: К 100 мг (0.334 ммоль) цисплатина прибавили 40 мл ледяной уксусной кислоты и 1.35 мл 30% перекиси водорода. Раствор перемешивали 2 часа при нагреве 35–40°C на водяной бане до растворения осадка и образования прозрачного раствора. Растворитель упарили при пониженном давлении до объема 3–4 мл, добавили избыток диэтилового эфира. Суспензию центрифугировали, осадок промыли диэтиловым эфиром и высушили на воздухе. Получили 115 мг ацетилгидроксицисплатина **67** в виде белого порошка. Выход: 92%

Спектр ЯМР 1H (400 МГц, $DMCO-d_6$, δ , м.д.): 5.94 (м, 6H, NH_3), 1.86 (с, 3H, CH_3)



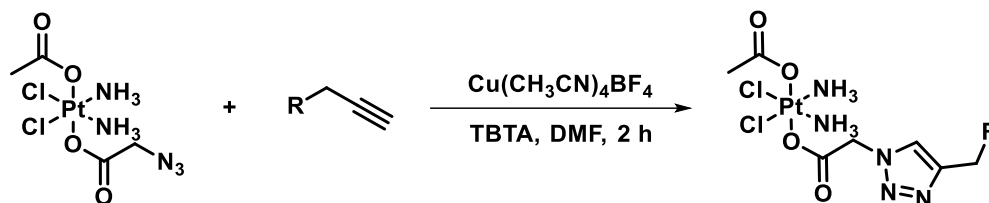
Синтез $[Pt(OAc)(2-азидоацетат)(Cl_2(NH_3)_2)]$ (68): 110 мг ДЦК (0.84 ммоль, 5.05 экв.) растворили в 1.5 мл ДМФА, добавили 54 мг (0.8 ммоль, 5 экв.) 2-азидоуксусной кислоты. Реакционную смесь суспендировали в ультразвуковой бане в течение 15 минут, затем отцентрифугировали и отделили осадок. Раствор смешали с суспензией 40 мг (0.1 ммоль) ацетилгидроксицисплатина **53** в 2 мл ДМФА. Реакционную смесь перемешивали 18

часов при 40°C на водяной бане, после чего растворитель сконцентрировали при пониженном давлении до 1 мл, добавили 4 мл воды для осаждения дициклогексилмочевины. Осадок отделили центрифугированием, раствор упарили при пониженном давлении. Остаток суспендировали в 0.5 мл метанола и высадили избытком (6-8 мл) диэтилового эфира. Осадок отцентрифугировали, очищали флеш-хроматографией, элюент CH₂Cl₂:MeOH (10:1). Получили [Pt(OAc)(2-азидоацетат)(Cl₂(NH₃)₂)] **68** в виде белого порошка. Выход: 36 мг (66%).

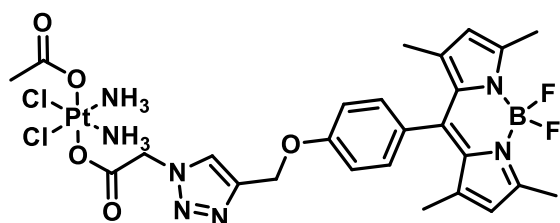
Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, ДМСО-d₆, δ, м.д.): δ 6.54 (м, 6H, NH₃), 3.88 (с, 2H, C(O)CH₂N₃), 1.90 (с, 3H, C(O)-CH₃).

HRMS: вычислено C₄H₁₁Cl₂N₅NaO₄Pt⁺, 480.9734, (**68**+Na)⁺; найдено C₄H₁₁Cl₂N₅NaO₄Pt⁺, 480.9735, (**68**+Na)⁺.

Общий протокол азид-алкинового циклоприсоединения с комплексами Pt(IV) в качестве исходных реагентов Ж:



В ДМФА растворили 1.2 мольных эквивалента BODIPY, содержащего терминальный алкин, в атмосфере аргона добавили 0.3 мольных эквивалента ТБТА и 0.3 мольных эквивалента Cu(CH₃CN)₄BF₄ и перемешивали 15 минут при комнатной температуре, после чего добавили 1 мольный эквивалент Pt(OAc)(2-азидоацетат)(Cl₂(NH₃)₂)] **68** и перемешивали 2 часа в темноте при комнатной температуре. Растворитель упарили при пониженном давлении, остаток суспендировали в 0.5 мл метанола, добавили избыток (8-10 мл) диэтилового эфира. Выпавший осадок отцентрифугировали, продукт очищали колоночной хроматографией, элюент CH₂Cl₂:MeOH (10:1).



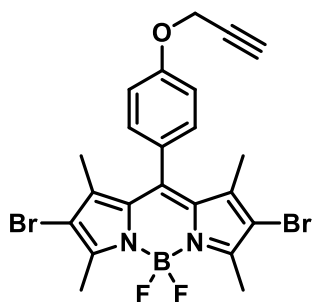
Синтез конъюгата оксоплатина, ацетата и 4,4-дифтор-8-(2-(4-(феноксиметил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)ацетат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3a,4a-диаза-s-индацена (Pt-31): Из 8 мг (0.017 ммоль) Pt(OAc)(2-азидоацетата)(Cl₂(NH₃)₂)] **68** и 8 мг (0.02

ммоль, 1.2 экв.) 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3a,4a-диаза-s-индацена **66**, 1.6 мг Cu(CH₃CN)₄BF₄ и 2.8 мг ТБТА, следуя общему протоколу **Ж**, получили 8 мг конъюгата оксоплатина и 4,4-дифтор-8-(2-(4-(феноксиметил)-1H-1,2,3-триазол-1-

ил)ацетат)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **Pt-31** в виде оранжевого порошка. Выход: 62%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 8.17 (с, 1H, C=CH-N), 7.31-7.29 (м, 2H, H₂,H₆-Ph), 7.24-7.22 (д, 2H, H₃,H₅-Ph), 6.52 (уш.с., 6H, NH₃), 6.19 (с, 2H, H₂,H₆-BP), 5.24 (с, 2H, CH₂OPh), 5.21 (с, 2H, CH₂-N=N), 2.45 (с, 6H, 3-CH₃,5-CH₃-BP), 1.93 (с, 3H, CH₃C(O)), 1.41 (с, 6H, 1-CH₃,7-CH₃-BP).

HRMS: вычислено C₂₆H₃₃BCl₂F₂N₇O₅Pt⁺, 837.1629, (**Pt-31**+H)⁺; найдено C₂₆H₃₃BCl₂F₂N₇O₅Pt⁺, 837.1628, (**Pt-31**+H)⁺.

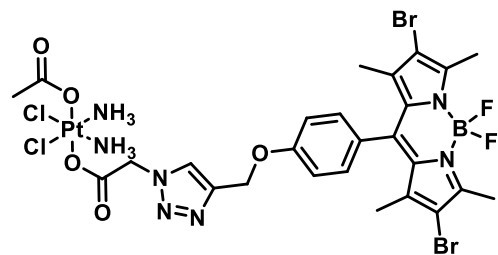


Синтез 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (69): 46 мг (0.12 ммоль) 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **66** и 54 мг (0.3 ммоль) NBS растворили в 3 мл CH₂Cl₂ и перемешивали при комнатной температуре без доступа света 3.5 часа. Затем растворитель упарили при пониженном давлении, продукт очищали колоночной хроматографией, элюент CH₂Cl₂:ПЭ (100:1). Получили 59 мг 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **69** в виде темно-красного порошка. Выход: 91%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 7.18 (д, 2H, J=8.8 Гц, H₂,H₆-Ph), 7.12 (д, 2H, J=8.8 Гц, H₃,H₅-Ph), 4.79 (д, 2H, J=2.4 Гц, OCH₂), 2.61 (с, 6H, 3-CH₃,5-CH₃-BP -BP), 2.58 (т, 1H, J=2.4 Гц, C≡CH) 1.43 (с, 6H, 1-CH₃,7-CH₃-BP).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 158.25, 152.97, 140.44, 130.27, 129.20, 125.94, 115.96, 111.21, 78.80, 78.86, 55.79, 13.59, 13.46

HRMS: вычислено C₂₂H₁₉BBr₂F₂N₂NaO⁺, 556.9823, (**69**+Na)⁺; найдено C₂₂H₁₉BBr₂F₂N₂NaO⁺, 556.9826, (**69**+Na)⁺.

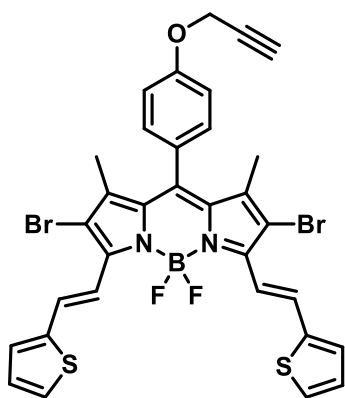


Синтез конъюгата оксоплатина, ацетата и 4,4-дифтор-8-(2-(4-(феноксиметил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)ацетат)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (Pt-32): Из 18 мг (0.04 ммоль) Pt(OAc)(2-азидоацетат)(Cl₂(NH₃)₂) **68** и 25 мг (0.047 ммоль) 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **69**, 4.9 мг Cu(CH₃CN)₄BF₄ и 8.3 мг ТБТА, следуя общему протоколу **Ж** получили 10 мг конъюгата оксоплатина, ацетата и 4,4-

дифтор-8-(2-(4-(феноксиметил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)ацетат)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **Pt-32** в виде тёмно-красного порошка. Выход: 25%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 8.17 (с, 1H, C=CH-N), 7.34 (д, 2H, J=8.6 Гц, H₂,H₆-Ph), 7.25 (д, 2H, J=8.7 Гц, H₃,H₅-Ph), 6.52 (уш.с, 6H, NH₃), 5.23 (с, 2H, NCH₂), 5.20 (с, 2H, OCH₂) 2.48 (3-CH₃,5-CH₃-BP, за сигналом растворителя), 1.91 (с, 3H, C(O)CH₃), 1.40 (с, 6H, 1-CH₃,7-CH₃-BP).

HRMS: вычислено C₂₆H₃₀BBr₂Cl₂F₂N₇NaO₅Pt⁺, 1014.9659, (**Pt-32**+Na)⁺; найдено C₂₆H₃₀BBr₂Cl₂F₂N₇NaO₅Pt⁺, 1014.9655, (**Pt-32**+Na)⁺.

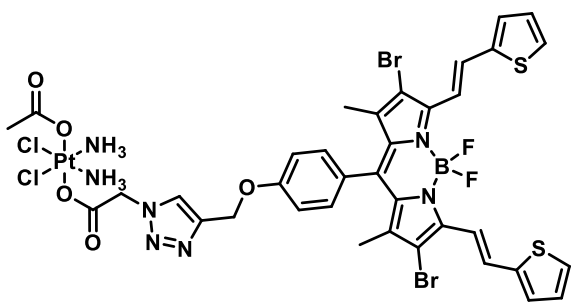


Синтез 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-2,6-дибром-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (70): Из 64 мг (0.12 ммоль) 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-2,6-дибром-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **69**, 54 мкл (0.59 ммоль, 5 мольных экв) тиофен-2-карбальдегида, в присутствии 20 мкл пиперидина, 10 мкл уксусной кислоты и 1 г мол. сит 3А, следуя общему протоколу **Е**, с выделением колоночной хроматографией, элюент ПЭ:ацетон (2:1).

Получили 35 мг 4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-2,6-дибром-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **70** в виде тёмно-зелёного порошка. Выход: 40%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 8.27 (д, 2H, J=16.0 Гц, CH=CH-BP), 7.54 (д, 2H, J=16.6 Гц, CH=CH-BP), 7.40 (д, 2H, J=5.2 Гц, H α' -Th), 7.33 (д, 2H, J=3.9 Гц, H β -Th), 7.21 (д, 2H, J=8.8 Гц, H₂,H₆-Ph), 7.14 (д, 2H, J=8.8 Гц, H₃,H₅-Ph), 7.09 (т, 2H, J=4.3 Гц, H β' -Th), 4.80 (д, 2H, J=2.4 Гц, OCH₂), 2.59 (т, 1H, J=2.4 Гц, C \equiv CH), 1.47 (с, 6H, 1-CH₃,7-CH₃-BP).

HRMS: вычислено C₃₂H₂₃BBr₂F₂N₂NaOS₂⁺, 744.9577, (**70**+Na)⁺; найдено C₃₂H₂₃BBr₂F₂N₂NaOS₂⁺, 744.9583, (**70**+Na)⁺.



Синтез конъюгата оксоплатина, ацетата и 4,4-дифтор-8-(2-(4-(феноксиметил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)ацетат)-2,6-дибром-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена (Pt-33): Из 15 мг (0.03 ммоль) Pt(OAc)(2-азидоацетат)(Cl₂(NH₃)₂) **68**, 30 мг (0.04 ммоль)

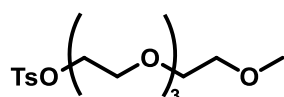
4,4-дифтор-8-(4-(проп-2-ин-1-илокси)фенил)-2,6-дибром-1,7-диметил-3,5-(бис((E)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-*s*-индацена **70**, 3 мг (0.01 ммоль) Cu(CH₃CN)₄BF₄ и 5.2

мг (0.01 ммоль) ТБТА получили 4 мг конъюгата оксоплатина, ацетата и 4,4-дифтор-8-(2-(4-(феноксиметил)-1Н-1,2,3-триазол-1-ил)ацетат)-2,6-дибром-1,7-диметил-3,5-(бис((Е)-2-(тиофен-2-ил)винил)-4-бора-3а,4а-диаза-s-индацена **Pt-33** в виде тёмно-зелёного порошка. Выход: 10%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д.): 8.28 (д, 2Н, $J=16.3$ Гц, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$), 8.18 (с, 1Н, $\text{C}=\text{CH}-\text{N}$), 7.74 (д, 2Н, $J=4.6$ Гц, $\text{H}\alpha'$ -Th), 7.46 (м, 2Н, $\text{H}\beta$ -Th), 7.41-7.15 (м, 8Н, H_2, H_6 -Ph, H_3, H_5 -Ph, $\text{CH}=\text{CH}-\text{BP}$, $\text{H}\beta'$ -Th), 6.52 (уш.с., 6Н, NH_3), 5.23 (м, 4Н, NCH_2 , OCH_2), 1.91 (с, 3Н, $\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), 1.43 (с, 6Н, 1- $\text{CH}_3, 7-\text{CH}_3$ -BP).

HRMS: вычислено $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{BBr}_2\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_7\text{NaO}_5\text{PtS}_2^+$, 1202.9413, (**Pt-33**+Na) $^+$; найдено $\text{C}_{36}\text{H}_{35}\text{BBr}_2\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_7\text{O}_5\text{PtS}_2^+$, 1202.9403, (**Pt-33**+Na) $^+$;

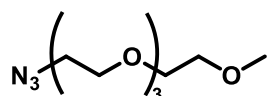
Синтез вспомогательных реагентов



Синтез 2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил 4-метилбензилсульфоната (71) [246]: 956 мкл (5 ммоль) 2,5,8,11-

тетраоксатридекан-13-ола смешали с 916 мг (5 ммоль) тозилхлорида и растворили в 2.3 мл Et_3N и 6 мл CH_2Cl_2 . После 12 часов перемешивания отфильтровали выпавший белый осадок и остаток промыли этилацетатом. Фильтрат упарили при пониженном давлении. Получили 1.4 г 2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил 4-метилбензилсульфоната **71** в виде желтоватого масла. Выход: 83%.

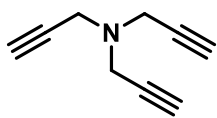
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 7.80 (д, 2Н, $J=8.2$ Гц, H_2, H_6 -Ph), 7.34 (д, 2Н, $J=8.1$ Гц, H_3, H_5 -Ph), 4.16 (т, 2Н, $J=4.7$ Гц, S- OCH_2), 3.69 (т, 2Н, $J=4.8$ Гц, S- OCH_2-CH_2), 3.65-3.63 (м, 6Н, S- $\text{OCH}_2-\text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2$), 3.59 (с, 3Н, $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OMe}$), 3.56-3.53 (м, 2Н, CH_2OMe), 3.37 (с, 3Н, OMe), 2.45 (с, 3Н, MePh).



Синтез 13-азидо-2,5,8,11-тетраоксатридекана (72) [246]: 1.4 г (4 ммоль) 2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил 4-метилбензилсульфоната **71** (1.4 г, 4 ммоль) и 1.3 г (20 ммоль) азид натрия растворили в 11 мл ДМФА. Реакционную смесь перемешивали при 90-100°C в атмосфере аргона в течение 3 часов. Затем раствор охладили до комнатной температуры и вылили в 30 мл ледяной воды. Продукт проэкстрагировали диэтиловым эфиром (3×30 мл). Объединенный органический слой высушили над безводным Na_2SO_4 . Растворитель упарили при пониженном давлении. Получили 832 мг 13-азидо-2,5,8,11-тетраоксатридекана **72** в виде масла светло-коричневого цвета. Выход: 90%

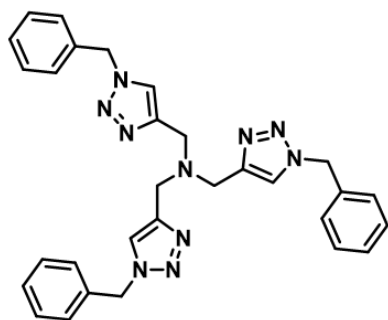
Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 3.69-3.64 (м, 12Н, $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{OMe}$), 3.57-3.54 (м, 2Н, $\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{N}_3$), 3.41-3.39 (м, 2Н, $\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{N}_3$), 3.39 (с, 3Н, OMe).

Синтез оксида меди(I) Cu₂O (73) [247]: 4.99 г (20 ммоль) CuSO₄·5H₂O добавили к 30 мл водного раствора, содержащего 2.92 г (10 ммоль) ЭДТА и раствор перемешивали 30 мин при 55°C. Затем к раствору при перемешивании последовательно добавили 250 мл раствора NaOH (0.6 М) и 5.6 г (28 ммоль) аскорбата натрия. Раствор охладили до комнатной температуры, в результате чего образовалась суспензия кирпично-красного цвета. Осадок отцентрифугировали при 2000 об/мин в течение 3 мин и несколько раз промыли деионизированной водой и этанолом. После этого осадок высушили при пониженном давлении в течение 6 часов при 50°C. Получили 2.88 г Cu₂O **73** в виде рыжего порошка. Выход: 95%.



Синтез тетраakis(ацетонитрил)меди(I) тетрафторбората

Cu(CH₃CN)₄BF₄ (74) [248]: К перемешиваемой суспензии 2.88 г (20 ммоль) Cu₂O в 58 мл CH₃CN порциями по 1 мл добавили 9.5 мл 48-50% HBF₄. Во время прибавления HBF₄ происходило самопроизвольное разогревание реакции. После добавления последней порции HBF₄ раствор перемешивали в течение приблизительно 5 минут и отфильтровали, пока он еще горячий, для удаления нерастворившихся твердых веществ. Затем к фильтрату добавили равный объем диэтилового эфира, охладили до 0°C и оставили на 2 часа в холоде. Образовавшийся осадок отфильтровали при пониженном давлении, промыли диэтиловым эфиром и сразу после этого высушили в вакууме. Получили 10.4 г Cu(CH₃CN)₄BF₄ **74** в виде белого кристаллического порошка. Выход: 84%.



Синтез три(проп-2-ин-1-ил)аминa (75) [249]: 2.2 мл (20.3 ммоль) пропаргилбромида прикапывали к 5.3 мл (25%, 38.5 ммоль) водного раствора NH₄OH в течение 3 часов. При перемешивании смеси при комнатной температуре в течение 24 часов наблюдалось изменение цвета реакционной смеси на желтый, а также осаждение бромида аммония. После этого реакционную смесь перемешивали 48 часов при 50°C. Продукт проэкстрагировали диэтиловым эфиром (3×10 мл) и высушили над безводным Na₂SO₄, растворитель упарили при пониженном давлении. Продукт очищали колоночной хроматографией, элюент диэтиловый эфир:петролейный эфир (1:1). Получили 800 мг три(проп-2-ин-1-ил)аминa **75** в виде бесцветной жидкости. Выход: 30%.

Спектр ЯМР ¹H (400 МГц, CDCl₃, δ, м.д.): 3.50 (д, 6H, J=2.4 Гц, NCH₂), 2.27 (т, 3H, J=2.4 Гц, C≡CH).

Синтез трис(бензилтриазолил)аминa (ТБТА) (76) [250]: 2.5 г (6.04 ммоль) бензилазида и 800 мг (2.01 ммоль) триспропаргиламин **57** растворили в 30 мл CH₂Cl₂, добавили 30 мл воды.

Затем добавили 76 мг (0.3 ммоль) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и 180 мг (0.9 ммоль) аскорбат натрия и реакционную смесь интенсивно перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Добавили 40 мл CH_2Cl_2 и 40 мл воды, отделили органическую фазу. Водную фазу проэкстрагировали CH_2Cl_2 (3×40 мл), объединенные органические фазы промыли рассолом (40 мл) и высушили над безводным Na_2SO_4 . Растворитель упарили при пониженном давлении. Продукт очищали флеш-хроматографией, элюент $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (20:1). Получили 2.7 г трис(бензилтриазилил)амин **76** в виде бесцветного порошка. Выход: 84%.

Спектр ЯМР ^1H (400 МГц, CDCl_3 , δ , м.д.): 8.08 (с, 3H, C=CH-N), 7.37–7.25 (м, 15H, Ph), 5.58 (с, 6H, NCH_2), 3.61 (с, 6H, CH_2Ph).

Заключение

На основании проведённых в работе экспериментов и полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. Разработаны и оптимизированы синтетические подходы к получению пролекарств Pt(IV) с лигандами на основе НСПВП, нитроимидазолов, азоароматических производных, рибофлавина и бор-дипиррометенов, с использованием которых получено 32 новых пролекарства Pt(IV) с биоактивными лигандами в аксиальном положении.
2. Разработаны новые подходы к введению органических лигандов различной природы в аксиальное положение пролекарств Pt(IV). Первый подход основан на предварительном синтезе NHS эфира карбаминовой кислоты с последующей реакцией с ОН-аксиальным лигандом Pt(IV); второй подход заключается в медь-катализируемом азид-алкиновом циклоприсоединении между фрагментом азида в аксиальном положении пролекарства Pt(IV) и терминальной тройной связью в структуре органического лиганда.
3. Исследование цитотоксической активности показало, что новые пролекарства Pt(IV) более активны против ряда клеточных линий чем цисплатин, наибольшую активность, в 150 раз превышающую цисплатин показало пролекарство **Pt-7**.
4. Показано, что цитотоксическая активность пролекарств Pt(IV) зависит от ряда факторов, таких как липофильность, скорость восстановления пролекарства, типа линкера между аксиальным лигандом и центром Pt(IV), однако в значительной степени определяется природой аксиального лиганда.
5. Разработаны фотоактивируемые пролекарства Pt(IV) с лигандами на основе рибофлавина и бор-дипиррометенов; продемонстрировано, что данные соединения оказывают повышенное цитотоксическое действие при облучении, следовательно являются агентами фотоконтролируемой химиотерапии. Определены факторы, влияющие на скорость фотовысвобождения цисплатина, предложен механизм фотоиндуцированного восстановления пролекарств.
6. Впервые получены фотоактивируемые пролекарства Pt(IV) двойного действия с ТАРФ и BODIPY в аксиальном положении, представляющие собой агенты фотоконтролируемой химиотерапии и фотодинамической терапии. Доказано, что пролекарство **Pt-22** с ТАРФ в аксиальном положении является пролекарством двойного действия, способное контролируемым образом под действием синего света высвободить цисплатин и образовывать активные формы кислорода как в водных растворах, так и в опухолевых моделях – сфероиды линии MCF-7.

7. С использованием платинированного наноэлектрода показано, что пролекарство с оптимальной липофильностью **Pt-7**, а также пролекарство **Pt-19**, постепенно высвобождающее цисплатин, способны накапливаться на глубине опухолевых сфероидов MCF-7. Пролекарство **Pt-7** превосходит в терапевтической эффективности цисплатин в предварительных испытаниях *in vivo*, пролекарства **Pt-4** и **Pt-7** с напроксеном и флурбипрофеном также являются эффективными средствами доставки цисплатина в опухоль ЕМТ-6 мышей BALB/C.

Список сокращений

НСПВП - нестероидные противовоспалительные препараты; FDA - Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США; NCS – N-хлоросукцинимид; HBTU - (2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония гексафторфосфат); TBTU - (2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония тетрафторборат); DCC - 1,3-дициклогексилкарбодиимид; EDC - 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимид; NHS – N-гидроксисукцинимид; NERi – ингибитор репарации ДНК; ДСК – дисукцинимидил карбонат; DIPC – диизопропилкарбодиимид; CDI – карбонилдимидазол; ДМСО – диметилсульфоксид; ТБТА - трис(бензилтриазилил)амин; ЦОГ – циклооксигеназа; ПДК – пируват дегидрогиназа киназа; HDAC – гистондеацетилаза; CDDP – цисплатин; ТС – тимидилат синтаза; АФК – активные формы кислорода; 9MeГ – 9-метилгуанидин; СА-4 – комбретастанин А4; DCA – дихлорацетат; АДСГП - атомно-адсорбционная спектроскопия в графитовой печи; GST – глутатион-S-трансфераза; BSO - L-бутионин-S,R,-сульфоксимин; STAT3 - преобразователь сигнала и активатор транскрипции; ОСК – опухолевые стволовые клетки; 5-GMP – гуанозин монофосфат; ТРО – торможение роста опухоли; PD-L1 – лиганд программируемой клеточной смерти; ММП-9 – матричная металлопротеиназа 9; САIX – карбоновые ангидразы; ФАХТ – фотоактивируемая химиотерапия; ФДТ – фотодинамическая терапия; ПФА – пирофеофорбид А; БИК – ближний ИК; BODIPY – бор-дипиррометены; ДФБФ – 1,3-дифенилизобензофуран; ММП – мембранный митохондриальный потенциал; DCFDA - дихлордифлуоресцеин диацетат; РФС – рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия; МС-ИСП – масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой; ПФЭ – поли(фениленэтинилен); ТАРФ – тетраацетилрибофлавин; TCSPC – время-коррелированный счёт одиночных фотонов.

Клеточные линии

BCAP – карцинома щитовидной железы; PSN-1 – карцинома поджелудочной железы; MDA-MB-231 – тройная негативная аденокарцинома молочной железы; A2780cisR – цисплатин-резистентный рак яичников; LNCaP – аденокарцинома простаты; MRC-5 pd30 – здоровые клетки лёгкого; HeLa – рак шейки матки; HepG2 – рак печени; HCT-116 – рак кишечника; HUVEC – нормальные клетки пупочной вены; MCF-7 - аденокарцинома молочной железы; A549 – аденокарцинома лёгкого; DU145 – рак простаты; ADDP, A549cisR, A549/CDDP – цисплатин-резистентная аденокарцинома лёгкого; HT29 – аденокарцинома лёгкого; A431 – рак шейки матки; SW480 – колоректальная аденокарцинома; CH1/PA-1 тератокарцинома яичников; NCM460 – здоровые клетки кишечника; SKOV-3 – карцинома яичника; SKOV-3/CDDP – цисплатин-резистентная карцинома яичника; HCT-116/OxR – оксалиплатин-резистентный рак кишечника; CT-26 – колоректальная карцинома; BEL7404 – рак печени; BEL7404-CP20 – цисплатин-резистентный рак печени; MSTO-211H – фибробласты лёгкого; MDA-MB-435 – рак молочной железы; 4T1 – рак молочной железы мышей; LO-2 – здоровые клетки печени; MOR – аденокарцинома лёгкого; MORcisR – цисплатин-резистентная аденокарцинома лёгкого; MCF-10A – здоровые клетки молочной железы; HLF – фибробласты лёгкого;

Список литературы

1. Rosenberg B., Camp L. Van, Krigas T. Inhibition of Cell division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode // *Nature*. — 1965. — Vol. 205. — P. 698–699.
2. Dilruba S., Kalayda G. V. Platinum-based drugs: past, present and future // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. Springer Berlin Heidelberg, — 2016. — Vol. 77, № 6. — P. 1103–1124.
3. Johnstone T.C., Suntharalingam K., Lippard S.J. Third row transition metals for the treatment of cancer // *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. Royal Society of London, — 2015. — Vol. 373, № 2037.
4. Wang D., Lippard S.J. Cellular processing of platinum anticancer drugs // *Nature Reviews Drug Discovery*. — 2005. — Vol. 4, № 4. — P. 307–320.
5. Dasari S., Bernard Tchounwou P. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action // *European Journal of Pharmacology*. Elsevier, — 2014. — Vol. 740. — P. 364–378.
6. Cepeda V., Fuertes M.A., Castilla J., Alonso C., Quevedo C., Perez J.M. Biochemical Mechanisms of Cisplatin Cytotoxicity // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. — 2008. — Vol. 7. — P. 3–18.
7. Tixier F., Ranchon F., Iltis A., Vantard N., Schwiertz V., Bachy E., Bouafia-Sauvy F., Sarkozy C., Tournamille J.F., Gyan E., Salles G., Rioufol C. Comparative toxicities of 3 platinum-containing chemotherapy regimens in relapsed/refractory lymphoma patients // *Hematological Oncology*. — 2017. — Vol. 35, № 4. — P. 584–590.
8. Langer T., Am Zehnhoff-Dinnesen A., Radtke S., Meitert J., Zolk O. Understanding platinum-induced ototoxicity // *Trends in Pharmacological Sciences*. Elsevier Ltd, — 2013. — Vol. 34, № 8. — P. 458–469.
9. Park S.B., Lin C.S.Y., Krishnan A. V., Goldstein D., Friedlander M.L., Kiernan M.C. Oxaliplatin-induced neurotoxicity: Changes in axonal excitability precede development of neuropathy // *Brain*. — 2009. — Vol. 132, № 10. — P. 2712–2723.
10. Oun R., Moussa Y.E., Wheate N.J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: A review for chemists // *Dalton Transactions*. Royal Society of Chemistry, — 2018. — Vol. 47, №

19. — P. 6645–6653.
11. Ohmichi M., Hayakawa J., Tasaka K., Kurachi H., Murata Y. Mechanisms of platinum drug resistance // *Trends in Pharmacological Sciences*. — 2005. — Vol. 26, № 3. — P. 113–116.
12. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy // *Nature Reviews Cancer*. — 2007. — Vol. 7, № 8. — P. 573–584.
13. Grothey A. Oxaliplatin-safety profile: Neurotoxicity // *Seminars in Oncology*. — 2003. — Vol. 30, № 15. — P. 5–13.
14. Johnstone T.C., Suntharalingam K., Lippard S.J. The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs // *Chemical Reviews*. American Chemical Society, — 2016. — Vol. 116, № 5. — P. 3436–3486.
15. Wilson J.J., Lippard S.J. Synthetic methods for the preparation of platinum anticancer complexes // *Chemical Reviews*. American Chemical Society, — 2014. — Vol. 114, № 8. — P. 4470–4495.
16. Hall M.D., Mellor H.R., Callaghan R., Hambley T.W. Basis for design and development of platinum(IV) anticancer complexes // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2007. — Vol. 50, № 15. — P. 3403–3411.
17. Dolman R.C., Deacon G.B., Hambley T.W. Studies of the binding of a series of platinum(IV) complexes to plasma proteins // *Journal of Inorganic Biochemistry*. — 2002. — Vol. 88. — P. 260–267.
18. Chen C.K.J., Zhang J.Z., Aitken J.B., Hambley T.W. Influence of Equatorial and Axial Carboxylato Ligands on the Kinetic Inertness of Platinum(IV) Complexes in the Presence of Ascorbate and Cysteine and within DLD-1 Cancer Cells // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2013. — Vol. 56, № 21. — P. 8757–8764.
19. Kastner A., Poetsch I., Mayr J., Burda J. V., Roller A., Heffeter P., Keppler B.K., Kowol C.R. A Dogma in Doubt: Hydrolysis of Equatorial Ligands of Pt(IV) Complexes under Physiological Conditions // *Angewandte Chemie - International Edition*. — 2019. — Vol. 58, № 22. — P. 7464–7469.
20. Spector D., Krasnovskaya O., Pavlov K., Erofeev A., Gorelkin P., Beloglazkina E., Majouga A. Pt(IV) prodrugs with NSAIDs as axial ligands // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2021. — Vol. 22, № 8. — P. 3817.

21. Muhammad N., Sadia N., Zhu C., Luo C., Guo Z., Wang X. Biotin-tagged platinum(IV) complexes as targeted cytostatic agents against breast cancer cells // *Chemical Communications. Royal Society of Chemistry*, — 2017. — Vol. 53, № 72. — P. 9971–9974.
22. Wang H., Yang X., Zhao C., Wang P.G., Wang X. Glucose-conjugated platinum(IV) complexes as tumor-targeting agents: design, synthesis and biological evaluation // *Bioorganic and Medicinal Chemistry. Elsevier*, — 2019. — Vol. 27, № 8. — P. 1639–1645.
23. Massaguer A., González-Cantó A., Escribano E., Barrabés S., Artigas G., Moreno V., Marchán V. Integrin-targeted delivery into cancer cells of a Pt(IV) pro-drug through conjugation to RGD-containing peptides // *Dalton Transactions. Royal Society of Chemistry*, — 2015. — Vol. 44, № 1. — P. 202–212.
24. Petruzzella E., Sirota R., Solazzo I., Gandin V., Gibson D. Triple action Pt(IV) derivatives of cisplatin: A new class of potent anticancer agents that overcome resistance // *Chemical Science. Royal Society of Chemistry*, — 2018. — Vol. 9, № 18. — P. 4299–4307.
25. Zhang R., Song X.Q., Liu R.P., Ma Z.Y., Xu J.Y. Fuplatin: An Efficient and Low-Toxic Dual-Prodrug // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2019. — Vol. 62, № 9. — P. 4543–4554.
26. Petruzzella E., Braude J.P., Aldrich-Wright J.R., Gandin V., Gibson D. A Quadruple-Action Platinum(IV) Prodrug with Anticancer Activity Against KRAS Mutated Cancer Cell Lines // *Angewandte Chemie - International Edition. Wiley-VCH Verlag*, — 2017. — Vol. 56, № 38. — P. 11539–11544.
27. Raveendran R., Braude J.P., Wexselblatt E., Novohradsky V., Stuchlikova O., Brabec V., Gandin V., Gibson D. Pt(IV) derivatives of cisplatin and oxaliplatin with phenylbutyrate axial ligands are potent cytotoxic agents that act by several mechanisms of action // *Chemical Science. Royal Society of Chemistry*, — 2016. — Vol. 7, № 3. — P. 2381–2391.
28. Xu Z., Wang Z., Deng Z., Zhu G. Recent advances in the synthesis, stability, and activation of platinum(IV) anticancer prodrugs // *Coordination Chemistry Reviews. Elsevier B.V.*, — 2021. — Vol. 442. — P. 213991.
29. Wang Z., Wang N., Cheng S.C., Xu K., Deng Z., Chen S., Xu Z., Xie K., Tse M.K., Shi P., Hirao H., Ko C.C., Zhu G. Phorbiplatin, a Highly Potent Pt(IV) Antitumor Prodrug That Can Be Controllably Activated by Red Light // *Chem. Elsevier Inc.*, — 2019. — Vol. 5, № 12. — P. 3151–3165.

30. Dai Z., Wang Z. Photoactivatable Platinum-Based Anticancer Drugs: Mode of Photoactivation and Mechanism of Action // *Molecules*. — 2020. — Vol. 25, № 21. — P. 5167.
31. Spector D., Pavlov K., Beloglazkina E., Krasnovskaya O. Recent Advances in Light-Controlled Activation of Pt(IV) Prodrugs // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2022. — Vol. 23, № 23. — P. 14511.
32. Hall M.D., Hambley T.W. Platinum(IV) antitumour compounds: Their bioinorganic chemistry // *Coordination Chemistry Reviews*. — 2002. — Vol. 232, № 1–2. — P. 49–67.
33. Kauffman G.B., Slusarczuk G., Kirschner S. cis - and trans -Tetrachlorodiammineplatinum(IV) // *Inorganic Syntheses*. — 1963.
34. Faggiani R., Howard-Lock H.E., Lock C.J.L. Crystalline structure and vibrational spectra of cis-dichlorodiammine-trans-dihydroxoplatinum(IV), PtCl₂(NH₃)₂(OH)₂ // *Canadian Journal of Chemistry*. — 1982. — Vol. 60, № 4. — P. 529–534.
35. Chung T.S., Na Y.M., Kang S.W., Jung O.S., Lee Y.A. Facile generation of platinum(IV) compounds with mixed labile moieties. Hydrogen peroxide oxidation of platinum(II) to platinum(IV) compounds // *Transition Metal Chemistry*. — 2005. — Vol. 30, № 5. — P. 541–545.
36. Pathak R.K., Marrache S., Choi J.H., Berding T.B., Dhar S. The prodrug platin-A: Simultaneous release of cisplatin and aspirin // *Angewandte Chemie - International Edition*. — 2014. — Vol. 53, № 7. — P. 1963–1967.
37. Ravera M., Gabano E., Tinello S., Zanellato I., Osella D. May glutamine addiction drive the delivery of antitumor cisplatin-based Pt(IV) prodrugs? // *Journal of Inorganic Biochemistry*. Elsevier Inc., — 2017. — Vol. 167. — P. 27–35.
38. Ravera M., Gabano E., Pelosi G., Fregonese F., Tinello S., Osella D. A new entry to asymmetric platinum(IV) complexes via oxidative chlorination // *Inorganic Chemistry*. American Chemical Society, — 2014. — Vol. 53, № 17. — P. 9326–9335.
39. Hu W., Fang L., Hua W., Gou S. Biotin-Pt (IV)-indomethacin hybrid: A targeting anticancer prodrug providing enhanced cancer cellular uptake and reversing cisplatin resistance // *Journal of Inorganic Biochemistry*. Elsevier, — 2017. — Vol. 175. — P. 47–57.
40. Pelosi G., Ravera M., Gabano E., Fregonese F., Osella D. Unprecedented one-pot synthesis of an unsymmetrical cisplatin-based Pt(IV)-acetamidato complex // *Chemical Communications*.

- Royal Society of Chemistry, — 2015. — Vol. 51, № 38. — P. 8051–8053.
41. Ravera M., Gabano E., McGlinchey M.J., Osella D. Pt(IV) antitumor prodrugs: dogmas, paradigms, and realities // Dalton Transactions. — 2022. — Vol. 51, № 6. — P. 2121–2134.
 42. Neumann W., Crews B.C., Marnett L.J., Hey-Hawkins E. Conjugates of cisplatin and cyclooxygenase inhibitors as potent antitumor agents overcoming cisplatin resistance // ChemMedChem. — 2014. — Vol. 9, № 6. — P. 1150–1153.
 43. Curci A., Denora N., Iacobazzi R.M., Ditaranto N., Hoeschele J.D., Margiotta N., Natile G. Synthesis, characterization, and in vitro cytotoxicity of a Kiteplatin-Ibuprofen Pt(IV) prodrug // Inorganica Chimica Acta. — 2018. — Vol. 472. — P. 221–228.
 44. Tan J., Li C., Wang Q., Li S., Chen S., Zhang J., Wang P.C., Ren L., Liang X.J. A Carrier-Free Nanostructure Based on Platinum(IV) Prodrug Enhances Cellular Uptake and Cytotoxicity // Molecular Pharmaceutics. — 2018. — Vol. 15, № 4. — P. 1724–1728.
 45. Neumann W., Crews B.C., Sárosi M.B., Daniel C.M., Ghebreselasie K., Scholz M.S., Marnett L.J., Hey-Hawkins E. Conjugation of cisplatin analogues and cyclooxygenase inhibitors to overcome cisplatin resistance // ChemMedChem. — 2015. — Vol. 10. — P. 183–192.
 46. Ravera M., Zanellato I., Gabano E., Perin E., Rangone B., Coppola M., Osella D. Antiproliferative Activity of Pt(IV) Conjugates Containing the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) Ketoprofen and Naproxen // International Journal of Molecular Sciences. — 2019. — Vol. 20, № 12. — P. 3074.
 47. Ang W.H., Khalaila I., Allardyce C.S., Juillerat-Jeanneret L., Dyson P.J. Rational Design of Platinum(IV) Compounds to Overcome Glutathione-S-Transferase Mediated Drug Resistance // Journal of the American Chemical Society. — 2005. — Vol. 127, № 5. — P. 1382–1383.
 48. Barnes K.R., Kutikov A., Lippard S.J. Synthesis, characterization, and cytotoxicity of a series of estrogen-tethered platinum (IV) complexes // Chemistry & biology. — 2004. — Vol. 11, № 4. — P. 557–564.
 49. Pathak R.K., McNitt C.D., Popik V. V., Dhar S. Copper-free click-chemistry platform to functionalize cisplatin prodrugs // Chemistry - A European Journal. Wiley-VCH Verlag, — 2014. — Vol. 20, № 23. — P. 6861–6865.
 50. Ma Z.Y., Wang D.B., Song X.Q., Wu Y.G., Chen Q., Zhao C.L., Li J.Y., Cheng S.H., Xu J.Y. Chlorambucil-conjugated platinum(IV) prodrugs to treat triple-negative breast cancer in vitro

- and in vivo // *European Journal of Medicinal Chemistry*. Elsevier Masson SAS, — 2018. — Vol. 157. — P. 1292–1299.
51. Guo Y., Jin S., Song D., Yang T., Hu J., Hu X., Han Q., Zhao J., Guo Z., Wang X. Amlexanox-modified platinum(IV) complex triggers apoptotic and autophagic bimodal death of cancer cells // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2022. — Vol. 242. — P. 114691.
52. Li Y., Wang Z., Qi Y., Tang Z., Li X., Huang Y. A red-light activatable and mitochondrion-targeting PtIV complex to overcome drug resistance // *Chemical Communications*. — 2022. — Vol. 58, № 60. — P. 8404–8407.
53. Spector, D. V.; Pavlov, K. G.; Akasov, R. A.; Vaneev, A. N.; Erofeev, A. S.; Gorelkin, P. V.; Nikitina, V. N.; Lopatukhina, E. V.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Skvortsov, D. A.; Roznyatovsky, V. A.; Ul, N. V.; Pikovskoi, I. I.; Sypalov, S. A.; Garanina, A. S.; Vodopyanov, S. S.; Abakumov, M. A.; Volodina, Y. L.; Markova, A. A.; Petrova, A. S.; Mazur, D. M.; Sakharov, D. A.; Zyk, N. V.; Beloglazkina, E. K.; Majouga, A. G.; Krasnovskaya, O. O. Pt(IV) Prodrugs with Non-Steroidal Anti-inflammatory Drugs in the Axial Position // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2022. — Vol. 65, № 12. — P. 8277–8244.
54. Zhang J.Z., Bonnitcha P., Wexselblatt E., Klein A. V., Najajreh Y., Gibson D., Hambley T.W. Facile preparation of mono-, Di- and mixed-carboxylato platinum(IV) complexes for versatile anticancer prodrug design // *Chemistry - A European Journal*. — 2013. — Vol. 19, № 5. — P. 1672–1676.
55. Karmakar S., Kostrehunova H., Ctvrtlikova T., Novohradsky V., Gibson D., Brabec V. Platinum(IV)-Estramustine Multiaction Prodrugs Are Effective Antiproliferative Agents against Prostate Cancer Cells // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2020. — Vol. 63, № 22. — P. 13861–13877.
56. Jin S., Guo Y., Song D., Zhu Z., Zhang Z., Sun Y., Yang T., Guo Z., Wang X. Targeting Energy Metabolism by a Platinum(IV) Prodrug as an Alternative Pathway for Cancer Suppression: research-article // *Inorganic Chemistry*. American Chemical Society, — 2019. — Vol. 58, № 9. — P. 6507–6516.
57. Chin C.F., Tian Q., Setyawati M.I., Fang W., Tan E.S.Q., Leong D.T., Ang W.H. Tuning the activity of platinum(IV) anticancer complexes through asymmetric acylation // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2012. — Vol. 55, № 17. — P. 7571–7582.
58. Babak M. V., Zhi Y., Czarny B., Toh T.B., Hooi L., Chow E.K., Ang W.H., Gibson D., Pastorin

- G. Dual-Targeting Dual-Action Platinum(IV) Platform for Enhanced Anticancer Activity and Reduced Nephrotoxicity // *Angewandte Chemie*. — 2019. — Vol. 131, № 24. — P. 8193–8198.
59. Jin S., Muhammad N., Sun Y., Tan Y., Yuan H., Song D., Guo Z., Wang X. Multispecific Platinum(IV) Complex Deters Breast Cancer via Interposing Inflammation and Immunosuppression as an Inhibitor of COX-2 and PD-L1 // *Angewandte Chemie - International Edition*. — 2020. — Vol. 59, № 51. — P. 23313–23321.
60. Wang Z., Xu Z., Zhu G. A Platinum(IV) Anticancer Prodrug Targeting Nucleotide Excision Repair To Overcome Cisplatin Resistance // *Angewandte Chemie - International Edition*. Wiley-VCH Verlag, — 2016. — Vol. 55, № 50. — P. 15564–15568.
61. Deng Z., Wang N., Liu Y., Xu Z., Wang Z., Lau T.-C., Zhu G. A Photocaged, Water-Oxidizing, and Nucleolus-Targeted Pt(IV) Complex with a Distinct Anticancer Mechanism // *Journal of the American Chemical Society*. — 2020. — Vol. 142, № 17. — P. 7803–7812.
62. Wang N., Deng Z., Zhu Q., Zhao J., Xie K., Shi P., Wang Z., Chen X., Wang F., Shi J., Zhu G. An erythrocyte-delivered photoactivatable oxaliplatin nanoprodrug for enhanced antitumor efficacy and immune response // *Chemical Science*. Royal Society of Chemistry, — 2021. — Vol. 12, № 43. — P. 14353–14362.
63. Spector D., Erofeev A., Gorelkin P., Skvortsov D., Trigub A., Markova A., Nikitina V., Ul'yanovskiy N., Shtil' A., Semkina A., Vlasova K., Zyk N., Majouga A., Beloglazkina E., Krasnovskaya O. Biotinylated Pt(IV) prodrugs with elevated lipophilicity and cytotoxicity // *Dalton Transactions*. — 2023. — Vol. 52, № 4. — P. 866–871.
64. Gabano E., Ravera M., Zanellato I., Tinello S., Gallina A., Rangone B., Gandin V., Marzano C., Bottone M.G., Osella D. An unsymmetric cisplatin-based Pt(IV) derivative containing 2-(2-propynyl)octanoate: a very efficient multi-action antitumor prodrug candidate // *Dalton Trans.* Royal Society of Chemistry, — 2017. — Vol. 46, № 41. — P. 14174–14185.
65. Chen H., Wang X., Gou S. A cisplatin-based platinum(IV) prodrug containing a glutathione s-transferase inhibitor to reverse cisplatin-resistance in non-small cell lung cancer // *Journal of Inorganic Biochemistry*. Elsevier, — 2019. — Vol. 193. — P. 133–142.
66. Yempala T., Babu T., Karmakar S., Nemirovski A., Ishan M., Gandin V., Gibson D. Expanding the Arsenal of PtIV Anticancer Agents: Multi-action PtIV Anticancer Agents with Bioactive Ligands Possessing a Hydroxy Functional Group // *Angewandte Chemie - International Edition*. — 2019. — Vol. 58, № 50. — P. 18218–18223.

67. de Sousa Cavalcante L., Monteiro G. Gemcitabine: Metabolism and molecular mechanisms of action, sensitivity and chemoresistance in pancreatic cancer // *European Journal of Pharmacology*. — 2014. — Vol. 741. — P. 8–16.
68. Chen S., Ng K.-Y., Zhou Q., Yao H., Deng Z., Tse M.-K., Zhu G. The influence of different carbonate ligands on the hydrolytic stability and reduction of platinum(IV) prodrugs // *Dalton Transactions*. — 2022. — Vol. 51, № 3. — P. 885–897.
69. Babu T., Sarkar A., Karmakar S., Schmidt C., Gibson D. Multiaction Pt(IV) Carbamate Complexes Can Codeliver Pt(II) Drugs and Amine Containing Bioactive Molecules // *Inorganic Chemistry*. — 2020. — Vol. 59, № 7. — P. 5182–5193.
70. Wilson J.J., Lippard S.J. Synthesis, characterization, and cytotoxicity of platinum(IV) carbamate complexes // *Inorganic Chemistry*. — 2011. — Vol. 50, № 7. — P. 3103–3115.
71. Zheng Y.R., Suntharalingam K., Johnstone T.C., Yoo H., Lin W., Brooks J.G., Lippard S.J. Pt(IV) prodrugs designed to bind non-covalently to human serum albumin for drug delivery // *Journal of the American Chemical Society*. — 2014. — Vol. 136, № 24. — P. 8790–8798.
72. Mayr J., Heffeter P., Groza D., Galvez L., Koellensperger G., Roller A., Alte B., Haider M., Berger W., Kowol C.R., Keppler B.K. An albumin-based tumor-targeted oxaliplatin prodrug with distinctly improved anticancer activity in vivo // *Chemical Science*. — 2017. — Vol. 8, № 3. — P. 2241–2250.
73. Fronik P., Gutmann M., Vician P., Stojanovic M., Kastner A., Heffeter P., Pirker C., Keppler B.K., Berger W., Kowol C.R. A platinum(IV) prodrug strategy to overcome glutathione-based oxaliplatin resistance // *Communications Chemistry*. Springer US, — 2022. — Vol. 5. — P. 46.
74. Barth M.C., Lange S., Häfner N., Ueberschaar N., Görls H., Runnebaum I.B., Weigand W. Synthesis and characterization of thiocarbonato-linked platinum(IV) complexes // *Dalton Transactions*. — 2022. — Vol. 51, № 14. — P. 5567–5576.
75. Reithofer M.R., Valiahdhi S.M., Jakupec M.A., Arion V.B., Egger A., Galanski M., Keppler B.K. Novel di- and tetracarboxylatoplatinum(IV) complexes. Synthesis, Characterization, cytotoxic activity, and DNA platination // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2007. — Vol. 50, № 26. — P. 6692–6699.
76. Guo C., Nolan E.M. Heavy-Metal Trojan Horse: Enterobactin-Directed Delivery of Platinum(IV) Prodrugs to *Escherichia coli* // *Journal of the American Chemical Society*. —

2022. — Vol. 144, № 28. — P. 12756–12768.
77. Chan T.R., Hilgraf R., Sharpless K.B., Fokin V. V. Polytriazoles as copper(I)-stabilizing ligands in catalysis // *Organic Letters*. — 2004. — Vol. 6, № 17. — P. 2853–2855.
78. Marrache S., Pathak R.K., Dhar S. Detouring of cisplatin to access mitochondrial genome for overcoming resistance // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2014. — Vol. 111, № 29. — P. 10444–10449.
79. Ravera M., Gabano E., McGlinchey M.J., Osella D. A view on multi-action Pt(IV) antitumor prodrugs // *Inorganica Chimica Acta*. Elsevier, — 2019. — Vol. 492. — P. 32–47.
80. Gibson D. Platinum(IV) anticancer prodrugs-hypotheses and facts // *Dalton Transactions*. Royal Society of Chemistry, — 2016. — Vol. 45, № 33. — P. 12983–12991.
81. Zajac J., Kostrhunova H., Novohradsky V., Vrana O., Raveendran R., Gibson D., Kasparkova J., Brabec V. Potentiation of mitochondrial dysfunction in tumor cells by conjugates of metabolic modulator dichloroacetate with a Pt(IV) derivative of oxaliplatin // *Journal of Inorganic Biochemistry*. Elsevier Inc., — 2016. — Vol. 156. — P. 89–97.
82. Wei G., Sun J., Luan W., Hou Z., Wang S., Cui S., Cheng M., Liu Y. Natural Product Albiziabioside A Conjugated with Pyruvate Dehydrogenase Kinase Inhibitor Dichloroacetate to Induce Apoptosis-Ferroptosis-M2-TAMs Polarization for Combined Cancer Therapy // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2019. — Vol. 62, № 19. — P. 8760–8772.
83. Ferriero R., Iannuzzi C., Manco G., Brunetti-Pierri N. Differential inhibition of PDKs by phenylbutyrate and enhancement of pyruvate dehydrogenase complex activity by combination with dichloroacetate // *Journal of Inherited Metabolic Disease*. — 2015. — Vol. 38, № 5. — P. 895–904.
84. Liberti M. V., Locasale J.W. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? // *Trends in Biochemical Sciences*. — 2016. — Vol. 41, № 3. — P. 211–218.
85. Göttlicher M., Minucci S., Zhu P., Krämer O.H., Schimpf A., Giavara S., Sleeman J.P., Lo Coco F., Nervi C., Pelicci P.G., Heinzl T. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells // *EMBO Journal*. — 2001. — Vol. 20, № 24. — P. 6969–6978.
86. Diyabalanage H.V.K., Granda M.L., Hooker J.M. Combination therapy: Histone deacetylase inhibitors and platinum-based chemotherapeutics for cancer // *Cancer Letters*. — 2013. — Vol.

- 329, № 1. — P. 1–8.
87. Hattori K., Mastushita R., Kimura K., Abe Y., Nakashima E. Synergistic Effect of Indomethacin with Adriamycin and Cisplatin on Tumor Growth. // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. — 2001. — Vol. 24, № 10. — P. 1214–1217.
88. Kostrhunova H., Petruzzella E., Gibson D., Kasparikova J., Brabec V. An Anticancer Pt(IV) Prodrug That Acts by Mechanisms Involving DNA Damage and Different Epigenetic Effects // *Chemistry - A European Journal*. Wiley-VCH Verlag, — 2019. — Vol. 25, № 20. — P. 5235–5245.
89. Noordhuis P., Holwerda U., Van der Wilt C.L., Van Groeningen C.J., Smid K., Meijer S., Pinedo H.M., Peters G.J. 5-Fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidylate synthase inhibition of human colorectal cancers // *Annals of Oncology*. Elsevier Masson SAS, — 2004. — Vol. 15, № 7. — P. 1025–1032.
90. Wang, J.; Peng, L.; Zhang, R.; Zheng, Z.; Chen, C.; Cheung, K. L.; Cui, M.; Bian, G.; Xu, F.; Chiang, D.; Hu, Y.; Chen, Y.; Lu, G.; Yang, J.; Zhang, H.; Yang, J.; Zhu, H.; Chen, S. H.; Liu, K.; Zhou, M. M.; Sikora, A. G.; Li, L.; Jiang, B.; Xiong, H. 5-Fluorouracil targets thymidylate synthase in the selective suppression of TH17 cell differentiation // *Oncotarget*. — 2016. — Vol. 7, № 15. — P. 19312–19326.
91. Ding X.J., Zhang R., Liu R.P., Song X.Q., Qiao X., Xie C.Z., Zhao X.H., Xu J.Y. A class of Pt(IV) triple-prodrugs targeting nucleic acids, thymidylate synthases and histone deacetylases // *Inorganic Chemistry Frontiers*. Royal Society of Chemistry, — 2020. — Vol. 7, № 5. — P. 1220–1228.
92. Fan M., Liang X., Li Z., Wang H., Yang D., Shi B. Chlorambucil gemcitabine conjugate nanomedicine for cancer therapy // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. — 2015. — Vol. 79, № 15. — P. 20–26.
93. Di Antonio M., McLuckie K.I.E., Balasubramanian S. Reprogramming the mechanism of action of chlorambucil by coupling to a G-quadruplex ligand // *Journal of the American Chemical Society*. — 2014. — Vol. 136, № 16. — P. 5860–5863.
94. Aputen A.D., Elias M.G., Gilbert J., Sakoff J.A., Gordon C.P., Scott K.F., Aldrich-Wright J.R. Potent Chlorambucil-Platinum(IV) Prodrugs // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2022. — Vol. 23, № 18. — P. 10471.

95. Krause-Heuer A.M., Grunert R., Kuhne S., Buczkowska M., Wheate N.J., Le Pevelen D.D., Boag L.R., Fisher D.M., Kasparkova J., Malina J., Bednarski P.J., Brabec V., Aldrich-Wright J.R. Studies of the mechanism of action of platinum(II) complexes with potent cytotoxicity in human cancer cells // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2009. — Vol. 52, № 17. — P. 5474–5484.
96. Kostrhunova H., Zajac J., Novohradsky V., Kasparkova J., Malina J., Aldrich-Wright J.R., Petruzzella E., Sirota R., Gibson D., Brabec V. A Subset of New Platinum Antitumor Agents Kills Cells by a Multimodal Mechanism of Action Also Involving Changes in the Organization of the Microtubule Cytoskeleton // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2019. — Vol. 62, № 10. — P. 5176–5190.
97. Srinivas U.S., Tan B.W.Q., Vellayappan B.A., Jeyasekharan A.D. ROS and the DNA damage response in cancer // *Redox Biology*. Elsevier B.V., — 2019. — Vol. 25. — P. 101084.
98. Shokolenko I., Venediktova N., Bochkareva A., Wilson G.I., Alexeyev M.F. Oxidative stress induces degradation of mitochondrial DNA // *Nucleic Acids Research*. — 2009. — Vol. 37, № 8. — P. 2539–2548.
99. Aputen A.D., Elias M.G., Gilbert J., Sakoff J.A., Gordon C.P., Scott K.F., Aldrich-Wright J.R. Bioactive Platinum(IV) Complexes Incorporating Halogenated Phenylacetates // *Molecules*. — 2022. — Vol. 27, № 20. — P. 7120.
100. Korotchkina L.G., Sidhu S., Patel M.S. R-Lipoic Acid Inhibits Mammalian Pyruvate Dehydrogenase Kinase // *Free Radical Research*. — 2004. — Vol. 38, № 10. — P. 1083–1092.
101. Bilaska A., Włodek L. Lipoic acid - The drug of the future? // *Pharmacological Reports*. — 2005. — Vol. 57, № 5. — P. 570–577.
102. Shay K.P., Moreau R.F., Smith E.J., Smith A.R., Hagen T.M. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. — 2009. — Vol. 1790, № 10. — P. 1149–1160.
103. Van De Mark K., Chen J.S., Steliou K., Perrine S.P., Faller D. V. α -lipoic acid induces p27Kip-dependent cell cycle arrest in non-transformed cell lines and apoptosis in tumor cell lines // *Journal of Cellular Physiology*. — 2003. — Vol. 194, № 3. — P. 325–340.
104. Savino S., Marzano C., Gandin V., Hoeschele J., Natile G., Margiotta N. Multi-Acting Mitochondria-Targeted Platinum(IV) Prodrugs of Kiteplatin with α -Lipoic Acid in the Axial Positions // *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG, — 2018. — Vol. 19, № 7.

— P. 2050.

105. Liu X., Barth M.C., Cseh K., Kowol C.R., Jakupec M.A., Keppler B.K., Gibson D., Weigand W. Oxoplatin-Based Pt(IV) Lipoate Complexes and Their Biological Activity // *Chemistry and Biodiversity*. — 2022. — Vol. 19, № 10. — P. e202200695.
106. Liu X., Wenisch D., Barth M.C., Cseh K., Kowol C.R., Jakupec M.A., Gibson D., Keppler B.K., Weigand W. Novel oxaliplatin(IV) complexes conjugated with ligands bearing pendant 1,2-dithiolane/1,2-diselenolane/cyclopentyl motifs // *Dalton Transactions*. — 2022. — Vol. 51, № 44. — P. 16824–16835.
107. Chène P. Inhibiting the p53–MDM2 interaction: an important target for cancer therapy // *Nature Reviews Cancer*. — 2003. — Vol. 3, № 2. — P. 102–109.
108. Ma L., Wang N., Ma R., Li C., Xu Z., Tse M.-K., Zhu G. Monochalcoplatin: An Actively Transported, Quickly Reducible, and Highly Potent Pt^{IV} Anticancer Prodrug // *Angewandte Chemie International Edition*. — 2018. — Vol. 57, № 29. — P. 9098–9102.
109. Guo K., Ma X., Li J., Zhang C., Wu L. Recent advances in combretastatin A-4 codrugs for cancer therapy // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2022. — Vol. 241. — P. 114660.
110. Lu Y., Chen J., Xiao M., Li W., Miller D.D. An overview of tubulin inhibitors that interact with the colchicine binding site // *Pharmaceutical Research*. — 2012. — Vol. 29, № 11. — P. 2943–2971.
111. Li L., Huang X., Huang R., Gou S., Wang Z., Wang H. Pt(IV) prodrugs containing microtubule inhibitors displayed potent antitumor activity and ability to overcome cisplatin resistance // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2018. — Vol. 156. — P. 666–679.
112. Schmidt C., Babu T., Kostrhunova H., Timm A., Basu U., Ott I., Gandin V., Brabec V., Gibson D. Are Pt(IV) Prodrugs That Release Combretastatin A4 True Multi-action Prodrugs? // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2021. — Vol. 64, № 15. — P. 11364–11378.
113. Wang Z., Deng Z., Zhu G. Emerging platinum(IV) prodrugs to combat cisplatin resistance: from isolated cancer cells to tumor microenvironment // *Dalton Transactions*. Royal Society of Chemistry, — 2019. — Vol. 48, № 8. — P. 2536–2544.
114. Jayawardhana A.M.D.S., Stilgenbauer M., Datta P., Qiu Z., McKenzie S., Wang H., Bowers D., Kurokawa M., Zheng Y.R. Fatty acid-like Pt(IV) prodrugs overcome cisplatin resistance in ovarian cancer by harnessing CD36 // *Chemical Communications*. Royal Society of Chemistry,

- 2020. — Vol. 56, № 73. — P. 10706–10709.
115. Stewart D.J. Mechanisms of resistance to cisplatin and carboplatin // *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. — 2007. — Vol. 63, № 1. — P. 12–31.
116. Siddik Z.H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance // *Oncogene*. — 2003. — Vol. 22, № 47. — P. 7265–7279.
117. Kratz F., Warnecke A., Scheuermann K., Stockmar C., Schwab J., Lazar P., Drückes P., Esser N., Dreves J., Rognan D., Bissantz C., Hinderling C., Folkers G., Fichtner I., Unger C. Probing the cysteine-34 position of endogenous serum albumin with thiol-binding doxorubicin derivatives. Improved efficacy of an acid-sensitive doxorubicin derivative with specific albumin-binding properties compared to that of the parent compound // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2002. — Vol. 45, № 25. — P. 5523–5533.
118. Li X., Wei Y., Wei X. Napabucasin, a novel inhibitor of STAT3, inhibits growth and synergises with doxorubicin in diffuse large B-cell lymphoma // *Cancer Letters*. Elsevier B.V., — 2020. — Vol. 491. — P. 146–161.
119. Galoczova M., Coates P., Vojtesek B. STAT3, stem cells, cancer stem cells and p63 // *Cellular & Molecular Biology Letters*. Cellular & Molecular Biology Letters, — 2018. — Vol. 23. — P. 12.
120. Phi L.T.H., Sari I.N., Yang Y., Lee S.-H., Jun N., Kim K.S., Lee Y.K., Kwon H.Y. Cancer Stem Cells (CSCs) in Drug Resistance and their Therapeutic Implications in Cancer Treatment // *Stem Cells International*. — 2018. — Vol. 2018. — P. 5416923.
121. Jonker D.J., Nott L., Yoshino T., Gill S., Shapiro J., Ohtsu A., Zalberg J., Vickers M.M., Wei A.C. Articles Napabucasin versus placebo in refractory advanced colorectal cancer : a randomised phase 3 trial // *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. Elsevier Ltd, — 2018. — Vol. 3, № 4. — P. 263–270.
122. Wang X., Liu Z., Wang Y., Gou S. Platinum(IV) Prodrugs with Cancer Stem Cell Inhibitory Effects on Lung Cancer for Overcoming Drug Resistance // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2022. — Vol. 65. — P. 7933–7945.
123. Tabas I., Glass C.K. Anti-Inflammatory Therapy in Chronic Disease: Challenges and Opportunities // *Science*. — 2013. — Vol. 339, № 6116. — P. 166–172.
124. Harris R.E., Casto B.C., Harris Z.M. Cyclooxygenase-2 and the inflammogenesis of breast

- cancer // *World Journal of Clinical Oncology*. — 2014. — Vol. 5, № 4. — P. 677–692.
125. Zhang Z., Chen F., Shang L. Advances in antitumor effects of NSAIDs // *Cancer Management and Research*. — 2018. — Vol. 10. — P. 4631–4640.
126. Deo K.M., Sakoff J., Gilbert J., Zhang Y., Aldrich Wright J.R. Synthesis, characterisation and influence of lipophilicity on cellular accumulation and cytotoxicity of unconventional platinum(IV) prodrugs as potent anticancer agents // *Dalton Transactions*. — 2019. — Vol. 48. — P. 17228–17240.
127. Li Z., Wang Q., Li L., Chen Y., Cui J., Liu M., Zhang N., Liu Z., Han J., Wang Z. Ketoprofen and Loxoprofen Platinum(IV) Complexes Displaying Antimetastatic Activities by Inducing DNA Damage, Inflammation Suppression, and Enhanced Immune Response // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2021. — Vol. 64. — P. 17920–17935.
128. Kong T., Ahn R., Yang K., Zhu X., Fu Z., Morin G., Bramley R., Cliffe N.C., Xue Y., Kuasne H., Li Q., Jung S., Gonzalez A. V., Camilleri-Broet S., Guiot M.C., Park M., Ursini-Siegel J., Huang S. CD44 promotes PD-L1 expression and its tumor-intrinsic function in breast and lung cancers // *Cancer Research*. — 2020. — Vol. 80, № 3. — P. 444–457.
129. Li L., Zhang M., Jia D., Liu Z., Zhang N., Sun B., Wang Z., Liu M., Wang Q. Multi-specific niflumic acid platinum(IV) complexes displaying potent antitumor activities by improving immunity and suppressing angiogenesis besides causing DNA damage // *Dalton Transactions*. — 2023. — Vol. 52. — P. 147–158.
130. Arshad M., Conzelmann C., Riaz M., Noll T., Gündüz D. Inhibition of Cx43 attenuates ERK1/2 activation, enhances the expression of Cav-1 and suppresses cell proliferation // *International Journal of Molecular Medicine*. — 2018. — Vol. 42, № 5. — P. 2811–2818.
131. Olszewski U., Hamilton G. A Better Platinum-Based Anticancer Drug Yet to Come? // *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. — 2010. — Vol. 10, № 4. — P. 293–301.
132. Patra M., Johnstone T.C., Suntharalingam K., Lippard S.J. A Potent Glucose-Platinum Conjugate Exploits Glucose Transporters and Preferentially Accumulates in Cancer Cells // *Angewandte Chemie - International Edition*. Wiley-VCH Verlag, — 2016. — Vol. 55, № 7. — P. 2550–2554.
133. Patra M., Awuah S.G., Lippard S.J. Chemical Approach to Positional Isomers of Glucose-Platinum Conjugates Reveals Specific Cancer Targeting through Glucose-Transporter-Mediated

- Uptake in Vitro and in Vivo // *Journal of the American Chemical Society*. — 2016. — Vol. 138, № 38. — P. 12541–12551.
134. Godoy A., Ulloa V., Rodríguez F., Reinicke K., Yañez A.J., García M. de los A., Medina R.A., Carrasco M., Barberis S., Castro T., Martínez F., Koch X., Vera J.C., Poblete M.T., Figueroa C.D., Peruzzo B., Pérez F., Nualart F. Differential subcellular distribution of glucose transporters GLUT1–6 and GLUT9 in human cancer: Ultrastructural localization of GLUT1 and GLUT5 in breast tumor tissues // *Journal of Cellular Physiology*. — 2006. — Vol. 207, № 3. — P. 614–627.
135. Cui Q., Wen S., Huang P. Targeting cancer cell mitochondria as a therapeutic approach: recent updates // *Future Medicinal Chemistry*. — 2017. — Vol. 9, № 9. — P. 929–949.
136. Zhou J., Zhao W.-Y., Ma X., Ju R.-J., Li X.-Y., Li N., Sun M.-G., Shi J.-F., Zhang C.-X., Lu W.-L. The anticancer efficacy of paclitaxel liposomes modified with mitochondrial targeting conjugate in resistant lung cancer // *Biomaterials*. — 2013. — Vol. 34, № 14. — P. 3626–3638.
137. Wilson W.R., Hay M.P. Targeting hypoxia in cancer therapy // *Nature Reviews Cancer*. Nature Publishing Group, — 2011. — Vol. 11, № 6. — P. 393–410.
138. Göschl S., Schreiber-Brynzak E., Pichler V., Cseh K., Heffeter P., Jungwirth U., Jakupec M.A., Berger W., Keppler B.K. Comparative studies of oxaliplatin-based platinum(IV) complexes in different in vitro and in vivo tumor models // *Metallomics : integrated biometal science*. Royal Society of Chemistry, — 2017. — Vol. 9, № 3. — P. 309–322.
139. Supuran C.T., Winum J.-Y. Carbonic anhydrase IX inhibitors in cancer therapy: an update // *Future Medicinal Chemistry*. — 2015. — Vol. 7, № 11. — P. 1407–1414.
140. Ward C., Meehan J., Mullen P., Supuran C., Michael Dixon J., Thomas J.S., Winum J.Y., Lambin P., Dubois L., Pavathaneni N.K., Jarman E.J., Renshaw L., Um I.H., Kay C., Harrison D.J., Kunkler I.H., Langdon S.P. Evaluation of carbonic anhydrase IX as a therapeutic target for inhibition of breast cancer invasion and metastasis using a series of in vitro breast cancer models // *Oncotarget*. — 2015. — Vol. 6, № 28. — P. 24856–24870.
141. Cao Q., Zhou D.J., Pan Z.Y., Yang G.G., Zhang H., Ji L.N., Mao Z.W. CAIXplatins: Highly Potent Platinum(IV) Prodrugs Selective Against Carbonic Anhydrase IX for the Treatment of Hypoxic Tumors // *Angewandte Chemie - International Edition*. — 2020. — Vol. 59, № 42. — P. 18556–18562.

142. Bonnet S. Why develop photoactivated chemotherapy? // Dalton Transactions. Royal Society of Chemistry, — 2018. — Vol. 47, № 31. — P. 10330–10343.
143. Pham T.C., Nguyen V.N., Choi Y., Lee S., Yoon J. Recent Strategies to Develop Innovative Photosensitizers for Enhanced Photodynamic Therapy // Chemical Reviews. — 2021. — Vol. 121, № 21. — P. 13454–13619.
144. Deng Z., Li H., Chen S., Wang N., Liu G., Liu D., Ou W., Xu F., Wang X., Lei D., Lo P., Li Y.Y., Lu J., Yang M., He M., Zhu G. Near-infrared-activated anticancer platinum(IV) complexes directly photooxidize biomolecules in an oxygen-independent manner // Nature Chemistry. Springer US, — 2023. — Vol. 15. — P. 930–939.
145. Deng Z., Li C., Chen S., Zhou Q., Xu Z., Wang Z., Yao H., Hirao H., Zhu G. An intramolecular photoswitch can significantly promote photoactivation of Pt(IV) prodrugs // Chemical Science. Royal Society of Chemistry, — 2021. — Vol. 12. — P. 6536–6542.
146. Yao H., Chen S., Deng Z., Tse M.K., Matsuda Y., Zhu G. BODI-Pt, a Green-Light-Activatable and Carboplatin-Based Platinum(IV) Anticancer Prodrug with Enhanced Activation and Cytotoxicity // Inorganic Chemistry. — 2020. — Vol. 59, № 16. — P. 11823–11833.
147. Yao H., Gunawan Y.F., Liu G., Tse M.K., Zhu G. Optimization of axial ligands to promote the photoactivation of BODIPY-conjugated platinum(IV) anticancer prodrugs // Dalton Transactions. Royal Society of Chemistry, — 2021. — Vol. 50, № 39. — P. 13737–13747.
148. Bera A., Gautam S., Raza M.K., Kondaiah P., Chakravarty A.R. Oxoplatin-B, a cisplatin-based platinum(IV) complex with photoactive BODIPY for mitochondria specific “chemo-PDT” activity // Journal of Inorganic Biochemistry. Elsevier Inc., — 2021. — Vol. 223. — P. 111526.
149. Bera A., Gautam S., Sahoo S., Pal A.K., Kondaiah P., Chakravarty A.R. Red light active Pt(IV)–BODIPY prodrug as a mitochondria and endoplasmic reticulum targeted chemo-PDT agent // RSC Medicinal Chemistry. — 2022. — Vol. Advance Ar.
150. Sun H., Yee S.S., Gobeze H.B., He R., Martinez D., Risinger A.L., Schanze K.S. One- and Two-Photon Activated Release of Oxaliplatin from a Pt(IV)-Functionalized Poly(phenylene ethynylene) // ACS Applied Materials and Interfaces. — 2022. — Vol. 14, № 14. — P. 15996–16005.
151. Stamati I., Kuimova M.K., Lion M., Yahioğlu G., Phillips D., Deonarain M.P. Novel photosensitisers derived from pyropheophorbide-a: Uptake by cells and photodynamic

- efficiency in vitro // *Photochemical and Photobiological Sciences*. — 2010. — Vol. 9, № 7. — P. 1033–1041.
152. Lu H., MacK J., Yang Y., Shen Z. Structural modification strategies for the rational design of red/NIR region BODIPYs // *Chemical Society Reviews*. — 2014. — Vol. 43, № 13. — P. 4778–4823.
153. Lange N., Szlasa W., Saczko J., Chwiłkowska A. Potential of cyanine derived dyes in photodynamic therapy // *Pharmaceutics*. — 2021. — Vol. 13, № 6. — P. 818.
154. Obah Kosso A.R., Sellet N., Baralle A., Cormier M., Goddard J.P. Cyanine-based near infra-red organic photoredox catalysis // *Chemical Science*. Royal Society of Chemistry, — 2021. — Vol. 12, № 20. — P. 6964–6968.
155. Wang X., Kim G., Chu J.L., Song T., Yang Z., Guo W., Shao X., Oelze M.L., Li K.C., Lu Y. Noninvasive and Spatiotemporal Control of DNAzyme-Based Imaging of Metal Ions In Vivo Using High-Intensity Focused Ultrasound // *Journal of the American Chemical Society*. — 2022. — Vol. 144, № 13. — P. 5812–5819.
156. Mitragotri S. Healing sound: the use of ultrasound in drug delivery and other therapeutic applications // *Nature Reviews Drug Discovery*. — 2005. — Vol. 4, № 3. — P. 255–260.
157. Liu G., Zhang Y., Yao H., Deng Z., Chen S., Wang Y., Peng W., Sun G., Tse M.K., Chen X., Yue J., Peng Y.K., Wang L., Zhu G. An ultrasound-activatable platinum prodrug for sonosensitized chemotherapy // *Science advances*. — 2023. — Vol. 9, № 25. — P. eadg5964.
158. Yoo S.-S., Bystritsky A., Lee J.-H., Zhang Y., Fischer K., Min B.-K., McDannold N.J., Pascual-Leone A., Jolesz F.A. Focused ultrasound modulates region-specific brain activity // *NeuroImage*. — 2011. — Vol. 56, № 3. — P. 1267–1275.
159. Sharma A., Arambula J.F., Koo S., Kumar R., Singh H., Sessler J.L., Kim J.S. Hypoxia-targeted drug delivery // *Chemical Society Reviews*. Royal Society of Chemistry, — 2019. — Vol. 48, № 3. — P. 771–813.
160. Krasnovskaya, O. O.; Guk, D. A.; Naumov, A. E.; Nikitina, V. N.; Semkina, A. S.; Vlasova, K. Y.; Pokrovsky, V.; Ryabaya, O. O.; Karshieva, S. S.; Skvortsov, D. A.; Zhirkina, I. V.; Shafikov, R. R.; Gorelkin, P. V.; Vaneev, A. N.; Erofeev, A. S.; Mazur, D. M.; Tafeenko, V. A.; Pergushov, V. I.; Melnikov, M. Y.; Soldatov, M. A.; Shapovalov, V. V.; Soldatov, A. V.; Akasov, R. A.; Gerasimov, V. M.; Sakharov, D. A.; Moiseeva, A. A.; Zyk, N. V.; Beloglazkina,

- E. K.; Majouga, A. G. Novel Copper-Containing Cytotoxic Agents Based on 2-Thioxoimidazolones // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2020. — Vol. 63, № 21. — P. 13031–13063.
161. Ishida S., McCormick F., Smith-McCune K., Hanahan D. Enhancing Tumor-Specific Uptake of the Anticancer Drug Cisplatin with a Copper Chelator // *Cancer Cell*. Cell Press, — 2010. — Vol. 17, № 6. — P. 574–583.
162. Kuznetsova O.Y., Antipin R.L., Udina A. V., Krasnovskaya O.O., Beloglazkina E.K., Terenin V.I., Koteliansky V.E., Zyk N. V., Majouga A.G. An Improved Protocol for Synthesis of 3-Substituted 5-Arylidene-2-thiohydantoin: Two-step Procedure Alternative to Classical Methods // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. — 2016. — Vol. 53, № 5. — P. 1570–1577.
163. Yap S.Q., Chin C.F., Hong Thng A.H., Pang Y.Y., Ho H.K., Ang W.H. Finely Tuned Asymmetric Platinum(IV) Anticancer Complexes: Structure–Activity Relationship and Application as Orally Available Prodrugs // *ChemMedChem*. — 2017. — Vol. 12, № 4. — P. 300–311.
164. Ma L., Ma R., Wang Y., Zhu X., Zhang J., Chan H.C., Zhu G. Chalcoplatin, a dual-targeting and p53 activator-containing anticancer platinum (IV) prodrug with unique mode of action // *Chemical Communications*. — 2015. — Vol. 51, № 29. — P. 6301–6304.
165. Giandomenico C.M., Abrams M.J., Murrer B.A., Vollano J.F., Rheinheimer M.I., Wyer S.B., Bossard G.E., Higgins J.D. Carboxylation of Kinetically Inert Platinum(IV) Hydroxy Complexes. An Entrance into Orally Active Platinum(IV) Antitumor Agents // *Inorganic Chemistry*. — 1995. — Vol. 34, № 5. — P. 1015–1021.
166. Johnstone T.C., Lippard S.J. The Effect of Ligand Lipophilicity on the Nanoparticle Encapsulation of Pt(IV) Prodrugs // *Inorganic Chemistry*. — 2013. — Vol. 52, № 17. — P. 9915–9920.
167. Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer // *Nature*. — 2002. — Vol. 420, № 6917. — P. 860–867.
168. Rom-Jurek E.-M., Kirchhammer N., Ugocsai P., Ortmann O., Wege A., Brockhoff G. Regulation of Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) Expression in Breast Cancer Cell Lines In Vitro and in Immunodeficient and Humanized Tumor Mice // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2018. — Vol. 19, № 2. — P. 563.

169. Li J., Kuang Y., Shi J., Gao Y., Zhou J., Xu B. The conjugation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) to small peptides for generating multifunctional supramolecular nanofibers/hydrogels // *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. — 2013. — Vol. 9. — P. 908–917.
170. Collina S. New Perspectives in Cancer Therapy: The Biotin-Antitumor Molecule Conjugates // *Medicinal Chemistry*. — 2014. — Vol. S, № 1. — P. 1–4.
171. Minchinton A.I., Tannock I.F. Drug penetration in solid tumours // *Nature Reviews Cancer*. — 2006. — Vol. 6, № 8. — P. 583–592.
172. Kiyose K., Hanaoka K., Oushiki D., Nakamura T., Kajimura M., Suematsu M., Nishimatsu H., Yamane T., Terai T., Hirata Y., Nagano T. Hypoxia-Sensitive Fluorescent Probes for in Vivo Real-Time Fluorescence Imaging of Acute Ischemia // *Journal of the American Chemical Society*. — 2010. — Vol. 132, № 45. — P. 15846–15848.
173. Rami M., Dubois L., Parvathaneni N.-K., Alterio V., van Kuijk S.J.A., Monti S.M., Lambin P., De Simone G., Supuran C.T., Winum J.-Y. Hypoxia-Targeting Carbonic Anhydrase IX Inhibitors by a New Series of Nitroimidazole-Sulfonamides/Sulfamides/Sulfamates // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2013. — Vol. 56, № 21. — P. 8512–8520.
174. Zhou Y., Maiti M., Sharma A., Won M., Yu L., Miao L.X., Shin J., Podder A., Bobba K.N., Han J., Bhuniya S., Kim J.S. Azo-based small molecular hypoxia responsive theranostic for tumor-specific imaging and therapy // *Journal of Controlled Release*. — 2018.
175. Sutherland R.M. Selective Chemotherapy of Noncycling Cells in an in Vitro Tumor Model // *Cancer Research*. — 1974. — Vol. 34, № 12. — P. 3501–3503.
176. Bremner J.C.M. Assessing the bioreductive effectiveness of the nitroimidazole RSU1069 and its prodrug RB6145: with particular reference to in vivo methods of evaluation // *Cancer and Metastasis Reviews*. — 1993. — Vol. 12, № 2. — P. 177–193.
177. Aguilera K., Brekken R. Hypoxia Studies with Pimonidazole in vivo // *Bio-Protocol*. — 2014. — Vol. 4, № 19.
178. Hirata K., Yamaguchi S., Shiga T., Kuge Y., Tamaki N. The Roles of Hypoxia Imaging Using ¹⁸F-Fluoromisonidazole Positron Emission Tomography in Glioma Treatment // *Journal of Clinical Medicine*. — 2019. — Vol. 8, № 8. — P. 1088.
179. Löfmark S., Edlund C., Nord C.E. Metronidazole Is Still the Drug of Choice for Treatment of Anaerobic Infections // *Clinical Infectious Diseases*. — 2010. — Vol. 50, № s1. — P. S16–S23.

180. Bonnet M., Hong C.R., Gu Y., Anderson R.F., Wilson W.R., Pruijn F.B., Wang J., Hicks K.O., Hay M.P. Novel nitroimidazole alkylsulfonamides as hypoxic cell radiosensitisers // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. — 2014. — Vol. 22, № 7. — P. 2123–2132.
181. Nishiguchi A., Maeda K., Miki S. Sulfonyl Chloride Formation from Thiol Derivatives by N - Chlorosuccinimide Mediated Oxidation // *Synthesis*. — 2006. — Vol. 24. — P. 4131–4134.
182. Quartuccio N., Laudicella R., Mapelli P., Guglielmo P., Pizzuto D.A., Boero M., Arnone G., Picchio M. Hypoxia PET imaging beyond ¹⁸F-FMISO in patients with high-grade glioma: ¹⁸F-FAZA and other hypoxia radiotracers // *Clinical and Translational Imaging*. — 2020. — Vol. 8. — P. 11–20.
183. Zhang Y., Xu C., Yang X., Pu K. Photoactivatable Protherapeutic Nanomedicine for Cancer // *Advanced Materials*. — 2020. — Vol. 32, № 34. — P. 2002661.
184. Hu J.J., Lei Q., Zhang X.Z. Recent advances in photonanomedicines for enhanced cancer photodynamic therapy // *Progress in Materials Science*. Elsevier, — 2020. — Vol. 114, № December 2017. — P. 100685.
185. Szczuko M., Ziętek M., Kulpa D., Seidler T. Riboflavin - Properties, occurrence and its use in medicine // *Pteridines*. — 2019. — Vol. 30, № 1. — P. 33–47.
186. Darguzyte M., Drude N., Lammers T., Kiessling F. Riboflavin-Targeted Drug Delivery // *Cancers*. — 2020. — Vol. 12, № 2. — P. 295.
187. Yang M.-Y., Chang C.-J., Chen L.-Y. Blue light induced reactive oxygen species from flavin mononucleotide and flavin adenine dinucleotide on lethality of HeLa cells // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. — 2017. — Vol. 173. — P. 325–332.
188. Akasov R.A., Sholina N. V., Khochenkov D.A., Alova A. V., Gorelkin P. V., Erofeev A.S., Generalova A.N., Khaydukov E. V. Photodynamic therapy of melanoma by blue-light photoactivation of flavin mononucleotide // *Scientific Reports*. — 2019. — Vol. 9. — P. 9679.
189. Salman M. Riboflavin as adjuvant with cisplatin Study in mouse skin cancer model // *Frontiers in Bioscience*. — 2015. — Vol. 7, № 2. — P. 731.
190. Benešová M., Umbricht C.A., Schibli R., Müller C. Albumin-Binding PSMA Ligands: Optimization of the Tissue Distribution Profile // *Molecular Pharmaceutics*. — 2018. — Vol. 15, № 3. — P. 934–946.
191. Wei W., Luo C., Yang J., Sun B., Zhao D., Liu Y., Wang Y., Yang W., Kan Q., Sun J., He Z.

- Precisely albumin-hitchhiking tumor cell-activated reduction/oxidation-responsive docetaxel prodrugs for the hyperselective treatment of breast cancer // *Journal of Controlled Release*. — 2018. — Vol. 285. — P. 187–199.
192. Kowada T., Maeda H., Kikuchi K. BODIPY-based probes for the fluorescence imaging of biomolecules in living cells // *Chemical Society Reviews*. Royal Society of Chemistry, — 2015. — Vol. 44, № 14. — P. 4953–4972.
193. Schneider L., Kalt M., Koch S., Sithampanathan S., Villiger V., Mattiat J., Kradolfer F., Slyshkina E., Luber S., Bonmarin M., Maake C., Spingler B. BODIPY-Based Photothermal Agents with Excellent Phototoxic Indices for Cancer Treatment // *Journal of the American Chemical Society*. — 2023. — Vol. 145, № 8. — P. 4534–4544.
194. Li K., Duan X., Jiang Z., Ding D., Chen Y., Zhang G.-Q., Liu Z. J-aggregates of meso-[2.2]paracyclophanyl-BODIPY dye for NIR-II imaging // *Nature Communications*. — 2021. — Vol. 12. — P. 2376.
195. Boens N., Verbelen B., Ortiz M.J., Jiao L., Dehaen W. Synthesis of BODIPY dyes through postfunctionalization of the boron dipyrromethene core // *Coordination Chemistry Reviews*. — 2019. — Vol. 399. — P. 213024.
196. Poddar M., Misra R. Recent advances of BODIPY based derivatives for optoelectronic applications // *Coordination Chemistry Reviews*. Elsevier B.V., — 2020. — Vol. 421. — P. 213462.
197. Meng G., Zheng M.-L., Wang M. An Improved Two-step Preparation of 2,4-Dimethylpyrrole // *Organic Preparations and Procedures International*. — 2011. — Vol. 43, № 3. — P. 308–311.
198. Park J., Feng D., Zhou H.-C. Structure-Assisted Functional Anchor Implantation in Robust Metal–Organic Frameworks with Ultralarge Pores // *Journal of the American Chemical Society*. — 2015. — Vol. 137, № 4. — P. 1663–1672.
199. Prieto-Montero R., Prieto-Castañeda A., Sola-Llano R., Agarrabeitia A.R., García-Fresnadillo D., López-Arbeloa I., Villanueva A., Ortiz M.J., Moya S., Martínez-Martínez V. Exploring BODIPY Derivatives as Singlet Oxygen Photosensitizers for PDT // *Photochemistry and Photobiology*. — 2020. — Vol. 96, № 3. — P. 458–477.
200. Zhao J., Xu K., Yang W., Wang Z., Zhong F. The triplet excited state of Bodipy: formation, modulation and application // *Chemical Society Reviews*. — 2015. — Vol. 44, № 24. — P. 8904–8939.

201. Ansteatt S., Meares A., Ptaszek M. Amphiphilic Near-IR-Emitting 3,5- Bis(2-Pyrrolylethenyl)BODIPY Derivatives: Synthesis, Characterization, and Comparison with Other (Hetero)Arylethenyl-Substituted BODIPYs // *Journal of Organic Chemistry*. — 2021. — Vol. 86, № 13. — P. 8755–8765.
202. Niu S.L., Ulrich G., Ziessel R., Kiss A., Renard P.Y., Romieu A. Water-soluble BODIPY derivatives // *Organic Letters*. — 2009. — Vol. 11, № 10. — P. 2049–2052.
203. Niu S.L., Massif C., Ulrich G., Renard P.Y., Romieu A., Ziessel R. Water-soluble red-emitting distyryl-borondipyrromethene (BODIPY) dyes for biolabeling // *Chemistry - A European Journal*. — 2012. — Vol. 18, № 23. — P. 7229–7242.
204. Dodani S.C., He Q., Chang C.J. A Turn-On Fluorescent Sensor for Detecting Nickel in Living Cells // *Journal of the American Chemical Society*. — 2009. — Vol. 131, № 50. — P. 18020–18021.
205. Bochkov A.Y., Akchurin I.O., Dyachenko O.A., Traven V.F. NIR-fluorescent coumarin-fused BODIPY dyes with large Stokes shifts // *Chemical Communications*. — 2013. — Vol. 49, № 99. — P. 11653.
206. Elci S.G., Jiang Y., Yan B., Kim S.T., Saha K., Moyano D.F., Yesilbag Tonga G., Jackson L.C., Rotello V.M., Vachet R.W. Surface Charge Controls the Suborgan Biodistributions of Gold Nanoparticles // *ACS Nano*. — 2016. — Vol. 10, № 5. — P. 5536–5542.
207. Konkankit C.C., Vaughn B.A., Huang Z., Boros E., Wilson J.J. Systematically altering the lipophilicity of rhenium(I) tricarbonyl anticancer agents to tune the rate at which they induce cell death // *Dalton Transactions. Royal Society of Chemistry*, — 2020. — Vol. 49, № 45. — P. 16062–16066.
208. Platts J.A., Ermondi G., Caron G., Ravera M., Gabano E., Gaviglio L., Pelosi G., Osella D. Molecular and statistical modeling of reduction peak potential and lipophilicity of platinum(IV) complexes // *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*. — 2011. — Vol. 16, № 3. — P. 361–372.
209. Ermondi G., Caron G., Ravera M., Gabano E., Bianco S., Platts J.A., Osella D. Molecular interaction fields vs. quantum-mechanicalbased descriptors in the modelling of lipophilicity of platinum(IV) complexes // *Dalton Transactions*. — 2013. — Vol. 42. — P. 3482–3489.
210. van Meerloo J., Kaspers G.J.L., Cloos J. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay // *Methods in Molecular Biology*. — 2011. — P. 237–245.

211. Strauss G., Nickerson W.J. Photochemical Cleavage of Water by Riboflavin. II. Role of Activators // *Journal of the American Chemical Society*. — 1961. — Vol. 83, № 15. — P. 3187–3191.
212. Gurruchaga-Pereda J., Martínez-Martínez V., Rezabal E., Lopez X., Garino C., Mancin F., Cortajarena A.L., Salassa L. Flavin Bioorthogonal Photocatalysis Toward Platinum Substrates // *ACS Catalysis*. — 2020. — Vol. 10, № 1. — P. 187–196.
213. Shimizu R., Yagi M., Kikuchi A. Suppression of riboflavin-sensitized singlet oxygen generation by l-ascorbic acid, 3-O-ethyl-l-ascorbic acid and Trolox // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. — 2019. — Vol. 191. — P. 116–122.
214. Li H., Melø T.B., Razi Naqvi K. Triplets, radical cations and neutral semiquinone radicals of lumiflavin and riboflavin: An overhaul of previous pump–probe data and new multichannel absolute absorption spectra // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. — 2012. — Vol. 106. — P. 34–39.
215. Wang D., Wu Q., Zhang X., Wang W., Hao E., Jiao L. A Photochemical Dehydrogenative Strategy for Direct and Regioselective Dimerization of BODIPY Dyes // *Organic Letters*. — 2020. — Vol. 22, № 19. — P. 7694–7698.
216. Alonso-de Castro S., Cortajarena A.L., López-Gallego F., Salassa L. Bioorthogonal Catalytic Activation of Platinum and Ruthenium Anticancer Complexes by FAD and Flavoproteins // *Angewandte Chemie - International Edition*. — 2018. — Vol. 57, № 12. — P. 3143–3147.
217. Henderson G.S., de Groot F.M.F., Moulton B.J.A. X-ray Absorption Near-Edge Structure (XANES) Spectroscopy // *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. — 2014. — Vol. 78, № 1. — P. 75–138.
218. Hall M.D., Foran G.J., Mei Z., Beale P.J., Hambley T.W. XANES determination of the platinum oxidation state distribution in cancer cells treated with platinum(IV) anticancer agents // *Journal of the American Chemical Society*. — 2003. — Vol. 125, № 25. — P. 7524–7525.
219. Mehta G., Hsiao A.Y., Ingram M., Luker G.D., Takayama S. Opportunities and challenges for use of tumor spheroids as models to test drug delivery and efficacy // *Journal of Controlled Release*. Elsevier B.V., — 2012. — Vol. 164, № 2. — P. 192–204.
220. Vaneev A.N., Gorelkin P. V., Krasnovskaya O.O., Akasov R.A., Spector D. V., Lopatukhina E. V., Timoshenko R. V., Garanina A.S., Zhang Y., Salikhov S. V., Edwards C.R.W., Klyachko N.L., Takahashi Y., Majouga A.G., Korchev Y.E., Erofeev A.S. *In Vitro / In Vivo*

- Electrochemical Detection of Pt(II) Species // *Analytical Chemistry*. — 2022. — Vol. 94, № 12. — P. 4901–4905.
221. Vaneev A.N., Gorelkin P. V., Garanina A.S., Lopatukhina H. V., Vodopyanov S.S., Alova A. V., Ryabaya O.O., Akasov R.A., Zhang Y., Novak P., Salikhov S. V., Abakumov M.A., Takahashi Y., Edwards C.R.W., Klyachko N.L., Majouga A.G., Korchev Y.E., Erofeev A.S. In Vitro and In Vivo Electrochemical Measurement of Reactive Oxygen Species After Treatment with Anticancer Drugs // *Analytical Chemistry*. — 2020. — Vol. 92, № 12. — P. 8010–8014.
222. Däster S., Amatruda N., Calabrese D., Ivanek R., Turrini E., Drosler R.A., Zajac P., Fimognari C., Spagnoli G.C., Iezzi G., Mele V., Muraro M.G. Induction of hypoxia and necrosis in multicellular tumor spheroids is associated with resistance to chemotherapy treatment // *Oncotarget*. — 2017. — Vol. 8, № 1. — P. 1725–1736.
223. Armarego W.L.E., Li, Christina Chai L. Purification of laboratory chemicals (Fifth Edition) // Science. — 2003. 609 p.
224. Tietze L.F., Eicher T. Reaktionen und Synthesen im organisch-chemischen Praktikum und Forschungslaboratorium. Wiley, — 1991.
225. Ryabaya O., Prokofieva A., Akasov R., Khochenkov D., Emelyanova M., Burov S., Markvicheva E., Inshakov A., Stepanova E. Metformin increases antitumor activity of MEK inhibitor binimetinib in 2D and 3D models of human metastatic melanoma cells // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. — 2019. — Vol. 109. — P. 2548–2560.
226. Friedrich J., Seidel C., Ebner R., Kunz-Schughart L.A. Spheroid-based drug screen: considerations and practical approach // *Nature Protocols*. — 2009. — Vol. 4, № 3. — P. 309–324.
227. Actis, P.; Tokar, S.; Clausmeyer, J.; Babakinejad, B.; Mikhaleva, S.; Cornut, R.; Takahashi, Y.; López Córdoba, A.; Novak, P.; Shevchuck, A. I.; Dougan, J. A.; Kazarian, S. G.; Gorelkin, P. V.; Erofeev, A. S.; Yaminsky, I. V.; Unwin, P. R.; Schuhmann, W.; Klenerman, D.; Rusakov, D. A.; Sviderskaya, E. V.; Korchev, Y. E. Electrochemical nanoprobe for single-cell analysis // *ACS Nano*. — 2014. — Vol. 8, № 1. — P. 875–884.
228. Erofeev A., Gorelkin P., Garanina A., Alova A., Efremova M., Vorobyeva N., Edwards C., Korchev Y., Majouga A. Novel method for rapid toxicity screening of magnetic nanoparticles // *Scientific Reports*. Springer US, — 2018. — Vol. 8. — P. 7462.

229. Naumenko V., Jenne C., Mahoney D.J. Intravital Microscopy for Imaging the Tumor Microenvironment in Live Mice // *The Tumor Microenvironment*. — 2016. — P. 217–230.
230. Hu M., Li L., Wu H., Su Y., Yang P.-Y., Uttamchandani M., Xu Q.-H., Yao S.Q. Multicolor, One- and Two-Photon Imaging of Enzymatic Activities in Live Cells with Fluorescently Quenched Activity-Based Probes (qABPs) // *Journal of the American Chemical Society*. — 2011. — Vol. 133, № 31. — P. 12009–12020.
231. Dittert L.W., Caldwell H.C., Adams H.J., Irwin G.M., Swintosky J. V. Acetaminophen prodrugs I. Synthesis, physicochemical properties, and analgesic activity // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. — 1968. — Vol. 57, № 5. — P. 774–780.
232. Tuuttila T., Lipsonen J., Huuskonen J., Rissanen K. Chiral donor- π -acceptor azobenzene dyes // *Dyes and Pigments*. — 2009. — Vol. 80, № 1. — P. 34–40.
233. Hrishikesan E., Manjunath R., Kannan P. A Bis-Quinoline Appended Azobenzene Based Naked Eye Sensor for Selective Detection of Cd²⁺ Ion // *Journal of Solution Chemistry*. — 2016. — Vol. 45, № 6. — P. 907–919.
234. Pandey S., Kolli B., Mishra S.P., Samui A.B. Siloxane polymers containing azo moieties synthesized by click chemistry for photo responsive and liquid crystalline applications // *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. — 2012. — Vol. 50, № 6. — P. 1205–1215.
235. Barré A., Tîntaş M.-L., Alix F., Gembus V., Papamicaël C., Levacher V. Palladium-Catalyzed Carbonylation of (Hetero)Aryl, Alkenyl and Allyl Halides by Means of N-Hydroxysuccinimidyl Formate as CO Surrogate // *The Journal of Organic Chemistry*. — 2015. — Vol. 80, № 13. — P. 6537–6544.
236. Zhang L., Li Y., Jin L.-Y., Liang F. Metal-free C–N cross-coupling of electrophilic compounds and N-haloimides // *RSC Advances*. — 2015. — Vol. 5, № 80. — P. 65600–65603.
237. Gholivand K., Shariatnia Z. Syntheses, spectroscopic study and crystal structures of some new N-benzoylphosphoric triamides // *Structural Chemistry*. — 2007. — Vol. 18, № 1. — P. 95–102.
238. Ibáñez E., Plano D., Font M., Calvo A., Prior C., Palop J.A., Sanmartín C. Synthesis and antiproliferative activity of novel symmetrical alkylthio- and alkylseleno-imidocarbamates // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2011. — Vol. 46, № 1. — P. 265–274.
239. Damodara D., Arundhati R., Ramesh Babu T.V., Legan M.K., Kumpaty H.J., Likhar P.R.

- Polymethylhydrosiloxane derived palladium nanoparticles for chemo- and regioselective hydrogenation of aliphatic and aromatic nitro compounds in water // *RSC Adv.* — 2014. — Vol. 4, № 43. — P. 22567–22574.
240. Agrawal K.C., Bears K.B., Sehgal R.K., Brown J.N., Rist P.E., Rupp W.D. Potential radiosensitizing agents. Dinitroimidazoles // *Journal of Medicinal Chemistry.* — 1979. — Vol. 22, № 5. — P. 583–586.
241. Shonberg J., Draper-Joyce C., Mistry S.N., Christopoulos A., Scammells P.J., Lane J.R., Capuano B. Structure–Activity Study of N-((trans)-4-(2-(7-Cyano-3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl)ethyl)cyclohexyl)-1H-indole-2-carboxamide (SB269652), a Bitopic Ligand That Acts as a Negative Allosteric Modulator of the Dopamine D₂ Receptor // *Journal of Medicinal Chemistry.* — 2015. — Vol. 58, № 13. — P. 5287–5307.
242. Schumacher F.F., Nunes J.P.M., Maruani A., Chudasama V., Smith M.E.B., Chester K.A., Baker J.R., Caddick S. Next generation maleimides enable the controlled assembly of antibody–drug conjugates via native disulfide bond bridging // *Org. Biomol. Chem.* — 2014. — Vol. 12, № 37. — P. 7261–7269.
243. Niquille D.L., Hansen D.A., Mori T., Fercher D., Kries H., Hilvert D. Nonribosomal biosynthesis of backbone-modified peptides // *Nature Chemistry.* — 2018. — Vol. 10, № 3. — P. 282–287.
244. Al-Bashir R.F., Al-Awadi N.A., El-Dusouqui O.M.E. Kinetics and mechanism of gas-phase pyrolysis of ylides. Part 3. 1 Thermal reactivity of α -carbonyl- and thiocarbonyl-stabilized methylenetriphenylphosphoranes // *Journal of Physical Organic Chemistry.* — 2011. — Vol. 24, № 4. — P. 311–319.
245. Yang Z., Li W., Chen H., Mo Q., Li J., Zhao S., Hou C., Qin J., Su G. Inhibitor structure-guided design and synthesis of near-infrared fluorescent probes for monoamine oxidase A (MAO-A) and its application in living cells and in vivo // *Chemical Communications.* — 2019. — Vol. 55, № 17. — P. 2477–2480.
246. Kitto H.J., Schwartz E., Nijemeisland M., Koepf M., Cornelissen J.J.L.M., Rowan A.E., Nolte R.J.M. Post-modification of helical dipeptido polyisocyanides using the ‘click’ reaction // *Journal of Materials Chemistry.* — 2008. — Vol. 18, № 46. — P. 5615.
247. Li Q., Liu J., Xu Y., Liu H., Zhang J., Wang Y., Sun Y., Zhao M., Liao L., Wang X. Fast Cross-Linked Hydrogel as a Green Light-Activated Photocatalyst for Localized Biofilm Disruption

- and Brush-Free Tooth Whitening // *ACS Applied Materials & Interfaces*. — 2022. — Vol. 14, № 25. — P. 28427–28438.
248. Liu J., Xiao R., Wong Y.-L., Zhou X.-P., Zeller M., Hunter A.D., Fang Q., Liao L., Xu Z. Made in Water: A Stable Microporous Cu(I)-carboxylate Framework (CityU-7) for CO₂, Water, and Iodine Uptake // *Inorganic Chemistry*. — 2018. — Vol. 57, № 9. — P. 4807–4811.
249. Dai H., Liu G., Zhang X., Yan H., Lu C. Pyrrolylmethyl Functionalized o-Carborane Derivatives // *Organometallics*. — 2016. — Vol. 35, № 10. — P. 1488–1496.
250. von Delius M., Geertsema E.M., Leigh D.A. A synthetic small molecule that can walk down a track // *Nature Chemistry*. — 2010. — Vol. 2, № 2. — P. 96–101.