МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В.ЛОМОНОСОВА

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Мачулкин Алексей Эдуардович

СИНТЕЗ КОНЪЮГАТОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ С ПРОИЗВОДНЫМИ МОЧЕВИН

02.00.03 – Органическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель

д.х.н., профессор РАН

Мажуга А.Г.

Москва – 2019

Оглавление

Список использованных обозначений 3
1. Введение 4
2. Обзор литературы 8
2.1. Простатический специфический мембранный антиген 8
2.2. Лиганды ПСМА 10
2.3 Конъюгаты с терапевтическими агентами 20
3. Обсуждение результатов 34
3.1.Синтез ПСМА-векторного фрагмента. 34
3.2. Конъюгаты доксорубицина....35
3.3. Конъюгаты паклитаксела 47
3.4. Конъюгаты производных хлорина е6. 59
3.5. Конъюгаты производных доцетаксела и монометил ауристатина Е. 62
4. Экспериментальная часть 90
4.1 Общие сведения 90
4.2 Синтез....92
4.3 *In vitro* тестирование....199
5. Основные результаты и выводы....201
6. Список литературы....203
7. Приложение....211

Список использованных обозначений

ПСМА – простатический специфический мембранный антиген

ПСА – простатический специфический антиген

CuAAC – медь-катализируемое 1,3-диполярное циклоприсоединение азидов к ацетиленам (Cu-catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition)

NAAG-N-ацетил-L-аспартил-L-глутамат

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография

DMAP – 4-диметиламинопиридин

DMF - диметилформамид

DOX – противоопухолевый препарат доксорубицин

PXL – противоопухолевый препарат паклитаксел

DTX – противоопухолевый препарат доцетаксел

MMAE– противоопухолевый препарат монометил ауристатин Е

GSH – глутатион

sulfo-Cy5 – водорастворимый цианиновый краситель, содержащий 5 метиновых групп

MTT - 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид (тетразолиевый краситель, который применяют для оценки метаболической активности клеток)

MTS – 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2H-тетразолий (тетразолиевый краситель, который применяют для оценки метаболической активности клеток)

DIC – N,N′-диизопропилкарбодиимид

TFA – трифторуксусная кислота

DIPEA - диизопропилэтиламин

1. Введение

Актуальность работы. Рак предстательной железы – одна из самых распространенных причин смертности среди мужчин в Российской Федерации и во всем Мире. В США он занимает второе место по частоте летальных исходов среди онкологических заболеваний.[1] В настоящее время диагностика рака простаты осуществляется методами ректальной диагностики[2], анализа уровня простатического специфического антигена (ПСА) в крови[3], биопсии простаты. Однако, эти методы обладают существенными недостатками: ректальная диагностика позволяет обнаружить заболевание только на поздних стадиях, биопсия является дорогим и болезненным методом, а анализ ПСА зачастую дает ложноположительные результаты. В качестве методов терапии рака предстательной железы применяются хирургическое вмешательство[5], радио-терапия[6], гормональная терапия[7], а также химиотерапия[8]. Несмотря на разнообразие имеющихся способов воздействия на опухоль, ни один из приведенных методов не позволят проводить эффективное лечение опухолей, имеющих метастазы. Также все приведенные методы обладают широким спектром побочных эффектов, которые негативно сказываются на состоянии пациентов.

В связи с имеющимися недостатками в терапии рака предстательной железы необходимы методы, имеющие существенно меньший спектр побочных эффектов. Таким методом может выступать адресная доставка диагностических и терапевтических агентов, направленных на биологические мишени, характеризующиеся высокой экспрессией в опухолевых тканях.[9,10] Простатический специфический мембранный антиген (ПСМА) в настоящее время является наиболее привлекательной мишенью для решения таких задач. Повышенная экспрессия ПСМА в раковых клетках коррелирует со степенью развития опухоли, а также, позволяет диагностировать метастатические новообразования. При этом ПСМА практически не наблюдается в здоровых тканях.[11] Актуальной задачей является дизайн, разработка синтетических подходов, а также получение и биологическое исследование таких конъюгатов.

Общая структура конъюгатов представляет собой ПСМА-вектор, соединенный с лекарственным/диагностическим средством, с помощью линкера гидрофобной природы. Для реализации подхода с использованием ПСМА-вектора были выбраны пути получения конъюгатов, основанные на создании различных функциональных групп, в том числе получение гидразонов, либо 1,2,3-триазолов, с применением реакции азид-алкинового циклоприсоединения, как наиболее удобного и универсального синтетического метода получения сложных биологически-активных молекул.[12]

Цель работы заключалась в дизайне и синтезе новых лигандов простатического специфического мембранного антигена, а также способов создания конъюгатов с противоопухолевыми препаратами на их основе.

Задачи работы состояли в а) разработке синтетических подходов к получению конъюгатов доксорубицина, содержащих гидролитически лабильный линкер б) разработки методики получении конъюгатов паклитаксела с использованием реакции 3+2 азид-алкинового циклоприсоединения в) получение конъюгатов лигандов ПСМА с агентами для фотодинамической терапии г) дизайн и синтез серии новых лигандов ПСМА, содержащих три ароматических фрагмента в структуре линкера, а также оценка их аффинности к белковой мишени д) *in vitro* и *in vivo* исследовании биологических свойств полученных конъюгатов.

Научная новизна. Оптимизированы методики синтеза лигандов ПСМА, содержащих фрагмент гидразида. Это открыло возможность последующего их соединения с терапевтическими с помощью реакции образования чувствительных конъюгатов гидразонов. На основе полученных лигандов были впервые синтезированы конъюгаты - гидразоны доксорубицина и исследована их цитотоксичность. Разработан универсальный метод синтеза азид-содержащих лигандов ПСМА, что открыло возможность создания конъюгатов с терапевтическими агентами с использованием реакции азид-алкинового циклоприсоединения. В результате выделено и охарактеризовано набором физико-химических методов анализа 12 новых лигандов ПСМА, на их основе было получено 12 ранее не описанных конъюгатов с паклитакселом. Для полученных соединений впервые проведены *in vitro* и *in vivo* исследования их противоопухолевого эффекта. В работе был разработан подход к получению конъюгатов лиганда ПСМА и фотосенсибилизатора хлорина е6, замещенного в положения 13^1 и 15^2 макроциклической системы, а также исследована его фототоксичность. Проведен дизайн, а также разработка синтетических методик получения 21 новый лиганд ПСМА, содержащий в линкерной группировке три ароматических структурных фрагмента и продемонстрирована их высокая афинность к ПСМА. На основе полученных лигандов получены ранее неописанные конъюгаты доцетаксела, также впервые предложен подход к применению низкомолекулярных конъюгатов противоопухолевого препарата монометил ауристатина Е, проведено их *in vitro* и *in vivo* исследование.

Практическая значимость. Разработаны синтетические схемы и осуществлен синтез новых высокоэффективных лигандов простатического специфического мембранного антигена на основе производных мочевины глутаминовой кислоты и лизина. Разработаны

синтетические подходы к синтезу и получено 3 кислотно-чувствительных конъюгата-гидразона доксорубицина, показавших высокую цитотоксическую активность на клеточной линии LNCaP, обладающей высокой экспрессией ПСМА.

Проведена оптимизация структуры лигандов ПСМА и разработаны синтетические методики получения конъюгатов на их основе с применением реакции [3+2] азид-алкинового циклоприсоединения.

Методом исследованиея ингибирования ферментативной активности ПСМА, проведено исследование аффинности новых лигандов ПСМА, показано, что введение трех ароматических фрагментов структуру лигандов ПСМА положительно сказывается на их афинности к белковой мишени. На основе данных лигандов получены конъюгаты доцетаксела, а также впервые предложен подход к созданию низкомолекулярных конъюгатов монометил ауристатина Е и проведено их *in vitro* и *in vivo* исследование.

Положения, выносимые на защиту 1) Синтез гидразонов доксорубицина, с лигандами ПСМА на основе мочевины глутаминовой кислоты и лизина, содержащих фрагмент гидразида в составе линкера, проявляющих высокую цитотоксическую активность. 2) Разработка подходов к синтезу конъюгатов паклитаксела с использованием реакции [3+2] азид-алкинового циклоприсоединения 3) модификация фотосенсибилизатора хлорина е6 с использованием лиганда ПСМА и *in vitro* тестирование его фототоксичности; 4) дизайн и синтез новых высокоафинных лигандов ПСМА, содержащих три ароматических фрагмента в структуре линкера 6) разработка синтетических подходов к получению низкомолекулярных конъюгатов доцетаксела и монометил ауристатина Е 7) исследование цитотоксической активности противоопухолевых конъюгатов, а также их эффективности на ксенографтных моделях рака предстательной железы.

Публикации. По материалам работы опубликована 15 печатных работ: 3 статьи в международных рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus, RSCI) и рекомендованных диссертационным советом МГУ для публикации результатов диссертационных работ, 1 патент, и 11 тезисов докладов на российских и международных научных конференциях.

Апробация работы. Основные результаты работы были представлены на следующих российских и международных конференциях: XXII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2015" (Москва, Россия, 2015); International Baltic Conference On Magnetism 2015 (Светлогорск, Россия, 2015); 2-я Зимняя

конференция молодых ученых по органической химии WSOC-2016 (Красновидово, Россия, 2016); XIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты», Москва, «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина» (Москва, Россия, 2016); EFMC-ISMC 2016 XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (Манчестер, Великобритания, 2016); II Всероссийская Конференция по молекулярной онкологии (Москва, Россия, 2016); WSOC. Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней (Красновидово, Россия, 2017); XIV Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием имени А.Ю. Барышникова «Отечественные противоопухолевые препараты», ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия, 2017); XXIV Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов – 2017", МГУ имени М.В. Ломоносова (Москва, Россия, 2017); EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (Любляна, Словения, 2018).

Личный вклад автора. Автор проводил сбор и анализ литературных данных по теме исследования, синтез соединений, анализ данных, полученных методами ЯМР-, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии, принимал участие в составлении плана исследований, обсуждении полученных результатов, подготовке их к публикации в научных журналах и их представлении на научных конференциях.

Объем и структура диссертационной работы. Диссертационная работа состоит из 7 разделов: введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы, приложений. Работа изложена на 212 страницах машинописного текста, содержит 39 схем, 27 рисунков и 19 таблиц. Список литературы включает 101 наименование.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант №14-34-00017), гранта Президента РФ (Договор № 075-02-2018-865) и Министерства образования и науки Российской Федерации (02.G25.31.0219, договор № ИФ-МГУ/10-14 от 14 октября 2016 года).

2. Обзор литературы

При подготовке данного раздела использованы собственные публикации автора.[13]

2.1.Простатический специфический мембранный антиген

Перспективным белковым маркером для диагностики и лечения рака предстательной железы является простатический специфичный мембранный антиген (ПСМА). Впервые он был обнаружен в нервной системе головного мозга. Название NAALADase (N-ацетил-L-аспартил-L-глутаматпептидаза I) было присвоено из-за его способности катализировать гидролиз N-ацетил-L-аспартил-L-глутамата (NAAG) до N-ацетиласпартата (NAA) и глутаминовой кислоты (**Рисунок 2.1**).[14]

В литературе данный фермент также встречается как фолат-гидролаза (FolH1), из-за его способности последовательно отщеплять С-концевые аминокислотные остатки глутаминовой кислоты от полиглутамилфолата. Впоследствии была установлена связь данного белка с онкологическими патологиями предстательной железы. В последнее время наиболее часто используемое обозначение данного белка это GCPII (глутаматкарбоксипептидаза II) ввиду способности фермента к расщеплению С-концевых глутаматных остатков.[15]

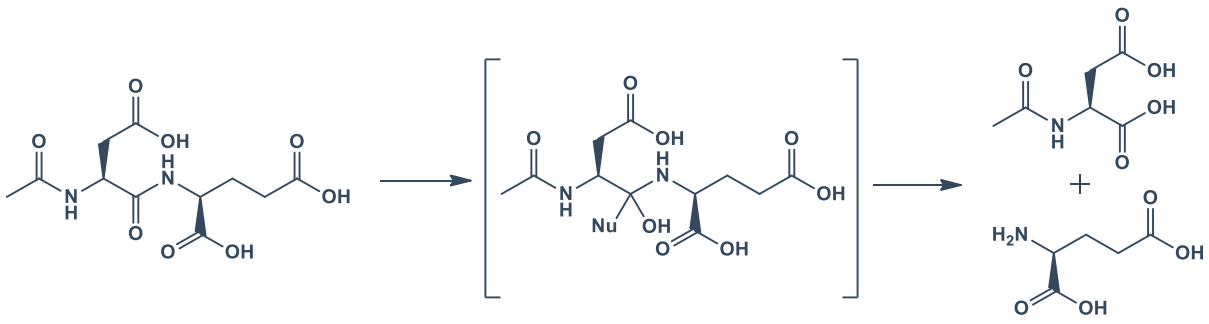


Рисунок 2.1. Реакция расщепления субстрата ПСМА - N-ацетил-аспартилглутамата (NAAG) до N-ацетил-аспартата и глутаминовой кислоты.

Опухолевые клетки рака предстательной железы характеризуются повышенной экспрессией ПСМА по сравнению со здоровыми тканями предстательной железы.[11] Также имеется информация о повышенной экспрессии данного белкового маркера в клетках новообразующейся кровеносной системы, питающей солидные опухоли другой этиологии, таких как карцинома желудка, карцинома, толстого кишечника и др.[16]

2.1.2. Строение ПСМА

ПСМА является трансмембранным белком с молекулярной массой около 100 кДа. Для данного белка экспериментально определена кристаллическая структура с

разрешением 3,5Å, в которой выделяют три основных домена: протеазный (аминокислоты 56 – 116, 352 – 591), апикальный (аминокислоты 117-351) и спиральный (аминокислоты 592 – 750), а также имеются короткие внутриклеточный (аминокислоты 1-18) и трансмембранный (аминокислоты 19-43) фрагменты. Три домена формируют структуру с полостью - сайтом связывания субстрата, характеризующегося наличием двух ионов цинка, а также большого количества полярных аминокислотных остатков.

Анализ кристаллической структуры ПСМА позволяет предположить механизм связывания субстрата и его каталитического действия. Каждый ион цинка в сайте связывания координирован тремя остатками аминокислот: гистидином (His-553 или His-377), аспарагиновой (Asp-453) или глутаминовой (Glu-425) кислот, а также мостиковой аспарагиновой кислотой (Asp-387) (**Рисунок 2.2**). Кроме того, между ионами цинка имеется молекула воды. Указанные выше аминокислотные остатки образуют консервативную структуру, характерную для ортологов ПСМА в других организмах[17] выполняет роль основания, в результате чего происходит депротонирование молекулы воды, находящейся в координационном окружении атомов цинка.

Связывание субстрата происходит в участке, состоящем из трех остатков аргинина («аргининовый карман», argininepatch, Arg-463, -534, -536), размещенных в пределах 4,5 Å друг от друга, при этом ближайший атом цинка расположен на расстоянии 6 – 12 Å от аминокислотной триады, таким образом, образуя положительно заряженную «ловушку». Аргининовый карман, предположительно, играет роль в процессе правильной ориентации субстрата, взаимодействуя с отрицательно заряженным С-концевым остатком глутаминовой кислоты в α-NAAG. Также в сайте связывания располагается дополнительный остаток аргинина (Arg-210), находящийся с противоположной стороны от аргининовой триады, который также способен участвовать в связывании субстрата расположенный и, вероятно, также участвующий в связывании субстрата. Таким образом наличие четырех остатков аргинина в сайте связывания придает ПСМА специфичность по отношению к субстратам, содержащим отрицательно заряженные функциональные группы, таким как производные глутаминовой кислоты.

Расположение 4 аминокислотных остатков аргинина также коррелирует с возможностью данного белка расщеплять N-ацетил-L-аспартил-L-глутамат, что подтверждается тем, что отсутствие двух или более аргининовыхфрагементов в структуре ПСМА, приводит к утратебелком способности к расщеплению подобных субстратов. Так белок AMP1, выделенный из Arabidopsis thaliana (Резуховúдка Тáля), гомологичного ПСМА (сходство ~48%), не способен к расщеплению N-ацетил-L-аспартил-L-глутамата

ввиду отсутствия трех остатков Arg-463, Arg -534, Arg -536.[17,18]

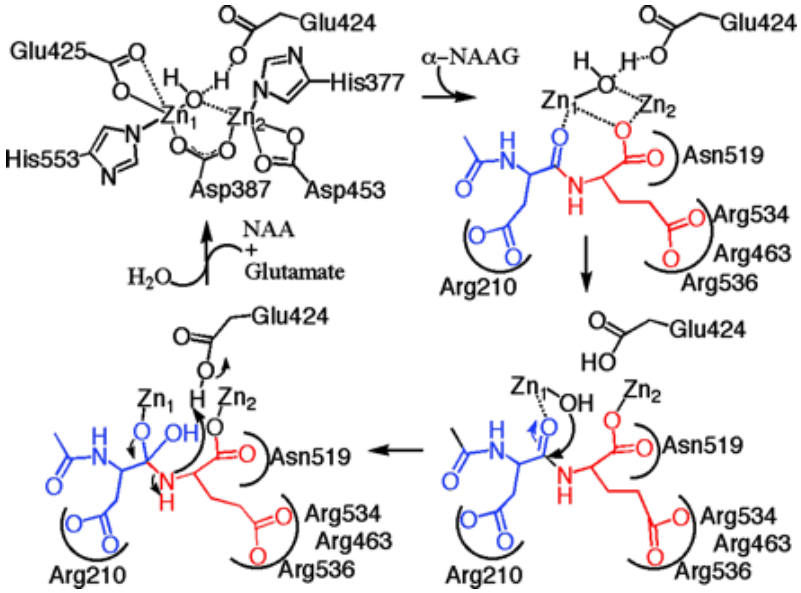


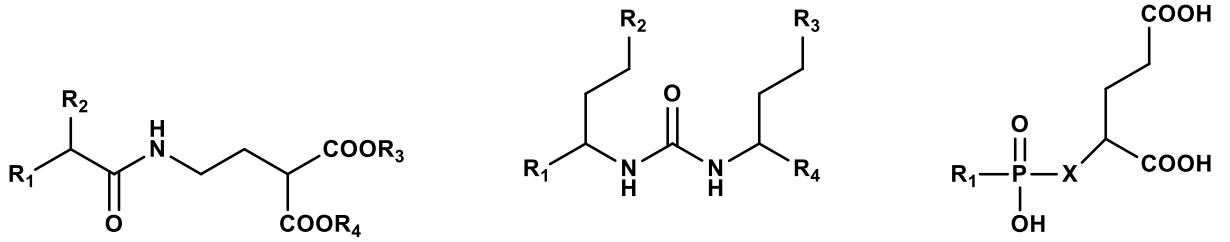
Рисунок 2.2. Механизм связывания и расщепления α-NAAG в активном центре ПСМА.[17]

2.2.Лиганды ПСМА

Разработка молекул, способных специфически связываться с опухолевыми маркерами, с целью доставки противоопухолевых либо диагностических агентов, является одной из актуальных задач онкологии. Одним из таких объектов являются антитела к ПСМА, например, применяемый для сцинтиграфии капромаб (ProstaScint®).[19] Однако данный препарат не получил значительного распространения, т.к. его эпитоп расположен на цитоплазматическом (внутриклеточном) домене ПСМА, который возможно обнаружить только в некротических тканях. Разработка моноклональных антител, которые специфически связываются с внеклеточным доменом ПСМА привели к улучшению обнаружения опухолевых тканей, однако, данные антитела имели существенные недостатки, такие как высокое время полувыведения из плазмы, а также низкую проницаемость в опухолевые клетки,которые ограничили их диагностическое применение.[20] В свою очередь, низкомолекулярные вещества являются хорошей альтернативой антителам ввиду их сопоставимой, по сравнению с антителами, афинностью к ПСМА, лучшими фармакокинетическими показателями, а также быстрым периодом выведения, что приводит к снижению сигнал/шум в случае диагностических препаратов. В большинстве случаев подобные молекулы имеют в своей структуре фрагмент глутаминовой кислоты или ее биоизостеры.[21]

Лиганды ПСМА можно разделить на две основные группы: аналогис убстрата и аналоги переходного состояния (**Рисунок 2.3**), первые в основном представлены различными амидами или производными мочевины, вторые фосфинатами, фосфонатами, а

также тиол-содержащими производными.[22]



A **B** **C (X = -CH_2-, -NH-)**

Рисунок 2.3. Общие структуры ингибиторов ПСМА. *A, B* - аналоги субстрата, *C* - аналоги переходного состояния

2.2.1. Лиганды–аналоги переходного состояния

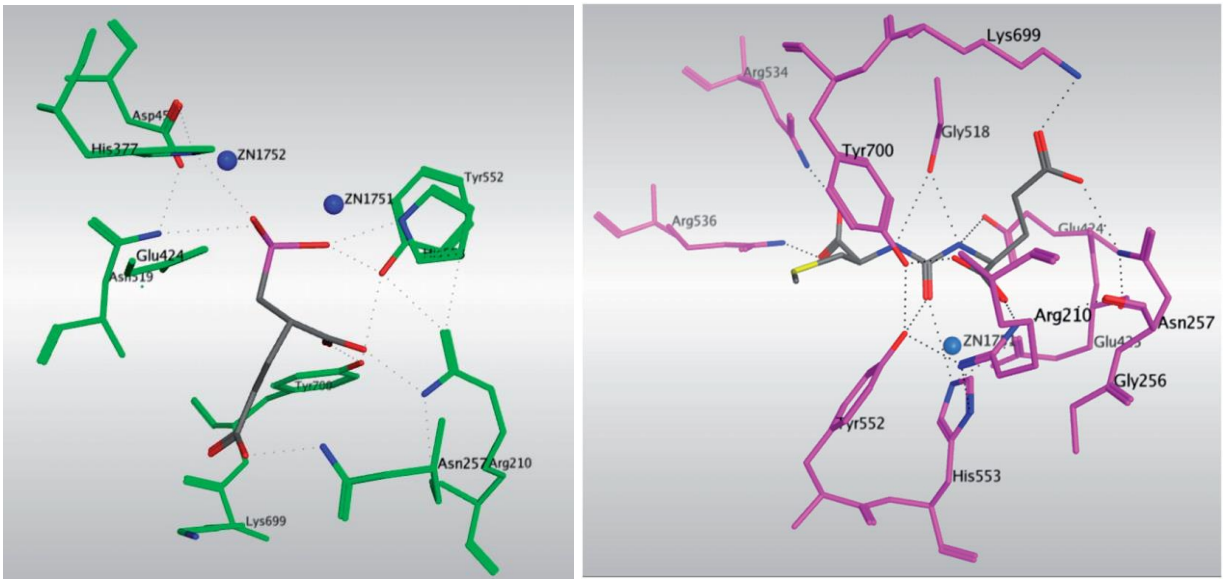
2.2.1.1 Производные фосфоновой и фосфиновой кислот

Группа лигандов ПСМА, являющихся аналогами переходного состояния, представлена соединениями, имеющими в свое структуре тиольные фрагменты, либо фрагменты фосфоновой или фосфиновой кислот (**Рисунки 2.4** и **2.5**).В 1996 году Jackson с соавторами синтезировали 2-PMPA (1), соединение, обладающее высокой афинностью к ПСМА, с константой ингибирования Ki = 280 пМ, которое используется в настоящее время в качестве «золотого стандарта» среди лигандов ПСМА.[23] Сильное связывание данного соединения с белком обусловлено хелатирующим взаимодействием фосфонатного фрагмента с ионами цинка, а также карбоксильных групп с аргининовым карманом в сайте связывания (**Рисунок 2.4**), что было выявлено при исследовании кристаллической структуры комплекса ПСМА и 2-PMPA (PDB: 2PVW и 2JBJ).[24] Также было выявлено, что существенную роль в связывании имеет конфигурация оптического центра лиганда 2-PMPA, высокой афинностью к ПСМА обладает только S-изомер. Помимо этого было выявлено, что роль фрагмента фосфоновой кислоты не ограничивается только связыванием с ионами цинка, посредством одного из атомов кислорода он участвует во взаимодействии с остатком гистидина (His-553) и с гидроксильной группой остатка тирозина (Tyr-552). Впоследствии было выявлено, что замена одной из гидроксильных групп фосфоната на алкильный или арильный фрагмент способствует значительному (до 100 раз) увеличению активность лиганда по отношению к ПСМА.[24,25] Введение бензильного фрагмента в структуру лиганда **2** (**Рисунок 2.5**) позволило достичь концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}) в 53 нМ. [25]

Помимо взаимодействий с помощью фосфатной группы, важную роль играет фрагмент глутаминовой кислоты, образуя 6 водородных связей между аминокислотными

остатками Asn257, Lys699,Arg210, Tyr552 andTyr700 и γ-карбоксильной группой, в то время как α-карбоксильная группа участвует в сильном электростатическом взаимодействии с Arg210 и, образует водородную связь с гидроксильными группами Tyr552 и Tyr700.

Для увеличения липофильности и, как следствие, лучшей проникающей способности синтезирован ряд замещенных бензильных производных 2-PMPA, среди которых наилучшие результаты продемонстрировало соединение **2** (IC_{50} = 53 нМ) в то время как другой аналог **3** показал ухудшенную афинность (IC_{50} = 82 нм) (**Рисунок 2.5**).[25–27]



(а) **(б)**

Рисунок 2.4. Связывание лигандов 2-PMPA (PDB: 2JBJ) (а) и DCMC (PDB: 3D7G) (б) в сайте связывания ПСМА.[13]

Ингибиторы ПСМА взаимодействуют с аминокислотными остатками в сайте связывания с помощью фрагмента глутаминовой кислоты или его аналогами. Как правило, изменение структурного фрагмента пропионовой кислоты в структуре лиганда вызывает значительное снижение активности. Так, соединения 4 и 5, отличающиеся от 2-PMPA на одно метиленовое звено в большую или меньшую стороны соответственно, обладают на порядок более высокими значениями показателя IC_{50}.[25]

Однако недавние исследования продемонстрировали [28], что замещение одного из атомов водорода на атом фтора в одном из метиленовых фрагментов можно получить лиганды с высокой ингибирующей способностью (соединения **6**, **7**). Полученный на их основе диагностический препарат, содержащих в составе изотоп 18F, по даннымIфазы

клинических испытаний продемонстрировал низкую токсичность и отсутствие значительных побочных эффектов, а также способность детектировать небольшие опухоли с относительно низкой экспрессией ПСМА. [29]

Введение алкильного фрагмента, содержащего дополнительные полярных группы, в состав алкильного фрагмента при атоме фосфора ведет к заметному увеличению ингибирующей способности лигандов (соединения **8**, **9**, **10**).[23,30,31] В работе[32] показано, что карбоксильная группа в таких алкильных фрагментах, вносит дополнительный вклад в связывание с активным сайтом ПСМА, за счет взаимодействий с аминокислотными остатками Asn519 и Arg534.

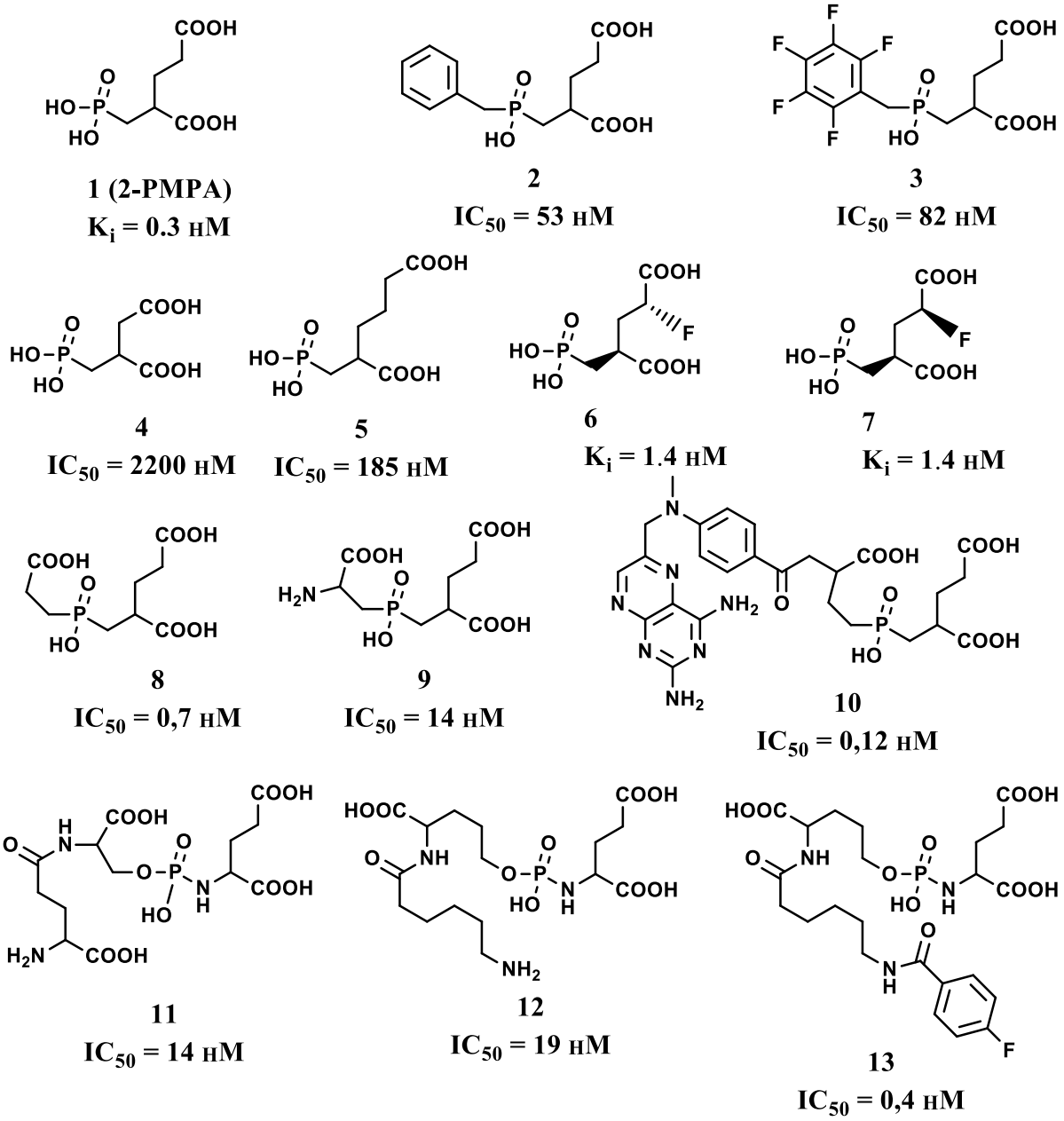


Рисунок 2.5. Фосфорсодержащие ингибиторы ПСМА

Еще одной известной группой фосфорсодержащих ингибиторов являются амидофосфаты (**11**, **12**, **13**). Для данных соединений значительную роль в связывании с ПСМА играет структура фосфоэфирного фрагмента. Соединения **11-13** было впервые синтезированы исходя из предположения, что наличие фрагмента глутаминовой кислоты, связанного с остатками серина (**11**) или 5-гидроксиаминопентановой кислоты (**12**, **13**) посредством фосфорсодержащего фрагмента будет способствовать улучшению афинности к рецептору. Структурный мотив данных соединений был основан на строении одного из субстратов ПСМА – фолил-γ-глутамата. В результате было показано, что соединения **11** и **12** обладают близкой ингибирующей способностью в 14 нМ и 19 нМ соответственно. В то же время соединение **13**, полученное введением [19F]-фторбензоильного фрагмента в структуру **12**, продемонстрировало субнаномолярное значение IC_{50} для ПСМА, что является одним из лучших результатов, достигнутым для данной группы молекул.[33]

2.2.1.2 Тиолсодержащие соединения

Соединения на основе фосфонатов и фосфинатовпоказывают высокую афинность к ПСМА, однако их недостатком является низкаябиодоступность при пероральном приеме препаратов на их основе, что связано свысокой полярностью фосфор-содержащих структурных фрагментов. В связи с этим был разработан другой класс ингибиторов-аналогов переходного состояния на основе молекул, содержащих тиольный фрагмент в своей структуре (**Рисунок 2.6**). В работе [34] Majer с соавторами синтезировали серию соединений, содержащих 3-меркаптопропильный фрагмент. Наилучшие показатели по связыванию с ПСМА продемонстрировало соединение **14** (2-MPPA). Данное соединение стало первым лигандом ПСМА, испытанном в клинических исследованиях на людях. Существенным недостатком данного соединения оказалась его низкая химическая стабильность.

Для всех тиолсодержащих ингибиторов характерно наличие в их структурах фрагмента 5-меркаптопентановой кислоты **14** (2-MPPA), уменьшение длины данного структурного фрагмента на две метиленовые единицы (**15**) приводит к значительному падению ингибирующих свойств. По результатам исследования зависимости структура-активность (SAR) выявлена также важная роль фрагмента пропионовой кислоты в положении 2, отсутствие данного структурного фрагмента также негативно сказывается на ингибирующих свойствах лиганда **16**. Модификация структуры **14**, за счет введения циклических изостер фрагмента пропионовой кислоты увеличисает ингибирующую способность, а также повышает липофильность соединения **17**, котороеимеет в 6 раз более низкую IC_{50}, чем 2-MPPA.[34] Помимо этого изучалась возможность изостерической замены

5-меркаптопентанового фрагмента, за счет введения липофильных фрагментов, для увеличения биодоступности соединений. В результате были синтезированы и исследованы соединения **18-20**, являющиеся производными бензойной кислоты.[35] Однако введение более жесткого структурного фрагмента в случае ингибитор **18** не привело к значительным изменениям в активности по сравнению с соединением **16**. Напротив, соединения **19** и **20**, имеющие бифенильный фрагмент с карбоксильной группой в мета-положении, характеризуются куда более высокими ингибирующими способностями по сравнению с **18**. Наилучшим ингибирующим потенциалом в данной серии обладает соединение **21**, его ингибирующая активность оказалась в 45 раз выше, по сравнению с 2-MPPA. Помимо низкой IC_{50}, лиганд E207 2характеризуется метаболической в условиях организма, высокой селективностью и биодоступностью при тестированиях invivona крысах. Однако несмотря на все достоинства тиол-содержащих лигандов, присутствующая в их составе меркапто-группа очень чуствительна к окислению, индуцируемому иммунным ответом. Помимо этого тиол-содержащие молекулы могут участвовать в реакции с глутатионом, образуя таким образом дисульфидные связи.

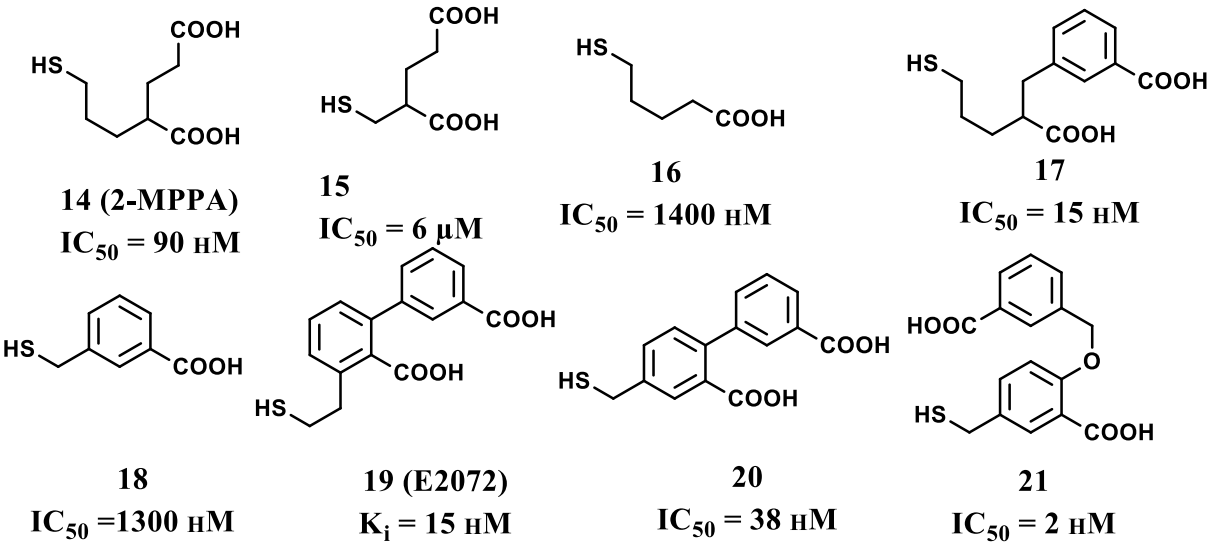


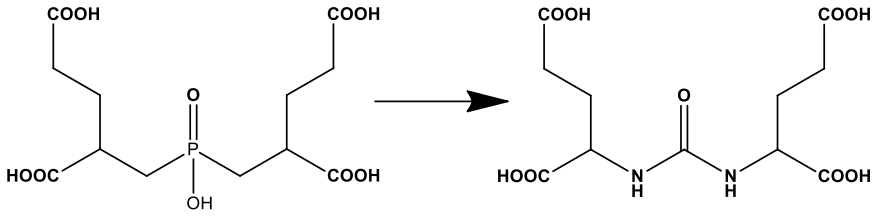
Рисунок 2.6. Тиолсодержащие ингибиторы ПСМА

2.2.2. Лиганды – аналоги субстрата

2.2.2.1 Лиганды на основе производных мочевины

Ингибиторы ПСМА на основе производных мочевины были впервые описаны в 2000 году в работе Kozikowski с соавторами[36] (**Рисунок 2.7**). Данные лиганды были получены заменой фосфор-содержащего фрагмента $-CH_2P(O)(OH)CH_2-$ лиганда PBDA (**22**) на фрагмент мочевины (**23**, DUPA). (S)-конфигурация обоих хиральных центров необходима для эффективного связывания с ПСМА, что было продемонстрировано на

примере производных (S)-Glu-C(O)-(S)-Glu (DUPA),(R)-Glu-C(O)-(R)-Glu, (R)-Glu-C(O)-(S)-Glu, где была показана ингибирующая способность в 47 нм, 67% при 100 μMи 25% при 1 μM соответственно. Лиганд DUPAпоказал себя как высокоаффинный и селективный лиганд ПСМА, его проникновение внутрь клеток обусловлено рецептор-опосредованным эндоцитозом[37], что делает его весьма перспективным адресным агентом для использования в терапии и диагностике злокачественных опухолей предстательной железы.



22
PBDA

23
Glu-C(O)-Glu
(DUPA)

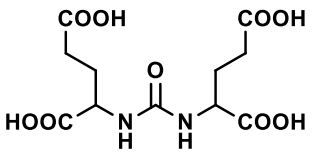
Рисунок 2.7. Замена фосфор содержащей группировки на производные мочевины

На настоящий момент синтезировано ряд перспективных диагностических соединений данной группы, содержащих в своем составе радионуклидную метку. Так, **24** ([125I-DCIT]) и **25** ([11C]-DCMC) – селективные ингибиторы ПСМА, с IC_{50} = 1.5 и 2 нМ соответственно, близкие аналоги DUPA, созданные для диагностики рака предстательной железы радиовизуализационными методами, такими как позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) и однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОЭКТ).[38] Полученная кристаллическая структура комплекса DCMC и ПСМА показала, что серосодержащий фрагмент располагается в гидрофобной части сайта связывания, при этом не имеет ярко выраженных взаимодействий с близлежащими аминокислотными остатками. В то же время, лиганд DCIT образует водородные связи между гидроксильной группой 3-иодтирозина и остатками Arg463 и Glu-457 (**Рисунок 2.8**).[21]

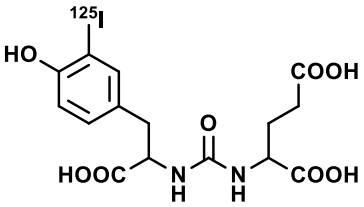
Лиганды второго поколения содержат фармакофорную группировку на основе лизина и глутаминовой кислоты, соединенных между собой фрагментом мочевины (26, DCL). Фрагмент, ответственный за терапевтические или дигностические свойства вводится в структуру соединения посредством модификации ε-аминогруппы остатка лизина. Так, **27** ([125I]-DCIBzL) содержит пара-йод замещенноый фрагмент бензойнойкислоты, который при связывании с ПСМА оказывается в гидрофобном кармане и, таким образом, улучшает ингибирующие свойства лиганда до 0.06 нМ. При

этом было показано, что отсутсвие одной из карбоксильных групп глутаминовой кислоты в α- или γ-положении существенно снижают активность соединения.[39]

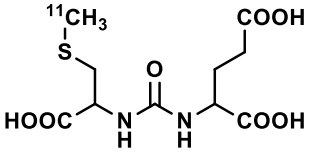
Для ПСМА лиганда DCL группой Maresca[22] было проведено исследование влияния природы заместителя-галогена, а также положения в ароматическом кольце в составе бензильного фрагмента, связанного с аминогруппой остатка лизина (**28**-**36**). В большинстве случаев пара-положение галогена оказывалось оптимальным, для которых ингибирующая способность извменялась в ряду Cl<I=Br<<F=H (**33**, **29**, **32**, **36**, **28** соответственно).Что свидетельствует о том, что чем больше атом галогена и чем меньшейэлектроотрицательностью он обладает, тем больше активность соединений. Аналогично, исследована серия пара-галогенфенилмочевин **37**-**41**. Однако, в данном случае природа атома галогена значительной роли не играла.



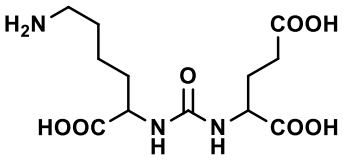
23 (DUPA)
K_i = 8,0 нМ



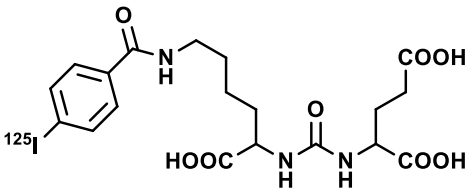
24 ([^{125}I]DCIT)
K_i = 1,5 нМ
IC_{50} = 0,5 нМ



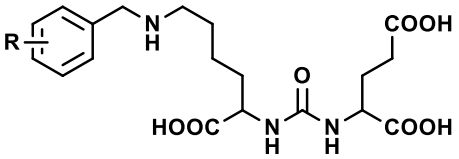
25 ([^{11}C]DCMC)
K_i = 3,1 нМ
IC_{50} = 17 нМ



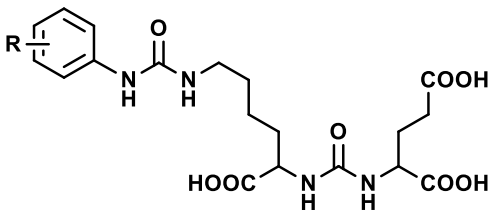
26 (DCL)
K_i = 40 нМ



27 ([^{125}I]DCIBzL)
K_i = 40 нМ



28, H IC_{50} = 40 нМ
29, *n*-I (MIP-1072) K_i = 4,6 нМ IC_{50} = 22 нМ
30, *o*-I IC_{50} = 37 нМ
31, *м*-I IC_{50} = 443 нМ
32, *n*-Br IC_{50} = 43 нМ
33, *n*-Cl IC_{50} = 2 нМ
34, *o*-Cl IC_{50} = 245 нМ
35, *м*-Cl IC_{50} = 277 нМ
36, *n*-F IC_{50} = 1200 нМ



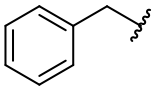
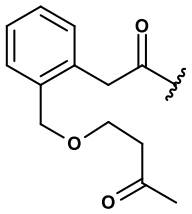
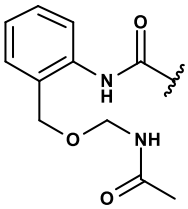
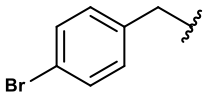
37, *n*-I (MIP-1095) K_i = 0,24 нМ IC_{50} = 10 нМ
38, *n*-Br IC_{50} = 2 нМ
39, *n*-Cl IC_{50} = 4 нМ
40, *n*-F IC_{50} = 3 нМ
41, H IC_{50} = 12 нМ

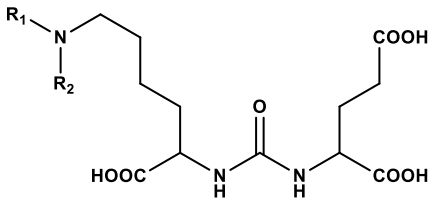
Рисунок 2.8. Ингибиторы ПСМА на основе производных мочевины

В работе Tykvart с соавторами[40] исследовано влияние замены двух атомов водорода аминогруппы на бензильную и/или ацетильную группы (**42-47**, **таблица 2.1**). Наличие ацетильного фрагмента приводило к улучшению активности соединения46 по сравнению с незамещенным лигандом, при этом введение незамещенного ароматического фрагмента в данную структуру привело к незначительному ухудшению активности, в случае с ароматическими производными, сочлененными с помощью амидной (**44**) или карбамоильной (**45**) групп в отсутствие второго заместителя имели умеренные ингибирующие свойства, в то время как наличие пара-бромбензильного фрагмента

совместно с ацетильным позволило существенно улучшить ингибирующую способность лиганда **45**.

Таблица 2.1. Константы связывания для серии соединений 42-47.[40]

#	R_1	R_2	K_i, нМ
42	**H**	**H**	44
43			0,3
44		**H**	1,58
45		**H**	0,37
46		**H**	0,17
47			0,05



Таким образом, на данный момент существует множество соединений имеющих сродство к ПСМА, которые могут быть отнесены к одному из трех классов: антитела, аптамеры и низкомолекулярные лиганды, последние в свою очередь обладают такими преимуществами как улучшенная фармакокинетика и короткий период полувыведения. Также низкомолекулярные могут быть легко подвергнуты модификации и изменению их структуры известными химическими методами. Исторически фосфор-содержащие лиганды были первыми известными лигандами ПСМА с наномолярной ингибирующей активностью, однако несмотря на их высокую афинность данные соединения имели плохой фармакокинетический профиль, причиной этого является их высокая полярность, что существенно ограничивает их дальнейшее клиническое применение. Тиол-содержащие лиганды первоначально показали себя хорошей альтернативой фосфор-

содержащим лигандам, ввиду их лучшей пероральной биодоступности и высокой способности проникать через клеточную мембрану, с другой стороны данные соединения оказались метаболически неустойчивыми, что также ограничило их использование в дальнейших разработках. Лиганды ПСМА на основе производных мочевины позволили преодолеть данные недостатки, что способствовало созданию ряда конъюгатов для терапевтических и диагностических целей, которые на настоящий момент активно разрабатываются или проходят клинические испытания

2.3 Конъюгаты с терапевтическими агентами

Для получения терапевтических конъюгатов, молекулу ингибитора связывают с помощью линкера с молекулой лекарственного препарата. Для этого проводят предварительную модификацию как самого лиганда, так и молекулу противоопухолевого агента.

Для улучшения эффективности адресной доставки и высвобождения препарата в целевых тканях необходимо наличие определенных структурных группировок связывающего линкера. Наиболее часто используемым структурным фрагментом, обеспечивающим высвобождение терапевтического агента при направленной доставке, является дисульфидная связь, расщепление которой происходит за счет наличия внутриклеточного восстановителя – глутатиона (GSH). Расщепление дисульфидноголинкера начинается с окисления глутатиона и образования свободного тиола (**49**). Данный процесс может проходить по двум различным путям (**Рисунок 2.9**). В первом случае происходит высвобождение лекарственногоперпарата и образование 1,3-оксатиолан-2-она (**50**), который в последствии разлагается на этиленсульфид (**51**) и углекислый газ (A). В другом случае (B) образование этиленсульфида происходит сразу же после восстановления тиола.[41]

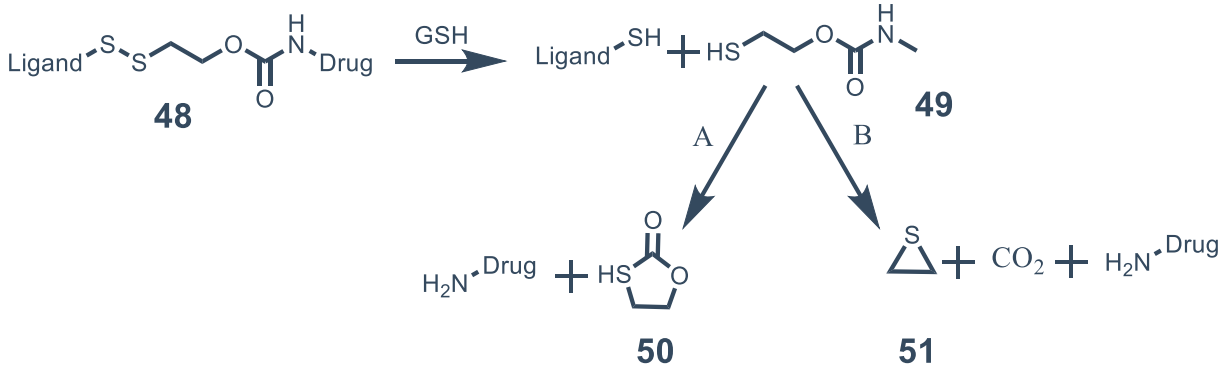


Рисунок 2.9. Расщепление дисульфидного линкера и высвобождение лекарственного препарата (Drug) под действием глутатиона (GSH).

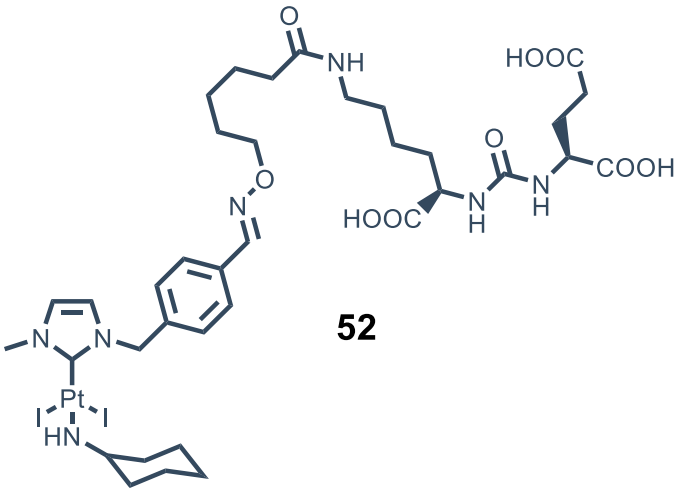
В ходе ряда исследований было предложено использовать ПСМА-ингибиторы для направленной доставки противоопухолевых препаратов в раковые клетки. Противоопухолевые лекарственные препараты имеют ограниченное применение при терапии рака предстательной железы из-за плохой селективности и системной токсичности (кардиотоксичность, ослабление иммунитета). Таким образом, повышение селективности по сравнению с существующими схемами химиотерапии приводит к поступлению препарата преимущественно в опухолевые ткани, и побочные эффекты могут быть сведены к минимуму.

По механизму действия противоопухолевые препараты разделяют на две основные группы: цитостатические и цитотоксические.

2.3.1 Цитотоксические препараты– препараты платины

Действие цитотоксических препаратов основано на повреждении структурных элементов клетки (оболочка, ядро и др.), в результате чего запускаются процессы апоптоза и некроза. К данной группе относятся препараты на основе платины. Наиболее распространенным из них является открытый в 1978 году цисплатин[42], однако существует ряд более современных препаратов на основе этого металла (карбоплатин[43], сатраплатин[44], оксалиплатин[45] и др.).

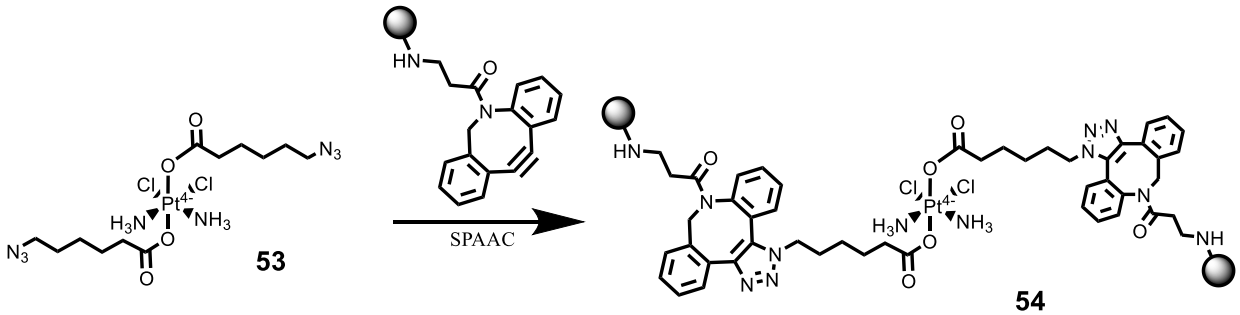
Одним из примеров конъюгата на основе ПСМА лиганда DCL был получен с производным платины [(NHC)PtI2(L)] (N-гетероциклический карбеновый комплекс Pt(II), где L – лиганд на основе замещенного имидазола) (**52**, **рисунок 2.10**). Для того чтобы сохранить координационную сферу комплекса стабильной, был введен пара-замещенный бензальдегид в качестве линкера, данный структурный фрагмент позволяет сохранить неизмененной геометрию платинового комплекса. На его основе возможно синтезировать гидразоны и оксимы, отличающиеся большей гидролитической стабильностью по сравнению с иминами. Также эти функциональные группы облегчают высвобождение препарата. В работе[46] описан предварительно модифицированный 6-(аминоокси)гексановой кислотой вектор мочевины. Полученный конъюгат, проявил низкие показатели IC_{50} (23.7 – 84.6 нМ).



52

Рисунок 2.10. Структура конъюгата на основе ингибиторов DCL с цитотоксическими препаратами группы платины.

Другим способом получения платиновых конъюгатов является использование реакции азид-алкинового циклоприсоединения с использованием напряженных циклооктиновых циклов (**рисунок 2.11**), что позволяет проводить реакцию в отсутствии медь содержащих катализаторов.[47] Данным способом можно создать платиновые конъюгаты, содержащие низкомолекулярные лиганды, флуоресцентные метки либо антитела. Использование катализаторов на основе меди, применяемых для получения 1,2,3 -триазол, в данном случае затруднительно ввиду возможного образования побочных медь-содержащих комплексов. Синтез конъюгатов происходит с использованием более современного механизма азид-алкинового циклоприсоединения, промотируемого байеровским напряжением циклооктинового фрагмента.[48] Реакция протекает за счет использования напряженных циклооктиновых производных, что способствует реакции [3+2]-циклоприсоединения. Преимуществами данного подхода является возможность проводить реакции без использования медных катализаторов, к недостаткам относят более низкую региоселективность по сравнению с аналогичными реакциями, катализируемых медью.



53 **54**

-терапевтический агент/ флуоресцентная метка/ антитело

Рисунок 2.11. Получение конъюгатов на основе цисплатина методом азид-алкинового циклоприсоединения промотируемого напряжением

2.3.2 Цитостатические препараты

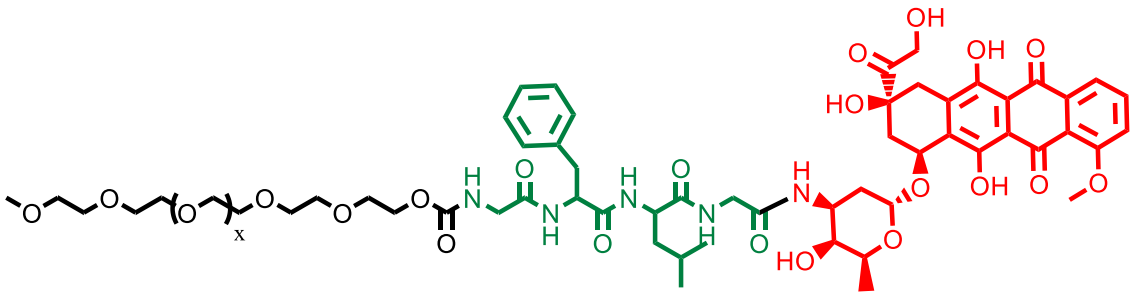
Действие цитостатических (антимитотических) препаратов основано на нарушении процессов жизнедеятельности клетки, таких как рост и деление, что приводит к инициации механизма апоптоза клетки. Такие препараты преимущественно поражают клетки с высоким митотическим индексом. К этому классу соединений относятся препараты группы таксанов[49] (доцетаксел, паклитаксел, кабазитаксел), антрациклиновых антибиотиков[50] (доксорубицин), ауристатинов[51] и др.

Механизм действия противоопухолевых антибиотиков основан либо на взаимодействии с ДНК клетки, либо на связывании с тубулином, что препятствует образованию микротрубочек и нарушает процессы деления. В результате в клетке запускается процесс апоптоза и происходит ее гибель.

2.3.2.1 Группа антрациклинов. Доксорубицин

Механизм действия данных препаратов заключается во взаимодействии с ДНК, что подавляет ее дальнейшую репликацию. Большое применение среди данных препаратов получил доксорубицин (DOX). В молекуле доксорубицина существует две функциональные группы, для его модификации, это амино-группа и кето-группа.[52]

В работе Veronese с соавторами[52] предложен подход к синтезу соединения с селективной модификацииуй амино-группы доксорубицина **55** (**Рисунок 2.12**).



55

Рисунок 2.12. Структура конъюгата на основе доксорубицина, модифицированного по амино-группе: чёрный – полиэтиленгликоль (PEG), зеленый – тетрапептидный линкер глицин-фенилаланин-лейцин-глицин, красный – доксорубицин.

Для улучшения ковалентного связывания доксорубицина с полимерным носителем в качестве линкеров были использованы различные три- и тетрапептиды, такие как глицин-фенилаланин-лейцин-глицин, глицин-лейцин-фенилаланин-глицин, глицин-

лейцин-лейцин и другие. Конъюгаты содержащие линкер глицин-фенилаланин-лейцин-глицин, показали 30% высвобождение доксорубицина, вне зависимости от структуры и молекулярной массы полиэтиленгликольногоносителя (PEG).

Другим подходом модификации доксорубицина является получение pH-чувствительного гидразона. В ряде исследований было установлено, что гидролиз таких конъюгатов, происходящий с высвобождением доксорубицина в неизменном виде, в кислой среде происходит намного быстрее, чем в нейтральных средах.[53] Данный факт должен способствовать высвобождению доксорубицина из его конъюгатов во внутриклеточной среде в процессе эндоцитоза. Одной из стадий данного процесса является образование мембранных везикул (эндосом), значение pH в которых достигает 5.5. Также известно, что некоторые опухоли обладают повышенной кислотностью межклеточной среды,[54] что позволяет увеличить высвобождение доксорубицина внутри опухоли. Данный метод был реализован при получении конъюгата (**57**) с доксорубицином на поликарбонатном носителе.[55] Однако было установлено, что линкеры на основе гидразона имеют ограниченную гидролитическую стабильность даже при значениях pH=7. Помимо этого, гидразон может быть использован для доставки только кетон содержащих препаратов, таких как доксорубицин и его близких аналогов (**Рисунок 2.13**).[56]

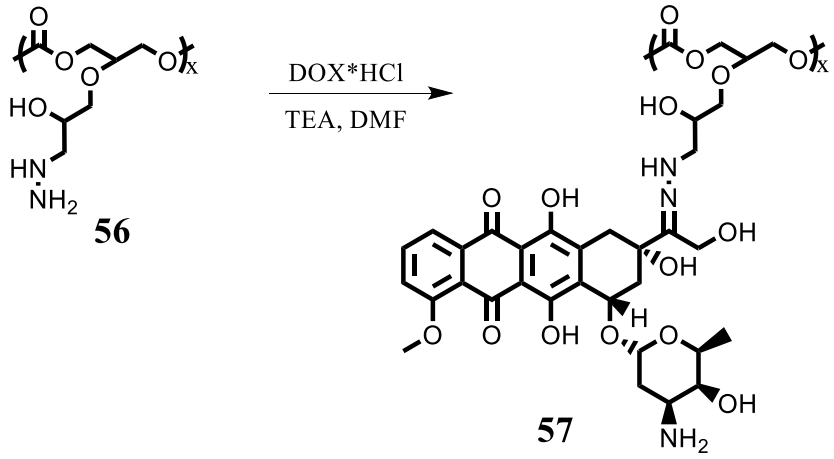
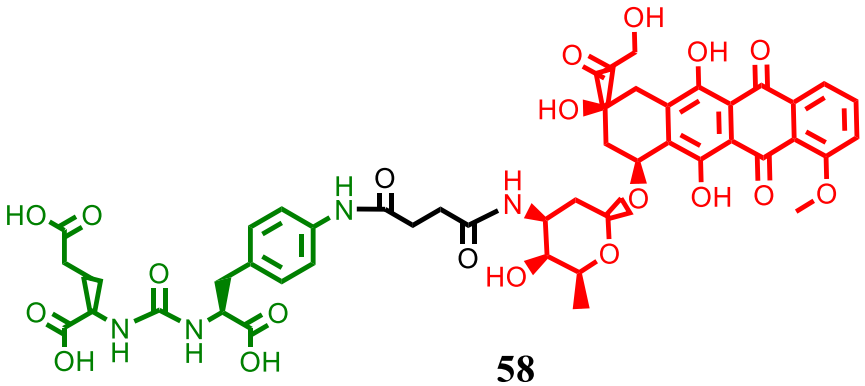


Рисунок 2.13. Получение конъюгата на основе доксорубицина с гидразоновым линкеромна поликарбонатном носителе (**57**)

Поэтому было предложено заменить гидразоновые линкеры пептидными, обладающими ферментативной чувствительностью (например, к катепсину B),которые более гидролитически стабильны. Также с помощью таких линкеров возможно создавать конъюгаты с гораздо большим количеством лекарственных препаратов.

Ранее был получен конъюгат доксорубицина с другим ингибитором ПСМА - производным мочевины **58**[57]**.** В качестве линкера была использована глутаровая кислота, а модификация проводилась по аминогруппе доксорубицина. Высвобождение лекарственного препарата проходит за счет расщепления амидной связи амидазами. (**Рисунок 2.14**)



58

Рисунок 2.14. Конъюгат на основе ингибитора мочевины (зеленый) и модифицированного по аминогруппе доксорубицина (красный). В качестве линкера использована глутаровая кислота (чёрный).

Цитотоксичность полученного конъюгата **58** *in vitro* сравнивалась с немодифицированным доксорубицином на клеточных линиях C4-2 (ПСМА-положительная) и PC-3 (ПСМА-отрицательная). Было показано, что доксорубицин превосходит конъюгат по цитотоксичности (32 нМ на клетках C4-2, 223 нМ на клетках PC-3). Конъюгат **59** ингибировал только 30% клеток C4-2, причем данный результат получен при достаточно высокой концентрации (5 мМ). Однако, с другой стороны полученный конъюгат проявлял селективность связывания с ПСМА (IC_{50} 40,8 нМ), что дает потенциал для дальнейшего изучения данного конъюгата и установления причин низкого высвобождение препарата.

Также на основе доксорубицина получали конъюгаты с использованием расщепляемых линкеров. В работе[58] изучалось влияние дипептидного линкера на селективность конъюгатов на основе антител и доксорубицина. Были получены катепсин-расщепляемыелинкеры из дипептидов на основе фенилаланил-лизина, валил-лизина, аланил-лизина, фенилаланил-фенилаланина, фенилаланил-цитруллина, валил-цитруллина и другие. В результате были выделены из общего ряда полученных линкеров расщепляемые дипептиды на основе валил-цитруллина (**59**) и фенилаланил-лизина (**60**) (**Рисунок 2.15**).

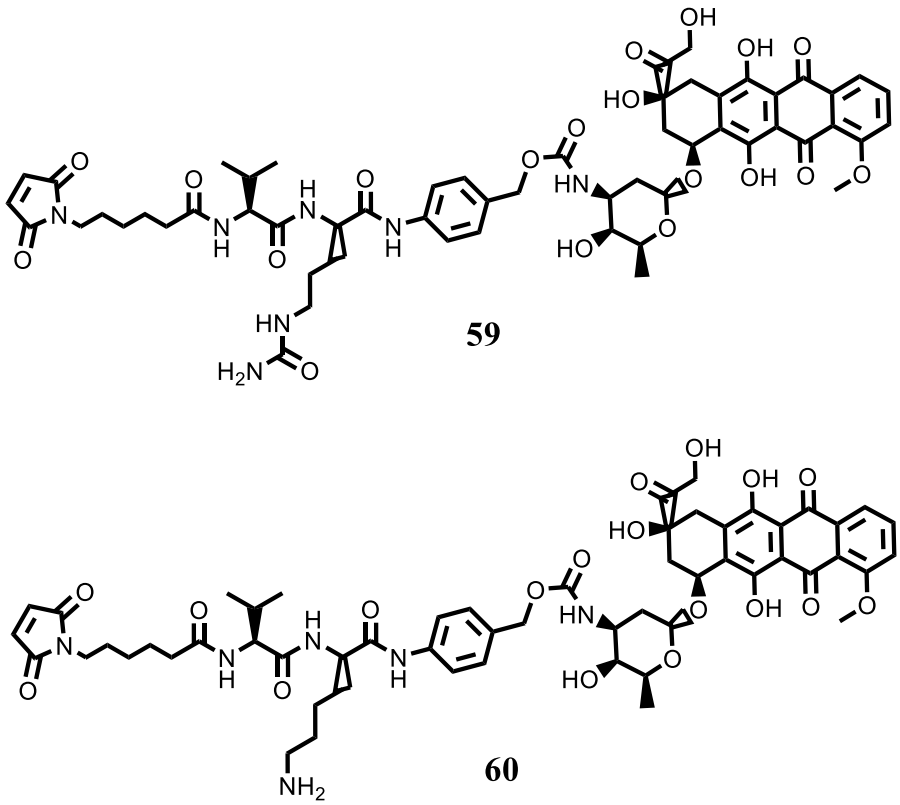


Рисунок 2.15. Структура конъюгатов с доксорубицином на основе дипептидных линкеров: валил-цитруллин (**59**), фенилаланил-лизин (**60**)

Полученные на конъюгаты с использованием линкеров валил-цитруллин (**59**) и фенилаланил-лизин (**60**) показывали более высокую устойчивость по сравнению с их аналогами, в которых были использованы другие дипептидные цепочки. Также проводилось сравнение с немодифицированным лекарственным препаратом доксорубицин. Оба конъюгата показали сопоставимую активность *in vitro* (0,15 мкМ для фенилаланил-лизинового линкера и 0,4 мкМ для валил-цитруллинового линкера) по отношению к клеточным линиям L2987, в сравнении с не модифицированным препаратом (0,2 мкМ). Для антиген-негативной клеточной линии HCT116 конъюгаты были в 200 раз менее активны, чем докосорубицин, что показывает их высокую селективность. Линкеры на основе валил-цитруллина получили широкое применение. Более подробно структуры таких линкеров будут рассмотрены в следующем разделе.

2.3.2.2 Группа ауристатинов

Помимо противоопухолевой активности семейство данных препаратов продемонстрировало бактерицидные и фунгицидные свойства. Сначала был получен ауристатин E, но сдальнейшим развитием данного ряда препаратов былсинтезированмонометилауристатина E (MMAE).[59] Антимитотическое действие препаратов ауристатиновой группы основано на ингибированииитубулиновой

полимеризации, что впоследствии приводит к нарушению образования веретена деления в процессе митоза и вызывает апоптоз клетки.

При создании конъюгатов на основе монометилауристатина Е используют, как правило, линкер, расщепляемый протеазами, состоящий из трех частей: связывающая часть, которая может варьироваться в зависимости от выбранного вектора, катепсин-расщепляемая часть (дипептид валил-цитруллин) и фрагмент(4-аминобензил) метанола.Получаемые на основе данных фрагментов конъюгаты обладают высокой физиологической устойчивость., но подвергаются довольно быстрому гидролизу в присутствии лизосомных экстрактов и катепсина человека В.

Связывающая часть представляет собой фрагмент, на который будет присоединяться молекула вектора. Для доставки на основе антителв качестве такого фрагмента часто используется малеимидокапроил. Валил-цитруллиновый фрагмент необходим, так как он расщепляется катепсином внутри клетки путем разрыва пептидной связи, тем самым происходит высвобождение препарата. Фрагмент аминобензилкарбоната (PABC) самопроизвольно отщепляется, образуя (4-аминофенил) метанол. Его наличие необходимо для предотвращения снижения активности препарататак как позволетстерически освободить расщепляемую катепсином В пептидную связь. Таким образом, происходит высвобождение немодифицированного монометил ауристатина Е. MMAE с валил-цитруллиновым линкером и малеимидокапроиловым фрагментом имеет торговое название ведотин (**61**) (**Рисунок 2.16**).

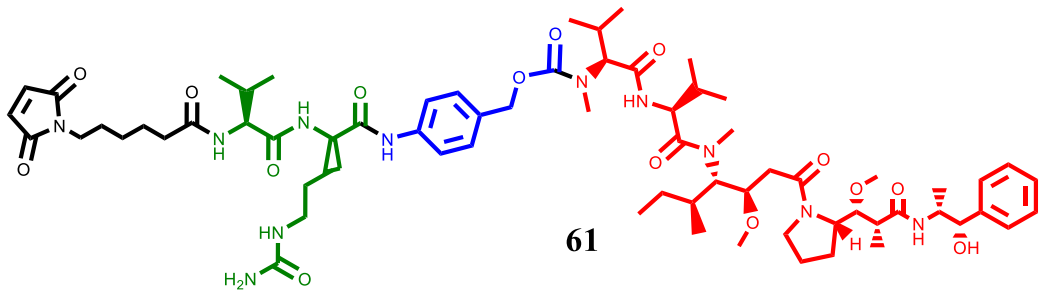


Рисунок 2.16. Структура ведотина: чёрный - группа присоединения антитела–малеимидокапроил; зеленый - катепсин-расщепляемый линкер из дипептидной цепочки валил-цитруллин; синий - самоотщепляющаяся «прокладка» PABC; красный –монометил аурстатин Е.

В настоящее время большинство конъюгатов с монометил ауристатином Е получают на основе антител. Так, были получены конъюгаты[60] на основе антител mAB, cAC10, cBR96. Результаты исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что наибольшую стабильность и эффективность показывают конъюгаты с антителами типа mAB (IC_{50} = 1

нМ), в то время как конъюгаты с cBR96 практически неэффективны. Конъюгаты с антителами типа cAC10 имели биологическую активность только в комбинации с антителами mAB. Также в данной работе было установлено, что немодифицированный монометил ауристатин Е приводит к регрессии опухолей, однако данный эффект носит временный характер.

Еще один класс соединений, используемый для лечения рака предстательной железы – гормональные препараты. Противоопухолевые гормональные препараты применяются, как правило, для лечения гормонозависимых опухолей, в том числе - рака предстательной железы. Так как половые гормоны стимулируют рост и развитие опухоли, принцип действия данных препаратов основан на угнетении их выработки.

Однако, существует очень значимый недостаток гормональной терапии, а именно возникновение резистентности раковых клеток, из-за которого очень быстро утрачивается достигаемый эффект. Чтобы решить эту проблему, в различных источниках предлагается использовать гормональные препараты в сочетании с конъюгатами на основе атител ПСМА. Так, например, в работе[61] было предложено использовать конъюгат на основе описанного выше монометил ауристатина Е с энзалутамидом. Энзалутамид-нестероидный антиандроген, селективно связывающийся с андрогенами (тестостерон и дегидротестостерон), тем самым блокируя андрогеновый рецептор, что приводит к регрессии гормонозависимой опухоли предстательной железы. Испытания проводились *invivo*, конъюгатмонометилауристатина Еинемодифицированныйэнзалутамид вводились мышам по отдельности и в комбинации. Было установлено, что конъюгатына основе антителмонометилауристатина Епроявляют низкую селективность. В случае применения энзалутамида только у 60% мышей наблюдалось улучшение состояния, однако достигаемый эффект был очень недолгосрочным. Результаты показывают, что сочетание конюгатовна основе антител с монометилауристатиномдает более выраженное ингибирование лпухолей, чем в случае монотерапии. Однако, необходимо проведение более детальных исследований.

2.3.2.3 Группа таксанов

Действие препаратов группы таксанов основано на накоплении тубулина в микротрубочках, предотвращая их деполимеризацию и приводя к нарушению разборки веретена деления. В результате происходит нарушение последних фаз митоза клетки, что приводит к ее гибели. Наиболее широкоераспространениев данной группе препаратов нашли доцетаксел (DTX) и паклитаксел (PCL).

Для создания конъюгатов на основе подобных лекарственных препаратов необходима их предварительная модификация для связи с линкером. Наиболее подходящими для модификации являются вторичные гидроксильные группы при С-2’ и С-7 (в случае доцетакселаеще С-10), из которых в большинстве случаев используется первая.[62]

Конъюгаты с данными препаратами получают с различными типами векторов, как с низкомолекулярными векторами, так и с антителами.

Подобные конъюгаты также возможно создавать с использованием азид-алкинового циклоприсоединения. Так конъюгаты на основе антител в работе группы [63] получали, используя данную реакцию с использованием такого катализатора как сульфат меди. Медные катализаторы часто выбираются для подобных реакций из-за того, что селективно и с большим выходом дают 1,4-дизамещенный 1,2,3-триазолы (в отличие от некаталитических реакций, которые протекают приблизительно в 10^7 раз медленнее, что не позволяет проводить реакцию в условиях комнатной температуры и требует термической активации). Также большим преимуществом данной реакции является инертность по отношению к другим функциональным группам в молекулах. В данной работе использовалась такая система катализаторов, как аскорбат натрия и сульфат меди. Доцетаксел модифицировали янтарным ангидридом по С’-2 гидроксильной группе, после чего в молекулу вводился нерасщепляемый олигоэтиленгликолевый линкер, содержащий терминальную азидо-группу. Далее осуществляется «клик»-реакция с антителом, содержащим терминальную тройную связь. Высвобождение препарата из полученного конъюгата происходит за счет гидролиза сложноэфирной связи доцетаксела.

Были описаны конъюгаты на основе сополимеров N-(2-гидроксипропил)метакриламида (HPMA) с доцетакселом и использования низкомолекулярного лиганда на основе мочевины (DUPA) **62** и **63** (**Рисунок 2.17**).[64] HPMA представляет собой нетоксичный и устойчивый полимер, широко используемый для создания терапевтических и диагностических конъюгатов, где выступает в качестве носителя. Были получены короткие и длинные мономеры DUPA: MA-DUPA или MA-EG12-DUPA, где в качестве длинного линкера использовались 12 фрагментов этиленгликоля. После чего проводилась сополимеризация с доцетакселом Молекула лекарственного препарата соединялась с сополимером через тетрапептидный линкер. Было установлено, что длина линкер между вектором и сополимером существенно влияет на токсичность конъюгатов с доцетакселом *in vivo*. Несмотря на сопоставимые значения IC_{50} для MA-DUPA и MA-EG12-DUPA (3,32 нМ и 3,18 нМ соответственно), конъюгат

DUPA-DTX с более длинным линкером оказывал меньшую токсичность на органы мышей.

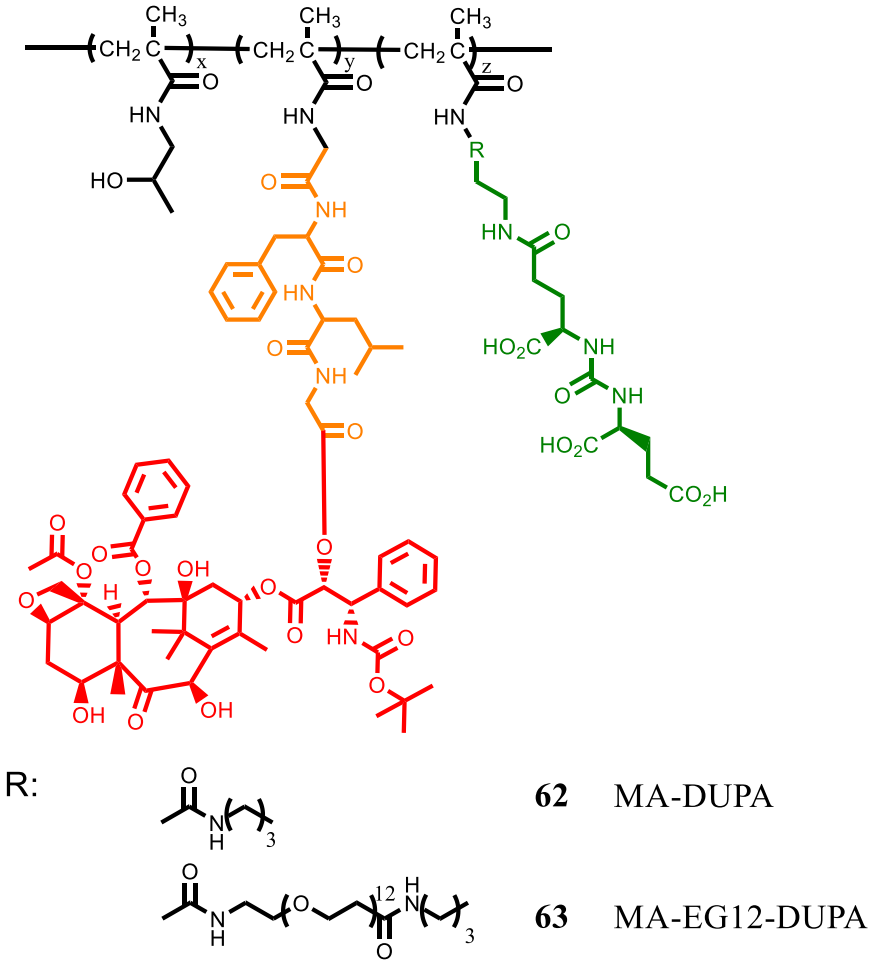


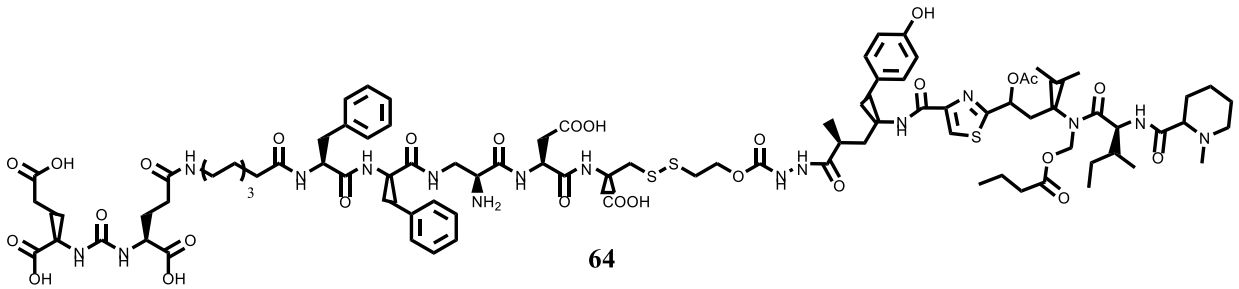
Рисунок 2.17. Структура конъюгата на основе полимерного носителя N-(2-гидроксипропил) метакриламида HPMA: 1 - полимерный носитель HPMA;2 - тетрапептидный линкер Gly-Phe-Leu-Gly; 3 -доцетаксел; 4 - низкомолекулярный ингибитор на основе мочевины DUPA.

Механизм повышенной проницаемости и удерживающего эффекта в раковых клетках согласно которому работают HPMA конъюгаты, остается не до конца изученным, и работает для макрочастиц, что не дает возможности создания более эффективных конъюгатов на его основе.

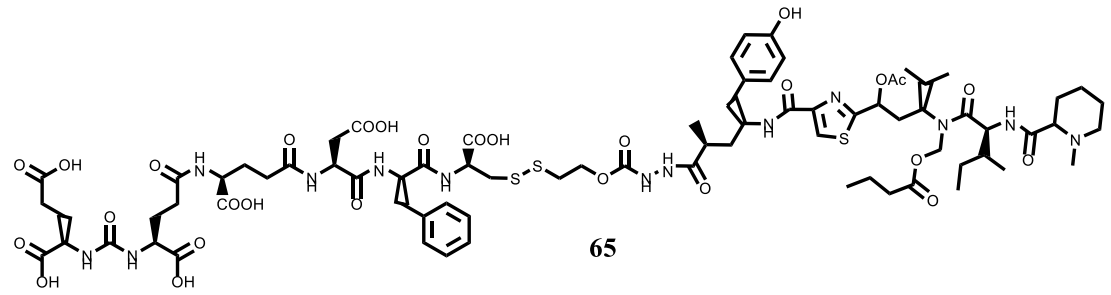
2.3.3 Другие конъюгаты на основе низкомолекулярных ингибиторов

Довольно распространенным методом является получение расщепляемых линкеров, содержащих в своей структуре дисульфидные мостики, которые обладают стабильностью в кровотоке и легко расщепляются глутатионом в цитоплазме клетки (**Рисунок 2.18**). Помимо дисульфида в линкер также возможно включать различные

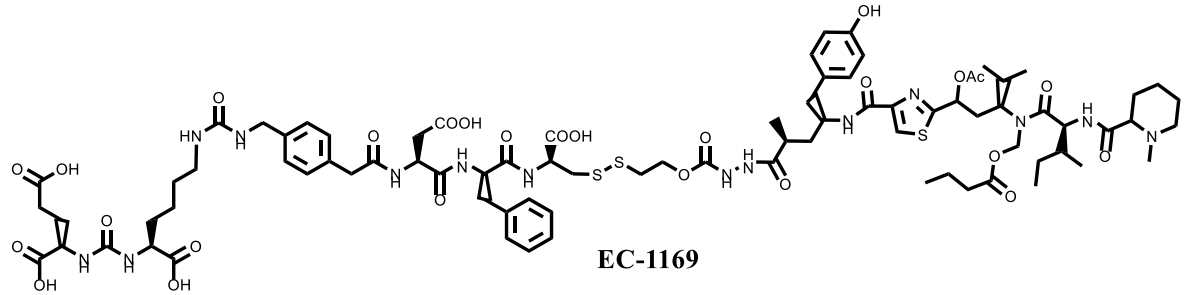
пептидные фрагменты, повышая тем самым аффинность к ПСМА, и улучшая высвобождение препарата.



64



65



EC-1169

Рисунок 2.18. Примеры структур конъюгатов на основе мочевины DUPA и тубулизина B с двумя типами линкеров

Подход с использованием дисульфидной гидролизуемой связи (**рисунок 2.18**) был реализован на примере конъюгатов лигандов ПСМА с противоопухолевыми алкалоидами, в том числе с тубулизином (**64** и **65)**. В структуре линкера данных конъюгатов важную роль, помимо наличия дисульфидной связи играет аминокислотная последовательность. Полидипептидные фрагменты, содержащие фрагменты ароматических аминокислот за счет супрамолекулярных взаимодействий в активном центре ПСМА, способствуют улучшению афинности и селективности полученных конъюгатов. По данным *in vitro* испытаний IC_{50}на клеточной линии LNCaP для них составляет 6±2 нМ для конъюгата **64** и 5±2 нМ для конъюгата **65**, последний находится в данный момент в 1 фазе клинических испытаний.

Подход к синтезу конъюгатов **64** и **65** основан на модификакции молекулы тубулизина тиол-содержащим фрагментом 2-(пиридин-2-ил-дисульфанил)-этилгидразинкарбоксилата **67** в присутствии изобутилфлорформиата и DIPEA. Последующая его реакции с лигандом ПСМА **69**, полученного с помощью твердофазного пептидного синтеза, привела к получению конъюгата **64** (**рисунок 2.19**).

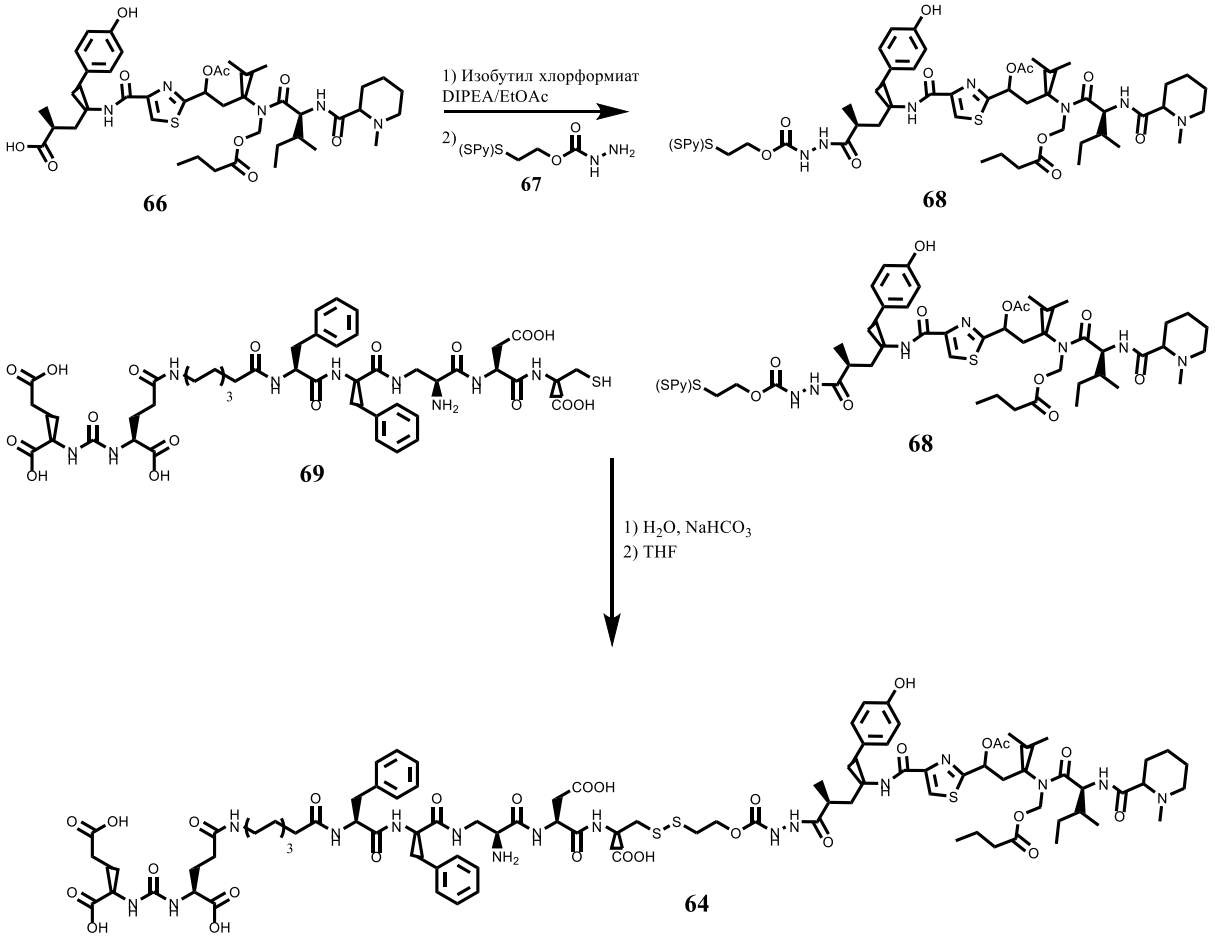


Рисунок 2.19. Способ получения конъюгата лиганда ПСМА с тубулизином с дисульфидным линкером

В исследовании [65] были получены конъюгаты с различными противоопухолевыми препаратами на основе ингибитора мочевины DUPA. Среди них способность вызывать регрессию опухоли показали конъюгаты с использованием тубулизина B, представленные на рисунке 13. IC_{50} для них составляет 6±2нМ для конъюгата (**64**) и 5±2нМ для конъюгата (**65**). Конъюгат (**65**) находится в данный момент в 1 фазе клинических испытаний.

Недавно разработан еще один конъюгат на основе тубулизина B и лиганда ПСМА с использованием дисульфидного мостика **EC-1169** (**Рисунок 2.18**). На данный момент этот конъюгат также проходит 1 фазу клинических испытаний.[66]

Таким образом, в результате анализа литературных данных было установлено, что разработка систем адресной доставки лекарственных препаратов в клетки опухолей

предстательной железы является актуальная задачей, а наиболее перспективной мишенью для адресной доставки является простатический специфический мембранный антиген. Было установлено, что наиболее перспективными лигандами данной белковой мишени, для создания конъюгатов являются производные мочевин на основе двух фрагментов глутаминовой кислоты (DUPA) или на основе глутаминовой кислоты и лизина (DCL). В то же время, большая часть конъюгатов, разработанных для адресной терапии рака предстательной железы представляют собой высокомолекулярные соединения (полимерные наночастицы, антитела и др.), в то время как спектр низкомолекулярных конъюгатов является ограниченным. В связи с этим, разработка низкомолекулярных конъюгатов является перспективной задачей. На примере существующих низкомолекулярных конъюгатов была установлена важная роль структуры линкера, соединяющего вектор и терапевтический/диагностический агент в конъюгате, что также необходимо учитывать при создании таких конъюгатов.

3. Обсуждение результатов

Как было отмечено в обзоре литературы, при получении конъюгатов для адресной доставки на основе лигандов ПСМА большое внимание необходимо уделять структуре линкера и способу его соединения с векторным и терапевтическим фрагментами. На основании литературных данных о строении рецептора ПСМА в рамках данной работы был осуществлен дизайн потенциальных конъюгатов для адресной доставки таких противоопухолевых препаратов как доксорубицин, паклитаксел, доцетаксел, монометил ауристатин Е, а также агента для фотодинамической терапии хлорина е6 (**Схема 3.1**). Для каждого из препаратов был осуществлен анализ литературных данных и разработаны синтетические методы их модификации с использованием лигандов ПСМА.

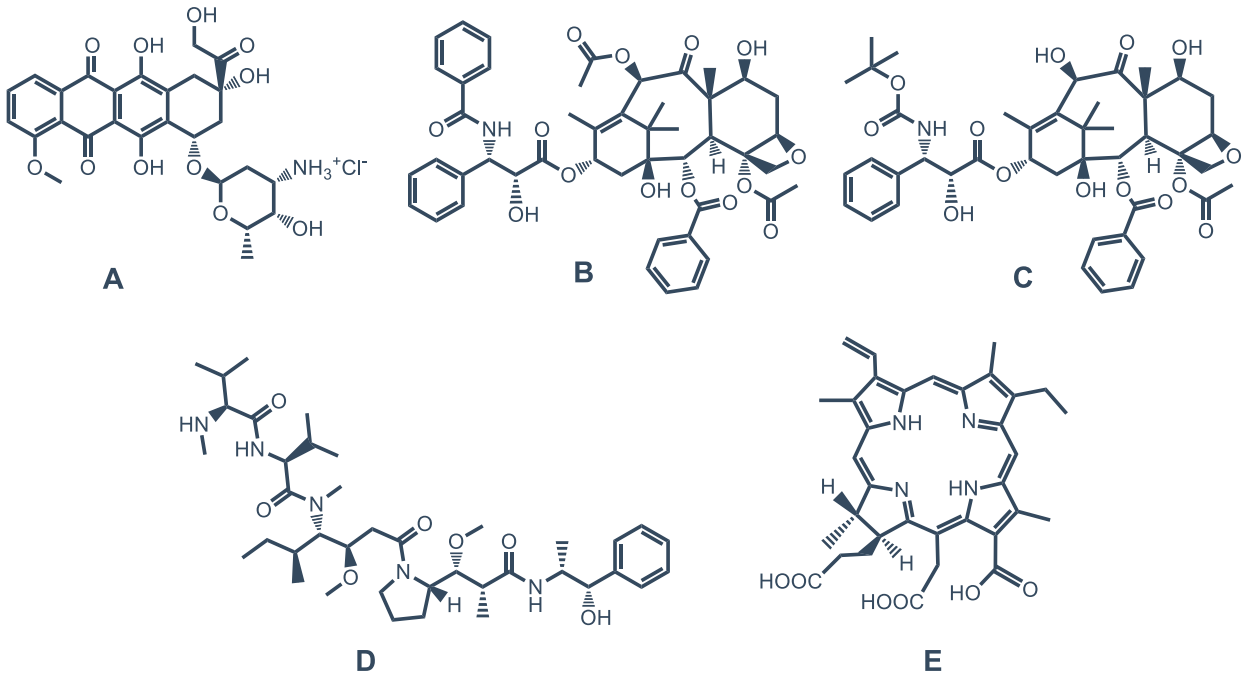


Схема 3.1. Структура противоопухолевых препаратов для создания конъюгатов на их основе: доксорубицин (A), паклитаксел (B), доцетаксел (C), монометилауристатин E(D), хлорин е6 (E).

3.1.Синтез ПСМА-векторного фрагмента.

Анализ литературных данных, посвященных структурам лигандов ПСМА, а также методам их синтеза, свидетельствует о том, что самыми перспективными для использования в качестве адресных лигандов молекулами, являются производные мочевины (DUPA и DCL), а наиболее синтетически доступным и удобным с точки зрения его последующей модификации представляется лиганд DCL, получаемый на основе L-глутаминовой кислоты и L-лизина. Наиболее препаративно удобным методом синтеза такого лиганда является трехстадийная последовательность с получением на первом этапе

изоцианата из ди-трет-бутилового эфира глутаминовой кислоты, его последующим взаимодействием *in situ* с гидрохлоридом трет-бутиловогоэфира N_{ε}-Cbz-L-лизина и удалением защитной группы с амина по **схеме 3.2**.

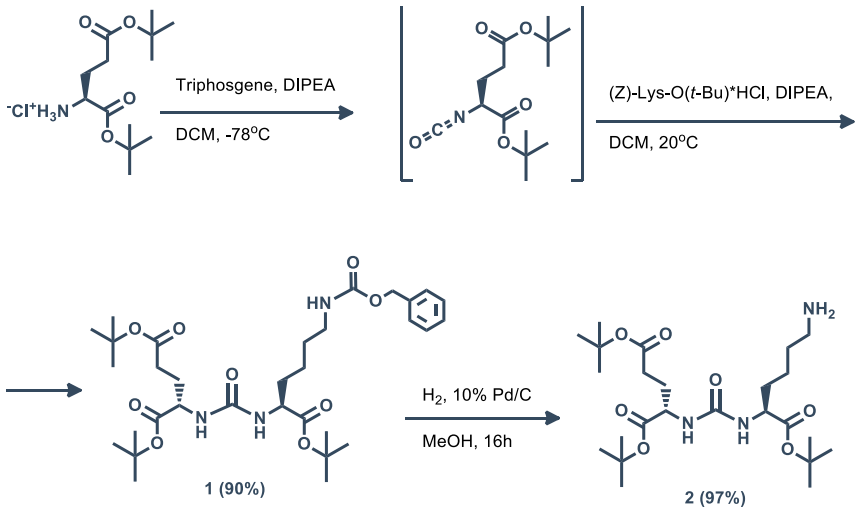


Схема 3.2.Синтез базового лиганда ПСМА**2**на основе глутаминовой кислоты и лизина.

Образование изоцианата происходит в присутствии трифосгена, а также диизопропилэтиламина (DIPEA) в качестве ненуклеофильного основания. Последующая нуклеофильная атака амино-группы лизина по изоцианатной группе приводит к получению мочевины **1**с высоким выходом. Дальнейшее удаление Cbz-защитной группы с помощью реакции гидрогенолиза соединения **1**в присутствии 10% Pd/C позволило получить соединение **2,** содержащее первичную амино-группус выходом, близким к количественному. Амин **2** далее был модифицирован с целью получения новых лигандов ПСМА, а также конъюгатов на их основе.

3.2. Конъюгаты доксорубицина

3.2.1 Синтез лигандов ПСМА

Конъюгация лиганда ПСМА на основе мочевины **2** с противоопухолевыми или диагностическими агентами может быть осуществлена путем модификации терминальной NH_2-группы фрагмента лизина. На основании литературных данных по молекулярному моделированию[67]установлено, что оптимальная длина линкера, соединяющего лиганд ПСМА и доставляемую молекулу, должна быть не менее 20 Å, а фрагменты, входящие в состав линкера, должны иметь гидрофобную природу. В связи с этим в настоящей работе для построения гидрофобного линкера были выбраны производных аминокарбоновых

кислот с различной длиной полиметиленового фрагмента между амино- и карбоксильной группой. В качестве исходных соединений использовались 6-аминогексановая и 11-аминундекановая кислоты, из которых на первом этапе были получены соответствующие бензиловые эфиры **3** и **4**при кипячении в толуоле в атмосфере аргона, в присутствии избытка бензилового спирта и *п*-толуолсульфокислоты (**Схема 3.3**).

Последующее взаимодействие полученных соединений **3** и **4** с монометиловым эфиром адипиновой кислоты в присутствии активирующих карбоксильную группу HBTU и HOBt, приводило к образованию соединений **5** и **6**.Дальнейший их гидрогенолиз позволил получить соответствующие карбоновые кислоты **7** и **8**, которые далее были использованы для модификации *трет*-бутил-защищенного лиганда ПСМА **2**. Реакцию ацилирования мочевины **2** проводили в присутствии реагентов HBTU, HOBt и DIPEA, с последующим хроматографическим выделением продуктов, что позволило получить соединения **9** и **10** с выходами 58% и 63% соответственно. Структуру полученных соединений подтверждали методами ^{1}H ЯМР и масс-спектрометрии высокого разрешения.

Согласно имеющимся литературным данным существует два основных подхода к модификации структуры доксорубицина: образование амидной связи с использованием амино-группы углеводного фрагмента и образование гидразона с кето-группой[68]. Последний метод является наиболее перспективным, ввиду лабильности получаемых соединений в слабокислых условиях, что может способствовать высвобождению лекарственного препарата во внутриклеточной среде в процессе эндоцитоза.

Получение амидов доксорубицина обычно проводят по стандартной схеме синтеза амидов, с образованием промежуточных активированных эфиров соответствующих карбоновых кислот, в присутствие активирующих агентов, например HBTU в качестве активирующего агента в присутствии диизопропилэлтиламина в качестве основания. В работе [69] такойподходбылиспользовандляполученияпроизводныхдоксорубицина с различнымижирнымикислотамисчисломатомовуглеродавалифатическойцепиот 1 до 19 с выходами от 87 до 94 %. Данный факт подтверждает возможность проведения селективной модификации амино-группы, не затрагивая гидроксильные группы углеводного фрагмента.

Вработе[70] предложен подход к образованию гидразона доксорубицина с моногидразидом адипиновой кислоты. Для проведения данной реакции были использованы эквимолярные количества реагентов с добавлением каталитических количеств трифторуксусной кислоты (0,01%) в метаноле. В результате данной реакции

целевые продукты выделяются осаждением в ацетонитриле с высокими выходам в 85-97%.

Данный подход получил широкое распространение для модификации полимерных и металлических наночастиц. Это связано с pH-чувствительностью образующейся гидразонной группы, которая легко подвергается расщеплению в средах со значением pH 5-6, что позволяет доксорубицину высвобождаться, только после непосредственного поглощения конъюгата из внеклеточных (физиологических, pH 7,4) условий клеткой, где под действием кислой среды в образующихся эндосомах (pH 5-6) и впоследствии в лизосомах (pH 4-5) происходит расщепление гидразона[71].

В связи с рассмотренными выше существующими подходами к модификации доксорубицина, в качестве наиболее перспективного, как с точки зрения синтеза, так и с точки зрения последующего биологического применения мы выбрали метод, основанный на образовании гидразона. Были проведены реакции соединений **9** и **10**, содержащих карбоксиметильную группу, с моногидратом гидразина (10 мол. экв.) при кипячении в метаноле, в результате чего были получены соответствующие гидразиды**11** и **12** с высокими выходами.

Соединения **11** и**12** были охарактеризованы методами спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии высокого разрешения. Так в ЯМР ^{1}H спектре соединений **11** и **12** исчезает сигнал протонов метокси-группыпри 3.6 м.д., характерный для соединений **9-10** и появляются сигналы протонов -NHNH$_2$ фрагмента при 8.91 (NH) и 4.1 (NH$_2$)м.д.

Согласно литературным данным, последующее удаление *трет*-бутильных защитных групп с векторного фрагмента может быть осуществлено с использованием трифторуксусной кислоты (TFA) различной концентрации. Для проведения реакции гидролиза *трет*-бутиловых эфиров было использована смесь 10% трифторуксусной кислоты в дихлорметане в течение 14-16 часов, что позволило полностью удалить защитные группы с близкими к количественным выходами.

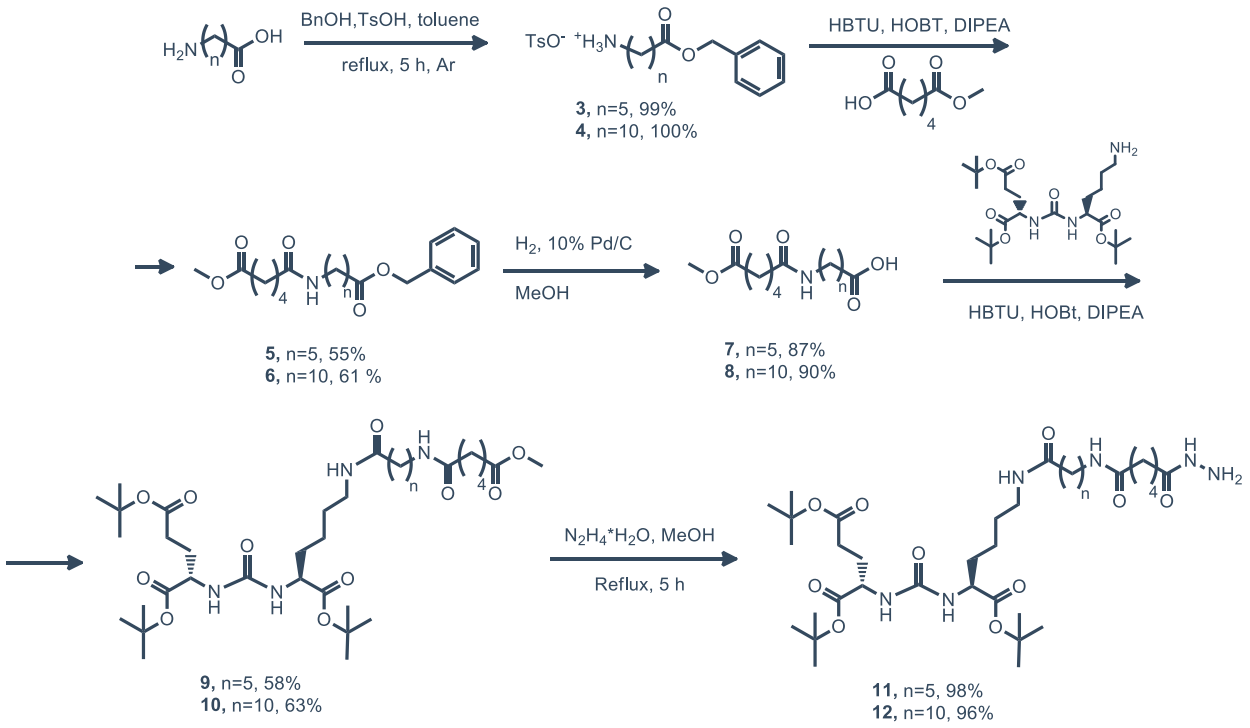
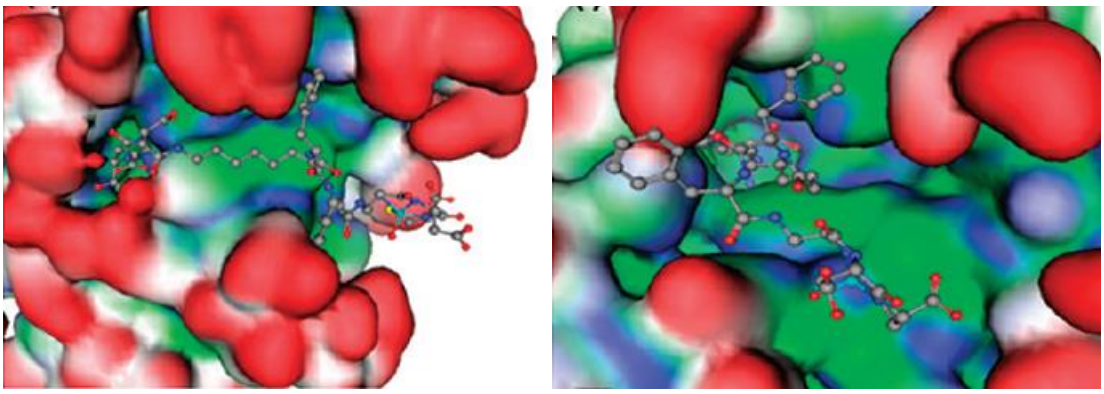


Схема 3.3.Синтез линкеров и создание модифицированных лигандов ПСМА на их основе

В работе [1] было отмечено, что на способность связывания векторных молекул для радиовизуализации с ПСМА существенное влияние, помимо длины линкера, оказывает его химическая природа. Было установлено, что наибольший вклад в увеличение аффинности к ПСМА вносят гидрофобные взаимодействия между линкером и длинным туннелем в структуре данного белка, в конце которого находятся два гидрофобных кармана (**рисунок 3.1.**). По этой причине введение дополнительных гидрофобных фрагментов, в качестве которых могут выступать последовательности ароматических аминокислот, может способствовать увеличению аффинности получаемых конъюгатов к белку-мишени. По литературным данным, дипептиднаяпоследовательностьна основе ароматической аминокислоты фенилаланина L-Phe-L-Phe является оптимальным структурным фрагментом для увеличения гидрофобных взаимодействий: для лиганда ПСМА, содержащего такой структурный фрагмент, был проведен молекулярный докинг (**рисунок 3.1.**), результаты которого свидетельствуют о том, что бензольные кольца боковых радикалов фенилаланина локализуются в гидрофобных карманах, обеспечивая дополнительные взаимодействия между линкером и рецептором.



(а) **(б)**

Рисунок 3.1. Моделирование локализации лиганда ПСМА, содержащего дипептидный ароматический фрагментов в структуре линкера, внутри гидрофобного туннелябелка (PDB: 2C6C): вид сбоку (а) и сверху (б) на гидрофобный туннель; зелёный – гидрофобные участки, голубой-гидрофильные участки, красный – участки, обращенные к растворителю[1].

Исходя из указанных выше данных, в структуру лиганда нами был введен фрагмент фениланил-фенилаланина (Phe-Phe). Для получения модифицированного лиганда вначале получали метиловый эфир дипептида L-Phe-L-Phe (**13**)реакцией исходного дипептида с $SOCl_2$ в избытке метанола. Целевой продукт был выделен с выходом 76%.В спектре ЯМР ^{1}Нсоединения **13** наблюдаются характерные для метилового эфира сигналы протонов CH_3-группы при 3.58 м.д., что свидетельствует о превращении дипептида в целевое соединение. Последующее взаимодействие соединения **13** с эквимолярным количеством янтарного ангидрида привело к соединению**14** с выходом 94% (**Схема 3.4.**).

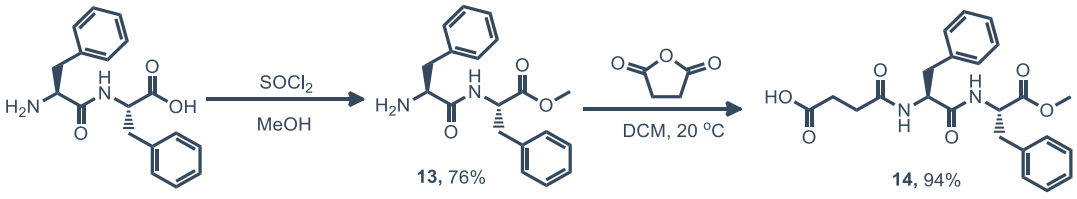


Схема 3.4.Синтез дипептидного линкера на основе L-Phe-L-Phe.

Для введения гидрофобного фрагмента в структуру лиганда также необходимо было провести модификацию соединения **2**.Для этого сначала были получены амиды **15** и **16**реакциейс соответствующими 6-азидогексановой и 11-азидоундекановой кислотами в присутствии реагентов HBTU, HOBt, а также диизопропилэтиламина, последующий гидрогенолиз которых в присутствии 10% Pd/C привел к соответствующим аминам **17** и **18**с выходами, близкими к количественным (**Схема 3.5.**).

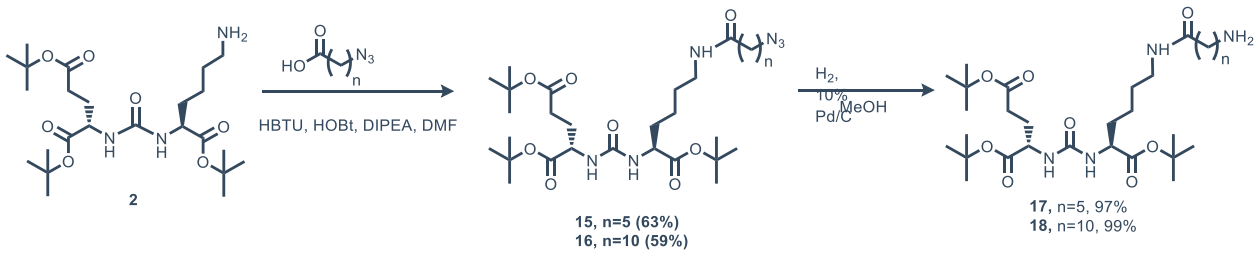


Схема 3.5.Ацилирование соединения 2 производными азидокислот и последующий гидрогенолиз.

Соединение **17** было далее введено в реакцию с кислотой**14** в присутствии HBTU, HOBt и диизопропилэтиламина, в результате чего после хроматографического разделения реакционной смеси был выделен продукт **19**.Дальнейшая его реакция с гидразином позволила получить соответствующий гидразид **20** с высоким выходом (**Схема 3.6.**).

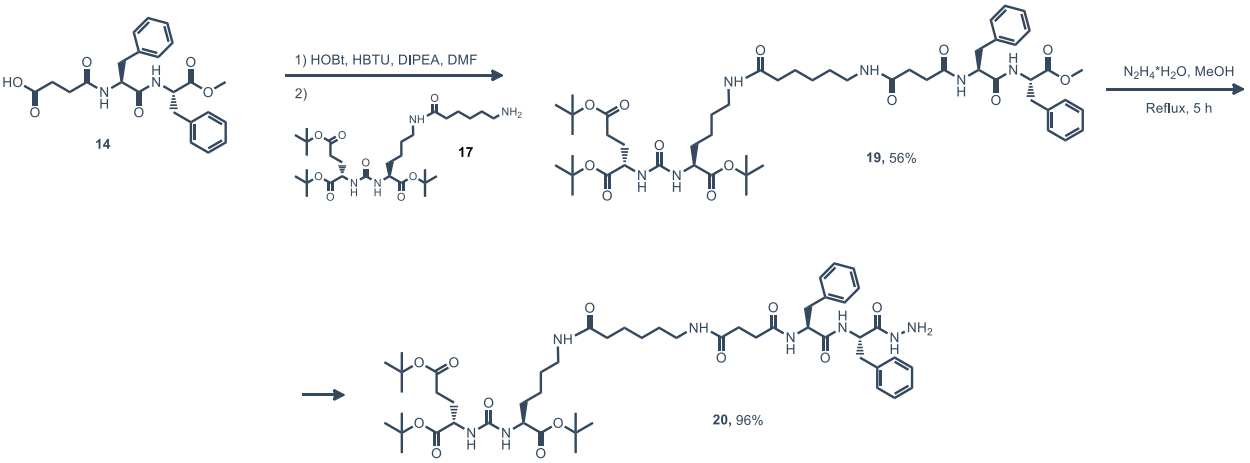


Схема 3.6.Создание структуры лиганда с ароматическим дипептидным фрагментом.

На заключительном этапе синтеза лигандов для получения конъюгатов с доксорубицином в структурах **11**, **12** и **20** были удалены защитные *трет*-бутильные группы в смеси трифторуксусная кислота:дихлорметан (1:9). Очистка лигандов **21-23** после реакции проводилась с помощью многократной промывки диэтиловым эфиром (**Схема 3.7.**).

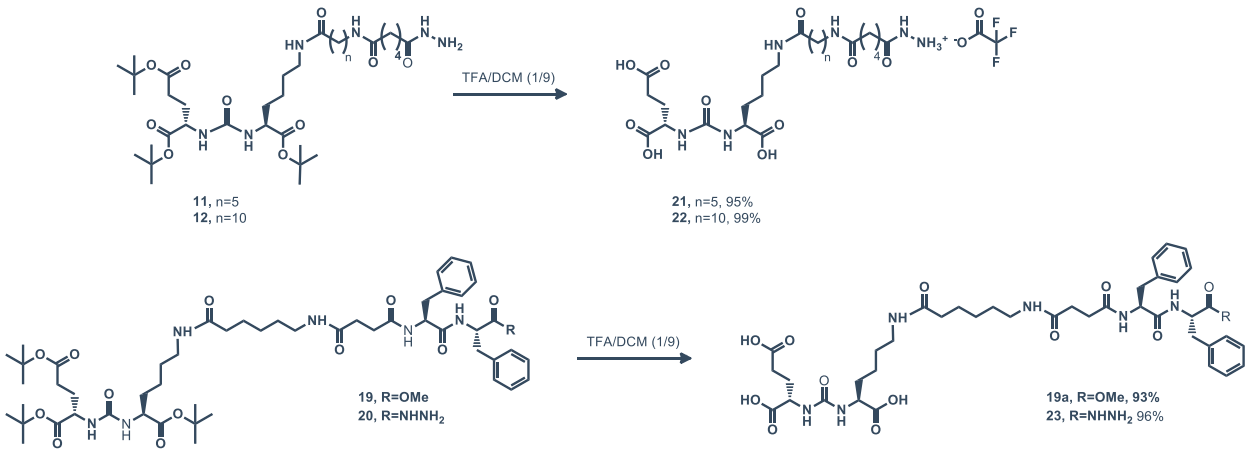


Схема 3.7.Удаление *трет*-бутильных защитных групп

2.2.1 Синтез конъюгатов лигандов ПСМА с доксорубицином

Для синтеза конъюгатов была использована реакция получения гидразонов доксорубицина из соответствующихгидразидов **21**, **22** и **23**.Анализ имеющихся литературных данных показал, что образование гидразонов доксорубицина может происходить как в присутствии основных реагентов (триэтиламин)[69,72], такивприсутствиикаталитическихколичествтрифторуксуснойкислоты[70]. В связи с тем, что получение гидразидов из их *трет*-бутил-защищенных предшественников проводилось в присутствии трифторуксусной кислоты, в результате чего образовывались соответствующие трифторацетатыгидразидов**21**-**23**, для синтеза конъюгатов был использован подход, основный на кислотном катализе образования гидразонов доксорубицина. В результате было получено три конъюгата доксорубицина **24**-**26** с гидразонным типом соединения линкера и противоопухолевого препарата. Выделение конъюгатов осуществляли осаждением из реакционной смеси с помощью ацетонитрила, с последующей дополнительной очисткой методом препаративной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Структура полученных конъюгатов была подтверждена данными ^{1}H ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии, а чистота подтверждена аналитической ВЭЖХ.

Также для проведения сравнения биологической активности полученных соединений нами был осуществлен синтез конъюгата доксорубицина и векторного фрагмента с образованием амидной связи. Данный синтез был осуществлен с использованием “one-pot” стратегии, где на первом этапе была проведена модификация доксорубицина с помощью янтарного ангидрида в присутствии DIPEA. Далее карбоксильная группа янтарного ангидрида была активирована за счет образования NHS-эфира, последующая реакция которого с лигандом **18** с удаленными *трет*-бутильными защитными группами (соединение **28**) привела к образованию конъюгата **27**. Очистку

полученной реакционной смеси проводили с помощью препаративной тонкослойной хроматографии, в результате чего конъюгат **27** был выделен с выходом 34%(**Схема 3.8.**).

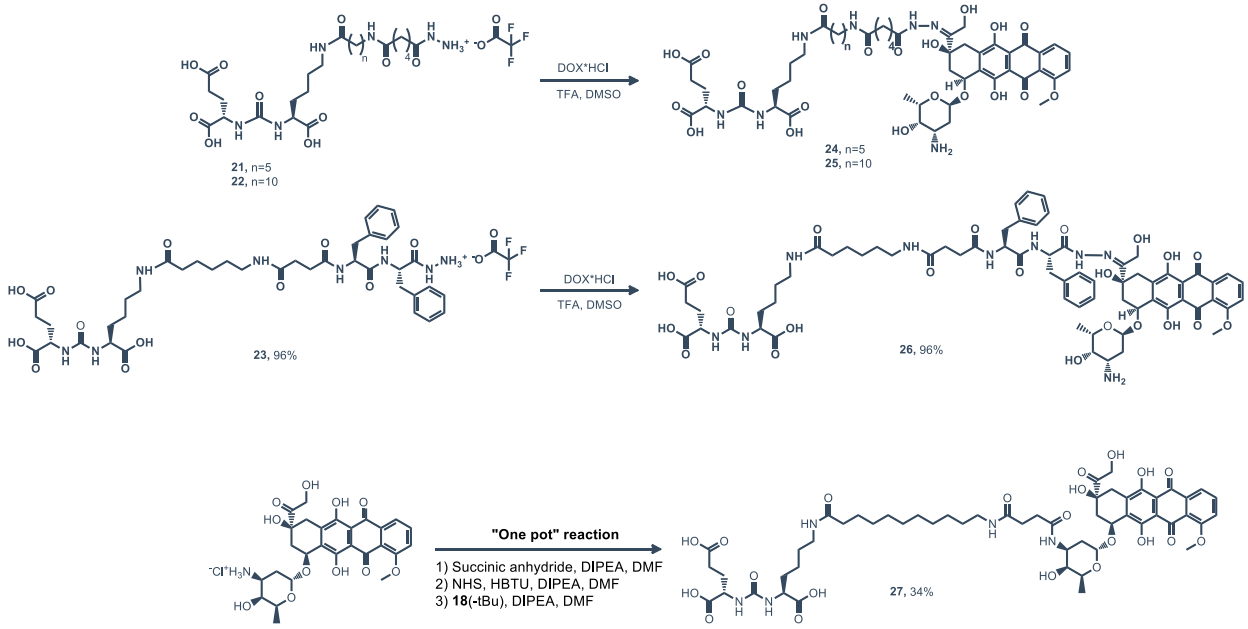


Схема 3.8.Получение конъюгатов на основе доксорубицина.

3.2.1 *In vitro*тестирование конъюгатов

Данная часть работы выполнена совместно с лабораторией «Биомедицинские наноматериалы», НИТУ «МИСиС».

На первом этапе биологических тестирований полученных конъюгатов нами была поставлена задача визуализации ПСМА методом флуоресцентной микроскопии. Для получения флуоресцентных конъюгатов был выбран NHS-активированный флуоресцентный цианиновый краситель Sulfo-Cy5. В качестве лиганда ПСМА было использовано соединение с терминальной амино-группой **28**, полученное из соединения **18** реакцией с трифторуксусной кислотой. В спектре ^{1}H ЯМР продукта реакции **28** отсутствовали сигналы протонов *трет*-бутильных групп (1,45-1,49м.д.) и наблюдались уширенные сигналы протонов в слабом поле при 12 м.д., что свидетельствовало о полноте протекания процесса (**Схема 3.9.**).

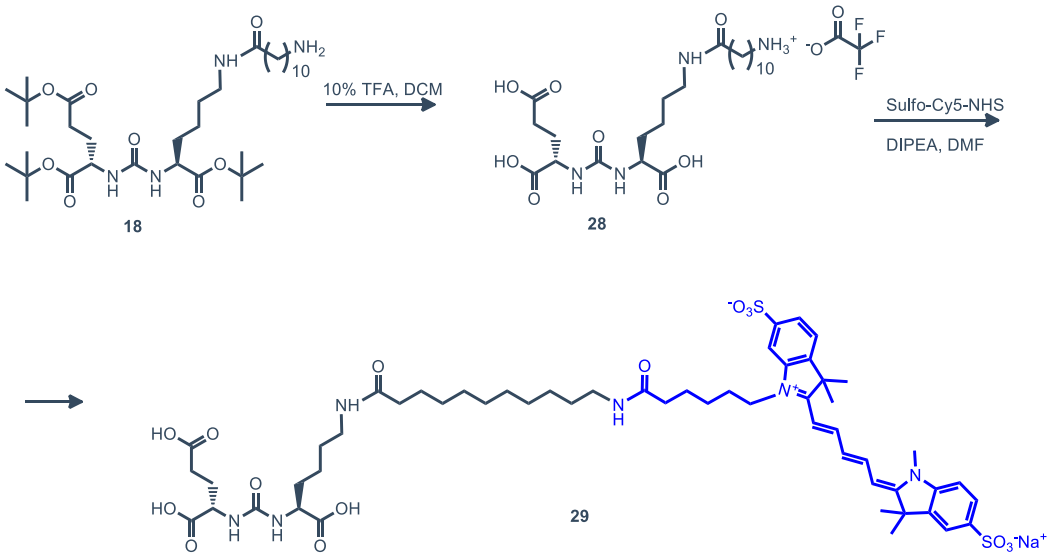
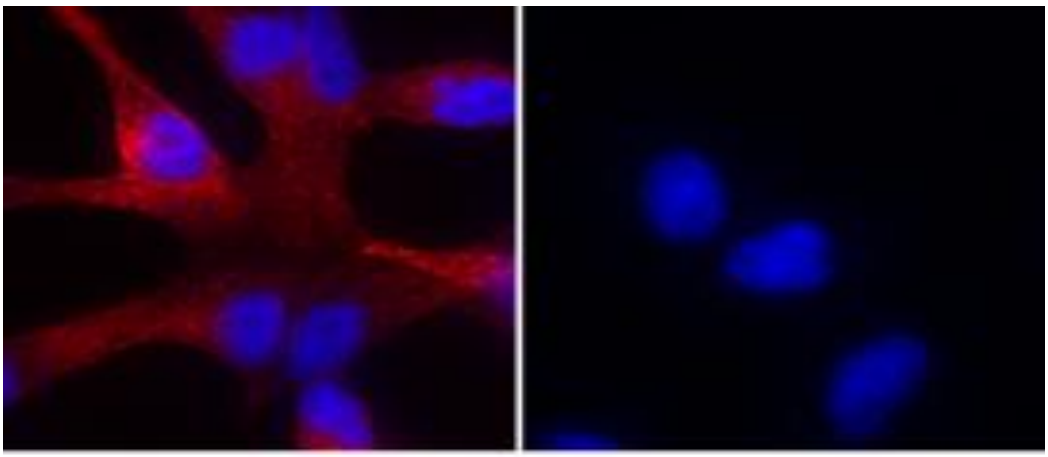


Схема 3.9.Синтез флуоресцентного конъюгата.

Последующее взаимодействие соединения **28** с NHS-эфиром Sulfo-Cy5 в присутствие 5,5 мольных эквивалентов диизопропилэтиламина привело к соединению **29**, которое было использовано для последующей визуализации ПСМА на клетках рака простаты LNCaP.

Для очистки флуоресцентного конъюгата использовали метод препаративной обращено-фазовой ВЭЖХ. Строение конъюгата **29** подтверждено данными масс-спектрометрии высокого разрешения, а индивидуальность аналитической ВЭЖХ.

Для доказательства специфичности связывания полученных конъюгатов с целевыми клетками, экспрессирующими ПСМА, были использованы две клеточные линии рака предстательной железы: LNCaP, экспрессирующая ПСМА, и PC-3,неэкспрессирующая ПСМА. Тестирование флуоресцентного конъюгата **29** на данных клеточных линиях демонстрирует избирательное связывание конъюгата только с клетками линии LNCaP(***рисунок 3.2, а)*** в то время как связывание конъюгата с клетками линии PC-3(***рисунок 3.2, б***), неэкспрессирующей ПСМА, обнаружено не было.



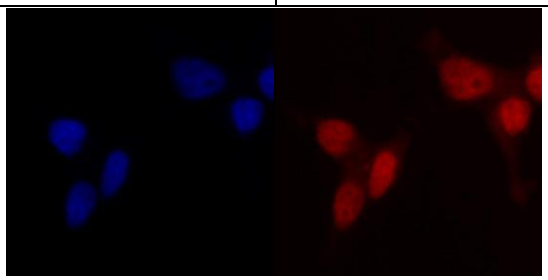
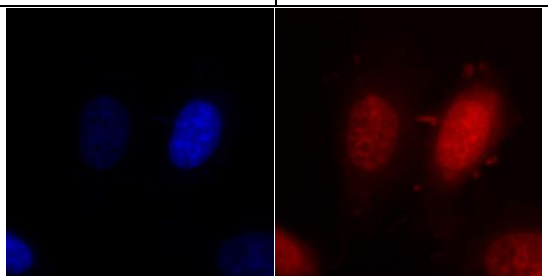
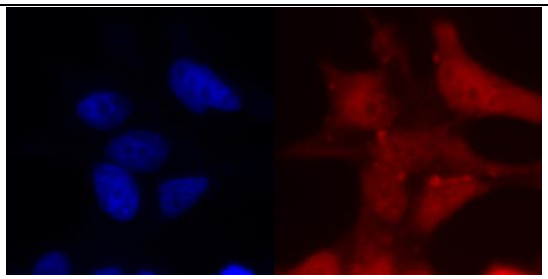
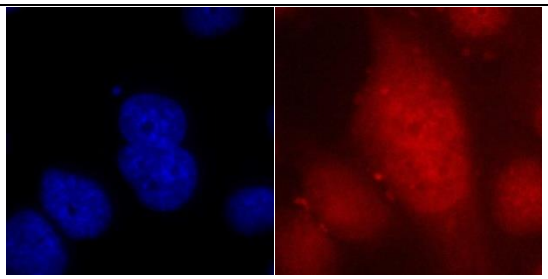
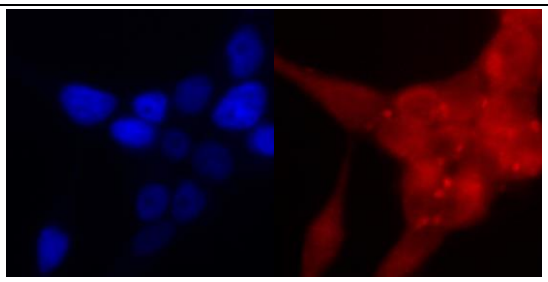
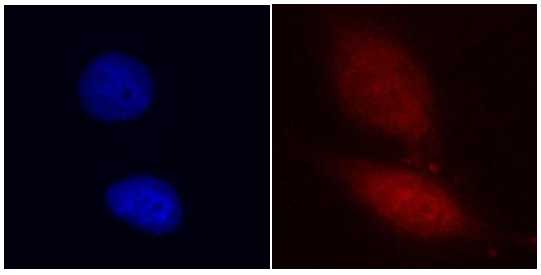
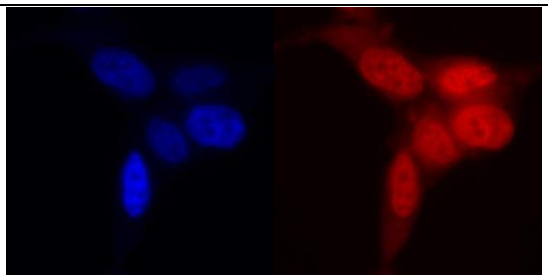
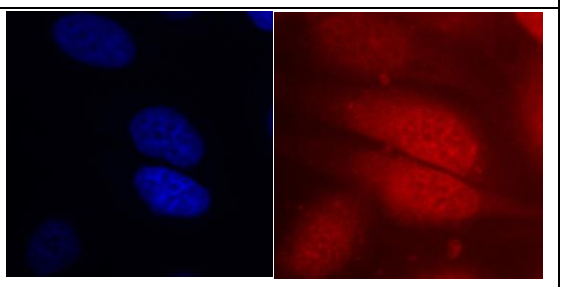
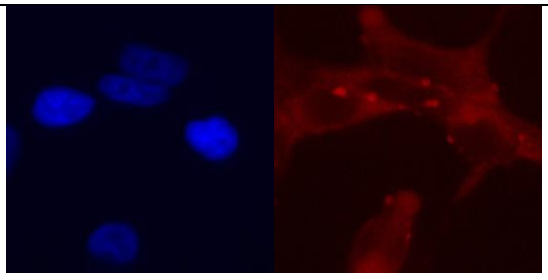
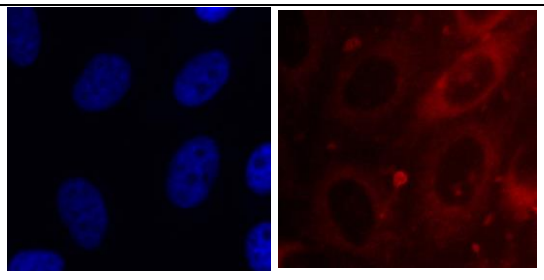
(а) **(б)**

Рисунок3.2.Изображение клеток LNCaP (а) и PC-3 (б) обработанных конъюгатом **29**(C=30 нМ)в течение 120 минут; клеточное ядро (синее) окрашено флуоресцентным красителем (DAPI,4',6-диамидино-2-фенилиндол).

При тестировании конъюгатов с доксорубицином **24-27**, в первую очередь был проведен анализ локализации конъюгатов внутри клеток клеточных линий LNCaP и PC-3(**таблица 3.1**), аналогично тому, как это было проведено на примере флуоресцентного конъюгата **29**.Данный эксперимент может быть легко проведен без дополнительных модификаций данного противоопухолевого препарата, благодаря собственной флуоресценции доксорубицина (λ_{max}=590нм)[73]. Как видно по локализации доксорубицина как на клеткахLNCaP, так иPC-3 основное его накопление происходит внутри ядер клетки, и лишь незначительные количества находятся в цитоплазме. На клеточной линии LNCaPинтенсивность сигнала флуоресценции в цитоплазме в 3,5 раза ниже, чем в ядре, в случае клеточной линии PC-3 различие в интенсивности флуоресценции составляет 3,7 раз. Соединение **24** с более коротким линкером преимущественно располагалось в клеточном ядре, однако также имело локализацию и в цитоплазме, в то время как соединение **25** было равномерно распределено внутри цитоплазмы. Наилучшее распределение наблюдалось на примере соединения **26**, линкер которого содержал дипептидный фрагмент L-Phe-L-Phe. Так, большая часть доксорубицина наблюдалась внутри клеточного ядра на клеточной линии LNCaP, в то время как на клеточной линии PC-3 докосорубицин располагался более равномерно внутри клетки без ярко выраженной локализации в ядре. Также стоит отметить, что в случае конъюгата **27** с ковалентным типом соединения линкера и доксорубицина, высвобождение доксорубицина не наблюдалось внутри клетки, что может быть связано с высокой стабильностью амидной связи к расщеплению. На двух типах клеточных линий было обнаружено лишь незначительное количество препарата внутри клеточного ядра. При этом мы

предполагаем, что локализация конъюгата **27** в цитоплазме внутри клеток LNCaP и PC-3 обусловлена преимущественно пассивным транспортом (**Таблица 3.1**).

Таблица3.1. Внутриклеточная локализация синтезированных конъюгатов доксорубицина на клеточных линиях LNCaPи PC-3 после инкубирования в течение 2 часов.

Мол-лы. (15 □M)	**LNCaP**		**PC-3**	
	DAPI	Локализация доксорубицина	DAPI	Локализация доксорубицина
Dox				
24				
25				
26				
27				

Помимо исследования локализации конъюгатов **24-27**было проведено исследование их цитотоксичности на ПСМА «+» клеточной линии LNCaPи ПСМА «-» линии PC-3 (**Таблица 3.2.**); в качестве контрольного препарата был взят доксорубицин. Наиболее активное соединение по данным МТТтеста, показало значениеCC_{50}= 95 нМ, близкое к токсичности самого доксорубицина (CC_{50}=93 nM) на клеточной культуре LNCaP. Конъюгаты**24** (CC_{50}=331 нМ) и**25** (CC_{50}=487 нМ), показали меньшую активность по отношению к опухолевым клеткам. В то же время, значение CC_{50}конъюгата **26**на клеточной линии PC-3 составило 926 нМ, что демонстрирует его большую селективность относительно ПСМА-экспрессирующей клеточной линии по сравнению с доксорубицином. Однако, конъюгат **37** продемонстрировал отсутствие значительного токсического эффекта на двух клеточных линиях. Полученные данные коррелируют с ранее опубликованными результатами Jayaprakash с коллегами[57], посвященными синтезу конъюгата лиганда ПСМА с доксорубицином. В данной работе авторы также использовали реакциюо бразования амидной связи для получения целевых конъюгатов, ожидая, что высвобождение доксорубицина из конъюгата будет осуществлено под действием внутриклеточных пептидаз, однако, было показано, что такой конъюгат показывает слабую активность как поотношению к ПСМА «+» клеточной линии C4-2, таки ПСМА «-» PC-3.

Таблица3.2.Противоопухолевая активность конъюгатов 24-27 и доксорубицина на клеточных линиях LNCaP и PC-3

Соединение	CC_{50}, нМ	
	LNCaP	**PC-3**
24	331±15	2068±323
25	487±35	2791±914
26	95±11	926±76
27	Не активно	Не активно
Dox	93±5	< 500

Для подтверждения расщепления конъюгата во внутриклеточных условиях, на примере наиболее активного соединения **26**было проведено исследование pH-зависимой реакции гидролиза конъюгата в смоделированных нейтральных (pH=7,4) и слабокислых

условиях (pH=5,0) (**рисунок 3.3**). Контроль хода реакции проводили с использованием метода ВЭЖХ-МС, по образованию доксорубицина. В результате было установлено, что гидролиз конъюгата происходит как в слабокислых, так и нейтральных условиях, однако, период полураспада конъюгата в первом и втором случае составил 75 минут и 46 часов соответственно. Данный факт подтверждает преимущественное расщепление полученного соединения при pH 5,0, которое, вероятно происходит при рецептор-опосредованномэндоцитозе конъюгата внутрь клетки, обеспечивая высвобождение активного противоопухолевого конъюгата.

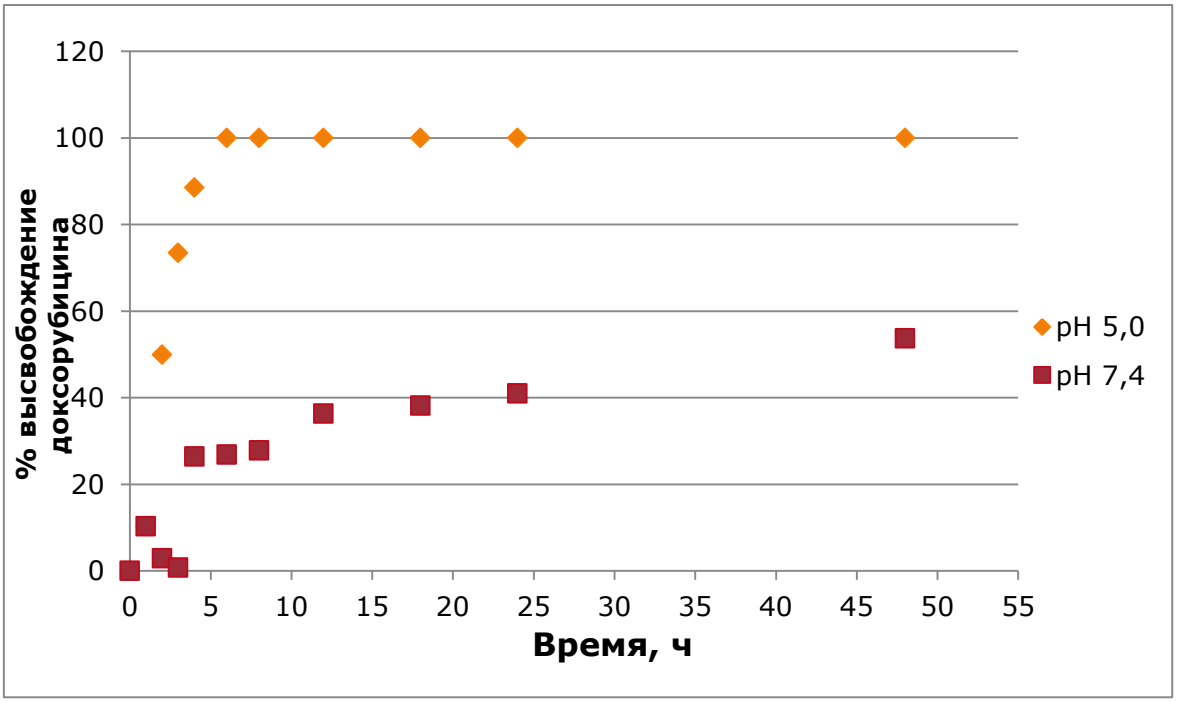


Рисунок 3.3.Гидролиз конъюгата **26** в 0,01 М фосфатном буферном растворе в смоделированных нейтральных (pH=7,4) и слабокислых условиях (pH=5,0).

3.3. Конъюгаты паклитаксела

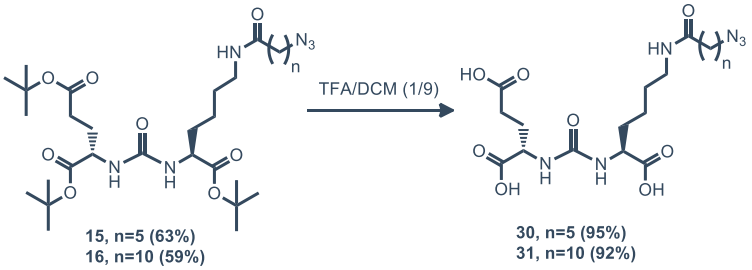
Для получения конъюгатов паклитаксела, как наиболее синтетически удобная, была использована синтетическая последовательность, ключевой стадией которой является реакция азид-алкинового циклоприсоединения. Для этого в структуру лиганда ПСМА был введен фрагмент, содержащий азидо-группу. В качестве азидосодержащих линкеров были выбраны 6-азидогексановая и 11-азидоундекановая кислоты. С использованием данных производных модификация лигандов могла быть проведена двумя синтетическими путями: с образованием амидной связи**(Схема 10, а)** или с образованием фрагмента мочевины (**Схема 10, б**). Разница в типе соединения линкера и структурного фрагмента, отвечающего за связывание лиганда с ПСМА, может влиять на

аффинность лиганда, а также на активность получаемых соединений. Поэтому при выполнении в данной части работы были синтезированы оба структурных типа лигандов.

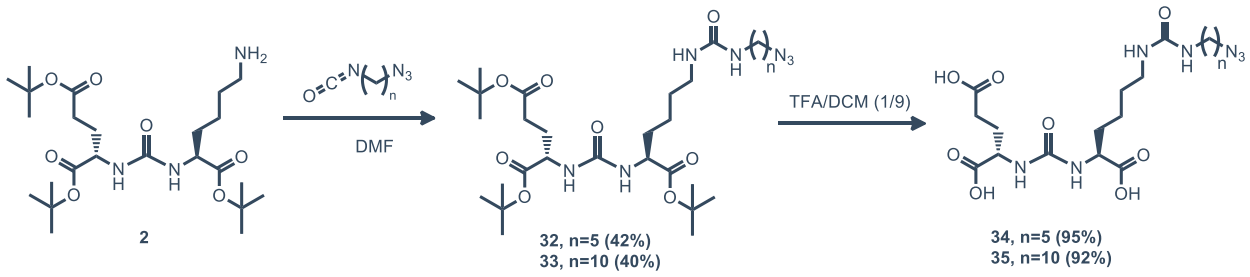
3.3.1 Синтез лигандов ПСМА

Ранее синтезированные азид-содержащие молекулы **15** и **16** были использованы для синтеза лигандов для конъюгации с паклитакселом. Для этого они были введены в реакцию с трифторуксусной кислотой, в результате чего было получены соответствующие кислоты **30** и **31**.

Синтез лигандов с мочевинным типом сочленения был реализован с использованием 1-азидо-6-изоцианатогексана и 1-азидо-11-изоцианатоундекана, с получением соединений **32** и **33**. Последующее удаление *трет*-бутильных групп дает лиганды **34** и **35**, которые дальше могут быть использованы для проведения реакции азид-алкинового циклоприсоединения.



(а)



(б)

Схема 3.10.Синтез лигандов на основе азид-содержащих линкеров с амидным (а) и мочевинным (б) типом сочленения.

Известно, что, согласно литературным данным, дополнительная модификация аминного атома азота лизина ароматическим фрагментом, содержащим атом галогена, улучшает способность лиганда к связыванию с ПСМА за счет взаимодействия с гидрофобным карманом, расположенным у сайта связывания. Наилучшие результаты по связыванию были продемонстрированы лигандами, содержащими атом галогена в *пара*-положении[22,40]. В связи с этим, в качестве векторного фрагмента для получения конъюгатов с паклитакселом было решено синтезировать серию ПСМА лигандов – производных мочевины на основе глутаминовой кислоты и лизина, несущих *n*-

галогенбензильный фрагмент при атоме азота наиболее удаленной от карбоксильного фрагмента аминогруппы. Также помимо галоген-содержащих производных был получен лиганд с *п*-гидроксибензильным фрагментом, с целью улучшения водорастворимости получаемых конъюгатов. Для синтеза указанных производных **36-39** была использована реакция восстановительного аминирования *пара*-замещенных бензальдегидов с соединением **2** в присутствии триацетоксиборогидрида натрия (STAB) в качестве восстановителя. Исследование влияния соотношения амин-альдегид на примере реакции амина**2** и *п*-хлорбензальдегида (**Схема 3.11.**). позволило установить, что наибольший выход целевого продукта удается получить при реакции 1 эквивалента амина с 1 эквивалентом альдегида (**таблица 3.3**).

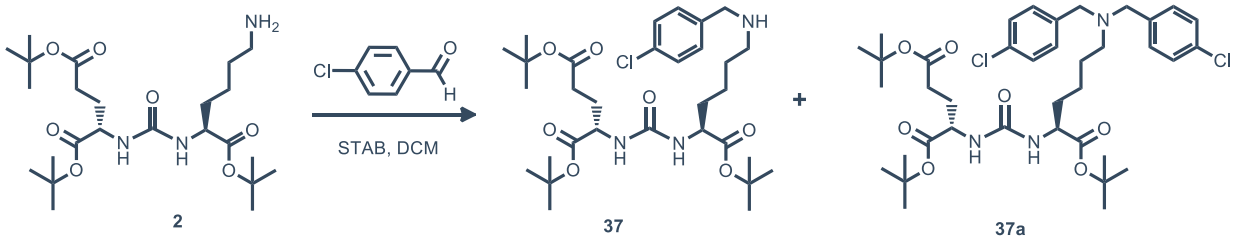


Схема 3.11.Реакция восстановительного аминирования соединения 2 с *п*-хлорбензальдегидом.

Таблица 3.3.Результаты оптимизации условий реакции **2** с *п*-хлорбензальдегидом

Число эквивалентов альдегида на 1 эквивалент амина	**Выход продукта 37, %**	**Выход продукта 37a, %**
1	68	0
1,5	5	20

По оптимизированной методике были далее синтезированы соединения **36-39 (Схема 3.12).**

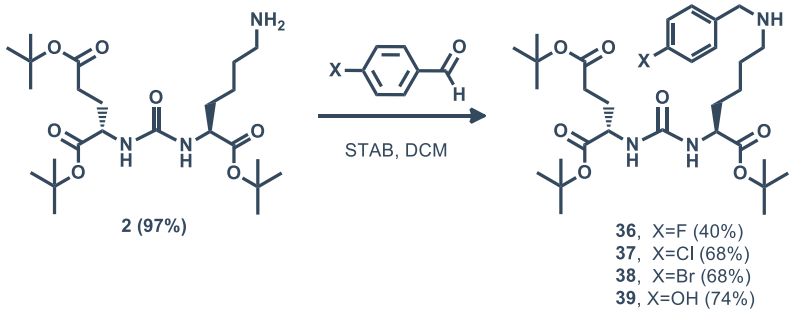


Схема 3.12.Получение алкилированных лигандов ПСМА с ароматическим фрагментом.

Для получения конъюгатов с противоопухолевым препаратом в структуру векторного фрагмента необходимо ввести линкер, содержащий функциональную группу,

которая может быть использована для образования связи с молекулой препарата или его модифицированного производного. Широко применяемой стратегией синтеза конъюгатов является использование реакции азид-алкинового циклоприсоединения с образованием 1,2,3-триазола, который может выступать в качестве биоизостерической замены пептидной связи. Введение ацильной группы, в дополнение к уже имеющемуся ароматическому заместителю при атоме азота лизина в лиганде ПСМА DCL, также может способствовать улучшению связывания с ПСМА[40]. Оптимизация методики образования пептидной связи была проведена намина примере реакции соединения **37** с 6-азидогексановой кислотой.

Реакция создания пептидной связи, повсеместно используется в пептидном синтезе. В качестве катализаторов используются реактивы, приводящие к образованию активированных эфиров, которые с легкостью реагируют с аминокислотами. В качестве активирующих реагентов используются фосфониевые соли (BOP, PyBOP, PyBrOP и др.), урониевые соли (HBTU, HATU, TBTU и др.), карбодиимиды (DCC, EDC, DIC)[74,75]. HOBt (Бензотриазол-1-ол)- реагент препятствующий рацемизации продукта в ходе реакции, поэтому он используется вместе с HBTU.В качестве основания, депротонирующего кислоту, используется диизопропилэтиламин (DIPEA).

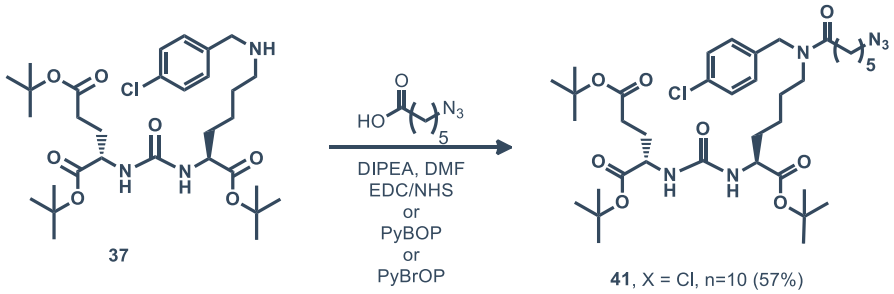


Схема 3.13.Оптимизация условий реакции ацилирования соединения **37**.

Для сравнения различных агентов образования амидной связи, на примере получения соединения **41** (**Схема 3.13**), были выбраны EDC, PyBOP, PyBrOP. Реакции проводили согласно модифицированным стандартным протоколам для пептидного синтеза[74]**Ошибка! Закладка не определена.**. Наилучший результат был достигнут при использовании реагента PyBOP, однако агент PyBrOP также позволил получить высокие выходы в данной реакции (**Таблица 3.4**), в отличие от реагента EDC, при использовании которого целевой продукт был обнаружен в смеси лишь в следовых количествах. Исходя из более высоких выходов в случае агента PyBOP, а также его большей доступности, далее для ацилирования вторичной амино-группы применялся этот реагент. Методика с его использованием была применена для синтеза соединений **40-46**, на примере получения соединения **41**(**Схема 3.14**).

Таблица 3.4.Результаты оптимизации условий реакции **31** с 6-азидогексановой кислотой.

Реагент	**Выход целевого продукта, %**
EDC, NHS	Следовые количества
PyBOP	57
PyBrOP	52

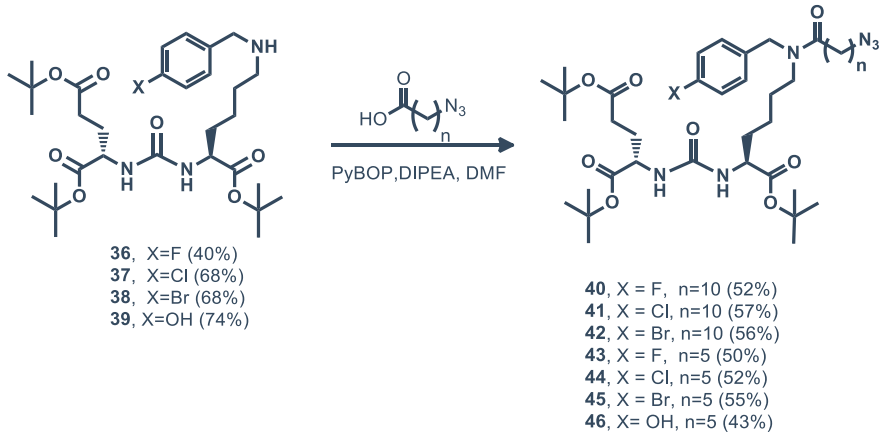


Схема 3.14.Ацилирование соединений **36-37** производными азидокислот.

Для возможности связывания с ПСМА у лиганда на основе DCL необходимо наличие свободных карбоксильных групп. Превращение *трет*-бутиловых эфиров **47-53**в карбоновые кислоты осуществляли действием трифторуксусной кислоты в дихлорометане. При этом важен подбор концентрации кислоты таким образом, чтобы, с одной стороны, происходило удаление всех *трет*-бутильных групп в молекуле и, с другой стороны, были сведены к минимуму выходы побочных продуктов, образование которых возможно ввиду наличия азидо-группы, чувствительной к кислотным условиям[76].

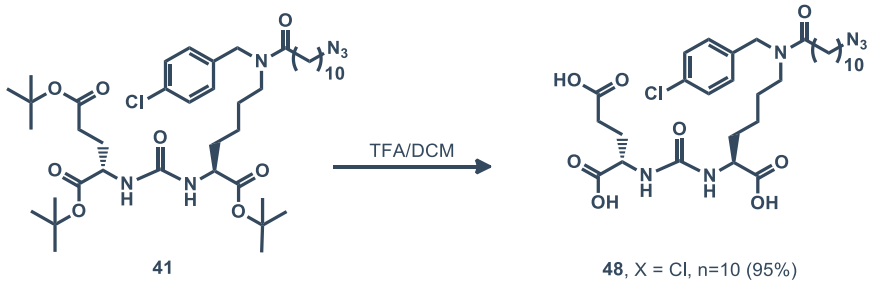
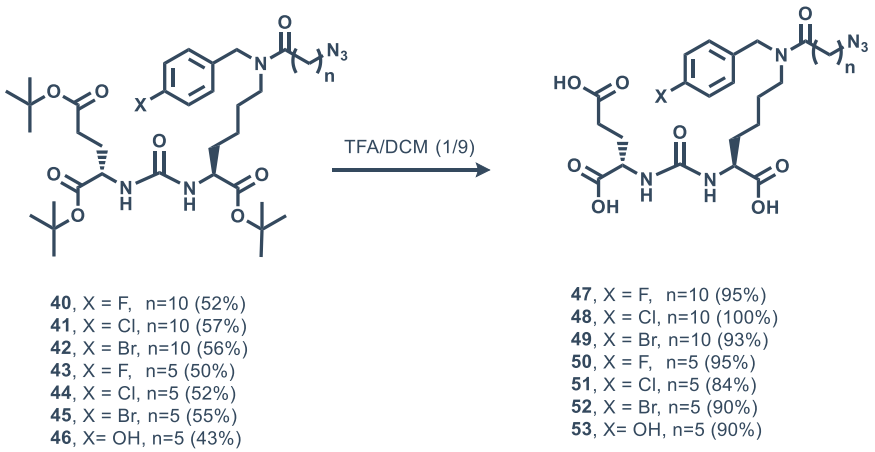


Схема 3.15.Оптимизация условий удаления *трет*-бутильных защитных групп.

При получении соединения **48** была проведена оптимизация условий проведения данной реакции (**Схема 3.15)**. Концентрацию трифторуксусной кислоты варьировали в пределах 6 – 15%; наилучший результат был достигнут при использовании концентрации 10%, как и ранее при синтезе лигандов для получения конъюгатов доксорубицина (**Таблица 3.5**). Анализ реакционной смеси проводили методом ВЭЖХ-МС. Оптимизированная методика была применена для синтеза соединений **47-53**(**Схема 3.16**).

Таблица 3.5. Результаты оптимизации условий реакции удаления *трет*-бутильной группы.

Концентрация трифторуксусной кислоты, %	**Содержание продукта 15 (LC-MS), %**
8	57
10	95
12	74
15	59



40, X = F, n=10 (52%)
41, X = Cl, n=10 (57%)
42, X = Br, n=10 (56%)
43, X = F, n=5 (50%)
44, X = Cl, n=5 (52%)
45, X = Br, n=5 (55%)
46, X= OH, n=5 (43%)

47, X = F, n=10 (95%)
48, X = Cl, n=10 (100%)
49, X = Br, n=10 (93%)
50, X = F, n=5 (95%)
51, X = Cl, n=5 (84%)
52, X = Br, n=5 (90%)
53, X= OH, n=5 (90%)

Схема 3.16.Удаления *трет*-бутильных защитных групп с соединений **40-48**

Выделение целевых соединений, после удаления трифторуксусной кислоты и дихлорметана при пониженном давлении, осуществлялся многократной промывкой реакционной смеси диэтиловым эфиром. Соединения **47-53** были охарактеризованы данными спектроскопии ЯМР на ядрах ^{1}H и ^{13}C, масс-спектрометрии высокого разрешения. Для соединений, содержащих азидо-группу, также зарегистрированы ИК спектры.

3.3.2 Модификация паклитаксела

В отличие от препарата доцетаксел, получение конъюгатов с использованием непосредственной реакции паклитаксела с помощью модифицированного ПСМА лиганда затруднено, и в связи с этим для получения конъюгатов необходима предварительная модификация структуры противоопухолевого препарата. Анализ литературных данных по влиянию модификаций различных структурных фрагментов паклитаксела на его активность[77,78] позволяет предположить, что наиболее подходящим путем для введения линкера является образование сложноэфирной связи с одной из имеющихся вторичных гидроксильных групп. Известно, что в клетках сложные эфиры паклитаксела подвержены гидролизу с высвобождением немодифицированного препарата, что позволяет использовать эту функциональную группу для конъюгации паклитаксела с векторным

фрагментом[79].В молекуле данного лекарственного препарата присутствуют две гидроксильные группы в положениях 2’-OH и 7-OH. Согласно исследованиям структура-активность производных паклитаксела, модификация положения 7-OH должна наименьшим образом сказываться на активности получаемых производных[17].В качестве линкера, содержащего тройную связь для последующей конъюгации с векторным фрагментом с использованием реакции [3+2] азид-алкинового циклоприсоединения, нами была выбрана гексин-5-овая кислота. Фрагмент этого соединения в составе линкера позволяет достичь итоговой длины гидрофобного линкера в 20Å, что необходимо для создания эффективно связывающегося с рецептором конъюгата[67].

Для анализа влияния положения ПСМА-лиганда на активность полученных конъюгатов нами были получены сложные эфиры с 5-гексиновой кислотой как в положении 2’, так и в положении 7 (**Схемы 17-18**). В первом случае модифицированное производное паклитаксела получалось реакцией прямого ацилирования паклитаксела в присутствии диизопропилкарбодиимида (DIC) и каталитического количества 4-(N,N-диметиламино)пиридина (DMAP). Полученное соединение **53a** было охарактеризованы данными спектроскопии ЯМР на ядрах ^{1}H и ^{13}C и масс-спектрометрии высокого разрешения.

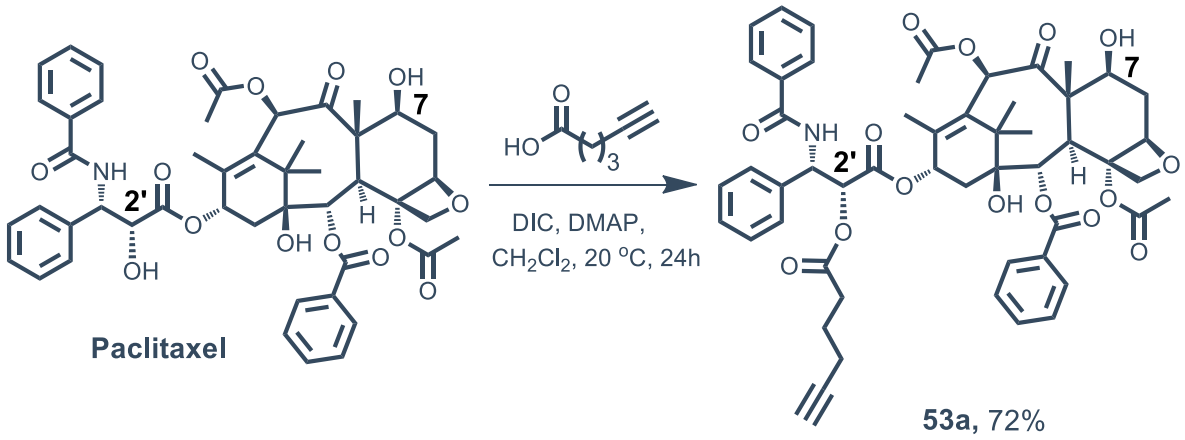


Схема 3.17.Модификация паклитаксела в 2’-OH положение.

Для модификации положения 7-OH была разработана синтетическая схема с введением *трет*-бутилдиметилсилильной (TBDMS) защитной группы (**54)**, последующей реакцией ацилирования 7-OH группы в стандартных условиях, в присутствии реагентов DIC и DMAP, с образованием соединения **55**. На заключительном этапе была удалена защитная группа TBDMS под действием *трет*-бутиламмоний фторида, в результате чего было получено соединение **56.**

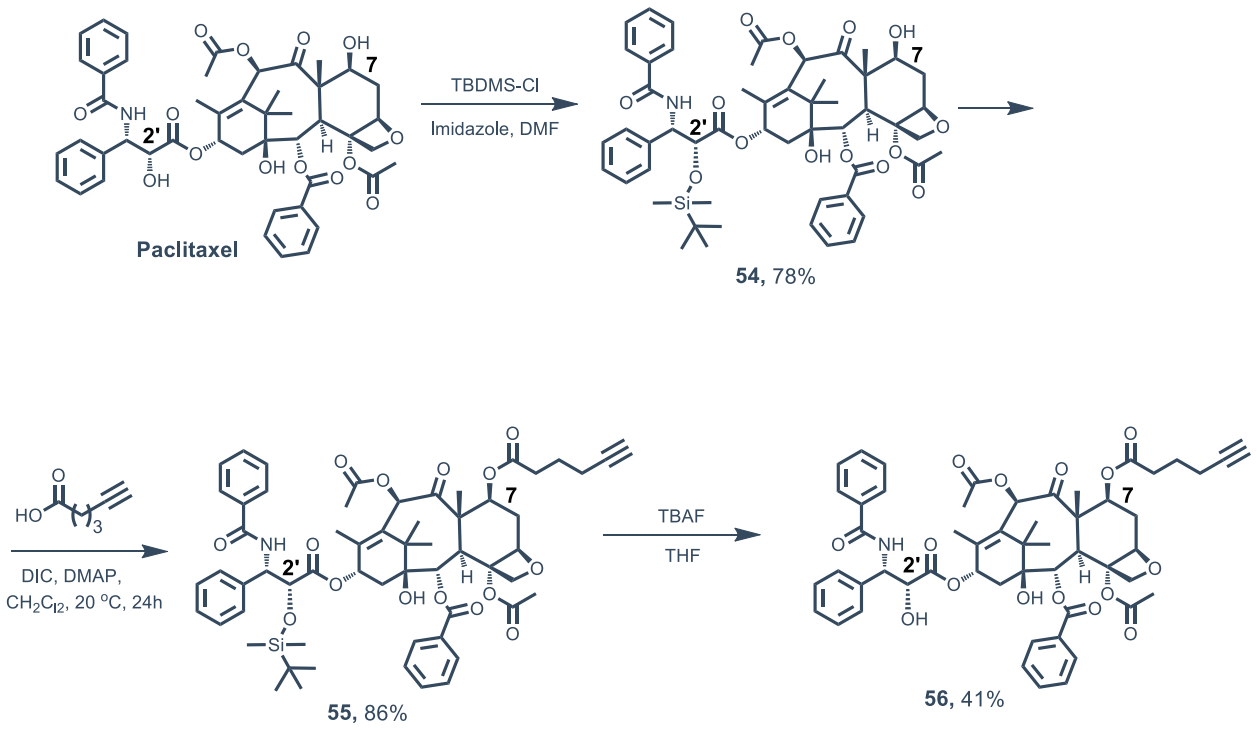


Схема 3.18.Модификация паклитаксела в 7-ОН положение

3.3.3 Синтез конъюгатов лиганда ПСМА и паклитаксела

Реакция азид-алкинового циклоприсоединения с образованием 1,4-дизамещенного 1,2,3–триазола широко используется для синтеза разнообразных адресных терапевтических и диагностических конъюгатов (“клик”-реакция). К ее достоинствам относится простота исполнения, высокие выходы целевых продуктов, селективность по отношению к функциональным группам (затрагиваются только азидная группа и тройная связь углерод-углерод), стабильность и относительная химическая инертность образующегося триазольного фрагмента. Кроме того, 1,4-дизамещенные 1,2,3-триазолы являются биоизостерами пептидной связи. На основании анализа литературы, посвященной условиям проведения реакции азид-алкинового циклоприсоединения, нами была выбрана система сульфат меди(II) – аскорбат натрия в качестве источника ионов Cu^{+}, и смесь диметилфомамида и воды в соотношении 4:1 в качестве растворителя.

На первом этапе был произведен синтез двух конъюгатов **57** и **59** с использованием лиганда **31,** для установления оптимального для модификации положения паклитаксела. По результатам *in vitro* тестирований было установлено, что конъюгат **57**обладает значительно менее выраженной токсичностью как на ПСМА-положительных, так и на ПСМА-отрицательных клеточных линиях, что свидетельствует о значительном влиянии вводимого структурного фрагмента ПСМА лиганда на активность противоопухолевого препарата. По этой причине дальнейший синтез конъюгатов паклитаксела был осуществлен на примере 2’-замещенных производных.

В результате было получено 5 конъюгатов, содержащих алифатические линкеры как с амидным (**57-59**), так и с мочевинным (**60-61**) типом сочленения (**Схема 3.19)**.

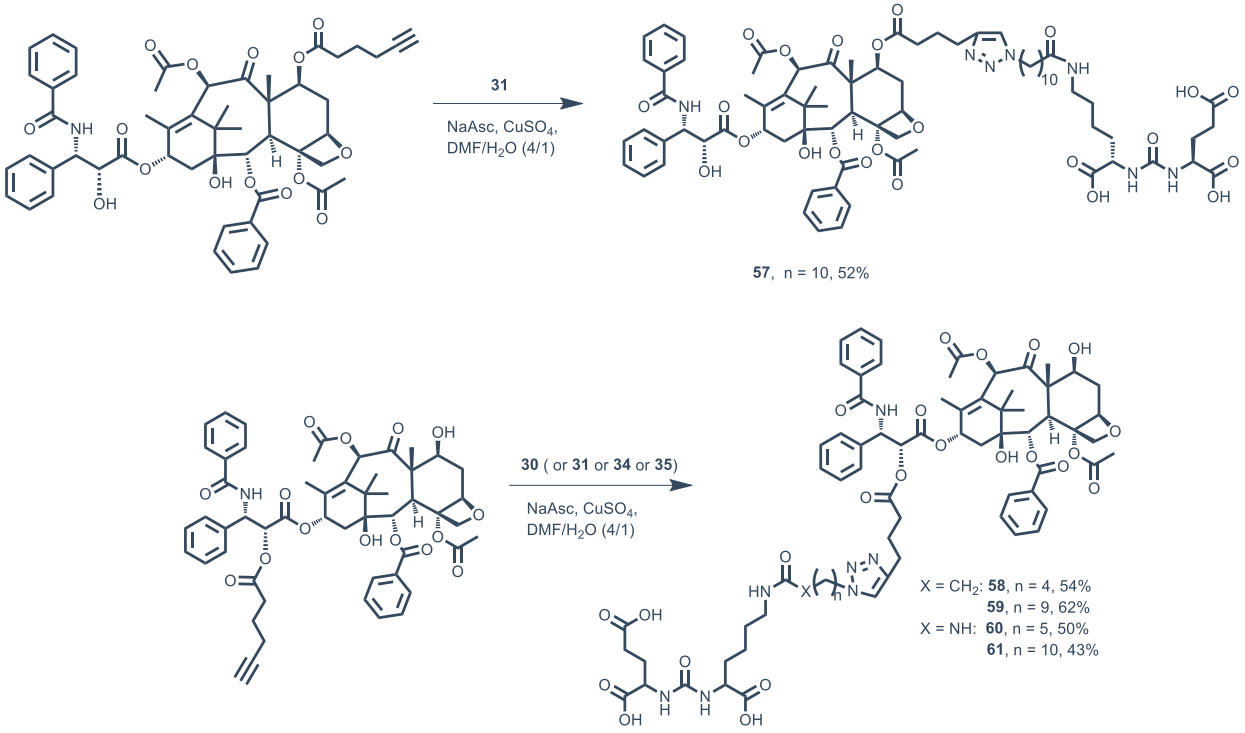


Схема 3.19.Получение конъюгатов**57-61** лигандов ПСМА**30-31** и **34-35** на основе паклитаксела с использованием «клик»-реакции.

Аналогичный подход с использованием клик-реакции был использован для синтеза конъюгатов, содержащих ароматический фрагмент при ε-амино-группе лизина. По **схеме 3.20** из лигандов **47-53**, были получены соответствующие конъюгаты **62-68**.

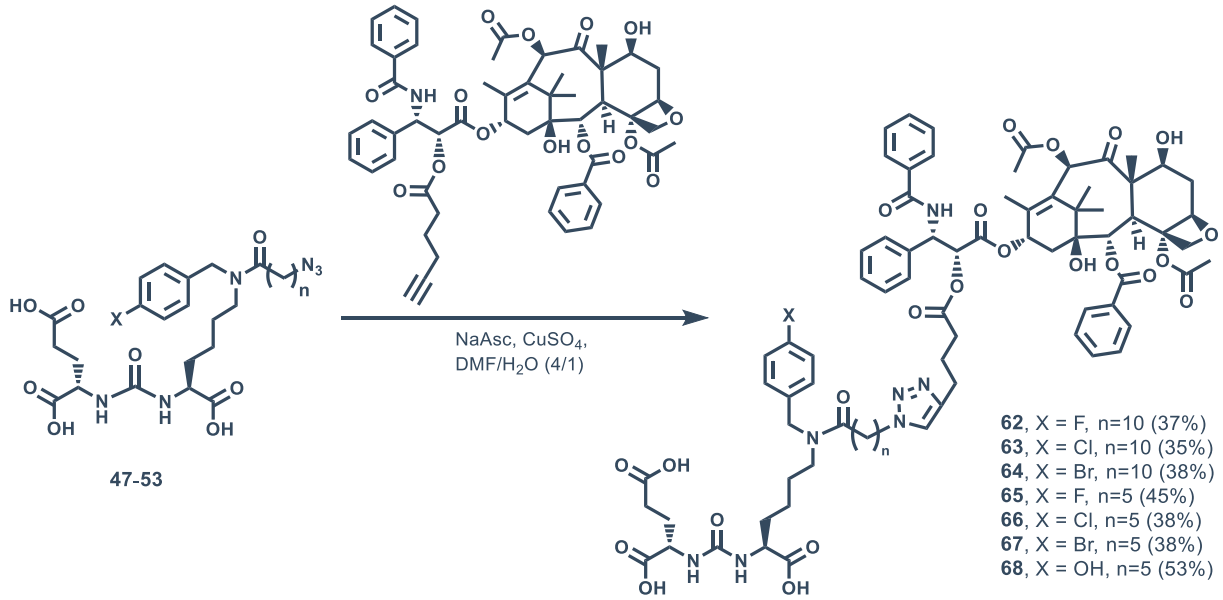


Схема 3.20.Получение конъюгатов **62-68** лигандов ПСМА **47-53**, содержащих ароматический фрагмент, на основе паклитаксела с использованием «клик»-реакции.

Все полученные соединения **58-68** были охарактеризованы методами ЯМР ^{1}H, масс-спектрометрии высокого разрешения; чистота полученных соединений составляла не менее 95% по данным ВЭЖХ-МС.

3.3.4 *In vitro* исследование токсичности конъюгатов лиганда ПСМА и паклитаксела

Данная часть работы выполнена совместно с лабораторией химии нуклеопротеидов кафедры химии природных соединений МГУ имени М.В.Ломоносова.

На заключительной стадии нами была исследована цитотоксичность конъюгатов паклитаксела **57-68** на клеточных линиях рака предстательной железы человекаLNCaP (экспрессирующие ПСМА), 22Rv1 (экспрессирующие ПСМА) и PC-3 (не экспрессирующие ПСМА), а также легочных фибробластах VA-13 (неопухолевая клеточная линия). Для оценки цитотоксичности использовали стандартный MTS-тест[80]. Результаты представлены в т**аблице 3.6**.

Таблица3.6. Результаты определения параметра токсичности CC_{50} для соединений **57-68**на клеточных линияхLNCaP, 22RV1,PC3и VA-13.

	Цитотоксичность (CC_{50}), нМ				Селективность			
Клеточная линия	LNCaP	22Rv1	PC-3	VA-13	PC-3 vs LNCaP	VA-13 vs LNCaP	PC-3 vs 22Rv1	VA-13 vs 22Rv1
57	980	2623	2874	900	1.43	0.53	1.61	0.59
58	53	119	92	43	0.85	0.47	1.13	0.62
59	39	96	78	47	0.99	0.70	1.20	0.85
60	12	34	25	12	0.99	0.56	1.09	0.61
61	58	131	74	71	0.63	0.71	0.83	0.93
62	452	1125	474	427	0.51	0.54	0.62	0.65
63	43	118	20	32	0.22	0.43	0.24	0.47
64	66	52	25	44	0.18	0.38	0.70	1.46
65	349	1285	720	361	1.01	0.59	0.82	0.48
66	1462	1637	1012	667	0.34	0.26	0.91	0.70
67	497	1096	860	288	0.85	0.33	1.15	0.45
68	42	60	89	27	1.04	0.37	2.19	0.78
Ptxl	1.3	3.9	2.6	2.2	1.00	1.00	1.00	1.00

По данным *in vitro* тестов конъюгаты лигандов ПСМА **57-61**, не содержащие бензильного фрагмента при ε-амино-группе лизина, показали отсутствие избирательности к ПСМА-экспрессирующим линиям по сравнению с клеточной линии VA-13 (легочные фибробласты) независимо от длинны линкера в конъюгате. В то же время, в случае конъюгатов **57, 58** и **59** была обнаружена слабо выраженная селективность действия по отношению к ПСМА-экспрессирующим клеточным линиям (LNCaP и 22Rv1)**.** В случае

конъюгатов **62-68**, содержащих *пара*-замещенный ароматический фрагмент, умеренную избирательность, по сравнению с паклитакселом, показал конъюгат **64**с*n*-Br заместителем. Однако его значения CC_{50}на всех клеточных линиях оказались более чем в 10 раз выше по сравнению с немодифицированным препаратом. Параллельно была проведена оценка эффективности неконъюгированных с паклитакселом лигандов ПСМА **51-53** в сравнении со стандартным соединением DCL, а также их цитотоксичность на неопухолевой клеточной линии VA-13 **(Таблица3.7)**. В результате было показано, что значение IC_{50} для ингибирования расщепления N-ацетил-аспартил-глутамата под действием ПСМА, для лигандов **51-53** в ~10 раз ниже по сравнению со стандартным лигандом DCL, что свидетельствует об их большей аффинности к ПСМА. Анализ токсичности лигандов на условно-нормальной клеточной линии Va13 показал отсутствие выраженных токсических эффектов, значения CC_{50} составили >50μM. Важно отметить, что наибольшая селективность действия конъюгата была обнаружена как раз для наименее токсичного соединения (**57**). Исходя из вышесказанного, было выдвинуто предположение, что *in vitro* цитотоксический эффект полученных нами адресных конъюгатов с высокими значениями CC_{50} практически не зависит от адресных свойств лигандов и их токсичности, а в большей степени обусловлен токсическими свойствами модифицированного противоопухолевого препарата, и не может быть в полной мере оценен только с использованием *in vitro* моделей тестирования.

Таблица3.7.*In vitro* исследованиеэффективностиингибированиялигандами**51-53** реакции расщепления NAAAG под действием ПСМА (IC_{50}, нМ) и цитотоксичность CC_{50} (μM) на клеточной линииVA-13 (легочные фибробласты, неопухолевая клеточная линия).

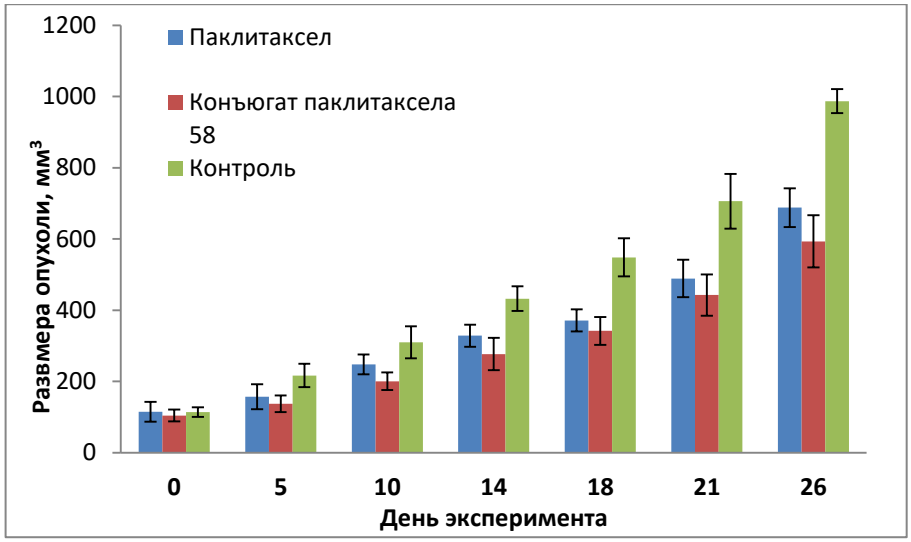
Соединение	**ε-NH2 бензильный фрагмент**	**GCPII IC_{50}, нМ**	**VA13CC_{50}, μM,**
51	*n*-Cl	110	>100
52	*n*-Br	170	Не токсично
53	*n*-OH	140	50,2
DCL	Нет	1470	>100

Для дополнительного исследования эффективности конъюгатов паклитаксела, одно из полученных соединений было протестировано *in vivo* на ксенографтной мышиной модели рака предстательной железы 22Rv1. В качестве тестируемого конъюгата было выбрано соединение **58**, обладающее средними среди полученной серии конъюгатов

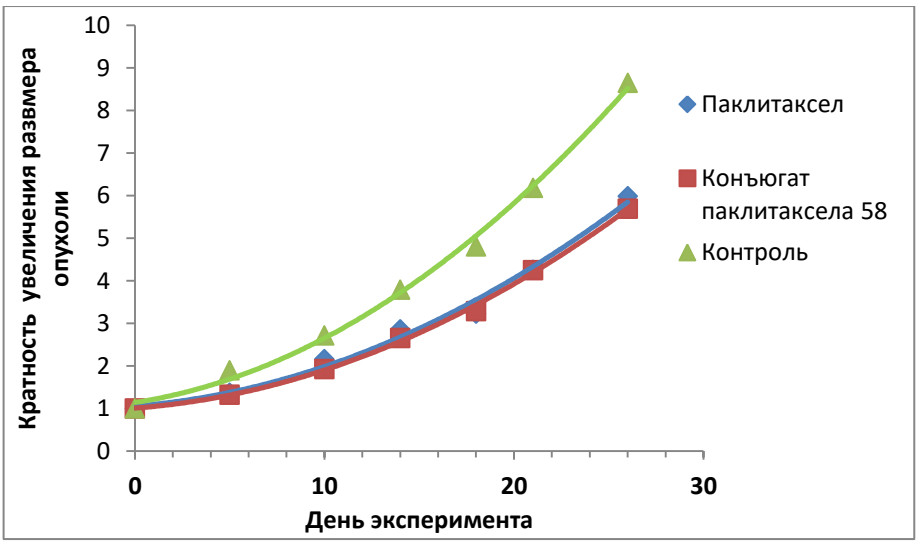
значениями токсичности (CC_{50} (LNCaP)= 58 нм, CC_{50} (PC-3)= 92 нм) по данным *in vitro* тестирований.

Данная часть работы выполнена совместно с отделением модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена.

Поданным *in vivo* тестирований было установлено, что показатель торможения роста опухоли (ТРО) при использовании конъюгата**58** и препарата паклитаксел (вводимых в эквивалентных мольных дозировках) оказался сопоставимым и составил ~30% относительно контрольной группы (**Рисунок 3.4**).



(а)



(б)

Рисунок 3.4.Увлечение размера опухоли на ксенографтной модели рака предстательной железы (22Rv1)при терапии с использованием паклитаксела 6 мг/кг (7 μM/кг); конъюгата **58** 10 мг/кг (7μM/кг) и контрольной группы–при введении 1% этанол в

воде: изменение объема опухоли (**а**); кратность изменение размеров опухоли относительно начала эксперимента (**б**).

3.4. Конъюгаты производных хлорина е6.

Помимо создания адресных конъюгатов с антимитотическим действием (доцетаксел и паклитаксел), перспективной задачей является введение в структуру конъюгатов молекул-фотосенсибилизаторов для осуществления фотодинамической терапии (ФДТ). Фотодинамическая терапия – один из методов лечения онкологических заболеваний, основанный на применении фоточувствительных молекул, воздействием на которые светом определенной длинны волны в присутствии кислорода достигается высвобождение высокоактивного синглетного кислорода. Образующиеся при этом радикалы и активные формы кислорода воздействуют на опухолевые ткани, вызывая некроз или апоптоз. Большинство из применяемых фотосенсибилизаторов представляют собой макрогетероциклы порфириновой природы, а также их гидрированные производные (хлорин и бактериохлорин)[81].

В настоящее время в урологии находит применение ряд фотосенсибилизаторов, таких как фотофринII, темопорфин, мотексафин лютеция, подопорфин (Tookad) и паделипорфин (WST11)[82].Наибольший интерес привлекают производные хлорофилла *а*, не только благодаря его спектральным характеристикам (максимум поглощения попадает в диапазон длин волн (650 – 950 нм) первого «окна прозрачности» биотканей[83], минимально поглощаемых тканями и органами), но и минимальной темновой токсичности.

Ключевым критерием для применения молекул для фотодинамической терапии является их способность накапливаться в опухолевых клетках и тканях. По этой причине создание адресных конъюгатов на основе фотосенисибилизаторов, для улучшения накопления в опухоли, является актуальной задачей. В настоящее время в литературе имеется ряд примеров создания таких лигандов с производными фолиевой кислоты или другими адресными фрагментами[84–87].

3.4.1 Синтез конъюгатов лиганда ПСМА и хлорина е6

Данная часть работы выполнена совместно с кафедрой химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии ФГБОУ ВО "МИРЭА - Российский технологический университет".

РанеевлитературебылиописаныконъюгатыфотосенсибилизаторовслигандамиПСМА, например с меткой IRDye700dx[88], а также имелся пример создания конъюгата с хлорином е6, в котором лиганд для направленной доставки был введен в 17^3-

положениехлорина[89]. В последней работе было показано, что такая модификация приводит к улучшению фототоксичности получаемого препарата. Помимо этого имеются примеры модификации производных хлорина e6 в другие положения (15^2 и 13^1) различными аминокислотами и аминами, причем было показано, что положение модификации существенным образом сказывается на фототоксичности, а также соотношении темновая токсичность/фототоксичность модифицированного фотосенсибилизатора. По этой причине для модификации хлорина e6 мы выбрали положения 15^2- и 13^1-. Для синтеза были использованы соответствующие цинковые комплексы производных хлорина, содержащие в указанных положениях фрагмент пропаргиламина[90]. Для синтеза конъюгата в качестве лиганда ПСМА была выбрана молекула **31**, содержащая длинный гидрофобный линкер, а также функциональную азидо-группу. Схема синтеза целевых конъюгатов **71**-**74**приведена ниже на **схеме 3.21**.

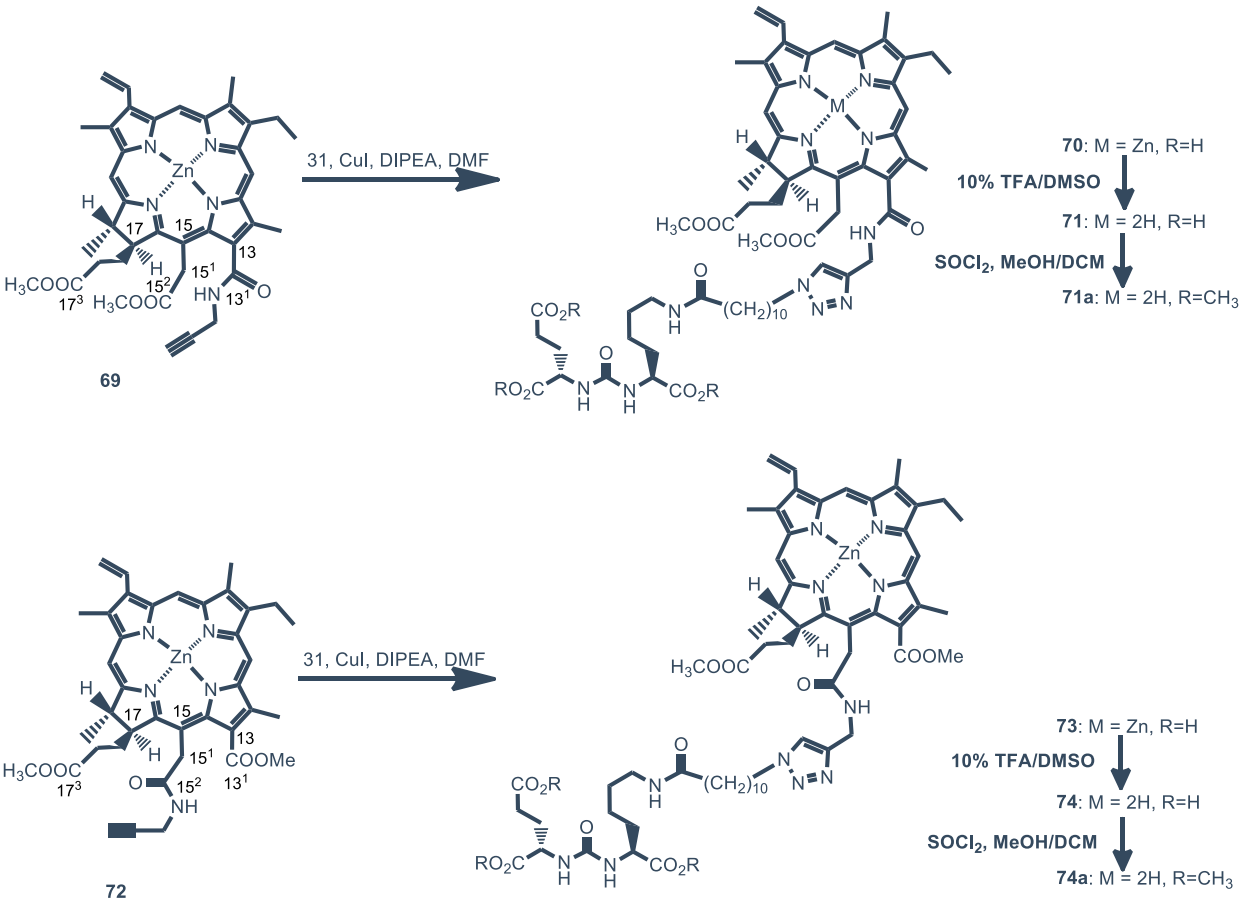


Схема 3.21.Синтез конъюгатов на основе производных хлорина e6.

В связи с тем, что для синтеза конъюгатов с производными хлорина e6 была использована реакция медь-катализируемого [3+2] азид-алкинового циклоприсоединения, для её проведения с получением конъюгатов **70** и **73** были использованы соответствующие цинковые комплексы **69**и **72**, что позволяет избежать координации

участвующих в каталитическом цикле ионов меди с порфириновым фрагментом. Последующее удаление иона цинка из хлориновых комплексов проводилось под действием 10% раствора трифторуксусной кислоты в ДМСО, в результате чего были получены конъюгаты **71** и **74**. Структура данных соединений была подтверждена с использованием только метода HRMS ввиду низкой растворимости конъюгатов в ДМСО-d6, а также других полярных органических растворителях. Для подтверждения структуры методом ЯМР спектроскопии, было решено провести реакцию метилирования карбоксильных групп ПСМА лиганда с использованием тионилхлорида в смеси метанол/дихлорметан. Таким образом были получены соединения **71а**и**74а**, которые продемонстрировали растворимость в $CDCl_3$, достаточную для регистрации спектров ^{1}Ни^{13}С ЯМР, в результате соответствующие сигналы хлоринового макроцикла, триазола и ундеканового линкера были обнаружены в спектрах данных соединений.

3.4.2 *Invitro* исследование токсичности конъюгатов лиганда ПСМА и хлорина е6

Данная часть работы выполнена совместно с отделением модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена.

Фототоксичность полученных конъюгатов **71** и **74** была протестирована на двух клеточных линиях рака предстательной железы 22Rv1 и PC-3, после инкубирования в течение 0.5, 1, 2, 4, и 6 часов (**Таблица 3.8**). Облучение проводили с помощью галогеновой лампы с широкополосным фильтром (λ = 620 nm, удельная мощность 18.2 ± 0.7 мВт/см^2, световая доза 10 Дж/см^2). В качестве контрольного образца был использован радахлорин, производное хлорина е6 с близкими к конъюгатам **71** и **74** фотофизическими свойствами. При тестировании *in vitro* было показано, что все исследованные вещества обладают противоопухолевой активностью по отношению к клеточным линиям рака предстательной железы. Максимальная фотоактивность конъюгата **71** на ПСМА-положительной клеточной культуре 22Rv1 наблюдалась после инкубации в течении 6 часов и составила 1.2 ± 0.1 μM, что превосходило его эффект на ПСМА-отрицательной клеточной линии PC-3 в 7 раз;мы полагаем, что такое различие может быть связано именно с экспрессией ПСМА-рецептора на поверхности клеток[29]. Помимо этого, конъюгат **71** показал большую эффективность на клеточной линии 22Rv1, чем радахлорин (CC_{50} = 3.0 ± 0.2 μM). Однако конъюгат **74** в аналогичных тестах не показал значительного улучшения активности. Значения CC_{50} оказались сопоставимыми на обоихк леточных линиях. Таким, образом было продемонстрировано, что положение введения

ПСМА-лигандов в структуру хлорина имеет существенное значение для накопления конъюгата внутри клетки, и сказывается на его биологической активности.

Таблица 3.8. Фототоксичность конъюгатов хлорина е6 с лигандами ПСМА, а также радахлорина в зависимости от времени предынкубации перед облучением.

	CC_{50}, μM				
Соединение/Время инкубации	0,5 ч	1 ч	2 ч	4 ч	6 ч
		22Rv1			
Конъюгат**71**	5,8±0,2	4,0±0,3	2,7±0,2	2,7±0,1	1,2±0,1
Конъюгат**74**	6,4±0,3	5,7±0,2	5,5±0,2	5,4±0,2	5,2±0,2
Радахлорин®	8,5±0,3	5,1±0,3	4,4±0,2	2,9±0,1	3,0±0,2
		PC-3			
Конъюгат**71**	12,0±0,4	11,4±0,2	10,9±0,4	10,2±0,5	8,5±0,3
Конъюгат**74**	13,6±0,5	8,3±0,3	6,2±0,3	5,5±0,2	5,4±0,2
Радахлорин®	17,2±0,4	13,3±0,3	6,9±0,3	5,1±0,4	4,3±0,2

3.5. Конъюгаты производных доцетаксела и монометил ауристатина Е.

Данная часть работ была выполнена в рамках реализации постановления Правительства РФ от 9 апреля 2010 г. N 218 "О мерах государственной поддержки развития кооперации российских образовательных организаций высшего образования, государственных научных учреждений и организаций, реализующих комплексные проекты по созданию высокотехнологичного производства, в рамках подпрограммы "Институциональное развитие научно-исследовательского сектора" государственной программы Российской Федерации "Развитие науки и технологий" на 2013 - 2020 годы" совместно с ООО "ИзвариноФарма"

В разделах 3.2 и 3.3 настоящей работы были представлены лиганды, содержащие ароматический фрагмент при ε-амино-группе лизина, либо содержащие дипептиды на основе ароматических аминокислот. Логичным продолжением данных исследований является объединение в структуре лиганда данных структурных фрагментов, и введение в его молекулу одновременно трёх ароматических группировок, что может оказать существенное влияние на аффинность получаемых ПСМА-лигнадов. Для проверки целесообразности такого подхода совместно с лабораторией медицинской химии и

биоинформатики Московского физико-технического института (МФТИ) было проведено предварительное *in silico* моделирование.

3.5.1 *In silico* моделирование связывания лигандов с ПСМА

На первом этапе *in silico* скрининга была создана виртуальная библиотека структур для осуществления расчетных процедур молекулярного докинга. Для этого была использована программа Chemosoft[91].Было сгенерировано ~2,5 миллиона виртуальных соединений с общей структурной формулой, представленной на **рисунке 3.5**.

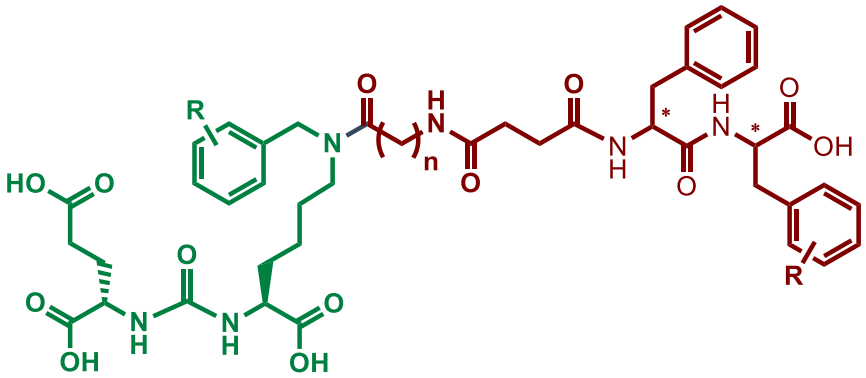


Рисунок. 3.5. Общая структурная формула исследуемых структур. В качестве заместителей были использованы атомы галогенов (-Cl, -F, -Br), нитрогруппа (-NO_2), алкильные заместители (-CH_3, -C_2H_5, -OCH_3, -OC_2H_5), гидроксильная группа (OH), атом водорода (H). Длина линкера варьировалась в пределах n=2-5 (этил, пропил, бутил и пентил).

В результате компьютерного моделирования было установлено, что в сайте связывания лиганда ПСМА присутствуют две отдельные области: **а**) консервативный каталитический центр с минимальной конформационной подвижностью и его ближайшее аминокислотное окружение; **б**) конформационно подвижные аминокислоты, включая R463, R534 и R536, формирующие выход из сайта связывания. Также были обнаружены конформационные изменения в петлевых участках, в особенности на выходе из гидрофобного тоннеля, выходящего из активного сайта ПСМА. Указанная конформационная подвижность необходима, в частности, для связывания молекул с ковалентно присоединенными и сравнительно длинными линкерами. Сайт связывания был определен и смоделирован на основании суперпозиции четырех кристаллических структур (4JYW, 2XEG, 3D7D и 4NGQ). В ходе анализа были выявлены позиции, занятые консервативными молекулами воды, которые не были исключены на стадии процедуры докинга. В сайте было обнаружено четыре кармана, способных связывать гидрофобные □-насыщенные фрагменты, включая замещенный фенил (**рисунок 3.5**). Карман №1 расположен вблизи активного сайта и образован следующими аминокислотами: F209,

Y700, Y552, R210, Y234, Y205, G206 и K207, карман №2 – триадой подвижных аргининов R536, R534 и R463, карманы №3 и №4 - W541, T461, S501, R511, R463, S513, I512, E505, P510, S503, P504, соответственно. В результате компьютерного эксперимента была создана трехмерная модель основного сайта связывания ПСМА рецептора с лигандами на основе мочевины, определены ключевые супрамолекулярные взаимодействия, ответственные за связывание лигандов и несколько карманов, подходящих для взаимодействия с гидрофобными фрагментами, в том числе ароматическими. Определены расстояния между основными точками связывания и объемы обнаруженных карманов.

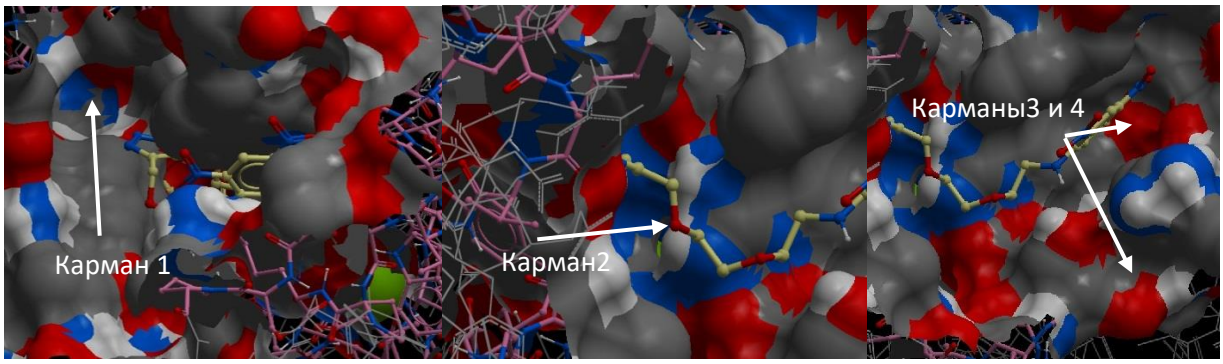
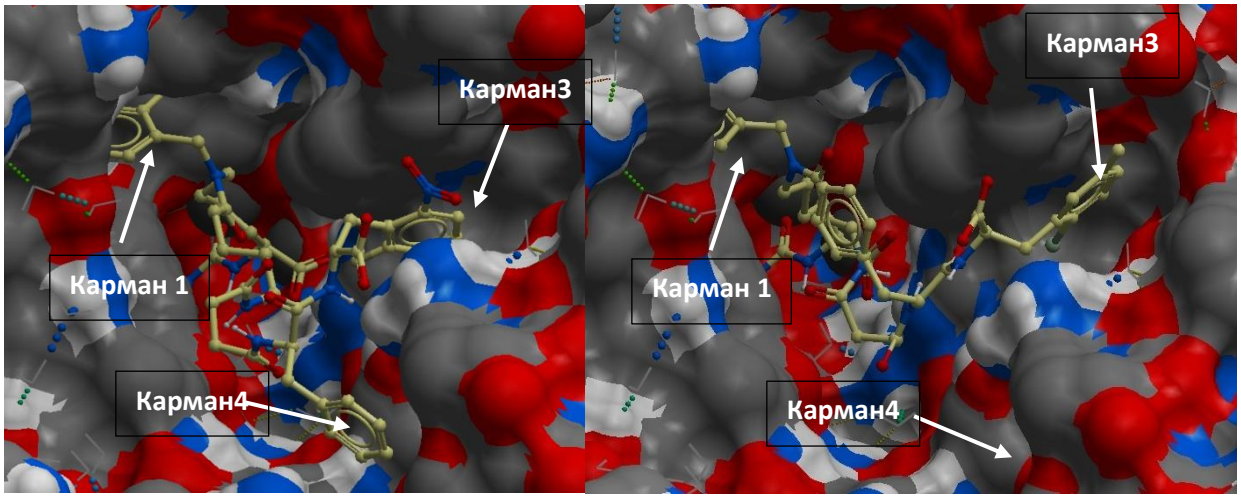


Рисунок 3.6.Карманы в сайте связывания ПСМА рецептора доступные для фрагментов в структуре лигандов

3.5.2 Прогнозирование аффинности структур по отношению к ПСМА рецептору

После стадии валидации модели была спрогнозирована аффинность библиотеки сгенерированных структур (**рисунок 3.6**) содержащей три ароматических структурных фрагмента в структуре ПСМА лиганда. Докинг осуществляли в программе MOE, с использованием динамического режима и 5-центровой фармакофорной модели. Отметим, что в динамическом режиме близлежащим к лиганду аминокислотам придается вращательная и поступательная степени свободы, что позволяет анализировать возможность связывания лигандов не только по принципу «*ключ-замок*», но и по принципу «*вынужденного соответствия*». Молекулы воды были удалены из сайта, за исключением консервативных позиций. Процедура докинга была осуществлена с использованием потокового протокола (*batchmode*). В результате в результате моделирования для каждой структуры из описанной ранее виртуальной базы было сгенерировано в среднем 30 различных возможных активных конформаций. Ранжирование между конфирмациями осуществляли на основании значений энергетического скоринга и экспертной оценки. В результате было показано, что ряд структур демонстрируют сравнимые с референсными молекулами значения скоринга (-

E_{score}<80-100 ккал/моль). Как видно из **рисунке 3.7а**, два фрагмента фенилаланина, расположенные в терминальной части линкерной области, способны связываться с карманами 3 и 4, обнаруженными на выходе из тоннеля. Однако в наборе возможных конформаций присутствовали и те, для которых не терминальный фенилаланин занимает альтернативную позицию (**Рисунок 3.7, б**), при этом значения виртуального скоринга не сильно отличаются. Концевой фенилаланин в большинстве случаев располагается в кармане 3, вступая в π-катионное взаимодействие с аргинином и планарные стекинг-взаимодействия с триптофаном, образуя «сэндвичевую» структуру.



а **б**

Рисунок 3.7.Докинг лигандов, содержащих три ароматических фрагмента, в структуру ПСМА рецептора.

По результатам докинга было спрогнозировано, что введение в ароматический фрагмент при ε-амино-группе лизинаBr- и Cl-заместителей, а также OH- и NO_2-групп, может способствовать связыванию. Анализ моделирования на примере дизамещенных ароматических фрагментов показал, что наилучшие значения скорингов показали ароматические фрагменты, замещенные в *пара-*/*орто-* или *пара-*/*мета-* положения. Следует отметить, что для осуществления корректной процедуры молекулярного докинга структуры были модифицированы до терминальных аминокислот в структуре линкера (**Рисунок 3.5**). При этом рассматривались только такие конформации, в которых С-конец дипептида линкера был направлен из сайта связывания, что учитывает финальную структуру конъюгатов, синтетически модифицированных лекарственными молекулами и средствами диагностики. По результатам докинга было показано, что наибольшими значениями энергетического скоринга обладают структуры с длиной линкерной последовательности 3-6 метиленовых звеньев. При этом геометрия связывания потенциальных лигандов сохранялась. Бензильный фрагмент, присоединенный к лизину,

вблизи активного сайта позиционировался в большинстве случаев в карман №1; заместители в положениях 2 и 4 вносят наибольший вклад в связывание лигандов.

Таким образом, с учетом синтетической доступности соответствующих альдегидов для получения N-бензильных производных реакцией восстановительного аминирования, Cl-, OH-, F- и NO_2-замещенные производные можно отнести к наиболее перспективным. Во всех случаях супрамолекулярные взаимодействия, наблюдаемые между фрагментом замещенной мочевины и аминокислотами, составляющими активный сайт фермента, соответствовали опубликованным кристаллографическим данным. Воспроизводимых и надежных результатов докинга с различными заместителями при нетерминальном фенилаланине получено не было, вследствие чего было отдано предпочтение незамещенному аналогу. Основываясь на статистических данных, полученных в ходе компьютерного эксперимента, можно предположить, что наиболее предпочтительными являются структуры с L-конфигурацией терминального фенилаланина, в то время как нетерминальный фенилаланин способен одинаково хорошо связываться как в L-, так и в D-изомерном состоянии. Однако в отдельных случаях хорошие скоринги продемонстрировали и D,D-изомеры. Это наблюдение требовало экспериментальной проверки. Поэтому на следующем этапе нами был осуществлен синтез серии лигандов, рекомендованных по данным компьютерного моделирования.

3.5.3 Синтез лигандов ПСМА с тремя ароматическими фрагментами

Синтез лигандов ПСМА с тремя ароматическими фрагментами может быть осуществлен на базе ранее разработанных синтетических методов.

Заместители в ароматическом фрагменте при ε-амино-группе лизина были выбраны исходя из данных молекулярного моделирования, а также ранее полученных данных биологических исследований. В качестве заместителей использовались как ранее реализованные структурные фрагменты **37** и **38**, содержащие *п*-Cl и *п*-Br заместители, так и новые производные со следующими заместителями: *м*-хлор (**76**), *м*-фтор-*п*-хлор (77), *о*-фтор-*п*-хлор (**78**) или с незамещенным ароматическим кольцом (**75**), изображенные на **схеме 3.22**.

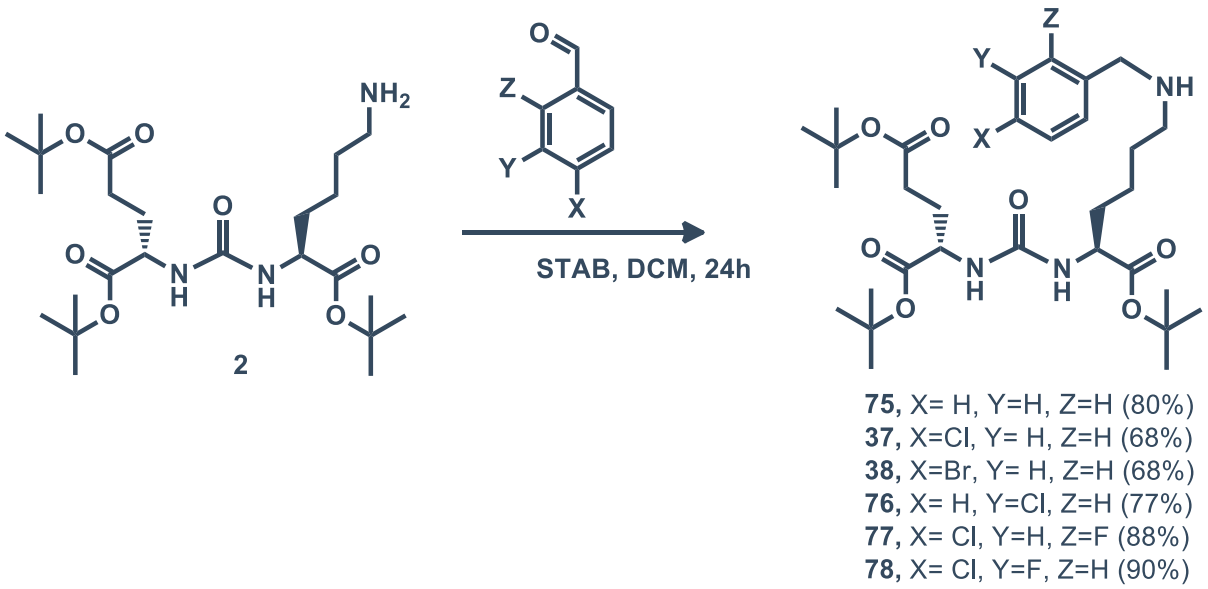
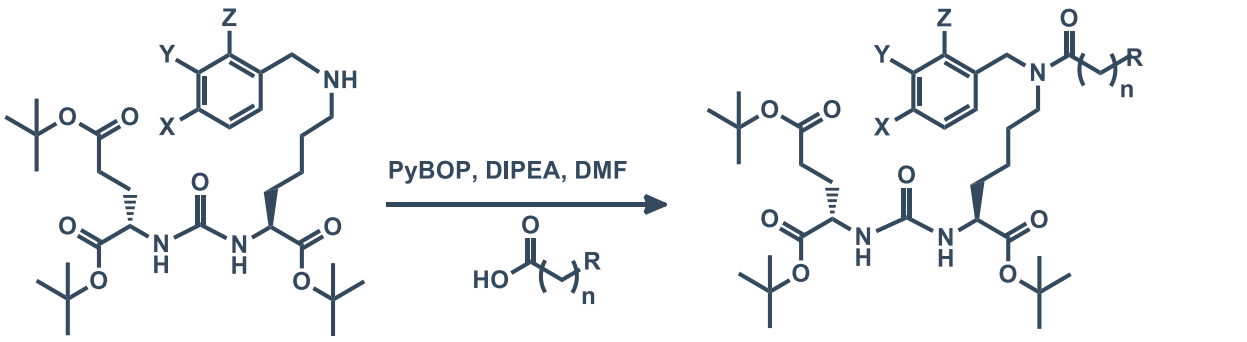


Схема 3.22. Получение алкилированных лигандов ПСМА с ароматическими фрагментами, предложенными по результатам молекулярного моделирования.

Выделение полученных соединений проводили методом колоночной хроматографии с использованием градиента метанол:дихлорметан от 0 до 100%. В спектрах ^{1}H ЯМР полученных соединений можно выделить ряд характеристичных для данных соединений сигналов. Это сигналы в области 7.5-7.0 м.д. различной мультиплетности, соответствующей протонам ароматического кольца, что свидетельствует об успешном введении ароматического заместителя в соответствующие молекулы **37**, **38**, **76-78**. Также характерным для данных соединений является наличие дублета триплетов с интегральной интенсивностью 2H,или наложения данных сигналов, в области 4.35-4.30 м.д., которые относятся к протонам при третичных углеродах рядом с фрагментом мочевины, и синглетов в области 1.50-1.40 м.д. с интегральной интенсивностью 27H, соответствующих *трет*-бутильным защитным группам.

Последующее ацилирование производных **3**7, **38**,**76-78** 6-азидогексановой кислотой или N-Cbz-аминогексановой кислотой в случае соединения **75**позволило получить соединения **44, 45, 79-83**, которые были далее использованы в синтезе аминосодержащих производных – предшественников лигандов ПСМА (**Схема 3.23)**.



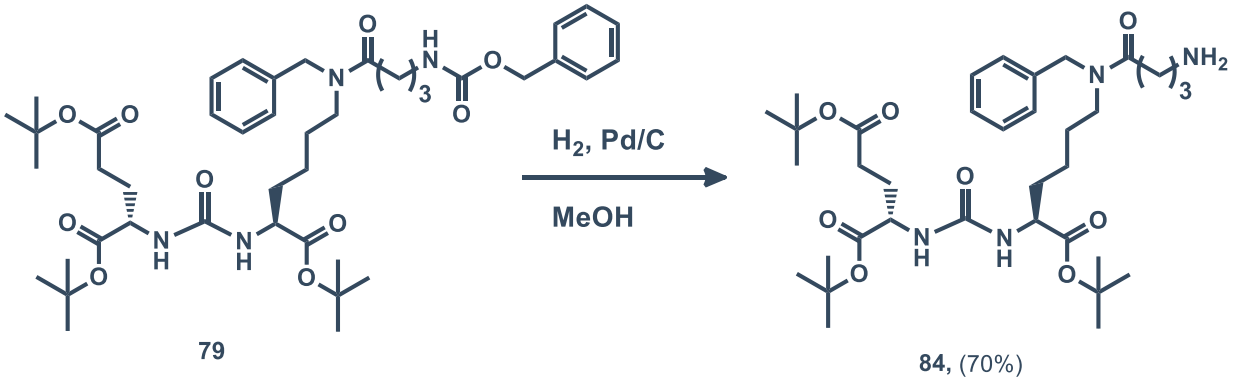
75, X= H, Y=H, Z=H (80%)
37, X=Cl, Y= H, Z=H (68%)
38, X=Br, Y= H, Z=H (68%)
76, X= H, Y=Cl, Z=H (77%)
77, X= Cl, Y=H, Z=F (88%)
78, X= Cl, Y=F, Z=H (90%)

79, X= H, Y=H, Z=H, n=3 , R=NH-Z (25%)
80, X= H, Y=H, Z=H, n=5, R=N_3 (57%)
44, X=Cl, Y=H, Z=H, n=5, R=N_3 (52%)
45, X=Br, Y=H, Z=H, n=5, R=N_3 (55%)
81, X= H, Y=Cl, Z=H, n=5, R=N_3 (71%)
82, X=Cl, Y= H, Z=F, n=5, R=N_3 (54%)
83, X=Cl, Y= F, Z=H, n=5, R=N_3 (58%)

Схема 3.23.Ацилирование соединений **37-38** и **75-78**.

Выделение получаемых соединений **44**, **45**, **79-83** проводилось методом колоночной хроматографии с использованием градиента этилацетат:гексан от 0 до 100%. Характерной особенностью спектров данных соединений в ^{1}H ЯМР-спектрах являлось наличие удвоенного набора сигналов, что может быть объяснено присутствием двух конформационных изомеров, переходящих друг в друга в результате заторможенного вращения вокруг вновь образованной амидной связи. Подобное удвоение сигналов сохраняется и для продуктов последующих стадий синтеза. Помимо методов ЯМР для подтверждения структуры полученных соединений использовались методы масс-спектрометрии высокого разрешения, а для контроля чистоты - высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Для удаления Cbz-защитной группы с молекулы лиганда 7**9**, содержащего бензильный фрагмент при ε-амино-группе лизина, использовали реакцию гетерофазного гидрирования в атмосфере водорода в присутствии Pd/Cв качестве катализатора. Таким образом было получено соединение **84(Схема 3.24)**.

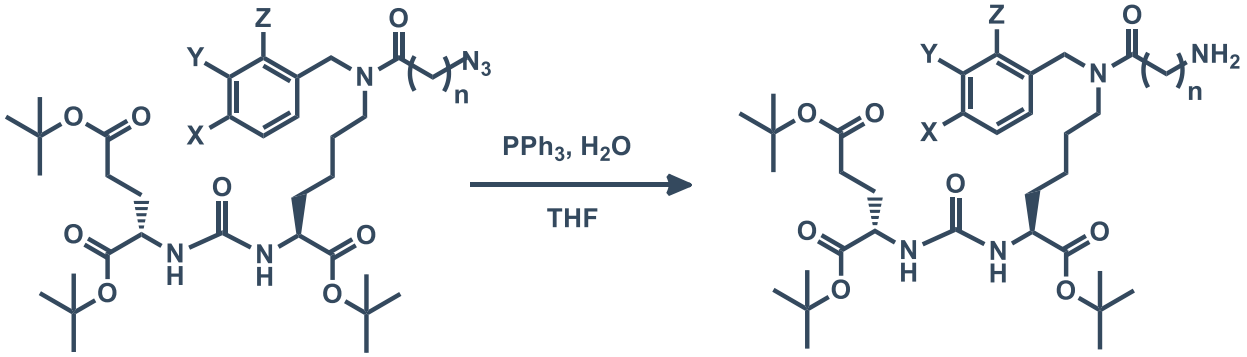


79

84, (70%)

Схема 3.24.Реакция удаления Cbz-защитной группы реакцией гидрогенолиза.

В большинстве случаев восстановление азидо-группы также может быть проведено с использованием водорода и палладия в качестве катализатора, однако использование такой реакционной системы на примере восстановления лиганда **44** не привело к получению желаемого соединения **86**, а протекало с образованием лиганда **85** с отсутствующим галогенным заместителем. В связи с этим, в качестве альтернативы гетерогенному восстановлению азидо-группы до аминогруппы в атмосфере водорода была использована реакция Штаудингера, которая проходит в мягких условияхиширокоприменяется как метод получения аминов вследствие её высокой селективности, т.к. в нее вступает только азидо-группа[92], что удобно для синтеза и модификации биологически активных соединений, содержащих большое число функциональных группировок. Использование реакции восстановления по Штаудингеру позволило получить серию производных **85-90**, изображенных на **схеме3.25**.



80, X= H, Y=H, Z=H
44, X=Cl, Y=H, Z=H
45, X=Br, Y=H, Z=H
81, X= H, Y=Cl, Z=H
82, X=Cl, Y= H, Z=F
83, X=Cl, Y= F, Z=H

85, X= H, Y=H, Z=H, n=5 (71%)
86, X=Cl, Y=H, Z=H, n=5 (93%)
87, X=Br, Y=H, Z=H, n=5 (43%)
88, X= H, Y=Cl, Z=H, n=5 (91%)
89, X=Cl, Y= H, Z=F, n=5 (78%)
90, X=Cl, Y= F, Z=H, n=5 (61%)

Схема 3.25.Реакция восстановления азидо-группы до амино- с трифенилфосфином.

Для оптимизации условий проведения реакции были варьированы температурные условия проведения синтеза на примере получения соединения **86**. Реакцию проводили при 25 и при 50 ^{o}C, при времени проведения реакции 4 часа. Выход первого синтеза составил 37%, второго – 93% (**Таблица 3.9**).

Таблица 3.9. Оптимизация синтеза восстановления соединения **44**

Температура проведения реакции, ^{o}C	**Выход целевого продукта, %**
25	37
50	93

Полученные соединения выделяли из реакционной смеси методом колоночной хроматографии в системе метанол:дихлометан (+ 1% Et_3N). Чистоту и структуру получаемых соединений контролировали методами ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Таким образом, нами была разработаны синтетические процедуры синтеза векторных молекул **85-90,** содержащие первичные аминогруппы в составе линкера, для дальнейшей их модификации – введения дипептидного фрагмента.

3.5.3.1 Синтез дипептидных линкеров

Синтез линкера на основеPhe-Phe

В качестве линкеров для синтеза высокоспецифичных ПСМА-векторов нами были синтезированы дипептиды на основе природных аминокислот (фенилаланин, тирозин) с различной конфигурацией асимметрического центра. Как отмечалось выше, наличие дипептидных фрагментов в структуре линкера ПСМА-лигандов может способствовать увеличению аффинности и усилить взаимодействие с рецептором за счет дополнительных гидрофобных взаимодействий между лигандом и белком. Таким образом возможно повысить рецептор-опосредованное проникновение противоопухолевых конъюгатов с лекарственными препаратами внутрь клеток и тканей, экспрессирующих ПСМА. Кроме того, дипептидная природа линкеров может улучшить биодеградируемость и снизить несистемную токсичность ПСМА-векторов.

В современной пептидной химии применяются две основные защитные группы аминогруппы – *Boc* и *Fmoc*[93]. Для проводимого нами синтеза была выбрана *Boc*-защита, ввиду удобства её удаления на заключительных стадиях синтеза, а также простоты очистки конечного продукта, которая обычно осуществляется осаждением в диэтиловом эфире. В отличие от этого,*Fmoc*-защитная группа снимается в присутствии сильного основания, например пиперидина, что в случае синтезируемых нами пептидов может привести к побочным продуктам переаминирования амидных групп в целевом соединении, а также затруднить выделение чистого продукта.

Для создания пептидов на основе дипептидаL-Phe-L-Phe, в качестве начальной молекулы был взят сам незащищенный дипептид. Реакция введения Boc-защитной группы осуществлялась в основной среде в присутствии гидрокарбоната натрия, а также ди-*трет*-бутилдикарбоната (**Схема 3.26)**, целевой продукт **91** был выделен с высоким выходом (99%).

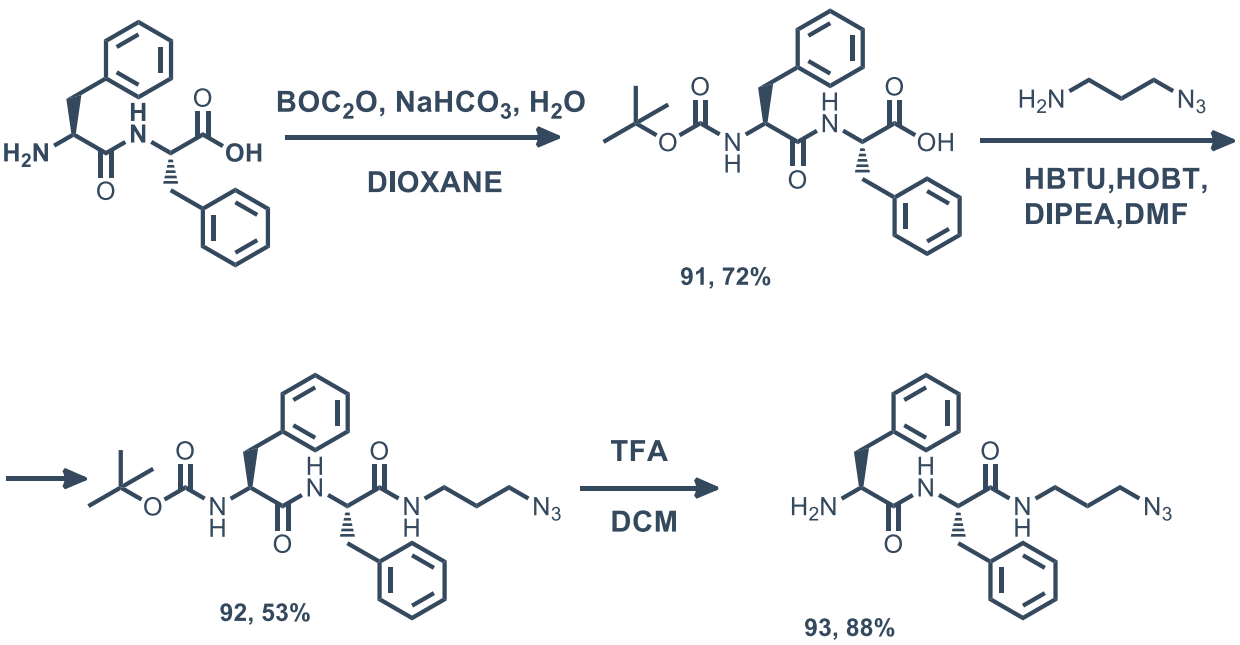


Схема 3.26.Синтез фрагмента линкера на основе дипептида L-Phe-L-Phe.

Для введения азидо-группы был использован 3-азидопропиламин, который вводили в реакцию с соединением **91**в присутствииHBTU, HOBt и DIPEA. Выделение полученного соединения проводили методом колоночной хроматографии с использованием градиента этилацетат:гексан от 0 до 100%. Структура была подтверждена методом ^{1}H ЯМР-спектроскопии.

УдалениеBoc-защитной группы осуществляли с помощью 10% раствора трифторуксусной кислоты в дихлорметане. Окончание реакции контролировали по ТСХ; при этом было установлено, что реакция проходит полностью, давая продукт **93**, через 3 часа после растворения исходного соединения в 10% растворе трифторуксусной кислоты в дихлорметане. По окончании реакции растворитель удаляли при пониженном давлении, а целевое соединение выделяли осаждением диэтиловым эфиром. Структуру полученного соединения подтверждали методами ^{1}H ЯМР-спектроскопии и масс-спектроскопии высокого разрешения. Характерным признаком, характеризующим полноту удаления Boc-защиты, является исчезновение синглета при 1.31 м.д., соответствующего атомам водорода *трет*-бутил-оксикарбонильной группы.

Синтез дипептида D-Phe-D-Pheосуществляли с использованием аналогичной синтетической схемы, что и дляL-Phe-L-Phe(**Схема 3.27)**. В процессе синтеза были получены следующие соединения: Boc-D-Phe-D-Phe (**94**) с выходом97%, продукт ацилирования 3-аминопрпилазида**95** с выходом58%, финальный дипептид **96** - 85%**.**

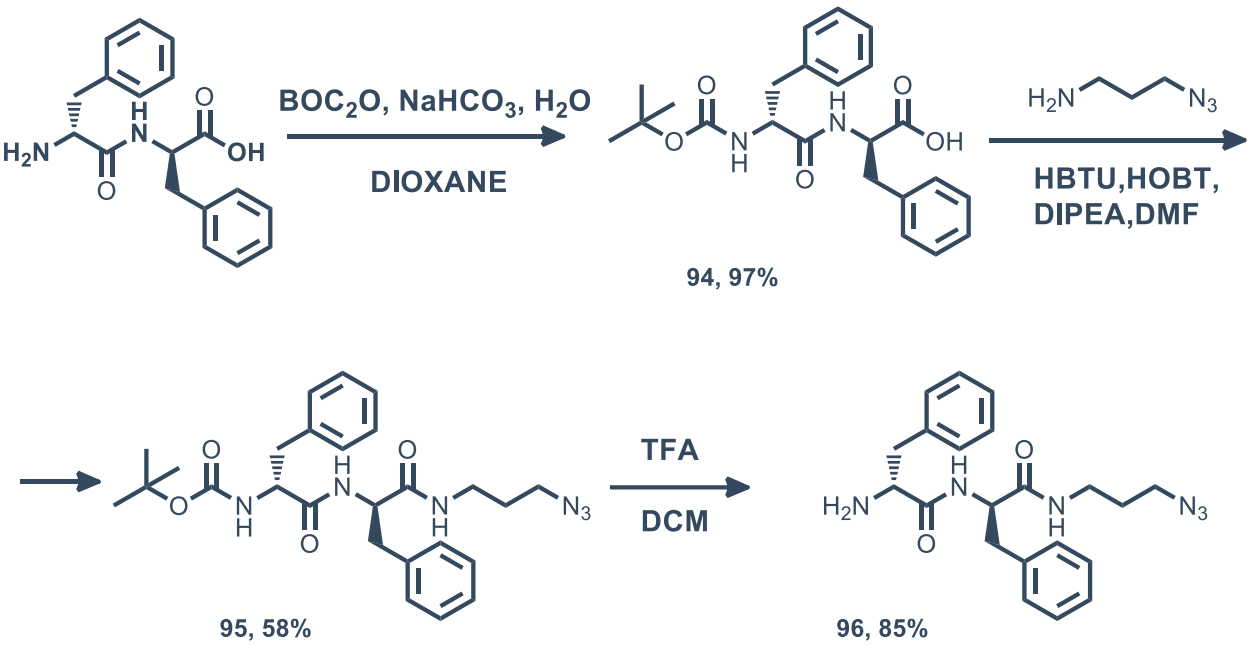


Схема 3.27.Синтез фрагмента линкера на основе дипептида D-Phe-D-Phe.

Синтез линкера на основеPhe-Tyr

В качестве альтернативного дипептидного линкера была выбрана последовательность аминокислот Phe-Tyr, которая по предварительным данным молекулярного моделирования должна обеспечивать наилучшее связывание с рецептором.

Анализ литературных источников свидетельствует о том, что одним из наиболее эффективных методов получения короткоцепочечных пептидов является RPPS (rapid repetitive solution phase synthesis) – метод жидкофазного синтеза пептидов[74]. Применение данного подхода подразумевает использование реакции образования активированных эфиров N-защищенных производных аминокислот. В качестве агентов для образования активированных эфиров используются N-гидроксисукцинимид (NHS), галогенированные производные фенола (например, пентафторфенол PfpOH) или производные 1-гидроксибензотриазола.

Для синтеза данного структурного фрагмента была также выбрана стратегия с использованием Boc-защитной группы. Для этого на первом этапе была осуществлена постановка Boc-защиты на амино-группуL-фенилаланина. Реакцию проводили классическим взаимодействием аминокислоты с *трет*-бутилдикарбонатом в основных условиях в смеси диоксана и воды с последующим выделением продукта реакции экстракцией этилацетатом после нейтрализации раствора 1М раствором HCl(**Схема 3.28)**.

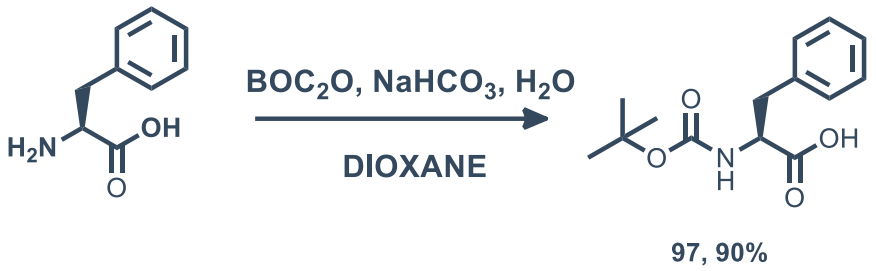


Схема 3.28.Реакция постановки Boc-защитной группы на аминокислоту L-Phe.

На втором этапе нами был осуществлен дипептидаBoc-L-Phe-L-Tyr(**98**). С этой целью с использованием реагентов EDC-HCl - (N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид гидрохлорид) – PfpOH был получен промежуточный активированный эфир соединения **97**. Данный интермедиат отличается высокой реакционной способностью по отношению к аминогруппе, поэтому его последующее взаимодействие со свободной аминокислотой L-тирозина в присутствии основания позволило получить дипептид Boc-L-Phe-L-Tyr**98(Схема 3.29)**.

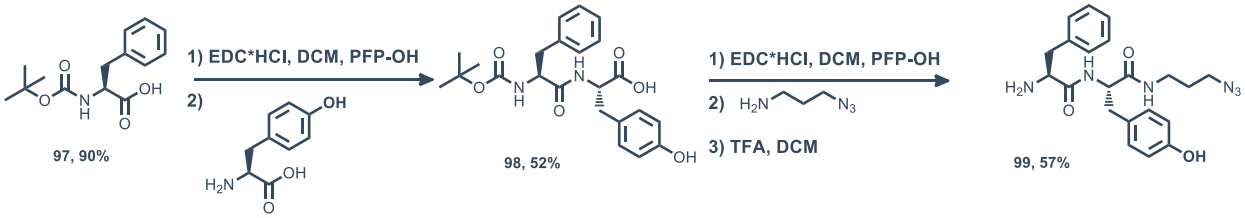


Схема 3.29.Синтез фрагмента линкера на основе дипептида L-Phe-L-Tyr.

Очистку целевого продукта **98**проводили с помощью многократного переосаждения реакционной смеси в гексане с использованием УЗИ-диспергирования. В итоге было получено соединение с чистотой, достаточной для использования на следующей стадии синтеза, поэтому дополнительную очистку данного соединения не проводили.

На данном этапе нами была осуществлена оптимизация получения соединения **98** – были протестированы различные активирующие карбоксильную группу агенты. В качестве промежуточных активированных эфиров были получены производные пентафторфенола (PfpOH), N-гидроксисукцинимида (NHS), а также была проведена реакция с использованием 4-диметиламинопиридина(DMAP). В результате было установлено, что наиболее эффективным реагентом для данной реакции является PfpOH (**Таблица 3.10**).

Таблица 3.10. Подбор оптимального реагента активации в синтезе соединения **98.**

Реагент	**Выход соединения 98, %**
PfpOH	52
NHS	49
DMAP	27

На третьем этапе, для проведения ацилирования 3-аминопропилазида,реакцию проводили без предварительной активации карбоксильной группы, а в качестве ацилирующего агента был использован HBTU. По окончании реакции с помощью колоночной хроматографии выделяли предшественник соединения **99**, который далее вводили в реакцию удаления *трет*-бутильной защитной группы.

Снятие *трет*-бутилоксикарбонильной защиты проводили реакцией с 10% трифторуксусной кислотой в безводном дихлорметане. Добавление TFA производили при температуре 5^{o}C с последующим постепенным нагревом реакционной смеси. Анализ реакционной смеси с использованием тонкослойной хроматографии показал, что полное снятие защиты при комнатной температуре происходит через 4-5 часов.

Структура соединения **99** подтверждена ^{1}H ЯМР-спектроскопией и масс-спектроскопией высокого разрешения. На полное удаление Boc-защиты указывает исчезновение синглета на 1.29 м.д., соответствующего протонам *трет*-бутилоксикарбонильной группы.

Таким образом, был осуществлен синтез дипептидного линкера L-Phe-L-Tyr**99** с азидосодержащим фрагментом, который был далее использован для получения высокоспецифичных лигандов ПСМА. Разработанные методы синтеза характеризуются умеренными выходами целевых продуктов и высокой селективностью процессов. Синтез дипептидных фрагментов линкеровD-Phe-D-Tyr и D-Phe-D-Tyr(Br) осуществлялся с использованием аналогичных синтетических подходов(**Схема 3.30**). Соответствующие промежуточные продукты были получены с сопоставимыми выходами (Boc-защищенный D-Phe**100**- 98%, дипептид Boc-D-Phe-D-Tyr**101**- 84%, дипептид Boc-D-Phe-D-Tyr(Br) **102** - 79%, финальные дипептиды D-Phe-D-Tyr**103** - 79%**,** D-Phe-D-Tyr(Br)**104** - 15%).

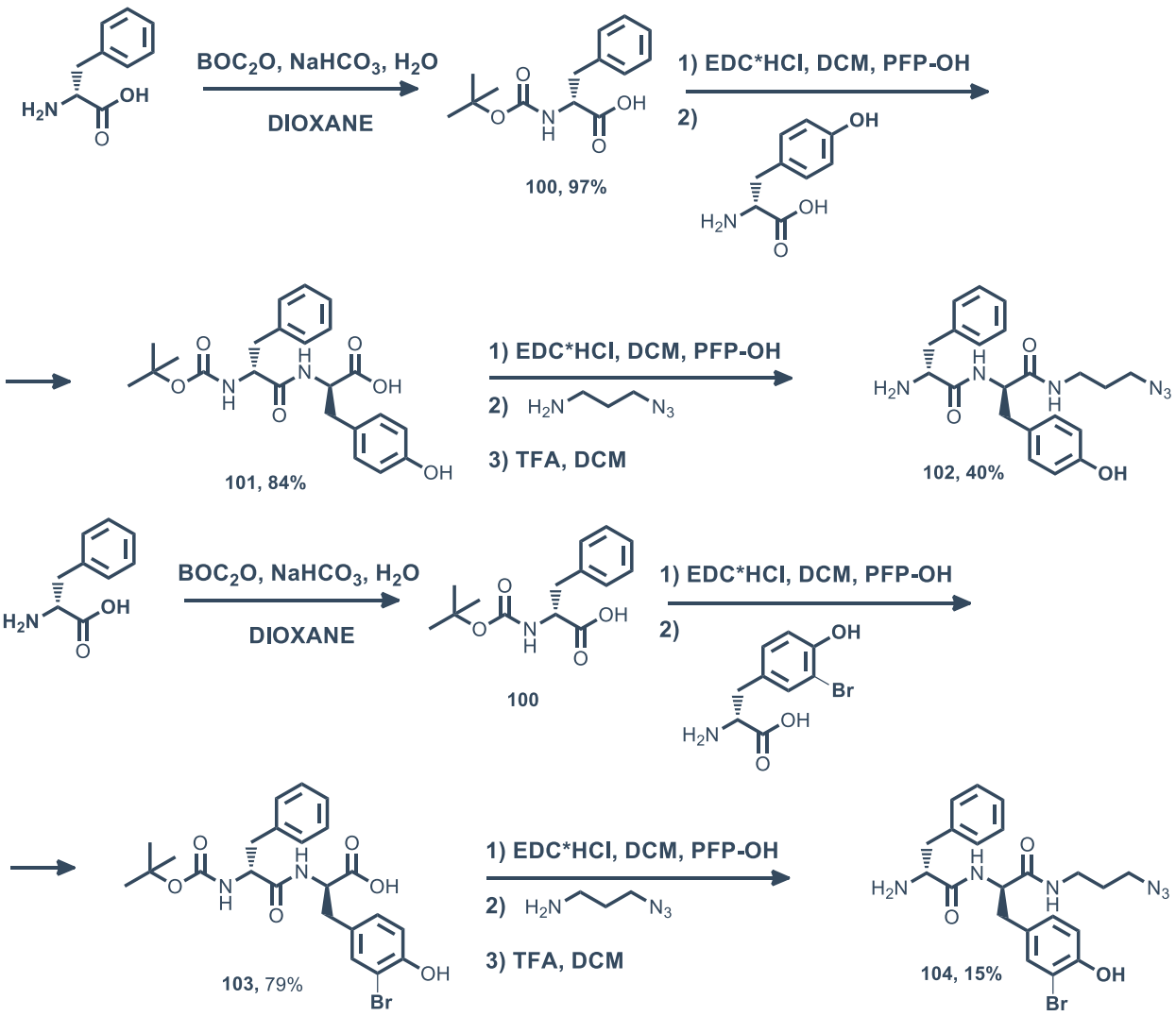


Схема 3.30.Синтез фрагментов линкера на основе дипептида D-Phe-D-Tyr.

3.5.3.2 Получение лигандов ПСМА.

На основе серии ранее синтезированных лигандов **84-90,** а также дипептидныхфрагментов**93**, **94**, **99**, **102**, **104**, был осуществлен синтез финальных лигандов ПСМА **126-146** (**Схема 3.31**).

Для объединения лигандов **84-90** с дипептидными линкерами необходимо произвести предварительную модификацию соединений **84-90** с целью введения карбоксильной группы для последующего получения амидной связи с пептидным фрагментом. Дляэтого было осуществлена реакция векторных фрагментов **84-90** с янтарным ангидридом.

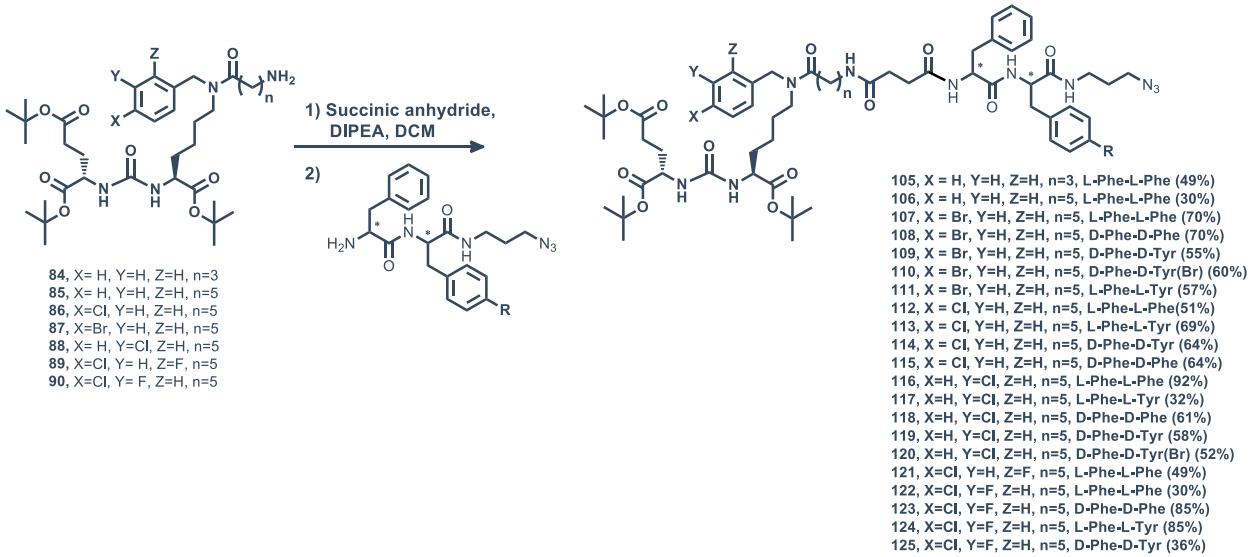


Схема 3.31.Получение предшественников лигандов ПСМА**105-125**.

Далее полученные аддукты с янтарным ангидридом и дипептиды **93**, **94**, **99**, **102**, **104** вводились в реакцию с активирующими реагентами HBTU/HOBt и основанием DIPEA. На примере получения соединения **106** варьировалось количество HBTU в реакционной смеси. При добавлении одного эквивалента HBTU выход целевого соединения составил 27%, а использование1.5-кратного избыткаHBTUпривело к увеличению выхода до 51%. (**Таблица 3.11**). Далее в этих условиях был получен ряд t-Bu-защищенных лигандов **105-125**.

Таблица 3.11. Зависимость выхода продукта **106**от количества эквивалентов HBTU.

Количество эквивалентов HBTU	**Выход целевого продукта, %**
1	27
1,5	51

Для связывания полученных лигандов с ПСМА необходимо наличие в них немодифицированных карбоксильных групп. Превращение *трет*-бутиловых эфиров в карбоновые кислоты осуществлялось обработкой трифторуксусной кислотой в дихлорометане. В результате был получен ряд лигандов-ингибиторов ПСМА **126-146**(**Схема 3.32**). Структура полученных продуктов подтверждена данными ^{1}H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

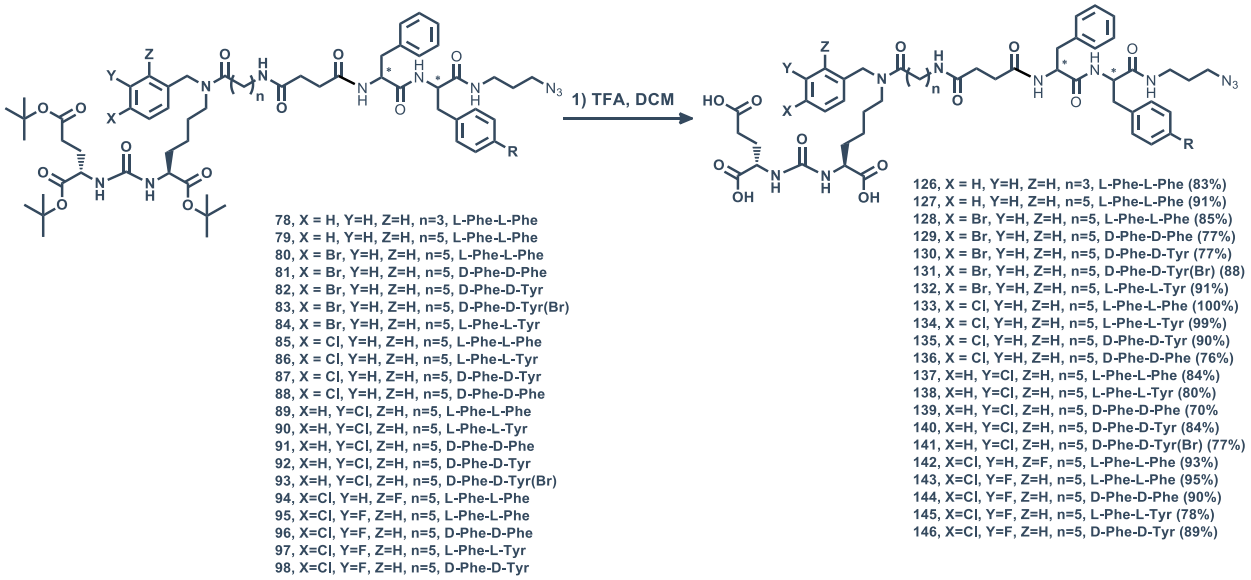


Схема 3.32.Получение лигандов ПСМА с тремя ароматическими фрагментами в структуре (**126-146)**.

При проведении данной реакции существенную роль играет содержание трифторуксусной кислоты в реакционной смеси, ввиду лабильности азидо-группы в присутствии кислотных агентов, которые могут приводить к увеличению содержания нежелательных побочных продуктов[94]. Для определения оптимальных условий реакции был произведен подбор концентрации кислоты, при которой происходило бы удаление всех *трет*-бутильных групп в молекуле при минимальном образовании побочных продуктов. Оптимизация условий реакции была проведена на примере получения соединения**126**. Концентрацию трифторуксусной кислоты варьировали в пределах 8 – 15%. Наилучший результат был достигнут при использовании 10%-ной CF_3COOH (**Таблица 3.12**). Анализ реакционной смеси проводили методом ВЭЖХ-МС.

Таблица 3.12. Результаты оптимизации условий реакции удаления *трет*-бутильной группы на примере соединения **126.**

Концентрация трифторуксусной кислоты, %	**Выход продукта 126 (LC-MS), %**
8	57
10	95
12	74
15	59

Таким образом, была получена серия из **21** новых лигандов ПСМА, содержащих азидо-группу – предшественников в синтезе конъюгатов лиганда ПСМА с противоопухолевыми и диагностическими агентами**.**

3.5.4 *In vitro* исследование селективности лигандов ПСМА

Данная часть работы выполнена совместно с лабораторией химии нуклеопротеидов кафедры химии природных соединений, МГУ имени М.В.Ломоносова.

Далее было исследовано взаимодействие полученных лигандов **126-146** с ПСМА. Изучалось ингибирование реакции расщепления N-ацетил-аспартил-глутаматапод действием ПСМА. Целью данного исследования было установить аффинность полученных лигандов к ПСМА и выбрать из серии полученных соединений наиболее перспективные для создания терапевтических конъюгатов на их основе. Наилучшие результаты показали три соединения:**127** (X=H, Y=H, Z=H, L-Phe-L-Phe, n = 5), **132** (X = Br, Y=H, Z=H, n=5, L-Phe-L-Tyr) и **138** (X=H, Y=Cl, Z=H, L-Phe-L-Tyr, n = 5). Значения IC_{50}составили 47, 10 и 23 нМ соответственно (**Таблица 3.13**). Также для сравнения была исследована аффинность стандартного лиганда **DCL,** который представляет собой известную модификацию вещества DUPA с повышенной растворимостью и является генетическим предшественником большинства протестированных препаратов. Его ингибирующее действие аналогично DUPA, и он использовался как контрольный ингибитор в последующих анализах. Также в качестве лигандов сравнения были выбраны соединения, содержащие только один ароматический фрагмент ε-положении лизина (**51** и **52, схемы3.16**и **3.33**), и только дипептидный ароматический фрагмент в структуре линкера **19a** (**схемы3.7** и **3.33**). ЗначениеIC_{50} для DCLсоставило 2149 нМ, для лигандов **51**, **52**, **19a** значения данного параметра составляют 137, 30 и 70 нМ соответственно. Из полученного результата можно сделать вывод, что наличие ароматического заместителя при группе лизина или наличие дипептидного линкера на несколько порядков улучшают селективность получаемых лигандов; а объединение двух данных фрагментов в структуре лигандов ПСМА, как мы и предполагали, дает соединения с более высокими ингибирующими свойствами (**132**, **138**).

Таблица 3.13. Концентрации полуингибирования (IC_{50},нМ) реакции расщепления NAAGпод действием ПСМА(GCPII) лигандами**126-146**.

Соединение	IC_{50}, нМ
126, X = H, Y=H, Z=H, n=3, L-Phe-L-Phe	**91±43**
127, X = H, Y=H, Z=H, n=5, L-Phe-L-Phe	**47±14**
128, X = Br, Y=H, Z=H, n=5, L-Phe-L-Phe	**81±11**
129, X = Br, Y=H, Z=H, n=5, D-Phe-D-Phe	**400±54**
130, X = Br, Y=H, Z=H, n=5, D-Phe-D-Tyr	**333±128**
131, X = Br, Y=H, Z=H, n=5, D-Phe-D-Tyr(Br)	**8029±6824**
132, X = Br, Y=H, Z=H, n=5, L-Phe-L-Tyr	**9,7±2,8**
133, X = Cl, Y=H, Z=H, n=5, L-Phe-L-Phe	**91±27**
134, X = Cl, Y=H, Z=H, n=5, L-Phe-L-Tyr	**146±58**
135, X = Cl, Y=H, Z=H, n=5, D-Phe-D-Tyr	**66±18**
136, X = Cl, Y=H, Z=H, n=5, D-Phe-D-Phe	**384±153**
137, X=H, Y=Cl, Z=H, n=5, L-Phe-L-Phe	**86±24**
138, X=H, Y=Cl, Z=H, n=5, L-Phe-L-Tyr	**22±6**
139, X=H, Y=Cl, Z=H, n=5, D-Phe-D-Phe	**58±16**
140, X=H, Y=Cl, Z=H, n=5, D-Phe-D-Tyr	**820±448**
141, X=H, Y=Cl, Z=H, n=5, D-Phe-D-Tyr(Br)	**267±152**
142, X=Cl, Y=H, Z=F, n=5, L-Phe-L-Phe	**124±33**
143, X=Cl, Y=F, Z=H, n=5, L-Phe-L-Phe	**50±15**
144, X=Cl, Y=F, Z=H, n=5, D-Phe-D-Phe	**234±48**
145, X=Cl, Y=F, Z=H, n=5, L-Phe-L-Tyr	**75±14**
146, X=Cl, Y=F, Z=H, n=5, D-Phe-D-Tyr	**130±39**
DCL	**2149±223**
51	**137±18**
52	**30±13**
19a	**70±11**

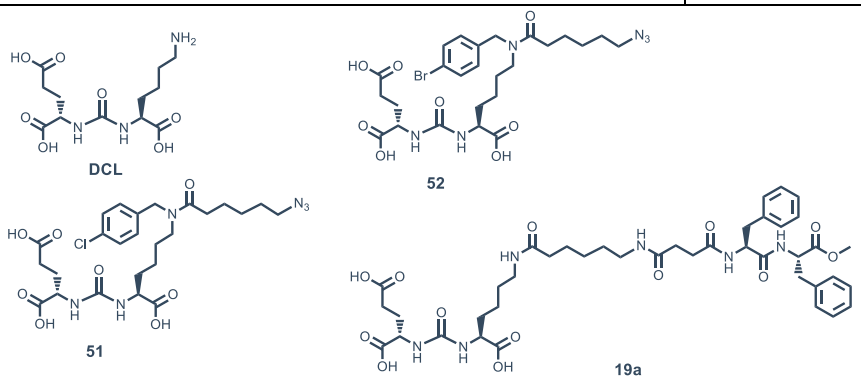


Схема 3.33.Лиганды ПСМА, для сравнения значений IC_{50}свновь полученными лигандами (**126-146**).

Также для ряда лигандов было показано, что данные молекулы не обладают выраженной токсичностью на клеточных линиях Hek293T (эмбриональные клетки почек человека), VA-13 (фибробласты легких), MCF7 (аденокарцинома груди), A549 (карцинома легких), значения поулумаксимальной клеточной токсичности (CC_{50}) на данных клеточных культурах оказывается >50 мкМ (**Таблица 3.14**).

Таблица 3.14. Цитотоксичность (CC_{50}) лигандов **126-146** на клеточных линиях Hek293T (эмбриональные клетки почек человека), VA-13 (фибробласты легких), MCF7 (аденокарцинома груди), A549 (карцинома легких).

Соединение	**CC_{50}, мкМ**			
	Hek293T	**VA13**	**MCF7**	**A549**
126	>100	>100	>100	>100
127	114±51	>100	>100	>100
128	>100	>100	>100	>100
129	88±40	>100	>100	>100
132	>100	>100	>100	>100
137	>100	>100	>100	>100
142	>100	>100	>100	>100
143	71±18	>100	>100	>100
144	51±11	>100	>100	>100
145	>100	>100	>100	>100
DCL	>100	>100	>100	>100
51	>100	>100	>100	>100
19a	62±11	>100	>100	>100
DMSO	>100	>100	>100	>100

3.5.5 Получение модифицированных антимитотических препаратов

В качестве противоопухолевых препаратов для синтеза конъюгатов с полученными лигандами были использованы препараты доцетаксел и монометил ауристатин Е.

3.5.5.1 Модификация доцетаксела

Анализ литературных данных по влиянию модификаций различных структурных фрагментов доцетаксела на его активность позволяет предположить, что наиболее подходящей стратегией для введения линкера является образование сложноэфирной связи с одной из имеющихся вторичных гидроксильных групп[95]. Известно, что в клетках сложноэфирная связь подвержена гидролизу с высвобождением немодифицированного препарата, что позволяет использовать эту функциональную группу для конъюгации доцетаксела с векторным фрагментом. Поэтому для модификации доцетаксела нами был использован подход, аналогичный получению производного паклитаксела **53** (раздел 3.3.2).Фрагмент гексин-5-овой кислоты в составе линкера позволяет достичь итоговой длины гидрофобного линкера в конъюгате более чем в 20Å, что необходимо для создания

эффективно связывающегося с рецептором конъюгата[16]. Для синтеза использовалась классическая процедура образования сложного эфира в присутствии диизопропилкарбодиимида (DIC) и каталитического количества 4-(N,N-диметиламино)пиридина (DMAP) (**Схема 3.34)**.

Структура полученного продукта **147**была подтверждена данными ^{1}H ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

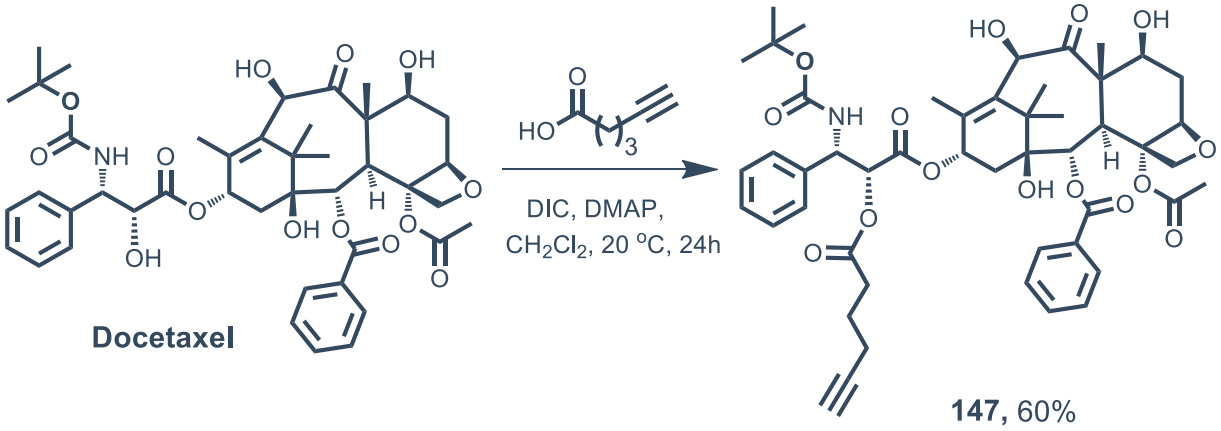


Схема 3.34.Модификация доцетаксела

3.5.5.2 Модификация монометилауристатина Е

Применение препарата монометил ауристатина Е и других его аналогов в качестве индивидуального терапевтического вещества ограничено ввиду его крайне высокой токсичности; по этой причине подобные вещества широко используются при создании противоопухолевых препаратов на основе моноклональных антител (ведотин), с целью увеличения селективности действия и уменьшения побочных эффектов. Однако применение антител обладает рядом существенных недостатков, таких как слишком длительная циркуляция в кровотоке и возможность вызывать сильный иммунный ответ. По этой причине мы решили заменить векторный фрагмент на основе антител низкомолекулярным лигандом ПСМА.

Для адресной доставки на основе моноклональных антител с ауристатинами широкое применение нашли линкеры, позволяющие эффективно высвобождать монометил ауристатин внутри клетки под действием внутриклеточных протеолитических ферментов, таких как катепсин b. Одним из таких линкеров является производное аминокислот валина и цитруллина. Использование валин-цитруллинового катепсин-расщепляемого линкера для связывания и доставки монометилауристатина Е нашло применение на практике[96].

Для синтеза конъюгатов, содержащих такой структурный фрагмент, было решено ввести его на стадии модификации самого лекарственного препарата. Исходным

соединением для синтеза является Fmoc-защищенный дипептид валил-цитруллин с уже присоединенным фрагментом PAB (фрагмент п-аминобензилового спирта) Fmoc-Val-Cit-PAB. Для дальнейшего введения фрагмента, содержащего алкиновый фрагмент, была проведена реакция удаления Fmoc-защитной группы под действием диэтиламина, что позволило получить соединение **148** (**Схема 3.35**).

Для создания конъюгата с помощью реакции азид-алкинового циклоприсоединения необходимо наличие терминального алкинового фрагмента в структуре линкера. Данный фрагмент вводили в молекулу **148** реакцией с гексин-5-овой кислотой. Реакция проводилась с использованием в качестве активирующего агента HBTU, в результате чего было получено соединение **149.**

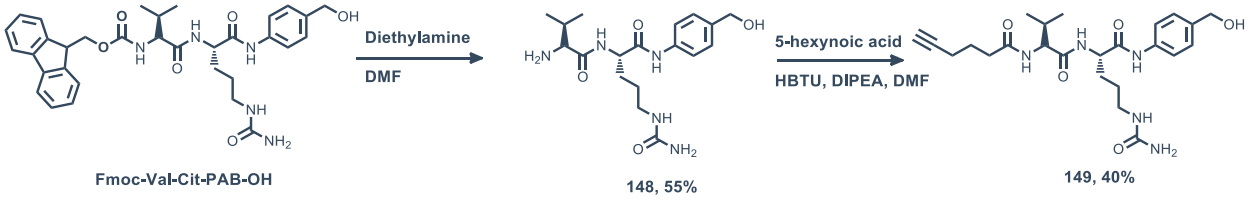


Схема 3.35. Модификация фрагмента линкера L-Val-L-Cit-PAB.

Для дальнейшей модификации монометил ауристатина Е получали смешанный карбонат **150**(L-Val-L-Cit-PAB-PNP) реакцией соединения **149** с бис(4-нитрофенил)карбонатом (**Схема 3.36)**. Реакция протекает через образование тетраэдрического интермедиата, в котором *пара*-нитрофенолят является хорошей уходящей группой. В результате происходит отщепление аниона *пара*-нитрофенолята и образуется целевой карбонат.

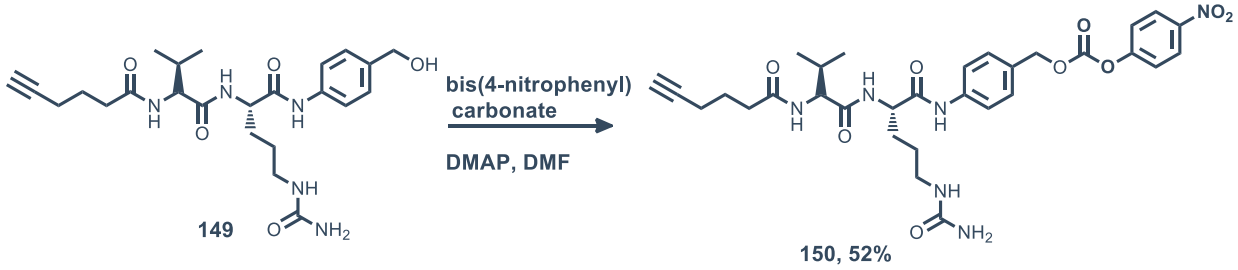


Схема 3.36.ПолучениеL-Val-L-Cit-PAB-PNP.

Получение модифицированного монометилауристатина Е проводили реакцией между ранее полученным валил-цитруллиновым линкером **150** и немодифицированным препаратом, с получением соединения **151** (**Схема 3.37)**.Структуры получаемых продуктов подтверждены данными ^{1}Н ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

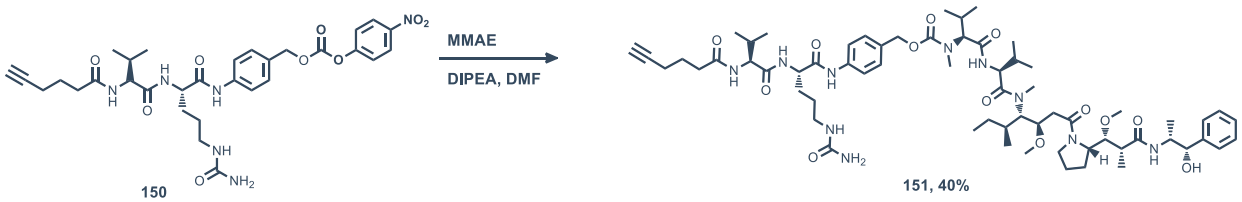


Схема 3.37.Модификация монометил ауристатина Е с использованием фрагмента линкера L-Val-L-Cit-PAB-PNP.

3.5.6 Синтез конъюгатов лиганда ПСМА с антимитотическими препаратами

В качестве реакции, позволяющей получить конъюгат из азидного (вектор с линкером) и алкинового (терапевтический) фрагментов была выбрана 1,3-диполярного циклоприсоединения, катализируемая солями меди(I). Данная реакция широко используется при синтезе биологически активных органических соединений, в частности агентов против туберкулеза, пептидных и углеводных конъюгатов[97,98].

На текущей стадии исследования бром-содержащие соединения были исключены из рассмотрения на основании фармакокинетических критериев и токсичности, несмотря на то, что некоторые из них, в частности **128** и **132**, соединения показали высокие значения ингибирования ПСМА. В реакцию получения конъюгатов вводились синтезированные лиганды ПСМА **127** (X=H, Y=H, Z=H, L-Phe-L-Phe, n = 5), **140** (X=Cl, Y=F, Z=H, D-Phe-D-Phe, n = 5) и **138** (X=H, Y=Cl, Z=H, L-Phe-L-Tyr, n = 5), содержащие азидо-группу, и модифицированные лекарственные препараты: доцетаксел **147**и монометилауристатин **151** (**Схема 3.38**). В качестве источника ионов меди(I), образующегося *in situ* в реакционной смеси, использовалась смесь сульфата меди и аскорбата натрия.

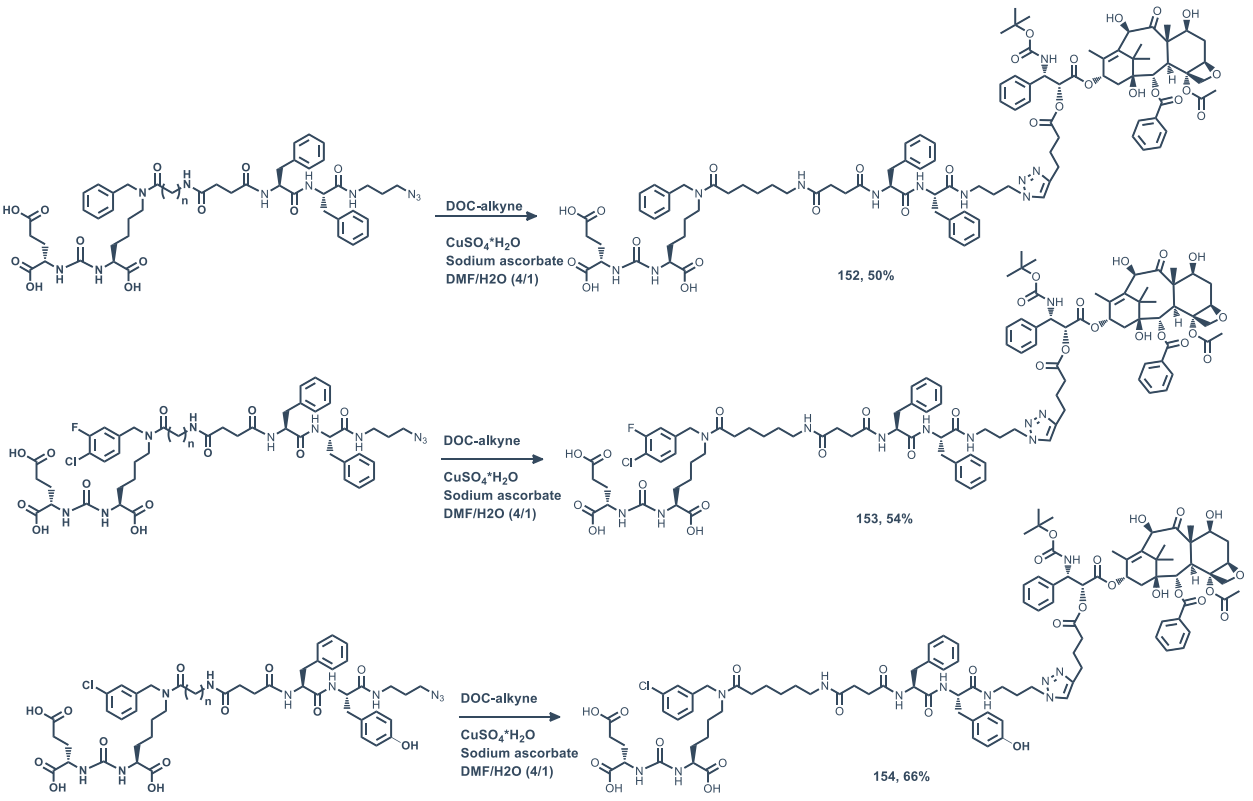


Схема 3.38.Получение конъюгатов доцетакслеа (**152-154**).

Для оптимизации выхода данного синтеза мы варьировали количество аскорбата натрия и сульфата меди на примере соединения **152**. В первом случае в реакционную смесь было добавлено 0,8 эквивалентов аскорбата натрия и 0,4 эквивалента сульфата меди на 1 эквивалент азида. Во втором случае было добавлено 0,8 эквивалента аскорбата натрия и 0,4 эквивалента сульфата меди с последующим добавлением данных реагентов до 1,2 и 1 эквивалента соответственно (**Таблица 3.15**). В результате не было обнаружено значительного увеличения выхода реакции, поэтому для дальнейших синтезов было использовано меньшее количество реагентов.

Таблица 3.15. Подбор оптимального количества катализатора.

Количество эквивалентов аскорбата натрия	**Количество эквивалентов сульфата меди**	**Выход, %**
0,8	0,4	36
1,2	1,0	34

В последующих *in vitro* тестах (раздел 3.5.7) было показано, что полученное соединение **150** на основе конъюгата **138**демонстрирует наилучшую противоопухолевую эффективность. По этой причине для создания конъюгатов на основе монометил ауристатина Е был выбран именно данный лиганд.

Условия синтеза конъюгата с ММАЕ были аналогичны оптимизированным условиям получения конъюгатов с доцетакселом. В результате было получен целевой конъюгат **155** с выходом 51%, охарактеризованный данными ^{1}H ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения и высокоэффективной жидкостной хроматографии (**Схема 3.39**).

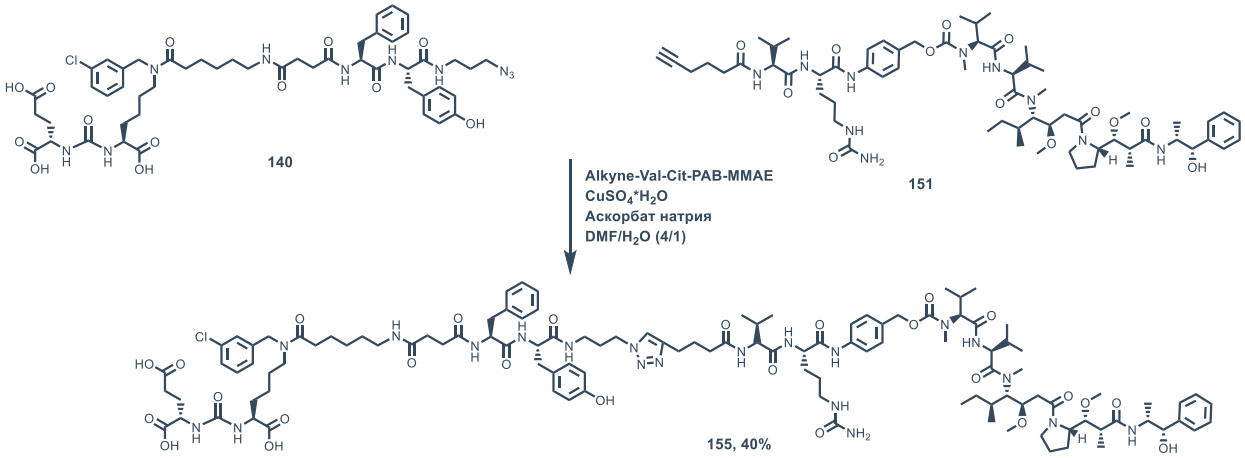


Схема 3.39. Синтез конъюгата с монометил ауристатином Е.

3.5.7 *In vitro* исследование конъюгатов

На заключительной стадии работы была исследована цитотоксичность терапевтических конъюгатов **152-155** на клеточных линиях рака предстательной железы человека 22Rv1 (экспрессирующие ПСМА) и PC-3 (не экспрессирующие ПСМА).Для оценки цитотоксичности использовали стандартный MTS-тест[80]. Результаты представлены в **таблице 3.16**.

Таблица 3.16. Результаты определения параметра токсичности CC_{50} для соединений **148-150** на клеточных линиях 22Rv1 и PC-3.

№	Соединение	22Rv1 (ПСМА«+»)	PC-3(ПСМА«-»)
		CC_{50}, нМ	**CC_{50}, нМ**
Доцетаксел		1,0± 0,5	1,0± 0,3
152	X=H, Y=H, Z=H, L-Phe-L-Tyr, n = 5, DXL	123±18	63±13
153	X=Cl, Y=F, Z=H, D-Phe-D-Phe, n = 5, DXL	28±4	51±23
154	X=H, Y=Cl, Z=H, L-Phe-L-Tyr, n = 5, DXL	2,7±2,1	2,8±0,7
ММАЕ		14± 1	19± 1
155	X=H, Y=Cl, Z=H, L-Phe-L-Tyr, n = 5, ММАЕ	13±3	20±3

В результате проведенных исследований установлено, что среди полученных конъюгатов соединение **154**, содержащее *мета*-хлорбензильный фрагмент и дипептидный линкер L-Phe-L-Tyr, обладает наибольшей цитотоксичностью (2,7 нМ для 22Rv1 ПСМА «+» и 2,8 нМдля PC-3 ПСМА «-»). Наибольшая селективность наблюдаетсядля соединения **153,** содержащее *пара*-хлор-*мета*-фторбензильный фрагмент и дипептидный линкер D-Phe-D-Tyr (28 нМ для 22Rv1 ПСМА «+» и 51нМ для PC-3 ПСМА «-»). В этом случае конъюгат показывает хорошую селективность по сравнению с немодифицированным доцетакселом (1нМ для 22Rv1 ПСМА «+» и 1 нМ для PC-3 ПСМА «-»). Соединение **152,** содержащее незамещенный бензильный фрагмент и дипептидный линкер L-Phe-L-Tyr, не показало ни высокой токсичности, ни хорошей селективности(123 нМ для 22Rv1 ПСМА «+» и 63 нМдля PC-3 ПСМА «-»).

Впервые полученный низкомолекулярный конъюгат на основе монометилауристатина Е **155**, содержащий *мета*-хлорбензильный фрагмент и дипептидный линкер L-Phe-L-Tyr, обладает высокой цитотоксичностью (13 нМ для 22Rv1 ПСМА «+» и 20 нМдля PC-3 ПСМА «-»), сопоставимой с немодифицированным препаратом, что доказывает перспективность создания подобных конъюгатов.

3.5.8 *In vivo* исследование конъюгатов

3.5.8.1 Оценка эффективности конъюгата доцетаксела

Данная часть работы выполнена совместно с экспериментально-биологической лаборатории НИИ ЭДиТО ФГБУ «НМИЦ онкологии им.Н.Н.Блохина» Минздрава России (РОНЦ).

Для сравнительного изучения противоопухолевой активности наилучшего, по результатам *in vitro* скрининга, конъюгата**154**и противоопухолевого конъюгата доцетаксела, было проведено их *in vivo* тестирования на ксенографтной модели рака предстательной железы 22Rv1при 5-ти кратном внутрибрюшинном введении препаратов, а также была проведена оценка переносимости исследуемых препаратов. Для экспериментов с подкожными ксенографтами рака предстательной железы были использованы 15 голов 7-8-недельных половозрелых мышей-самцов Nu/Nu массой тела 20-22 г.

Для получения ксенографтных моделей взвесь опухолевых клеток вводили подкожно билатерально в бок иммунодефицитных мышей. Объем вводимой взвеси — 0,2 мл с концентрацией клеток 50 млн. клеток/1 мл. Введение веществ начинали при достижении объема опухолевых узлов 100 мм^3 и проводили внутрибрюшинно (в/б).

Введение растворов мышам осуществляли в соответствующих индивидуальным дозам объемах, в соответствии с протоколом (**таблица 3.17**). В качестве вещества-плацебо использовали 9% раствор натрия хлорида

Таблица 3.17. Экспериментальные группы животных

Номер группы	Кол-во животных	Клеточная линия	Вещество	Доза/режим	Режим
1	5	22Rv1 10млн.кл./мышь	Конъюгат **154**	30 мг/кг (15 μM)	5-ти кратно
2	5		Доцетаксел	10 мг/кг (12μM)	5-ти кратно
3	5		Физ. раствор	5-ти кратно	5-ти кратно

После окончания лечения у всех мышей троекратно измеряли объемы опухолей с помощью системы, состоящей из электронного цифрового штангенциркуля 500-716-11, 0-150 мм IP67 («Mitutoyo», Япония). Средний показатель объема опухоли в группе без специфического лечения до начала эксперимента составил $V_{ср}$=145±67 мм^3, на 8 сутки после окончания лечения - $V_{ср}$=2165±705 мм^3. Прирост опухоли на момент окончания исследования составил V_t/V_o=14,9 раза.

При применении конъюгата **154**в разовой дозе 30 мг/кг (суммарно 150 мг/кг) было обнаружено значительное торможение роста опухоли (ТРО), уже на первые сутки после введения на 79%, аналогичный результат был показан и при использовании препарата доцетаксела в дозировке 10 мг/кг (суммарно 50 мг/кг). При дальнейшем тестировании значение ТРО только увеличивалось и на заключительный 8 день эксперимента достиг значения 84% для конъюгата **154**и 89% для доцетаксела (**рисунок 3.8**). При проведении экспериментов также проводилось наблюдение за состоянием животных, в результате чего общее состояние и поведение мышей на фоне и после применения конъюгата **150**было удовлетворительным без патологических изменений и отсутствии гастроэнтостинальной и какой-либо другой токсичности. В то же время при использовании немодифицированного доцетаксела сразу же после окончания введения противоопухолевого агента общее состояние и поведение мышей стало ухудшаться. Животные начали резко худеть, наблюдали адинамию и взъерошенность шерсти. На 4 сутки после окончания лечения пали 2 мыши из 5, на 8 сутки – 2 из 3 оставшихся мышей и на 9 сутки пала последняя мышь.

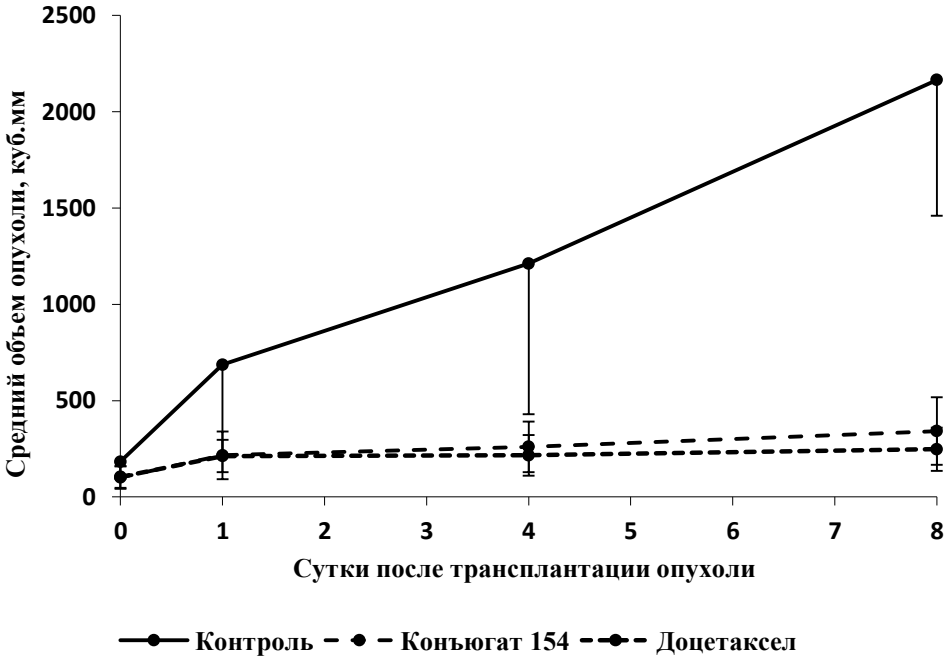


Рисунок 3.8. Динамика роста подкожных ксенографтов рака предстательной железы 22Rv1 под действием 5-кратного внутрибрюшинного введения конъюгата **154** в разовой дозе 30 мг/кг (суммарно 150 мг/кг) и доцетаксела - 10 мг/кг (суммарно 50 мг/кг).

Таким образом, сравнительное изучение показало отсутствие достоверного различия по эффективности в обеих опытных группах (с учетом погрешности эксперимента). Было продемонстрировано продолжительное замедление опухолевого роста до 8 суток после окончания лечения, индекс прироста опухоли в случае применения конъюгата **154**составил V_t/V_o=3,4 раза; в группе доцетаксела индекс прироста опухоли составил V_t/V_o=2,4 раза. В сравнении со скоростью роста опухоли у контрольной группы (V_t/V_o=14,9) данные показатели в 6,2-4,4 раза медленнее. Было показано, что модель подкожных ксенографтов рака предстательной железы 22Rv1 чувствительна к терапии с использованием конъюгата **150**.

3.5.8.2 Оценка LD_{50} конъюгата доцетаксела

Данная часть работы выполнена совместно с испытательным центр ООО «НПЦ Пробиотек».

Помимо экспериментов по эффективности терапии с применением конъюгата доцетаксела было проведено исследование параметра LD_{50}конъюгата **154** (**Таблица 3.18)**.В эксперименте по определению острой токсичности каждому животному вводили одну дозу исследуемого препарата внутривенно в объеме, не превышающем максимально допустимый для единовременного введения, при необходимости – дробно.

Таблица 3.18. Зависимость доза/эффект при внутривенном введении исследуемого препарата**154** мышам-самцам

Зависимость доза/эффект при введении						
Тестируемый препарат ПСМА-ДОЦ						
Доза мг/кг	240	363	480	603	720	960
Летальность	3	2	7	8	10	9
LD_{50}, мг/кг	421±62					

В результате тестирования среднесмертельная доза составила 421 мг/кг (216 μM/кг) для мышей. Полученное значение LD_{50} выше, чем у чистого доцетаксела – 101 мг/кг (125 μM/кг) при внутривенном введении, исходя из литературных данных.[99] Таким образом, предположение о меньшей токсичности конъюгата с ПСМА в сравнении с доцетакселом было подтверждено. Также было установлено, что токсичность конъюгата **154** развивается во времени: основная часть животных погибла по прошествии 5 суток с момента введения; токсический эффект препарата сопровождается дозозависимым нарушением двигательной активности задних конечностей (парез) и снижением массы тела. Морфологический анализ внутренних органов выявил выраженное поражение почек (острый нефрит) и копростаз.

4. Экспериментальная часть

4.1 Общие сведения

Спектры ЯМР ^{1}H и ^{13}C регистрировали на спектрометре BrukerAvance 400 (400 МГц для ^{1}H и 101 МГц для ^{13}C) в $CDCl_3$ или DMSO-d_6.

ИК-спектры регистрировали на ИК-спектрометре с преобразованием Фурье TermoNicolete IR200 в KBr.

Препаративную колоночную хроматографию выполняли на хроматографе INTERCHIM puriFlash 430. Для очистки и анализа образцов использовали систему ShimadzuProminence LC-20 с хроматографической колонкой PhenomenexLuna 3 мкм C18 90A (150 x 4.6 мм) с колоночным термостатом при 40ºC и коллектором фракций, соединенным с одноквадрупольным масс-спектрометром Shimadzu LCMS-2020 с двойным источником ионизации (DUIS-ESI-APCI, ИРЭП-ХИАД). Подвижные фазы: A - 0.1% муравьиная кислота в воде, B - 9 мМ формиат аммония в воде, D - ацетонитрил. Параметры аналитической жидкостной хроматографии: скорость потока - 1 мл/мин (градиент: 0 - 0.5 мин - 5% Д, 0.5 - 9.5 мин – от 5% до 90% Д, 9.5 - 12 мин - 90% Д, 12 - 14.5 мин – от 90% to 5% D) с опциональным УФ детектированием для некоторых соединений. Параметры масс-спектрометра: скорость потока газа-осушителя 15.0 л/мин, газа-распылителя 1.5 л/мин, температура 250ºC, температура нагревательного блока 400ºC, напряжение на интерфейсе - 3.5 кВ, напряжение коронного разряда - 3.5 кВ. Положительно заряженные (диапазон масс 250 - 2000 Да, в некоторых случая 155 - 2000 Да) и отрицательно заряженные ионы (диапазон масс 90 - 2000 да) регистрировали одновременно. Для очистки использовали те же хроматографические параметры, за исключением градиента, который подбирали отдельно для каждого соединения. Фракционирование основывалось только на УФ детектировании.

Масс-спектры высокого разрешения (HRMS) регистрировали на масс-спектрометре OrbitrapElite (ThermoScientific) с ИРЭП. Для ввода растворов с концентрацией 0.1 - 9 мкг/мл (в 1% муравьиной кислоте в ацетонитриле) использовали прямой ввод в источник ионов с применением шприцевого насоса (5 мкл/мин). Напряжение при распылении ±3.5 кВ, температура капилляра 275ºC. Масс-спектры регистрировали с помощью анализатора Orbitrap с разрешением 480000 (1 микроскан). Максимальное время ввода 900 мс, усреднение по 9 спектрам, диапазон масс 90 - 2000 Да, в некоторых случаях 200 - 4000 Да. Для внутренней калибровки использовали сигналы

ДМСО и диизооктилфталата (m/z 157.03515 и 413.26623) в положительной моде и сигнал додецилсульфата (m/z 265.14790) в отрицательной моде.

Очистку растворителей проводили согласно стандартным методикам.[100] В работе использовали коммерческие реактивы (“Sigma-Aldrich”, “Fluka®Analytical”, “abcr”, “Carbosynth”, “Lumiprobe”) без дополнительной очистки.

4.2 Синтез

Синтез (9S,13S)-три-*трет*-бутил 3,11-диоксо-1-фенил-2-окса-4,10,12-триазапентадекан-9,13,15-трикарбоксилата (1)

Гидрохлорид ди-*трет*-бутилового эфира L-глутаминовой кислоты (25 г, 84.516 ммоль) и DIPEA (48.3 мл, 277.2 ммоль) растворили в CH_2Cl_2 (350 мл), полученный раствор охладили до -78°C. К полученному раствору добавили по каплям раствор трифосгена (8,5 г, 28.735 ммоль) в 200 мл CH_2Cl_2, в течение 5 часов. После добавления раствора трифосгена температуру реакции довели до комнатной температуры, после этого раствор перемешивали в течение 30 мин. Далее в реакционную смесь внесли H-Lys(Z)-Ot-Bu (25.2 г, 67.613 ммоль) и DIPEA (11.8 мл, 67.6 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. После этого реакционную смесь разбавили 500 мл CH_2Cl_2, и промыли водой (3×300 мл). Объединенные органические фракции высушили над сульфатом натрия. Растворитель удалили при пониженном давлении. Дальнейшую очистку полученной фракции проводили методом колоночной хроматографии с элюентом этилацетат : гексан (Puriflash 50μ 300g, от 0 до 100% этилацетата в течение 40 минут). Получили 38.011 г (90%) желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.40-7.25 (м, 5H, ArH (Cbz)), 5.60-5.30 (м, 3H, CH_2 (Cbz) + NH), 5.20-5.03 (м, 2H, NH (мочевина)), 4.45-4.27 (м, 2H, CH), 3.25-3.07 (м, 2H, CH_2), 2.40-2.20 (м, 2H, CH_2), 2.12-1.99 (м, 1H, CH_2), 1.90-1.67 (м, 2H, CH_2), 1.67-1.56 (м, 1H, CH_2), 1.56-1.47 (м, 2H, CH_2), 1,40-1.47-1.40 (м, 27H, t-Bu),1.40-1.20 (м, 2H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}С (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.5 (C(O)O(t-Bu)), 172.4 (C(O)O(t-Bu), 157.0 (C(O) мочевина), 156.6 (C(O) Cbz), 136.7 (ArH), 128.5 (ArH), 128.1 (ArH), 128.0 (ArH), 82.2 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 81.7 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 80.5 ($\underline{C}(CH_3)_3$), 66.5(CH_2 (Cbz)), 52.3 (CH), 53.0 (CH), 40.6 (CH_2), 32.6 (CH_2), 31.6 (CH_2), 29.3 (CH_2), 28.3(CH_2), 28.1 ($C(\underline{CH_3})_3$), 28.0 ($C(\underline{CH_3})_3$), 22.3 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{32}H_{51}N_3O_9$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 622.3698, найдено: 622.3702; m/z рассчитано для $[M+Na^+]$: 644.3518, найдено: 644.3521; m/z рассчитано для $[M+K^+]$: 660.3257, найдено: 660.3259.

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-амино-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогексан-2-ил) уреидо) пентандиоата (2)

Cbz-защищенный амин **1** (38,011 г, 61.122 ммоль) растворили в 400 мл метанола, добавили 3.30 г 10% палладия на активированном угле. Реакцию проводили в атмосфере

аргона (1 атм.). Реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов, после чего отфильтровали палладий на угле на Kieselgur, упарили растворитель. Получили 28.774 г (97%) амина **2** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, м.д.) 5.45 (с, 2H, NH(мочевина)), 4.43 – 4.17 (м, 2H, CH), 2.41 – 2.15 (м, 4H, CH_2), 2.14 – 1.91 (м, 2H, CH_2), 1.89 – 1.66 (м, 3H, CH_2), 1.55-1.50 (м, 5H, CH_2), 1,46-1.45-1.42 (м, 27H, t-Bu).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.) 172.61 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.49 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.39 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 157.04 (NHC(O)NH), 81.93 ($C(O)O\underline{C}(CH_3)_3$), 81.55 ($C(O)O\underline{C}(CH_3)_3$), 80.43 ($C(O)O\underline{C}(CH_3)_3$), 53.38 (CH), 52.92 (CH), 41.23 (CH_2NH_2), 32.51 (CH_2), 31.59 (CH_2), 28.28 (CH_2), 28.03 ($C(O)OC(\underline{C}H_3)_3$), 27.98 ($C(O)OC(\underline{C}H_3)_3$), 27.96 ($C(O)OC(\underline{C}H_3)_3$), 22.25 ($CH_2$).

ESI-HRMS для $C_{24}H_{45}N_3O_7$: m/z рассчитано $[M+H^+]$: 488.3330, найдено: 488.3340; m/z рассчитано для $[M+Na^+]$: 510.3150, найдено: 510.3150.

Синтез 11-(бензокси)-6-оксогексан-1-аммоний-4-митилбензолсульфоната (3)

Раствор 6-аминогексановой кислоты (5 г, 38.10 ммоль), бензилового спирта (18.84 мл, 182,88 ммоль) и паратолуолсульфокислоты (8.70 г, 45.72 ммоль) в толуоле (30 мл) кипятили в течение 5 ч с насадкой Дина-Старка в атмосфере аргона. После окончания реакции полученный раствор охладили и прилили к нему 200 мл диэтилового эфира. Полученный осадок отделили и несколько раз промыли смесью этилацетата и гексана (1:1, об.). В результате был выделен белый кристаллический продукт (14.84 г, 99%). $T_{пл}$=103-105 °C

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

7.63 (уш. с., 3H, NH_3^+), 7.49 (д, 2H, J=7.9 Гц, CH (TsO^-)), 7.37 (м, 5H, CH (Bn)), 7.12 (д, 2H, J=7.7 Гц, CH (TsO^-)), 5.09 (с, 2H, $\underline{CH_2}Ph$), 2.75 (м, 2H, $NH_3^+\underline{CH_2}$),2.36 (т, 2H, J=7.32 Гц, $\underline{CH_2}COOBn$), 1.53 (м, 4H, CH_2), 1.3(м, 2H, CH_2).

Синтез 11-(бензокси)-11-оксоундекан-1-аммоний-4-метилбензолсульфоната (4)

Раствор 11-аминоундекановой кислоты (10 г, 49.67 ммоль), бензилового спирта (24.56 мл, 238.46 ммоль) и пара-толуолсульфокислоты (11.34 г, 59.62 ммоль) в толуоле (70 мл) кипятили в течение 5 ч с насадкой Дина-Старка в атмосфере аргона. После окончания реакции полученный раствор охладили и прилили к нему 200 мл диэтилового эфира. Полученный осадок отделили и несколько раз промыли смесью этилацетата и гексана (1:1, vv). В результате был выделен белый кристаллический продукт с 99,9 % выходом (23 г, 49.61 ммоль).

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

7.62 (уш. с., 3H, NH_3^+), 7.49 (д, 2H, J=7.9 Гц, CH(TsO^-)), 7.35 (м., 5H, CH (Bn)), 7.12 (д, 2H, J=7.7, CH(TsO^-)), 5.09 (с, 2H, $\underline{CH_2}$Ph), 2.76 (т, 2H, J=7.6 Гц, $NH_3^+\underline{CH_2}$),2.35 (т, 2H, J=7.6 Гц, $\underline{CH_2}$COOBn), 1.51 (м, 4H, CH_2), 1.24(м, 12H, CH_2).

Синтез метил-6-((5-(бензокси)-5-оксопентил)амино)-6-оксогексаноат(5)

К раствору монометилового эфира адипиновой кислоты (0.35 г., 2.157 ммоль) в 5 мл дихлорметана прибавили N-(3-диметиламинопропил)-N′-этилкарбодиимида гидрохлорид (0.62 г., 3,24 ммоль), N-гидроксисукцинимид (0.38 г, 3.24 ммоль) и триэтиламин (0.52 мл, 3.7 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 30 минут. Далее к этому раствору прибавили соединение **3** (1 г, 2.16 ммоль) и триэтиламина (303 мкл, 2.16 ммоль) в 5 мл дихлорметана. Полученный раствор перемешивали в течение 24 часов. Далее реакционную смесь упаривали, полученное маслянистое вещество растворяли в этилацетате (50 мл), органическую фракцию 4 раза промывали водой (30 мл). После этого её упарили. И провели очистку вещества с помощью колоночной хроматографии с элюэнтом этилацетат/гексан(1/4). В результате было выделено 0.3 г белого кристаллический продукта, выход 32%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

7.69 (т, 1H, J=5.3, C(O)NH), 7.31 (м, 4H, CH(Bn)), 5.05 (с, 2H, $\underline{CH_2}$Ph), 3.54 (с, 3H, C(O)O$\underline{CH_3}$), 2.96 (кв., 2H, J_1=5.9, J_2=6.6 NH$\underline{CH_2}$),2.31 (т, 2H, J=7.4, $\underline{CH_2}C(O)CH_3$), 2.26 (м, 2H, $\underline{CH_2}C(O)CH_3$), 2.0 (м, 2H, $\underline{CH_2}C(O)$Bn), 1.5 (м, 4H, CH_2), 1.45 (м, 2H, CH_2), 1.33(м, 2H, CH_2), 1.21(м., 12H, CH_2). 1.5 (м, 4H, CH_2).

Синтез бензил-11-(6-метокси-6-оксогексанамидо)ундеканоата (6)

К раствору монометилового эфира адипиновой кислоты (4.38 г., 9.38 ммоль) в30 мл дихлорметана прибавили N-(3-диметиламинопропил)-N′-этилкарбодиимида гидрохлорид (2.16 г., 11.26 ммоль), N-гидроксисукцинимид (1.30 г, 11.26 ммоль) и диизопропилэтиламин (4 мл, 22.51 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 30 минут. Далее к этому раствору прибавили соединение **4** (4.35 г, 9.38 ммоль) в 30 мл дихлорметана. Полученный раствор перемешивали в течение 48 часов. Далее реакционную смесь разбавили хлористым метиленом полученный раствор 4 раза промывали насыщенным водным раствором NaCl (200 мл). Органические фракции объединили и упарили. Полученную твердую фракцию растворили в метаноле, нерастворившийся осадок отфильтровали. Далее фильтрат упарили и провели его очистку

с помощью flash-хроматографии. В результате было выделено 2.47 г. Целевого продукта, выход составил 61 %.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

7.68 (т, 1H, J=5.4, C(O)NH), 7.31 (м, 4H, CH(Bn)), 5.04 (с, 2H, $\underline{CH_2}$Ph), 3.58 (с, 3H, C(O)O$\underline{CH_3}$), 2.96 (кв., 2H, J1=5.9, J2=6.8 NH$\underline{CH_2}$),2,30 (т, 2H, J=7.3, $\underline{CH_2}$C(O)CH_3), 2.25 (м, 2H, $\underline{CH_2}$C(O)NH), 2.0 (м, 2H, J=7.3, $\underline{CH_2}$C(O)Bn), 1.46 (м, 6H, CH_2), 1.32(м, 2H, CH_2), 1.18(м., 12H, CH_2).

Синтез 5-(6-метокси -6-оксогексанамидо) пентановой кислоты (7)

Соединение **5** (0.83 г., 2.35 ммоль) растворили в 10 мл метанола, к этой смеси добавили 80 мг 10% Pd/C. Реакцию проводили в атмосфере водорода (~1 атм.) в течение 12 ч. После протекания реакции Pd/C отфильтровывали на силикагеле типа Celite. Фильтрат упаривали, в результате было выделено 561 мг (0.462 ммоль) целевого вещества с выходом 87%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.00 (уш. с, 1H, C(O)$\underline{OH}$),7,75 (т, 1H, J=5.3, C(O)$\underline{NH}$), 3.58 (с, 3H, C(O)O$\underline{CH_3}$), 3.00 (кв., 2H, J1=6.4, J2=6.4 NH$\underline{CH_2}$),2,29 (м, 2H, $\underline{CH_2}$C(O)CH_3), 2.18 (т, 2H, J=7.3 $\underline{CH_2}$C(O)OH), 2.04 (м, 2H, $\underline{CH_2}$C(O)Bn), 1.48 (м, 6H, CH_2), 1.37 (м, 2H, CH_2), 1.24(м, 2H, CH_2).

Элементный анализ:$C_{41}H_{76}N_6O_{10}$ вычислено C% - 57.13, H% - 8.48, N% - 5.12; найдено C% - 56,89 H% - 8.22, N% - 4.88.

Синтез 11-(6-метокси-6-оксогексанамидо) ундекановой кислоты (8)

Соединение **6** (0.20 г., 0.46 ммоль) растворили в 3 мл метанола, к этой смеси добавили 20 мг 10% Pd/C. Реакцию проводили в атмосфере водорода (~1 атм.) в течение 12 ч. После протекания реакции Pd/C отфильтровывали на силикагеле типа Celite. Фильтрат упаривали, в результате было выделено 158 мг (0.462 ммоль) целевого вещества с выходом 100%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

11.92 (уш. с, 1H, C(O)$\underline{OH}$), 7.68 (т, 1H, J=5.3, C(O)$\underline{NH}$), 3.54 (с, 3H, C(O)O$\underline{CH_3}$), 2.96 (кв., 2H, J_1=5.9, J_2=7.04 NH$\underline{CH_2}$), 2.25 (м, 2H, J=7.4, $\underline{CH_2}$C(O)CH_3), 2.15 (т, 2H, J=7.2 $\underline{CH_2}$C(O)OH), 2.0 (м, 2H, $\underline{CH_2}$C(O)Bn), 1.45 (м, 6H, CH_2), 1.32 (м, 2H, CH_2), 1.2 (уш. с., 12H, CH_2).

Синтез1,3,7-тритрет-бутил 24-метил 5,13,20-триоксо-4,6,12,19-тетраазатетракозан-1,3,7,24-тетракарбоксилата (9)

К раствору соединения**7** (24 мг., 0.093 ммоль) в 1.5 мл ДМФА добавили HBTU (39 мг., 0.102 ммоль) и диизопропилэтиламин (35 мкл, 0.202 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 30 минут. Далее к этому раствору прибавили соединение **2** (45 мг, 0.093 ммоль) в 1 мл ДМФА. Полученный раствор перемешивали в течение 24 часов. Далее реакционную смесь упаривали, полученное маслянистое вещество растворяли в этилацетате (20 мл), органическую фракцию 4 раза промывали водой (10 мл). После этого её упарили. И провели очистку вещества с помощью колоночной хроматографии с элюэнтом этилацетат/гексан(1/1). В результате было выделено 40 мг (0.054 ммоль) прозрачного постепенно кристаллизующегося маслянистого продукта, выход 58%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

6.51 (т., 1H, J=5.5 Гц, NH), 5.74 (м., 1H, J=5.5 Гц, NH), 5.39 (м, 1H, J=8.19 Гц, NH), 5.41 (м, 1H, J=7.95 Гц, NH), 4.32 (м, 2H, CHCOO(t-Bu)(Glu), CHCOO(t-Bu) (Lys)), 3.27-3.40 (м, 2H,CH_2), 3.24 (кв., 2H, J_1=6.97 Гц, J_2=6.84 Гц CCHCH_2), 2.36 (м, 4H, CH_2C(O)O(t-Bu), CH_2C(O)OCH_3), 2.20 (м, 4H, CH_2C(O)NH, CHCH_2), 1.5-1.9 (м, 14H, CH_2), 1.48 (с, 9H, t-Bu), 1.47 (с, 9H, t-Bu), 1.45 (с, 9H, t-Bu), 1.29 (м, 4H, CH_2).

ESI-HRMS для $C_{37}H_{66}N_4O_{11}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$743.4801, найдено: 743.4805; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$765.4620, найдено: 765.4642.

Синтез 1,3,7-три-трет-бутил 29-метил 5,13,25-триоксо-4,6,12,24-тетраазанонакозан-1,3,7,29-тетракарбоксилата (10)

К соединению **8** (120 мг., 0.349 ммоль) в 5 мл ДМФА прибавили HBTU(160 мг., 0.42 ммоль) и диизопропилэтиламин (120 мкл, 0.70 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 30 минут. Далее к этому раствору прибавили соединение **2** (170 мг, 0.349 ммоль) в 5 мл ДМФА. Полученный раствор перемешивали в течение 24 часов. Далее реакционную смесь упаривали, полученное маслянистое вещество растворяли в этилацетате (20 мл), органическую фракцию 4 раза промывали водой (30 мл). После этого её упарили. И провели очистку вещества с помощью колоночной хроматографии с элюентом этилацетат/гексан(1/1). В результате было выделено 178.7 мг (0.220 ммоль) прозрачного постепенно кристаллизующегося маслянистого продукта, выход 63%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

6.14 (м., 1H, NH), 5.74 (м., 1H, NH), 5.39 (м, 1H, NH), 5.41 (м, 1H, NH), 4.32 (м, 2H, CHCOO(t-Bu)), 3.68 (с, 3H, C(O)OCH3), 3.26 (м., 4H, C(O)NHCH2), 2.36 (м, 4H, CH2C(O)O(t-Bu), CH2C(O)OCH3), 2.20 (м, 4H, CH2C(O)NH, CHCH2), 1.5-1.9 (м, 12H, CH2), 1.48 (с, 9H, t-Bu), 1.47 (с, 9H, t-Bu), 1.45 (с, 9H, t-Bu), 1.29 (м, 16H, CH2).

ESI-HRMS для $C_{42}H_{76}N_4O_{11}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$813.5589, найдено: 813.5580; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$835.5403, найдено: 835.5433.

4.2.1 Общая методика получения гидразидов карбоновых кислот 11, 12 и 20.

К раствору исходного метилового эфира(1моль) в метаноле добавили моногидрат гидразина (10 моль). Полученную смесь кипятили в метаноле в атмосфере аргона при перемешивании в течение 12 часов.Котнтроль окончания реакции проводили методом ТСХ. Далее растворитель удаляли при пониженном давлении. Целевой продукт получался без дополнительной очистки.

Синтез три-трет-бутил 25-гидразинил-5,13,20,25-тетраоксо-4,6,12,19-тетраазапентакозан-1,3,7-трикарбоксилата(11)

Из соединения **9** (100мг, 0,135 ммоль) в метаноле (2 мл) и моногидрата гидразина (68 мкл, 1.35 ммоль) получали 98 мг (98%) целевого соединение **11** в виде маслянистого, постепенно кристаллизующегося вещества. (Раздел 4.2.1)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

8.91 (с, 1H, $NHNH_2$), 7.71 (м, 2H, NH), 6.28 (м, 2H, NH (urea)), 4.17 (уш. с., 2H, $NHNH_2$), 4.04 (м, 1H,CHC(O)O(t-Bu)), 3.96 (м, 1H, CHCOOt-Bu), 3.00 (м., 4H, $C(O)NHCH_2$), 2.21 (м, 2H, $CH_2C(O)O(t-Bu)$), 2.20 (м, 6H, $CH_2C(O)NH$, $CHCH_2$), 1.5-1.9 (м, 12H, CH_2), 1.39 -1.40 (м, 27H, t-Bu), 1.23 (м, 6H, CH_2).

ESI-HRMS для $C_{36}H_{66}N_6O_{10}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$743.4913, найдено: 743.4923; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$765.4733, найдено: 765.4731.

Синтез три-трет-бутил-30-гидранизил-5, 13, 25, 30 – тетраоксо – 4, 6, 12, 24 – тетраазатриаконтана – 1, 3, 7 – трикарбоксилат (12)

Из соединения**10** (132 мг, 0.16 ммоль) в метаноле (2 мл) и моногидрата гидразина (81 мкл, 1.62 ммоль) получали 127 мг (96%) целевого соединения**12**в виде маслянистого, постепенно кристаллизующегося вещества. (Раздел 4.2.1)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

8.91 (с, 1H, $NHNH_2$), 7.71 (м, 2H, NH), 6.28 (м, 2H, NH (мочевина)), 4.17 (уш. с., 2H, $NHNH_2$), 4.04 (м, 1H,CHC(O)O(t-Bu)), 3.96 (м, 1H, CHCOOt-Bu), 3.00 (м., 4H, $C(O)NHCH_2$), 2.21 (м, 2H, $CH_2C(O)O(t-Bu)$), 2.20 (м, 6H, $CH_2C(O)NH$, $CHCH_2$), 1.5-1.9 (м, 12H, CH_2), 1.39 -1.40 (м, 27H, t-Bu), 1.23 (м, 16H, CH_2).

Элементный анализ:$C_{41}H_{76}N_6O_{10}$ вычислено C% - 60.56, H% - 9.42, N% - 10.34; найдено C% - 60.20 H% - 9.12, N% - 10.12.

Синтез метилового эфира L-фенилаланил-L-фенилаланина (13)

К 10 мл абсолютного метилового спирта, охлажденного до -20 °С, прибавляли по каплям 250 мкл (3.4 ммоль) перегнанного тионилхлорида и вносили 500 мг(1.60 ммоль) дипептида. Полученную смесь перемешивали в течение 2 часов при температуре -5°С. Далее температуру реакционной смеси медленно поднимали до 40°С и смесь выдерживали при этой температуре 2 часа. Растворитель удаляли при пониженном давлении, эту операцию повторяли дважды, каждый раз добавляя по 30 мл спирта. Полученную сухую фракцию растирали с сухим диэтиловым эфиром и отфильтровывали. Полученную фракцию растворяли в хлористом метилене (100 мл) и промывали раствором гидрокарбоната натрия (3×50 мл). Органические фракции объединяли, осушали над Na_2SO_4, растворитель удаляли при пониженном давлении. Продукт был выделен в виде белого кристаллического порошка с выходом 76% (395 мг, 1.21 ммоль).

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.52 (д, 1H, C(O)NH), 6.60-6.75 (м, 8H, Ar-H), 6.65 (д, 2H, п-Ar-H)), 4.17 (кв., 1H, J_1=6.27 Гц, J_2=6.27 ГцNHCHC(O)), 3.12 (с, 3H,C(O)OCH_3), 2.76 (уш. с., 2H, NH_2), 2.48 (м, 4H, CH_2Ph).

Синтез 4-((1-((1-метокси-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)амино)-4-оксобутановая кислота (14)

395 мг (1.21 ммоль) метилового эфира L-фенилаланил-L-фенилаланина**13**растворяли в 3 мл дихлорметана к раствору прибавляли эквимолярное количество янтарного ангидрида, 131 мг (1.31 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов, контроль протекания реакции проводили с помощью тонкослойной хроматографии. К раствору добавляли 1 мл метанола, и перемешивали ещё в течение 6 часов, для нейтрализации избытка янтарного ангидрида. Далее реакционную смесь разбавляли до 25 мл. и промывали водой (4×30 мл). Органическую фракцию упаривали на роторном испарителе. Выход продукта составил 94% (484 мг, 1,14 ммоль).

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

8.47 (д, 1H, J_1=7.43 Гц, C(O)NH), 8.05 (д, 1H, J_1=8.41 Гц, C(O)NH), 4.40-4.60 (м., 2H, NHCHC(O)), 3.58 (с, 3H,C(O)OCH_3), 2.90-3.10 (м, 4H, CH_2Ph), 2.26 (м, 4H, CH_2CH_2).

Синтезди-трет-бутил 2-(3-(6-(6-азидогексанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо) пентандиоат (15)

К раствору 6-азидогексановой кислоты (73 мг, 0,308 ммоль) в 5 мл DMF добавили EDC (117,93 мг, 0.615 ммоль), NHS (70,8 мг, 0.615 ммоль). Полученную смесь

перемешивали в течение 30 минут. Далее к этому раствору прибавили амин **2** (150 мг, 0,308 ммоль) в 5 мл DMF. Полученный раствор перемешивали в течение 24 часа. Далее реакционную смесь разбавили хлористым метиленом, полученный раствор 4 раза промывали насыщенным водным раствором NaCl (50 мл). Органические фракции объединили и упарили. Полученную маслянистую фракцию очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/hexane: 1/1). В результате было выделено 117 мг целевого продукта**3**, выход составил 61 %

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.): 6,68 (уш с., 1H, C(O)NH), 5.73 (уш с., 1H, NH(urea)), 5.51 (уш с., 1H, NH(urea)), 4.29 (м, 1H, NHCH), 4.19 (м, 1H, NHCH), 3,31-3.20 (м, 3H, CH_2), 3,20-3.10 (м, 1H, CH_2), 2,29 (кв, 2H, J1=8.80, J2=6.78, CH_2), 2.21 (т, 2H, J=7.50, CH2), 2,12-2.00 (м, 1H, CH2), 1,89 -1.70 (м, 2H, CH2), 1,70 -1.48 (м, 7H, CH2), 1,48 -1.37 (м, 30H, t-Bu+CH_2), 1.38-1.20 (м, 3H, CH2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.): 173.8 (C(O)t-Bu), 172.33 (C(O)t-Bu) 172.30 (C(O)NH), 157.2 (C(O) (urea)), 82.4 (C-CH3 (t-Bu)), 81.7 (C-CH3 (t-Bu)), 80.7 (C-CH3 (t-Bu)), 53.4 (CH_2NH), 53.1 (CH_2NH), 51.3 (CH2N3), 39.0 (CHNH), 36.2 (CHNH), 32.5 (CH2), 31.6 (CH_2), 28.8 (CH_2), 28.6 (CH_2), 28.1 (CH3 (t-Bu)), 28.0 (CH3 (t-Bu)), 26.4 (CH_2), 25.3 (CH_2), 22.7 (CH_2).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{30}H_{54}N_6O_8$ [M+H^+]: 627.4076, найдено: 627.4080; m/z рассчитано для [M+Na^+]: 649.3895, найдено: 649.3900.

(S)-ди-трет-бутил 2-(3-((S)-6-(11-азидоундеканамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил) уреидо) пентандиоат (16)

К раствору 11-азидоундекановой кислоты (175 мг, 0,77 ммоль) в 5 мл DMF добавили EDC (212 мг, 1.025 ммоль), NHS (118 мг, 1.025 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 30 минут. Далее к этому раствору прибавили амин **2** (250 мг, 0,513 ммоль) в 5 мл DMF. Полученный раствор перемешивали в течение 24 часа. Далее реакционную смесь разбавили хлористым метиленом, полученный раствор 4 раза промывали насыщенным водным раствором NaCl (50 мл). Органические фракции объединили и упарили. Полученную маслянистую фракцию очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/hexane: 1/1). В результате было выделено 225 мг целевого продукта**4**, выход составил 63 %

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):6,76 (уш с, 1H, C(O)NH), 5.86 (уш с, 1H, NH(urea)), 5.62 (уш с, 1H, NH(urea)), 4.27 (м, 1H, NHCH), 4.15 (м, 1H, NHCH), 3.22-3.15 (м, 3H, CH_2), 3,15-3.07 (м, 1H, CH_2), 2.32-2.20 (м, 2H, CH_2), 2.14 (т, 2H, J=7.91 Гц, CH_2), 2.05-

1.95 (м, 1H, CH_2), 1.83 -1.72 (м, 1H, CH_2), 1.70 -1.65 (м, 1H, CH_2), 1.60 -1.40 (м, 7H, CH_2) 1.40-1.32 (м, 28H, t-Bu+CH_2), 1.30-1.15 (м, 15H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.): 173.8 (C(O)O(t-Bu)), 173.3 (C(O)O(t-Bu)) 172.4 (C(O)O(t-Bu)), 172.1 (C(O)NH), 157.4 (C(O) (urea)), 82.2 (C-CH_3 (t-Bu)), 81.3 (C-CH_3 (t-Bu)), 80.4 (C-CH_3 (t-Bu)), 53.5 (CH_2NH), 52.9 (CH_2NH), 51.4 (CH_2N_3), 39.0 (CHNH), 36.5 (CHNH), 32.4 (CH_2), 31.6 (CH_2), 29.36 (CH_2), 29.33 (CH_2), 29.1 (CH_2), 28.9 (CH_2), 28.8 (CH_2), 28.1 (CH_3 (t-Bu)), 27.99 (CH_3 (t-Bu)), 27.93 (CH_3 (t-Bu)), 26.6 (CH_2), 25.9 (CH_2), 22.9 (CH_2);

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{35}H_{64}N_6O_8$ [M+H^+]: 697.4858, найдено: 697.4862; m/z рассчитано для [M+Na^+]: 719.4678, найдено: 719.4681.

Синтез (S)-ди-трет-бутил 2-(3-((S)-6-(6-аминогексанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоат (17)

Соединение **15** (276 мг, 0.45 ммоль) растворили в 10 мл метанола, к этой смеси добавили 35 мг 10% Pd/C. Реакцию проводили в атмосфере водорода (~1 атм.) в течение 12 ч. После протекания реакции Pd/C отфильтровывали на диатомитовом сорбенте типа Celite. Фильтрат упаривали, в результате было выделено 262 мг (0.44 ммоль) целевого вещества **17**с выходом 97%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

5.86 (м, 2H, NH (мочевина)), 4.32 (м, 2H,CHC(O)O(t-Bu) (Glu), CHCOOt-Bu (Lys)), 3.20 (м, 2H, CH_2), 2.34 (м, 2H, CH_2), 2.24 (м, 2H, CH_2), 1.45-1.85 (м, 8H, CH_2), 1.96 (уш.с., 2H, NH_2), 1.42 (с, 9H, t-Bu), 1.41 (с, 9H, t-Bu), 1.39 (с, 9H, t-Bu), 1.33 (м, 4H, CH_2).

ESI-HRMS для $C_{38}H_{62}N_4O_{10}$: m/z рассчитано для [M+H]$^+$601.4171, найдено: 601.4150; m/z рассчитано для [M+Na]$^+$623.3990, найдено: 623.3979.

Синтез (S)-ди-трет-бутил 2-(3-((S)-6-(11-аминоундеканамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (18)

Соединение **16** (648 мг, 0.93 ммоль) растворили в 15 мл метанола, к этой смеси добавили 75 мг 10% Pd/C. Реакцию проводили в атмосфере водорода (~1 атм.) в течение 12 ч. После протекания реакции Pd/C отфильтровывали на диатомитовом сорбенте типа Celite. Фильтрат упаривали, в результате было выделено 618 мг (0.91 ммоль) целевого вещества**18** с выходом 98%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

5.56 (м, 2H, NH (мочевина)), 4.29 (м, 2H, CHC(O)O(t-Bu) (Glu), CHCOOt-Bu (Lys)), 3.21 (м, 2H, CH_2), 2.33 (м, 2H, CH_2), 2.27 (м, 2H, CH_2), 1.45-1.85 (м, 10H, CH_2), 1.96 (уш.с., 2H, NH_2), 1.42 (с, 9H, t-Bu), 1.41 (с, 9H, t-Bu), 1.39 (с, 9H, t-Bu), 1.33 (м, 12H, CH_2).

ESI-HRMS для $C_{38}H_{62}N_4O_{10}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$670.4881.

Синтез(23S,27S)-23,27,29-три-трет-бутил 2-метил 5-бензил-4,7,10,17,25-пентаоксо-1-фенил-3,6,11,18,24,26-гексаазанокозан-2,23,27,29-тетракарбоксилата (19)

К раствору **14** (74 мг., 0.180 ммоль) в 1 мл ДМФА прибавили HBTU (75 мг., 0.198 ммоль), N-гидроксибензотриазол (27 мг., 0.198 ммоль) и диизопропилэтиламин (62 мкл, 0.3595 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 30 минут. Далее к этому раствору прибавили раствор соединения **17** (103 мг, 0.180 ммоль) в 1 мл ДМФА. Полученный раствор перемешивали в течение 24 часов. Далее реакционную смесь упаривали, полученную фракцию растворяли в дихлорметане (25 мл), органическую фракцию 4 раза промывали водой (20 мл). После этого её упарили на роторном испарителе. Далее провели очистку вещества с помощью колоночной хроматографии с элюентом этилацетат/гексан (1/2). В результате было выделено 100 мг прозрачного маслянистого продукта**19**, выход 56% (100 мг, 0.10 ммоль).

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.00 (уш. с, 1H, NH), 7.76 (м, 2H, NH), 7.41 (уш. с., 1H, NH), 7.05-7.28 (м. 10H, Ar-H), 8.89 (т., 2H, J=5.5 Гц, NH(мочевина)), 4.54 (м, 2H, CHC(O)NH (Phe)) (Lys)), 4.12 (м, 2H, CHCOO(t-Bu)(Glu), CHCOO(t-Bu) (Lys)), 3.57 (с, 3H, CH_3), 3,55 (с,4 H, $CH_2Ph_)$ 3.10-3.18 (м, 10H,CH_2), 2.97-3.09 (м, 6H, CH_2), 2.32 (м, 2H, CH_2), 2.20 (м, 4H, CH_2), 2.04 (м, 2H, CH_2), 1.45-1.76 (м, 6H, CH_2), 1.85-1.24 (м, 8H, CH_2), 1.48 (с, 9H, t-Bu), 1.47 (с, 9H, t-Bu), 1.45 (с, 9H, t-Bu), 1.17-1.19 (м, 6H, CH_2).

ESI-HRMS для $C_{52}H_{80}N_8O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$1009.5812, найдено: 1009.5821; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$1031.5642, найдено: 1031.5653.

Синтез(23S,27S)-три-трет-бутил 2,5-дибензил-1-гидразинил-1,4,7,10,17,25-гексаоксо-3,6,11,18,24,26-гексаазанонаказан-23,27,29-трикарбоксилата (20)

Из соединения **19** (50 мг, 0.050 ммоль) в метаноле (5 мл) и моногидрата гидразина (25 мкл, 0.50 ммоль) получали 48 мг (96%) целевого соединения**20**в виде маслянистого, постепенно кристаллизующегося вещества. (Раздел 4.2.1)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.86 (уш. с, 1H, NHNH$_2$), 8.10 (д, 1H, J=7.43 Гц, C(O)NH (Phe)), 8.04 (д, 1H, J=8.41 Гц, C(O)NH(Phe)), 7.79 (уш. с, 1H, NH), 7.66 (уш. с, 1H, NH), 7.05-7.28 (м. 10H, Ar-H), 6.26 (д, 1H, J= 8.02 Гц, NH (мочевина)), 6.20 (д, 1H, J= 7.83 Гц, NH (мочевина)), 4.40 (м, 1H, CHC(O)NH (Phe)), 4.33 (м, 1H, CHC(O)NH (Phe)) (Lys)), 3.94 (м, 2H, CHCOO(t-Bu)(Glu), CHCOO(t-Bu) (Lys)), 3.57 (с, 4H, CH$_2$Ph), 3.10-3.18 (м, 10H,CH$_2$), 2.97-3.09 (м, 6H, CH$_2$), 2.32(м, 2H, CH$_2$),), 2.20 (м, 4H, CH$_2$), 2.04 (м, 2H, CH$_2$), 1.45-1.76 (м, 6H, CH$_2$), 1.85-1.24 (м, 8H, CH$_2$), 1.48 (с, 9H, t-Bu), 1.47 (с, 9H, t-Bu), 1.45 (с, 9H, t-Bu), 1.17-1.19 (м, 6H, CH$_2$).

ESI-HRMS для $C_{52}H_{80}N_8O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$1009.5988, найдено: 1009.5952; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$1031.5788, найдено: 1031.5791.

4.2.2 Общая методика получения лигандов 19a, 21-23, 28, 30-31, 34-35, 47-53, 126-146 удалением трет-бутильных защитных групп.

Удаление трех трет-бутильных групп проводили в растворе 1:9 (TFA:CH_2Cl_2).Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 12 часов, окончание реакции контролировали методом тонкослойной хроматографии. После протекания реакции растворитель удаляли при пониженном давлении. К полученному маслянистому осадку добавили 2 мл диэтилового эфира, в результате чего выделился белый твердый продукт. Эфир декантировали, процедуру повторили еще 2 раза. Продукт представлял собой белый гигроскопичный осадок.

Синтез (4S,7S,25S,29S)-4,7-дибензил-3,6,9,12,19,27-гексаоксо-2-окса-5,8,13,20,26,28-гексаазагентриаконтан-25,29,31-трикарбоновая кислота (19a)

Из соединения **11** (19 мг, 0.026 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **21** с выходом 95 % (17 мг, 0.025 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.42 (уш. с, 2H, COOH), 8.43 (д, 1H, J1=7.21 Гц, NH(Phe)), 8.08 (д, 1H, J1=8.31 Гц, NH(Phe)), 7.78 (м, 1H, NHC(O)), 7.72 (м, 1H, NHC(O)), 7.38-7.05 (м. 10H, Ar-H), 6.25-6,32 (м, 2H, NH(мочевина)), 4.40-4,53 (м, 2H, CH(мочевина))), 4.02-4,12 (м, 2H, CH(Phe)), 3.55 (м, 3H, OCH$_3$), 3.36(кв, 1H, J1=7 Гц), 3.10-2.80 (м, 8H, CH$_2$), 2.65 (м,1H, CH$_2$), 2.30-2.10 (м, 6H, CH$_2$), 1.90 (м, 1H,CH$_2$), 2.00 (т, 2H, J1=7.2 Гц, CH$_2$(Phe)), 1.75-1.55 (м, 2H, CH$_2$), 1.55-1.10 (м, 12H, CH$_2$).

ESI-HRMS для $C_{41}H_{56}N_6O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 841.3978, найдено: 841.4011.

Синтез (2S,5S,23S,27S)-2,5-дибензил-1-гидразинил-1,4,7,10,17,25-гексаоксо-3,6,11,18,24,26-гексаазанонакозан-23,27,29-трикарюоновойкислотытрифторацетат (21)

Из соединения **11** (19 мг, 0.026 ммоль) в 5 мл смеси1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **21** с выходом 95 % (17 мг, 0.025 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

10.52 (с, 1H, NHNH$_2$), 7.74 (с, 2H, NH), 6.47 (м, 1H, NH (мочевина)), 6.33 (м, 1H, NH (мочевина)), 4.10 (м, 1H, CHCOOH), 2.96 (м, 4H, CH_2), 2.22 (м, 4H, CH_2), 2.04 (м, 6H, CH_2), 1.59-1.90 (м, 6H, CH_2), 1.48(м, 8H, CH_2), 1.36 (м, 4H, CH_2), 1.23 (м, 6H, CH_2).

ESI-HRMS для $C_{24}H_{42}N_6O_{10}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$575.3035, найдено: 575.2947; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$576.3068, найдено: 576.2986.

Синтез 30-гидразинил -5,13,25,30-тетраоксо-4,6,12,24-тетраазатриаконтан-1,3,7-трикарбоновой кислоты трифторацетата (22)

Из соединения **12** (100 мг, 0,12 ммоль) в 7 мл смеси1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **22** с выходом 99 % (92.40 мг, 0.12 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

10.67 (с, 1H, NHNH$_2$), 7.69 (с, 2H, NH), 6.28 (м, 2H, NH (мочевина)), 4.07 (м, 1H,CHCOOH), 3.97 (м, 1H, CHCOOH), 2.96 (м, 4H, CH_2), 2.17 (м, 4H, CH_2), 2.01 (м, 4H, CH_2), 1.5-1.9 (м, 4H, CH_2), 1.45(м, 8H, CH_2), 1.32 (м, 4H, CH_2), 1.23 (м, 16H, CH_2).

ESI-HRMS для $C_{29}H_{52}N_6O_{10}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$645.3818, найдено: 645.3784; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$667.3637, найдено: 667.3632.

Синтез (2S,5S,23S,27S)-2,5-дибензил-1-гидразинил-1,4,7,10,17,25-hexaoxo-3,6,11,18,24,26-гексаазанонакозан-23,27,29-трикарюоновой кислоты трифторацетата (23)

Из соединения **20** (100 мг, 0,12 ммоль) в 5 мл смеси1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **23** с выходом 96 % (37 мг, 0.039 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

8.16 (уш. с, 1H, NHNH$_2$), 7.85 (с, 1H, NH), 7.83 (с, 1H, NH), 7.79 (уш. с, 1H, NH), 7.66 (уш. с, 1H, NH), 7.15-7.35 (м. 10H, Ph), 6.29 (м, 2H, , NH (мочевина)), 4.43 (м, 2H, CHC(O)NH (Phe)), 4.22 (уш. с, 1H, NH3$^+$), 4.12 (м, 2H, CHCOO(t-Bu)(Glu), CHCOO(t-Bu)(Lys)), 3.63 (с, 4H, CH_2Ph), 3.10-3.18 (м, 10H, CH_2), 2.97-3.09 (м, 6H, CH_2), 2.09-2.35(м, 8H, CH_2),), 2.02 (м, 2H, CH_2), 2.91 (м, 2H, CH_2), 1.85-1.24 (м, 8H, CH_2), 1.41-1.56 (м, 4H, CH_2)1.30-1.41 (м, 6H, CH_2), 1.11-1.30 (м, 8H, CH_2).

ESI-HRMS для $C_{40}H_{56}N_8O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$841.4090, найдено: 841.4077; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$863.3910, найдено: 863.3856.

4.2.3 Общая методика получения гидразонов доксорубицина 24-26.

Гидрохлориддоксорубицина (1 моль) игидразид-лиганд ПСМА (1моль) были растворены в метаноле. К раствору была добавлена трифторуксусная кислота, реакционную смесь перемешивали в течение 24 часов при комнатной температуре в отсутствии света. Даее реакционная смесь была сконцентрирована и к ней было прибавлено 5 мл ацетонитрила. Полученный осадок был декантирован. Дальнейшую очистку проводили методом препаративной обращенно-фазовой ВЭЖХ хроматографии с элюентом MeOH/вода (градиент от 50 % до 90 % MeOH в течение 60 минут).

Синтез (23S,27S,Z)-2-((2S,4S)-4-(((2R,4S,5S,6S)-4-амино-5-гидрокс-6-метилтетрагидро-2H-пиран-2-ил) окси)-2,5,12-тригидрокси-7-метокси-6,11-диоксо-1,2,3,4,6,11-гексагидротетрацен-2-ил)-1-гидрокси-5,10,17,25-тетраоксо-3,4,11,18,24,26-гексаазакоз-2-ен-23,27,29-трикарбоновая кислота (24)

Из гидрохлорида доксорубицина (15 мг, 0.026 ммоль) исоединение **22** (17.9 мг, 0.026 ммоль) в 1 мл метанола был получен конъюгат **24**,выход составил 16% (4.7 мг, 4.27 мкмоль). (Раздел 4.2.3)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):
7.84-8.00 (м, 3H, Ar), 7.56-7.78 (м, 3H, NH_3), 7.23-7.41 (м, 2H, NH), 5.35-5.61 (м, 3H, NH), 5.21-5.35 (м, 2H, CH), 4.79-5.01 (м, 3H, CH), 4.45-4.65 (м, 3H, CH+CH_2), 4.03-4.19 (м, 3H, CH_2), 3.45-3.66 (м, 4H, CH_2), 2.82-3.04 (м, 5H, CH_2), 1.76-2.37 (м, 11H, CH_2), 1.27-1.76 (м, 14H, CH_2), 0.91-1.27 (м, 12H, CH_2).

ESI-LCMS для $C_{52}H_{61}N_7O_{20}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1099.67, найдено: 1099.66

Синтез (28S, 32S,Z)-2-((2S,4S)-4-(((2R,4S,5S,6S)-4-амино-5-гидрокси-6-метилтетрагидро -2H-пиран -2-ил) окси)-2,5,12-тригидрокси-7-метокси-6,11-диоксо-1,2,3,4,6,11-гексагидротетрацен-2-ил)-1-гидрокси-5,10,22,30-тетраоксо-3,4,11,23,29,31-гексаазатетратриаконт-2-ен-28,32,34-трикарбоновая кислота (25)

Из гидрохлорида доксорубицина (6мг, 0.010ммоль) и соединения**22**(8 мг, 0.01 ммоль) в 1 мл метанола был получен конъюгат **25**,выход составил 17% (2,0 мг, 1.7 мкмоль). (Раздел 4.2.3)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

14.09 (с, 1H, OH), 13.33 (с, 1H, OH), 7.42-8.12 (м, 7H, NH_3+NH), 6.25-6.60 (м, 2H, NH), 5.67-5.92 (м, 1H, NH), 5.16-5.58 (м, 3H, NH+OH), 4.80-5.15 (м, 2H, CH), 4.32-4.61 (м, 2H, CH), 3.84-4.25 (м, 1H, NH), 3.47-3.76 (м, 4H, CH_2), 2.76-3.11 (м, 6H, CH_2), 2.12-2.38 (м, 5H, CH_2), 1.81-2.04 (м, 5H, CH_2), 1.58-1.81 (м, 3H, CH_2), 1.41-1.58 (м, 4H, CH_2), 1.30-1.41 (м, 4H, CH_2), 0.94-1.29 (м, 16H, CH_2).

ESI-LCMS для $C_{56}H_{79}N_7O_{20}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1069.27, найдено: 1069.41.

Синтез (6S,9S,27S,31S,Z)-2-((2S,4S)-4-(((2R,4S,5S,6S)-4-амино-5-гидрокси-6-метилтетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-2,5,12-тригидрокси-7-метокси-6,11-диоксо-1,2,3,4,6,11-гексагидротетрацен -2-ил)-6,9-дибензил-1-гидрокси-5,8,11,14,21,29-гексаоксо-3,4,7,10,15,22,28,30-октаазатритриаконт-2-ен-27,31,33-трикарбоновая кислота (26)

Из гидрохлорида доксорубицина(12 мг, 0.020 ммоль) и соединения **23**(19,8 мг, 0.020 ммоль) в 1 мл метанола был получен конъюгат **26**,выход составил 13% (3,5 мг, 2,5 мкмоль). (Раздел 4.2.3)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

14.06 (с, 1H, OH), 13.27 (с, 1H, OH), 7.87-7.98 (м, 3H, Ar), 7.77-7.85 (м, 3H, Ar), 7.63-7.77 (м, 3H, Ar), 7.08-7.40 (м, 7H, NH_3+Ar), 6.42-6.53 (м, 1H, NH), 6.23-6.37 (м, 1H, NH), 5.38-5.53 (м, 2H, NH), 5.27-5.37 (м, 1H, NH), 4.93-5.04 (м, 1H, NH), 4.83-4.93 (м, 1H, NH), 4.54-4.63 (м, 2H, NH), 4.14-4.23 (м, 1H, CH), 3.93-4.14 (м, 6H, CH+CH_2), 3.50-3.67 (м, 5H, CH_2), 2.87-3.09 (м, 8H, CH_2), 2.12-2.38 (м, 8H, CH_2), 2.12-2.35 (м, 8H, CH_2), 1.85-2.03 (м, 4H, CH_2), 1.56-1.85 (м, 4H, CH_2), 1.31-1.56 (м, 6H, CH_2), 0.97-1.31 (м, 11H, CH_2).

ESI-LCMS для $C_{68}H_{85}N_9O_{22}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$1366.50, найдено: 1366.57

Синтез (3S,7S)-28-(((2S,3S,4S,6R)-3-гидрокси-2-метил-6-(((1S,3S)-3,5,12-тригидрокси-3-(2-гидроксиацетил)-10-метокси-6,11-диоксо-1,2,3,4,6,11-гексагидротетрацен-1-ил) окси) тетрагидро-2H-пиран-4-ил) амино)-5,13,25,28-тетраоксо-4,6,12,24-тетраазаоктакозан-1,3,7-трикарбоновая кислота (27)

Гидрохлорид доксорубицина (25 мг) растворили в 1 мл ДМФА, далее добавили 4,3 мг янтарного ангидридаи 15,8 мкл DIPEA, реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре, далее в реакцию добавили 5,5 мг NHS, 20 мг HBTUb 15,1 мкл DIPEA, далее было добавлено 34 мг соединения **40а**и 45 мкл DIPEA. Целевой продукт был выделен с помощью тонкослойной хроматографии(MeOH:DCM 4:1), в результате чего было получено соединение **123** с общим выходом 34%

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

7.96 (д, 1Н, J=7.6 ГцAr-H), 7.847 (т, 1Н, J=7.9 Гц, Ar-H), 7.58 (д, 1Н,J=8.5 Гц, Ar-H), 5.43 (м, 1Н, J=3.3 Гц, NH), 5.16 (уш с, 1Н, NH), 4.76 (д, 1Н, J=2 Гц, NH), 4.23-4.31 (м, 2Н, CH), 4.07-4.15 (м, 1Н, CH), 3.86 (м, 1Н), 3.15 (м, 1Н, CH), 3.09 (м, 1Н, CH), 3.04 (м, 1Н, CH), 2.60 (м, 4Н, CH_2), 2.30-2.47 (м, 6Н, CH_2), 2.14-2.24 (м, 1Н, CH_2), 1.94-2.05 (м, 1Н, CH_2), 1.65-1.77 (м, 2Н, CH_2), 1.24-1.49 (м, 16Н, CH_2), 0.80-1.03 (м, 7Н, CH_2).

ESI-LCMS для $C_{54}H_{73}N_5O_{21}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1128.55, найдено: 1128.49

11-(((S)-5-карбокси-5-(3-((S)-1, 3-дикарбоксипропил)уреидо)пентил)амино)-11-оксоундекан-1-аммонийтрифторацетат (28)

Из соединения **18** (58 мг, 0,086 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **28** с выходом 98 % (51 мг, 0.083 ммоль). (Раздел 4.2.2)

^{1}HNMR (400 МГц, DMSO-d6, δ, ppm): 12.45 (уш. с, 3Н, COOH), 7.76 (т, 1Н, J1=5.4 Гц, NH(аминд)), 7.69 (уш с, 3Н, NH_3^+), 6.35 (д, 1Н, J1=8.3 Гц, NH(мочевина)), 6.32 (д, 1Н, J1=8.3 Гц, NH(мочевина)), 3.98-4.13 (м, 2Н, CH), 2.99 (кв, 2Н, J1=6.2 Гц, CH_2), 2.70-2.81 (м, 2Н, CH_2), 2.20-2.29 (м, 2Н, CH_2), 2.02 (т, 2Н, J_1=7.4 Гц, CH_2), 1.87-1.97 (м, 2Н, CH_2), 1.56-1.78 (м, 2Н, CH_2), 1.42-1.56 (м, 5Н, CH_2), 1.32-1.42 (м, 2Н, CH_2), 1.11-1.32 (м, 16Н, CH_2).

3,3-диметил-1-((3S,7S)-1, 3, 7-трикарбокси-5, 13, 25-триоксо-4, 6, 12, 24-тетраазатриаконтан-30-ил)-2-((1E,3E,5E)-5-(1, 3, 3-триметил-5-сульфонатиндолине-2-илиден)-пента-1,3-диен-1-ил)-3Н-индол-1-ий-6-мульфонат (29)

К раствору соединения **28**(2.7 мг, 4.38 мкмоль) вDMFдобавили 5 мг NHS-эфира Sulfo-Cy5 (6.56 мкмоль) и 4.6 мклдиизопропилэтиламина (0.026 ммоль). Реакционную смесь упарили. Полученную фракцию очищали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ хроматографии с элюентом CH_3CN/вода (градиентот 1/9 до 9/1в течение 60 минут), скорость потока элюента 2 мл/мин. Выход соединения **29** составил 30 % (1.5 мг, 1.31 мкмоль).

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

7.98 (м, 2Н, Ar-H), 7.77 (м, 2Н, Ar-H), 7.73 (м, 2Н, Ar-H), 7.25 (м, 2Н, -CH=CH-), 6.54 (т, 1Н, J=12.90, C-CH=CH-), 6.49 (т, 1Н, J=12.72 Гц, C-CH=CH-), 6.21 (д, 1Н, -CH=CH-), 4.01 (м, 1Н, CHCOOH (Glu)), 3.90 (м, 1Н, CHCOOH (Lys)), 3.62 (м, 2Н, J=6.6 Гц, NHC(O)CH_2), 3.51 (с, 3Н, NCH_3), 2.97 (т, 2Н, J=6.37 Гц, NHC(O)CH_2), 2.27 (м, 2Н, CH_2), 2.12 (м, 2Н, CH_2), 2.02 (м, 2Н, CH_2), 1.75 (м, 2Н, CH_2), 1.61 (с, 6Н, C-CH_3), 1.52 (м, 4Н, CH_2), 1.34 (м, 2Н, CH_2), 1.25 (с, 6Н, C-CH_3), 1.20 (м, 4Н, CH_2), 1.05 (м, 16Н, CH_2).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{55}H_{77}N_6O_{15}S_2$ [M^-]: 1124.4993, найдено: 1124.5062.

Синтез 2-(3-(5-(7-азидогептанамидо)-1-карбоксифенил)уреидо)пентандиовая кислота (30)

Из соединения **15** (140 мг, 0,223 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **30** с выходом 93 % (95 мг, 0.207 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):10.77 (bs, 3H, COOH), 8.63 (д, J = 7 Гц, 1H, NH), 7.78 (м, 1H, NH), 6.31 (м, 1H, NH), 4.02-4.08 (м, 2H, CH), 3.78-3.80 (м, 2H, CH2), 3.27-3.29 (м, 1H, CH2), 2.99 (м, 2H, CH2), 2.67 (м, 2H, CH2), 2.58-2.62 (м, 1H, CH2), 2.20-2.30 (м, 2H, CH2), 2.01-2.07 (м, 2H, CH2), 1.87-1.94, 1.59-1.74 (м, 4H, CH2), 1.46-1.51 (м, 6H, CH2), 1.37 (м, 3H, CH2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.): 174.99 (COOt-Bu), 174.62 (COOt-Bu), 174.17 (C(O)-NH), 172.24 (COOt-Bu), 157.75 (NH-C(O)-NH), 52.71 (CHNH), 52.10 (CHNH), 50.98 (CHNH), 38.71 (CH_2), 35.68 (CH_2), 32.23 (CH_2), 30.34 (CH_2), 29.29 (CH_2), 28.45 (CH_2), 27.97 (CH_2), 26.25 (CH_2), 25.27 (CH_2), 23.08 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2937 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2865 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2098 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1716 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OCMe$_3$), 1634 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)NR_2), 1553 $см^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{18}H_{30}N_6O_8$ [$M+H^+$]: 459.2198, найдено: 459.2197; m/z рассчитано для [$M+Na^+$]: 481.2017, найдено: 481.2015.

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(11-азидоундеканамидо)-1-карбоксипентил)уреидо) пентандиовой кислоты (31)

Из соединения **16** (123 мг, 0,176 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **31** с выходом 32 % (30 мг, 0.056 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):7.75 (уш с, 1H, C(O)NH), 6.33 (br s., 2H, NH(urea)), 4.07 (с, 1H, NHCH), 4.02 (с, 1H, NHCH), 3.27 (т, 1H, J=6.85 Гц, CH2), 3.04-2.92 (м, 2H, CH2), 2.90-2.75 (м, 1H, CH2), 2.55-2.45 (м, 2H, CH2), 2.30 -2.15 (м, 2H, CH2), 2.04 -1.95 (м, 2H, CH2), 1.94 -1.85(м, 1H, CH2), 1.75 -1.55(м, 2H, CH2), 1.55 -1.39 (м, 5H, CH2), 1.39-1,30 (м, 2H, CH2), 1.30-1.9 (м, 16H, CH2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.): 175.0 (C(O)OH), 174.6 (C(O)OH), 174.1 (C(O)OH), 172.6 (C(O)NH), 157.8 (C(O) (urea)), 52.7 (CH_2), 52.1 (CH_2), 51.1 (CH_2), 48.7 (CHNH), 38.7 (CHNH), 35.9 (CH_2), 32.9 (CH_2), 32.2 (CH_2), 31.05 (CH_2), 30.32 (CH_2), 29.0 (CH_2), 28.7 (CH_2), 27.9 (CH_2), 26.6 (CH_2), 26.2 (CH_2), 25.8 (CH_2), 23.1 (CH_2)

ИКспектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2929$см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$вал.), 2856$см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$вал.), 2096$см^{-1}$ (N_3вал.), 1724$см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OCMe$_3$), 1629$см^{-1}$ (C=O вал., C(O)NR_2), 1563 $см^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{23}H_{40}N_6O_8$ [M+H^+]: 529.2980, найдено: 529.2979; m/z рассчитано для [M+Na^+]: 551.2800, найдено: 551.2800.

Синтез три-трет-бутил 19-азидо-5,13-диоксо-4,6,12,14-тетраазанонадекан-1,3,7-трикарбоксилат (32)

К раствору 1-азидо-5-изоцианатопентана (142 мг, 0.922 ммоль) в 5 мл ДМФА прибавили **2** (374 мг, 0.768 ммоль) в 5 мл ДМФА. Полученный раствор перемешивали в течение 24 часов. Далее реакционную смесь упаривали, полученную фракцию растворяли в дихлорметане (100 мл), органическую фракцию 4 раза промывали водой (30 мл). После этого её упарили на роторном испарителе. Дальнейшая очистка которого методом многократной колоночной хроматографии (EtOAc/Hexane 2/1) привела к получению 63 мг (0,098 ммоль) целевого продукта **32**c выходом 13%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):6.10-6.12 (д,J = 8 Гц, 1H, NH), 5.66-5.67 (д,J = 7 Гц, 1H, NH), 4.26-4.27 (м, 1H, CH), 4.05 (с, 1H, CH), 3.05-3.27 (м, 5H, CH_2), 2.30-2.35 (м, 2H, CH_2), 2.03-2.08 (м, 1H, CH_2), 1.79-1.85 (м, 1H, CH_2), 1.69 (м, 1H, CH_2), 1.56-1.63 (м,2H, CH_2), 1.48-1.52 (м, 3H, CH_2), 1.42-1.46 (с, 27H, t-Bu), 1.24-1.31 (с, 3H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.): 174.49 (COOt-Bu), 172.36 (COOt-Bu), 172.00 (COOt-Bu), 158.95 (C(O)-NH), 157.90 (C(O)-NH), 83.05 (CHNH), 81.50(CHNH), 80.77 (), 77.38 (O-t-Bu), 77.06 (O-t-Bu), 76.74 (O-t-Bu), 54.29 (CH_2), 53.26 (CH_2), 51.33 (CH_2), 39.92 (CH_2), 39.38 (CH_2), 32.09 (CH_2), 31.59 (CH_2), 30.05 (CH_2), 29.69 (CH_2), 28.59 (CH_2), 28.03 (t-Bu), 27.97 (t-Bu), 27.93 (t-Bu), 27.67 (CH_2), 24.06 (CH_2), 23.52 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2977 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2931 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2866 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2096 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1730 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OCMe$_3$), 1680 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)NR_2), 1628 $см^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-LCMS: m/z рассчитано для $C_{30}H_{55}N_7O_8$ [M+H^+]: 642.42, найдено: 642.30.

Синтез три-трет-бутил 24-азидо-5,13-диоксо-4,6,12,14-тетраазатетракозан-1,3,7-трикарбоксилат (33)

К раствору 1-азидо-10-изоцианатодекана (140 мг., 0.624 ммоль) в 5 мл ДМФА прибавили **2** (254 мг, 0.52 ммоль) в 5 мл ДМФА. Полученный раствор перемешивали в течение 24 часов. Далее реакционную смесь упаривали, полученную фракцию растворяли в дихлорметане (100 мл), органическую фракцию 4 раза промывали водой (30 мл). После этого её упарили на роторном испарителе. В результате было выделено 755 мг

маслянистой жидкости желтоватого цвета, дальнейшая очистка которого методом многократной колоночной хроматографии (EtOAc/Hexane 2/1) привела к получению 66 мг (0,093 ммоль) целевого продукта **33** с выходом 18%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):6.10 (д, 1H, J1=8.08 Гц, NHCH), 5.69 (д, 1H, J1=6.75 Гц, NHCH), 5.64 (уш. с. 1H, NH(urea)), 5.37 (уш. с. 1H, NH(urea)), 4.27 (м, 1H, CH (urea)), 4.06 (м, 1H, CH (urea)), 3.25 (т, 2H, J1=6.98 Гц, CH_2NH), 3.27-3.0 (м, 4H, CH2), 2,30 (м, 2H, CH_2), 2.05 (м, 1H,CH_2), 1.81 (м, 1H, CH_2), 1.68 (м, 1H, CH_2), 1.56 (квинт., 2H, CH_2,J1=7.20 Гц,), 1.51 (м, 1H, CH_2), 1.47-1.37 (м, 29H, 3×(t-Bu)+CH_2), 1.37-1.20 (м, 15H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.): 174.2 (C(O)t-Bu), 172.3(C(O)t-Bu) 171.9(C(O)t-Bu), 159.0 (C(O) (urea)), 157.86(C(O) (urea)), 82.8 (C-CH_3 (t-Bu)), 81.3 (C-CH_3 (t-Bu)), 80.6 (C-CH_3 (t-Bu)), 54.1 (CH_2NH), 53.1 (CH_2NH), 51.4 (CH_2N_3), 40.2 (CHNH), 39.3 (CHNH), 32.0 (CH_2), 31.6 (CH_2), 30.4(CH_2), 29.7(CH_2), 29.4 (CH_2), 29.4 (CH_2), 29.36 (CH_2), 29.10 (CH_2), 28.79 (CH_2), 28.0 (CH_3 (t-Bu)), 27.95 (CH_3 (t-Bu)), 27.92 (CH_3 (t-Bu)), 27.7 (CH_2), 26.9 (CH_2), 26.6 (CH_2), 23.4(CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2975 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2927 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2858 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2098 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1731 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OCMe$_3$), 1681 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)NR_2), 1631 $см^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{35}H_{65}N_7O_8$ [M+H^+]: 712.4973, найдено: 712.4965; m/z рассчитано для [M+Na^+]: 734.4787, найдено: 374.4780.

Синтез 19-азидо-5,13-диоксо-4,6,12,14-тетраазанонадекан-1,3,7-трикарбоновой кислоты (34)

Из соединения **32** (63 мг, 0,098 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **30** с выходом 95 % (44 мг, 0.093 ммоль). (Раздел 4.2.2)

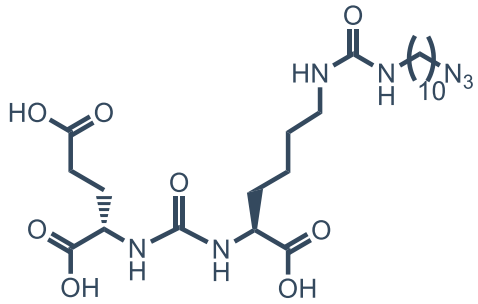
Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):12.32 (с, 3H, COOH), 6.20 (т, J = 8.9 Гц, 1H, NH), 5.75 (bs, 1H, NH), 3.97-4.08 (м, 2H, CH), 3.27 (т, J = 6.8 Гц, 1H, CH2), 2.97-2.98 (м, 2H, CH2), 2.91 (кв, J = 6.9 Гц, 3H, CH2), 2.13-2.30 (м, 2H, CH2), 1.83-1.95 (м, 2H, CH2), 1.59-1.71 (м,2H, CH2), 1.46-1.51 (м, 3H, CH2), 1.20-1.35 (м, 8H, CH2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.): 174.95 (COOH), 174.60 (COOH), 174.14 (COOH), 158.50 (C(O)NH), 157.70 (C(O)NH), 52.73 (CHNH), 52.06 (CHNH), 51.03 (CH2), 32.26 (CH2), 31.11 (CH2), 30.30 (CH2), 30.20 (CH2), 30.00 (CH2), 28.43 (CH2), 27.93 (CH2), 24.00 (CH2), 23.04 (CH2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2940 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2869 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2101 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1728 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OCMe$_3$), 1664 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)NR_2), 1574 $см^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{18}H_{31}N_7O_8$ [M+H^+]: 474.2307, найдено: 474.2323.

Синтез 24-азидо-5, 13-диоксо-4,6,12,14-тетраазатетракозан-1,3,7-трикарбоновой кислоты (35)



Из соединения **33** (66 мг, 0,093 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **30** с выходом 97 % (49 мг, 0.090 ммоль).

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):12.38 (bs, 2H, COOH), 6.30 (м, 2H, NH), 4.02-4.06 (м, 2H, CH), 2.88-2.93 (м, 5H, CH_2), 2.17-2.32 (м, 3H, CH=), 2.01-2.07 (м, 2H, CH_2), 1.88-1.91 (м, 1H, CH_2), 1.61-1.70 (м, 3H, CH_2), 1.49-1.50 (м, 4H, CH_2), 1.16-1.38 (м, 3H, CH_2).

СпектрЯМР^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.): 175.04 (COOH), 174.70 (COOH), 174.25 (COOH), 158.54 (CO), 157.74 (CO), 52.79 (CH), 52.18 (CH), 51.06 (CH_2), 32.30 (CH_2), 31.94 (CH_2), 31.12 (CH_2), 30.48 (CH_2), 30.33 (CH_2), 30.25 (CH_2), 29.41 (CH_2), 29.33 (CH_2), 29.23 (CH_2), 28.98 (CH_2), 28.69 (CH_2), 27.96 (CH_2), 26.86 (CH_2), 26.60 (CH_2), 23.08 (CH_2).

ИКспектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2931 (C-H алиф¬ вал.), 2857 (C-H алиф¬ вал.), 2098 (N3 вал.), 1722 (C=O вал., C(O)OH), 1633 (C=O вал., C(O)NH), 1569 (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{23}H_{41}N_7O_8$: [M+H^+]: 544.3089, найдено: 544.3080.

4.2.4 Общая методика реакции восстановительного аминирования.

К раствору соединения **2** (1 моль) в DCM, добавили 3-хлорбензальдегид (1 ммоль), полученный раствор перемешивали в течение 3 часов в атмосфере аргона. Далее в реакционную смесь добавили 261 мг (1.5 моль) триацетоксиборгидрида, реакцию проводили в течение 16 часов. Полученную реакционную смесь упарили при пониженном давлении, образовавшийся осадок отфильтровали, полученный фильтрат упарили при пониженном давлении. Дальнейшую очистку проводили с помощью колоночной

хроматографии с элюентом DCM/MeOH (Puriflash 50μ 25g от 0 до 15% MeOH в течение 30 минут, от 15% до 100% за 15 минут).

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-1-(*трет*-бутокси)-6-((4-фторбензил)амино)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (36)

Из соединения **2** (512 мг, 1,05 ммоль), *п*-фторбензальдегида (104 мг, 1,05 ммоль) в 20 мл дихлорметана в присутствии 0,335 г (0,00158 моль) триацетоксиборогидрида натрия было получено соединение **36** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 40 % (250 мг). (Раздел 4.2.4)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.87 (уш. с, 1H, $CH_2N\underline{H}$), 7.57 – 7.40 (т , *J* = 8.3 Гц, 2H, ArH), 7.00 (т, *J* = 8.3 Гц, 2H, ArH), 6.18 – 5.98 (м, 2H, $N\underline{H}C(O)N\underline{H}$), 4.30 (дд, *J* = 15.5, 6.8 Гц, 1H, $C\underline{H}$,), 4.20 (м, 1H, $C\underline{H}$), 4.04 (с, 2H, CH_2Ar), 2.90 – 2.82 (м, 1H, CH_2), 2.79 – 2.68 (м, 1H, CH_2), 2.36 – 2.18 (м, 3H), 2.01 (м, 1H, CH_2), 1.85 – 1.60 (м, 4H, CH_2), 1.54 (м, 2H, CH_2), 1.47 – 1.27 (м, 27H, -$C(O)OC(CH_3)_3$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.74 ($\underline{C}$(O)OCMe3), 172.29 ($\underline{C}$(O)OCMe3), 172.14 ($\underline{C}$(O)OCMe3), 157.59 (NH$\underline{C}$(O)NH), 132.35 (Ar), 132.27 (Ar), 116.03 (Ar), 115.81 (Ar), 81.66 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.35 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 80.27 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 53.21 (CH), 52.65 (CH), 50.23 (CH_2NH), 45.85 (CH_2Ar), 31.58 ($\underline{C}H_2$), 28.44 (C(O)OC($\underline{C}H_3)_3$), 28.28 (C(O)OC($\underline{C}H_3)_3$), 28.02 (C(O)OC($\underline{C}H_3)_3$), 27.94 (CH_2), 25.59 (CH_2), 22.63 (CH_2), 22.25 (CH_2).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{31}H_{51}N_3O_7F$ [$M+H^+$]: 596.3706, найдено: 596.3718; m/z рассчитано для [$M+Na^+$]: 618.3525, найдено: 618.3522.

Синтез ди-*трет*-бутил-2-(3-(1-(*трет*-бутокси)-6-((4-хлоробензил)амино)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (37)

Из соединения **2** (480 мг, 0.984 ммоль), *п*-хлорбензальдегида (138 мг, 0.984 ммоль) в 20 мл дихлорметана в присутствии добавили 313 мг (1.480 ммоль) триацетоксиборогидрида натрия было получено соединение **37** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 68 % (410 мг). (Раздел 4.2.4)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.23 (с, 1H, NH), 7.37 (д, *J* = 8.5 Гц, 2H, Ar), 7.29 (д, *J* = 8.5 Гц, 2H, Ar), 5.99 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H, NH (мочевина)), 5.80 (д, *J* = 8.1 Гц, 1H, NH (мочевина)), 4.33 (м, 1H, CH), 4.28 – 4.23 (м, 1H, CH), 3.91 (с, 2H, CH_2Ar), 2.76 (дд, *J* = 12.7, 6.4 Гц, 1H, $C\underline{H}_2NH$), 2.71 – 2.64 (м, 1H, $C\underline{H}_2NH$), 2.40 – 2.21 (м, 2H, $C\underline{H}_2C(O)OCMe_3$), 2.08 – 1.99 (м, 1H, $C\underline{H}_2CH$), 1.79 (дд, *J* = 13.2, 6.4, 3.6 Гц, 1H, $C\underline{H}_2CH$), 1.71 – 1.51 (м, 4H, CH_2), 1.40 (м, 29H, C(O)OC($C\underline{H}_3)_3$, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.71 (C(O)OCMe$_3$), 172.34 (C(O)OCMe$_3$), 172.24 (C(O)OCMe$_3$), 157.43 (NHC(O)NH), 134.59 (Ar), 131.80 (Ar), 131.09 (Ar), 128.93 (Ar), 81.74 (C(O)OCMe$_3$), 81.40 (C(O)OCMe$_3$), 80.32 (C(O)OCMe$_3$), 53.15 (CH), 52.69 (CH), 50.75 (CH_2NH), 46.49 (CH_2Ar), 31.64 (CH_2), 31.59 (CH_2), 28.51 (CH_2), 28.04 (C(O)OCMe$_3$), 27.97 (C(O)OCMe$_3$), 27.94 (C(O)OCMe$_3$), 26.57 (CH_2), 22.34 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{31}H_{50}N_3O_7Cl$: m/z рассчитано для [M+H$^+$]: 612.3411, найдено: 612.3422;m/z рассчитано для [M+Na$^+$]: 634.3229, найдено: 634.3226;m/z рассчитано для [M+K$^+$]: 650.2969, найдено: 650.2974

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-1-(*трет*-бутокси)-6-((4-бромбензил)амино)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (38)

Из соединения **2** (378 мг, 0.775 ммоль), *n*-бромбензальдегида (143 мг, 0.775 ммоль) в 15 мл дихлорметана в присутствии добавили 246 мг (1.160 ммоль) триацетоксиборогидрида натрия было получено соединение **38** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 68 % (313 мг). (Раздел 4.2.4)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.61 (уш. с, 1H, NH), 7.41 (д, *J* = 8.4 Гц, 2H, Ar), 7.32 (д, *J* = 8.4 Гц, 2H, Ar), 6.07 (д, *J* = 8.4 Гц, 1H, NHC(O)), 5.95 (д, *J* = 8.2 Гц, 1H, NHC(O)), 4.31 (тд, *J* = 8.4, 4.9 Гц, 1H, CH), 4.19 (дд, *J* = 11.9, 7.6 Гц, 1H, CH), 3.92 (с, 2H, CH_2Ar), 2.81 – 2.73 (м, 1H, CH_2NH), 2.70 – 2.62 (м, 1H, CH_2NH), 2.25 (м, 2H, CH_2C(O)OCMe$_3$), 1.99 (ддд, *J* = 15.1, 9.8, 5.4 Гц, 1H, CH_2CH), 1.79 – 1.71 (м, 1H, CH_2CH), 1.68 – 1.48 (м, 4H), 1.43 – 1.22 (м, 29H, C(O)OC(CH_3)$_3$, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.64 (C(O)OCMe3), 172.28 (C(O)OCMe3), 172.22 (C(O)OCMe3), 157.52 (NHC(O)NH), 131.93 (Ar), 131.67 (Ar), 123.06 (Ar), 81.63 (C(O)OCMe$_3$), 81.31 (C(O)OCMe$_3$), 80.24 (C(O)OCMe$_3$), 53.19 (CH), 52.59 (CH), 50.49 (CH_2NH), 46.21 (CH_2Ar), 31.55 (CH_2), 31.51 (CH_2), 28.55 (CH_2), 28.01 (C(O)OCMe$_3$), 27.95 (C(O)OCMe$_3$), 26.16 (CH_2), 22.34 (CH_2).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{31}H_{51}N_3O_7{}^{79}Br$ [M+H$^+$]: 656.2905, найдено: 656.2925; m/z рассчитано для $C_{31}H_{51}N_3O_7{}^{81}Br$ [M+H$^+$]: 658.2885, найдено: 658.2901

Синтез ди-трет-бутилового эфира 2-(3-(5-(4-гидроксибензиламино)-1-трет-бутоксикарбокси-пентил)уреидо)-пентандиовой кислоты (39)

Из соединения **2** (443 мг, 0.909 ммоль), *n*-бромбензальдегида (111 мг, 0.909 ммоль) в 15 мл дихлорметана в присутствии добавили 288 мг (1.365 ммоль)

триацетоксиборогидрида натрия было получено соединение **39** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 74 % (400 мг). (Раздел 4.2.4)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.30 (д, 2H, J = 8.2 Гц, ArH), 6.79 (д, 2H, J = 8.3 Гц, ArH), 6.09 (м, 2H, NH(мочевина)), 5.28 (с, 1H, OH), 4.30 (м, 1H, NHCH), 4.16 (м, 1H, NHCH), 3,95 (м, 2H, CH_2Ar), 2.83(м, 2H, CH_2), 2.30 (м, 2H, CH_2), 2,03 (м, 2H, CH_2), 1.83 (м, 1H, CH_2), 1.73 -1.52 (м, 3H, CH_2), 1.50-1,34 (м, 28H, t-Bu+CH_2), 1.38-1.17 (м, 3H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.17 (C(O)OCMe3), 172.07 (C(O)OCMe3), 171.94 (C(O)OCMe3), 156.70 (NHC(O)NH), 155.98 (Ar), 129.39 (Ar), 129.05 (Ar), 115.43 (Ar), 81.66 (C(O)OCMe_3), 81.30 (C(O)OCMe_3), 80.16 (C(O)OCMe_3), 53.09 (CH), 52.72 (CH), 52.58 (CH_2NH), 48.14 (CH_2Ar), 32.31 (CH_2), 31.18 (CH_2), 28.44 (CH_2), 27.91 (CH_2), 27.65 (C(O)OCMe_3), 27.57 (C(O)OCMe_3), 22.49 (CH_2).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для$C_{31}H_{51}N_3O_8$ [M+H^+]: 594.3749, найдено: 594.3762; m/z рассчитано для $C_{31}H_{51}N_3O_8$ [M+Na^+]: 616.3568, найдено: 616.3576

4.2.5 Общая методика реакциии ациирования в присутствии PyBOP.

Вторичный амин (1 моль) растворили в ДМФА и добавили DIPEA(2 моль) и соответствующую кислоту (1.5 моль). К полученной смеси добавили PyBOP (1.5 моль), полученную реакционную смесь перемешивали в течение 24 часов в атмосфере аргона. После окончания реакции растворитель удалили при пониженном давлении. Дальнейшую очистку проводили с помощью колоночной хроматографии с элюентом этилацетат : гексан (Puriflash 50μ 25g от 5 до 100% этилацетата в течение 30 минут).

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(11-азидо-N-(4-фторбензил)ундеканамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (40)

Из соединения **36** (183 мг, 0.307 ммоль), 11-азидоундекановой кислоты (105 мг, 0.460 ммоль), DIPEA (107 мкл, 0,614 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 288 мг (0,460 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **40** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 52 % (129 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.18 (т, 1H, J=6.0 Гц, ArH), 7.11 (т, 1H, J=5.9 Гц, ArH), 7.02 (т, 1H, J=7.7 Гц, ArH), 6.95 (т, 1H, J=7.6 Гц, ArH), 5.90-5.10 (м, 2H, NH), 4.60-4.45 (м, 2H, CH_2Ar), 4.35-4.23 (м, 2H, CH, CH), 3.30 (т, 1H, J=7.0 Гц, CH_2), 3.25-3.20 (м, 2H, CH_2), 3.12 (т, 1H, J=7.5 Гц, CH_2), 2.39-

2.20 (м, 5H, CH_2), 2.05 (м, 1H, CH_2), 1.84 (м, 1H, CH_2), 1.78-1.50 (м, 9H, CH_2), 1.50-1.37 (м, 27H, C(O))C(C$\underline{H}_3$)$_3$), 1.37-1.18 (м, 18H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.8 ($\underline{C}$(O)CMe_3), 173.2 ($\underline{C}$(O)CMe_3), 172.39 ($\underline{C}$(O)CMe_3), 172.36 ($\underline{C}$(O)CMe_3), 172.2 ($\underline{C}$(O)CMe_3), 172.1 ($\underline{C}$(O)CMe_3), 157.1 (NHC(O)NH), 156.9 (NHC(O)NH), 133.71 (ArH), 133.69 (ArH), 129.64 (ArH), 129.56 (ArH), 127.83 (ArH), 127.75 (ArH), 115.8 (ArH), 115.6 (ArH), 115.4 (ArH), 115.1(ArH), 82.0, 81.9 ($\underline{C}$-CH_3 (t-Bu)), 81.7, 81.4 ($\underline{C}$-CH_3 (t-Bu)), 80.5, 80.4 ($\underline{C}$-CH_3 (t-Bu)), 53.4, 53.1 ($\underline{CH}$), 53.0, 52.8 ($\underline{CH}$), 51.4, 50.4 ($\underline{CH_2}$Ar), 47.5, 46.9(CH_2N) 45.52 ($\underline{CH_2}N_3$), 34.0, 33.3 (CH_2), 33.0 (CH_2), 31.8 (CH_2), 31.56, 31.52 (CH_2), 29.45, 29.42 (CH_2), 29.37, 29.35 (CH_2), 29.31, 29.29 (CH_2), 29.09, 29.08 (CH_2), 28.02 (CH_3 (t-Bu)), 27.96 (CH_3 (t-Bu)), 27.93 (CH_3 (t-Bu)), 26.65, 26.63 (CH_2), 25.5. 25.3 (CH_2), 24.9, 24.8 (CH_2), 22.5, 22.4 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, см$^{-1}$): 2976 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2929 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2856 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2095 см$^{-1}$ (N_3 вал.), 1728 см$^{-1}$ (C=O вал., C(O)OCMe_3), 1684 см$^{-1}$ (C=O вал., C(O)NR_2), 1648 см$^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{42}H_{70}N_6O_8F$ [M+H$^+$]: 805.5234, найдено: 805.5245; m/z рассчитано для [M+Na$^+$]: 827.5054, найдено: 827.5063

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(11-азидо-N-(4-хлорбензил)ундеканамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (41)

Из соединения **37** (147 мг, 0.240 ммоль), 11-азидоундекановой кислоты (82 мг, 0.360 ммоль), DIPEA (84 мкл, 0,480 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 187 мг (0,360 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **41** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 57 % (112 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.28 – 7.20 (м, *J* = 7.1 Гц, 2H, ArH), 7.13 – 7.05 (м, *J* = 8.3 Гц, 2H, ArH), 5.53 (уш. с, 1H, NH), 5.23 уш. с, 1H, NH), 4.51 – 4.43 (м, 2H, CH_2Ar), 4.27 (м, 2H, CH, CH), 3.32 – 3.24 (м, 1H, C$\underline{H}_2$$NR_2$), 3.21 (тд, *J* = 6.9, 3.6 Гц, 2H, CH_2N_3), 3.10 (т, *J* = 7.8 Гц, 1H, C$\underline{H}_2$$NR_2$), 2.34 – 2.20 (м, 4H, CH_2C(O)OCMe_3, CH_2C(O)NR_2), 2.02 (dt, *J* = 10.9, 7.0 Гц, 1H, C$\underline{H}_2$CH), 1.85 – 1.45 (м, 9H, CH_2), 1.44 – 1.04 (м, 41H, CH_2, C(O)OC(C$\underline{H}_3$)$_3$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.71 ($\underline{C}$(O)NR_2), 173.17 ($\underline{C}$(O)NR_2), 172.37 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.33 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.20 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.04 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 157.02 (NH$\underline{C}$(O)NH), 156.76 (NH$\underline{C}$(O)NH), 136.52 (Ar), 135.48 (Ar), 133.25 (Ar), 132.87 (Ar), 129.33 (Ar), 128.98 (Ar), 128.57 (Ar), 127.52 (Ar), 82.05 (C(O)O$\underline{C}$$Me_3$), 81.91 (C(O)O$\underline{C}$$Me_3$), 81.72 (C(O)O$\underline{C}$$Me_3$), 81.45

(C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 80.52 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 80.36 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 70.52, 53.38 (CH), 53.11 (CH), 52.96 (CH), 52.78 (CH), 51.41 (CH_2NR_2), 50.48 (CH_2NR_2), 47.64 (CH_2Ar), 47.04 (CH_2Ar), 45.60 (CH_2N_3), 33.89 (CH_2), 33.24 (CH_2), 33.01 (CH_2), 31.85 (CH_2), 31.55 (CH_2), 31.51 (CH_2), 29.45 (CH_2), 29.42 (CH_2), 29.35 (CH_2), 29.31 (CH_2), 29.20 (CH_2), 29.08 (CH_2), 29.06 (CH_2), 28.77 (CH_2), 28.50 (CH_2), 28.35 (CH_2), 28.19 (CH_2), 28.02 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 27.97 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 27.94 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 26.64 (CH_2), 25.47 (CH_2), 25.24 (CH_2), 24.81 (CH_2), 22.47 (CH_2), 22.38 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, см$^{-1}$): 2978 см$^{-1}$ (C-H$_{алиф}$ вал.), 2928 см$^{-1}$ (C-H$_{алиф}$ вал.), 2856 см$^{-1}$ (C-H$_{алиф}$ вал.), 2096 см$^{-1}$ (N_3 вал.), 1728 см$^{-1}$ (C=O вал., C(O)OCMe$_3$), 1684 см$^{-1}$ (C=O вал., C(O)NR_2), 1647 см$^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{42}H_{70}N_6O_8Cl$ [M+H$^+$]: 821.4938, найдено: 821.4948; m/z рассчитано для [M+Na$^+$]: 843.4758, найдено: 843.4772.

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(11-азидо-N-(4-бромбензил) ундеканамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (42)

Из соединения **38** (185 мг, 0.282 ммоль), 11-азидоундекановой кислоты (96 мг, 0.423 ммоль), DIPEA (98 мкл, 0,564 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 220 мг (0,423 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **42** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 56 % (137 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.45 – 7.31 (м, 2H, ArH), 7.02 (м, 2H, ArH), 5.54 (уш. с, 1H, NH), 5.32 (уш. с, 1H, NH), 4.47 – 4.41 (м, 2H, CH_2Ar), 4.26 (м, 2H, CH, CH), 3.30 – 3.14 (м, 3H, CH_2NR_2, CH_2N_3), 3.08 (т, *J* = 7.8 Гц, 1H, CH_2NR_2), 2.35 – 2.15 (м, 4H, $CH_2C(O)OCMe_3$, $CH_2C(O)NR_2$), 2.06 – 1.96 (м, 1H, C<u>H$_2$</u>CH), 1.84 – 1.44 (м, 10H, CH_2), 1.32 (м, 40H, CH_2, C(O)OC(C<u>H$_3$</u>)$_3$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.71 (<u>C</u>(O)NR_2), 173.23 (<u>C</u>(O)NR_2), 172.39 (<u>C</u>(O)OCMe$_3$), 172.27 (<u>C</u>(O)OCMe$_3$), 172.13 (<u>C</u>(O)OCMe$_3$), 157.10 (NH<u>C</u>(O)NH), 156.88 (NH<u>C</u>(O)NH), 137.11 (Ar), 136.12 (Ar), 131.96 (Ar), 131.55 (Ar), 129.73 (Ar), 127.91 (Ar), 121.29 (Ar), 120.99 (Ar), 81.98 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 81.84 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 81.69 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 81.42 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 80.49 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 80.35 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 53.40 (CH), 53.13 (CH), 52.97 (CH), 52.82 (CH), 51.43 (CH_2NR_2), 50.57 (CH_2NR_2), 47.74 (CH_2Ar), 47.11 (CH_2Ar), 45.68 (CH_2N_3), 33.26 (CH_2), 33.06 (CH_2), 33.02 (CH_2), 31.96 (CH_2), 31.59 (CH_2), 31.56 (CH_2), 29.47 (CH_2), 29.44 (CH_2), 29.39 (CH_2), 29.37 (CH_2), 29.32 (CH_2), 29.10 (CH_2), 29.07 (CH_2), 28.79 (CH_2), 28.53 (CH_2), 28.40 (CH_2), 28.22 (CH_2), 28.05 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 27.99 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 27.97 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 26.66 (CH_2), 25.55 (CH_2), 25.50 (CH_2), 25.26 (CH_2), 22.51 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2977 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2928 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2856 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2094 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1728 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OCMe$_3$), 1684 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)NR_2), 1647 $см^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{42}H_{70}N_6O_8{}^{79}Br$ [M+H^+]: 865.4433, найдено: 865.4448; m/z рассчитано для $C_{42}H_{70}N_6O_8{}^{81}Br$ [M+H^+]: 867.4413, найдено: 867.4436; m/z рассчитано для [M(^{79}Br)+Na^+]: 887.4252, найдено: 887.4268; m/z рассчитано для [M(^{81}Br)+Na^+]: 889.4232, найдено: 889.4251.

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(6-азидо-N-(4-фторбензил) гексанамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (43)

Из соединения **36** (168 мг, 0.282 ммоль), 6-азидогексановой кислоты (66 мг, 0.423 ммоль), DIPEA (98 мкл, 0,564 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 220 мг (0,423 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **43** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 50 % (104 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.15 (дд, *J* = 8.2, 5.6 Гц, 1H, ArH), 7.08 (дд, *J* = 8.3, 5.5 Гц, 1H, ArH), 6.99 (т, *J* = 8.6 Гц, 1H, ArH), 6.92 (т, *J* = 8.7 Гц, 1H, ArH), 5.49 (уш. с, 1H, NH), 5.27 (уш. с, 1H, NH), 4.50 – 4.42 (м, 2H, CH_2Ar), 4.32 – 4.21 (м, 2H, CH, CH), 3.23 (м, 3H, CH_2NR_2, CH_2N_3), 3.09 (т, *J* = 7.8 Гц, 1H, CH_2NR_2), 2.25 (м, 4H, CH_2C(O)OCMe$_3$, CH_2C(O)NR_2), 2.06 – 1.95 (м, 1H, C$\underline{H}_2$CH), 1.83 – 1.46 (м, 9H, CH_2), 1.45 – 1.11 (м, 31H, CH_2, C(O)OC(C$\underline{H}_3$)$_3$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.17 (C(O)NR_2), 172.62 (C(O)NR_2), 172.35 (C(O)OCMe$_3$), 172.24 (C(O)OCMe$_3$), 172.12 (C(O)OCMe$_3$), 157.01 (NHC(O)NH), 156.81 (NHC(O)NH), 129.65 (Ar), 129.57 (Ar), 127.77 (Ar), 127.69 (Ar), 115.88 (Ar), 115.66 (Ar), 115.37 (Ar), 115.16 (Ar), 81.98 (C(O)OCMe$_3$), 81.85 (C(O)OCMe$_3$), 81.69 (C(O)OCMe$_3$), 81.40 (C(O)OCMe$_3$), 80.47 (C(O)OCMe$_3$), 80.34 (C(O)OCMe$_3$), 53.35 (CH), 53.07 (CH), 52.93 (CH), 52.74 (CH), 51.22 (CH_2NR_2), 50.37 (CH_2NR_2), 47.57 (CH_2Ar), 46.89 (CH_2Ar), 45.59 (CH_2N_3), 33.04 (CH_2), 32.98 (CH_2), 32.71 (CH_2), 31.90 (CH_2), 31.54 (CH_2), 31.52 (CH_2), 28.72 (CH_2), 28.63 (CH_2), 28.55 (CH_2), 28.38 (CH_2), 28.12 (CH_2), 28.01 (C(O)OCMe$_3$), 27.95 (C(O)OCMe$_3$), 27.93 (C(O)OCMe$_3$), 26.61 (CH_2), 26.50 (CH_2), 26.40 (CH_2), 26.18 (CH_2), 24.86 (CH_2), 24.68 (CH_2), 24.32 (CH_2), 22.46 (CH_2), 22.39 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2976 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2932 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2866 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2094 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1727 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OCMe$_3$), 1683 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)NR_2), 1645 $см^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{37}H_{60}N_6O_8F$ [M+H$^+$]: 735.4451, найдено: 735.4459; m/z рассчитано для [M+Na$^+$]: 757.4271, найдено: 757.4276.

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(6-азидо-N-(4-хлорбензил) гексанамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (44)

Из соединения **37** (168 мг, 0.211 ммоль), 6-азидогексановой кислоты (50 мг, 0.316 ммоль), DIPEA (74 мкл, 0,422 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 164 мг (0,316 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **44** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 52 % (82 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.30 (д, *J* = 8.4 Гц, 1H, ArH), 7.25 – 7.21 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H, ArH), 7.13 (д, *J* = 8.4 Гц, 1H), 7.06 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H, ArH), 5.44 (уш. с, 1H, NH), 5.20 (с, 1H, NH), 4.51 – 4.45 (м, 2H, CH_2Ar), 4.27 (м, 2H, CH, CH), 3.32 – 3.19 (м, 3H, CH_2NR_2, CH_2N_3), 3.11 (т, *J* = 7.8 Гц, 1H, CH_2NR_2), 2.30 (м, 4H, $CH_2C(O)OCMe_3$, $CH_2C(O)NR_2$), 2.08 – 1.99 (м, 1H, C$\underline{H}_2$CH), 1.87 – 1.47 (м, 10H, CH_2), 1.46 – 1.17 (м, 30H, CH_2, $C(O)OC(C\underline{H}_3)_3$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

176.45 ($\underline{C}(O)NR_2$), 173.30 ($\underline{C}(O)NR_2$), 172.78 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.41 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.30 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.16 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 157.11 (NH$\underline{C}$(O)NH), 156.90 (NH$\underline{C}$(O)NH), 136.45 (Ar), 135.40 (Ar), 133.37 (Ar), 132.98 (Ar), 129.37 (Ar), 129.08 (Ar), 128.64 (Ar), 127.52 (Ar), 82.10 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.98 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.81 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.53 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 80.57 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 80.44 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 53.41 (CH), 53.12 (CH), 53.00 (CH), 52.82 (CH), 51.27 (CH_2NR_2), 51.25 (CH_2NR_2), 47.77 (CH_2Ar), 47.08 (CH_2Ar), 45.77 (CH_2N_3), 33.75 (CH_2), 33.07 (CH_2), 33.03 (CH_2), 32.75 (CH_2), 31.97 (CH_2), 31.58 (CH_2), 31.56 (CH_2), 28.77 (CH_2), 28.68 (CH_2), 28.57 (CH_2), 28.40 (CH_2), 28.17 (CH_2), 28.07 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 28.01 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 27.98 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 26.69 (CH_2), 26.55 (CH_2), 26.45 (CH_2), 26.22 (CH_2), 24.90 (CH_2), 24.72 (CH_2), 24.34 (CH_2), 22.49 (CH_2), 22.42 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, см$^{-1}$): 2977 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2932 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2864 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2094 см$^{-1}$ (N_3 вал.), 1727 см$^{-1}$ (C=O вал., $C(O)OCMe_3$), 1683 см$^{-1}$ (C=O вал., $C(O)NR_2$), 1644 см$^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{37}H_{60}N_6O_8Cl$ [M+H$^+$]: 751.4156, найдено: 751.4157; m/z рассчитано для [M+Na$^+$]: 773.3975, найдено: 773.3976.

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(6-азидо-N-(4-бромбензил)гексанамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (45)

Из соединения **38** (185 мг, 0.282 ммоль), 6-азидогексановой кислоты (66 мг, 0.423 ммоль), DIPEA (98 мкл, 0,564 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили

220 мг (0,423 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **45** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 55 % (124 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.43 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H, ArH), 7.37 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H, ArH), 7.06 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H, ArH), 6.99 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H, ArH), 5.56 (уш. с, 1H, NH), 5.29 (уш.с, 1H, NH), 4.49 – 4.41 (м, 2H, CH_2Ar), 4.31 – 4.21 (м, 2H, CH, CH), 3.24 (м, 3H, CH_2NR_2, CH_2N_3), 3.10 (т, *J* = 7.8 Гц, 1H, CH_2N_3), 2.36 – 2.20 (м, 4H, $CH_2C(O)OCMe_3$, $CH_2C(O)NR_2$), 2.07 – 1.96 (м, 1H, $C\underline{H}_2CH$), 1.84 – 1.45 (м, 10H, CH_2), 1.46 – 1.14 (м, 30H, м, 30H, CH_2, $C(O)OC(C\underline{H}_3)_3$).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

176.82 ($\underline{C}(O)NR_2$), 174.59 ($\underline{C}(O)NR_2$), 173.34 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.85 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.41 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.36 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.30 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.14 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 157.17 (NH$\underline{C}$(O)NH), 156.99 (NH$\underline{C}$(O)NH), 136.88 (Ar), 135.87 (Ar), 131.97 (Ar), 131.53 (Ar), 129.67 (Ar), 127.81 (Ar), 121.32 (Ar), 121.02 (Ar), 82.05 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.93 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.78 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.51 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 80.51 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 80.39 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 53.35 (CH), 53.08 (CH), 52.95 (CH), 52.79 (CH), 51.20 (CH_2NR_2), 51.18 (CH_2NR_2), 47.79 (CH_2Ar), 47.06 (CH_2Ar), 45.76 (CH_2N_3), 33.72 (CH_2), 32.96 (CH_2), 32.68 (CH_2), 31.98 (CH_2), 31.49 (CH_2), 28.69 (CH_2), 28.61 (CH_2), 28.49 (CH_2), 28.33 (CH_2), 28.10 (CH_2), 28.00 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 27.94 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 27.92 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 26.67 (CH_2), 26.48 (CH_2), 26.38 (CH_2), 26.15 (CH_2), 24.85 (CH_2), 24.66 (CH_2), 24.26 (CH_2), 22.43 (CH_2), 22.36 (CH_2), 20.75 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2976 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2932 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2866 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2094 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1727 $см^{-1}$ (C=O вал., $C(O)OCMe_3$), 1683 $см^{-1}$ (C=O вал., $C(O)NR_2$), 1645 $см^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{37}H_{60}N_6O_8{}^{79}Br$ [M+H^+]: 795.3651, найдено: 795.3654; m/z рассчитано для $C_{37}H_{60}N_6O_8{}^{81}Br$ [M+H^+]: 797.3631, найдено: 797.3639; m/z рассчитано для [M(^{79}Br)+Na^+]: 817.3470, найдено: 817.3470; m/z рассчитано для [M(^{81}Br)+Na^+]: 819.3450, найдено: 819.3453.

Синтез ди-трет-бутилового эфира 2-(3-(5-((6-азидо-N-(4-гидроксибензил)гексанамидо)-1-трет-бутоксикарбоксипентил)уреидо)пентандиовой кислоты (46)

Из соединения **39** (183 мг, 0.307 ммоль), 6-азидогексановой кислоты (72 мг, 0.460 ммоль), DIPEA (107 мкл, 0,614 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 2239 мг (0,460 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **45** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 46 % (190 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.05 (д, 1H, J_1 = 8.3 Гц, ArH), 6.96 (д, 1H, J_1 = 8.3 Гц, ArH), 6.85 (д, 1H, J_1 = 8.6 Гц, ArH), 6.78 (д, 1H, J_1 = 8.6 Гц, ArH), 5.56 (м, 1H, NH(амид)), 5.37+5.24 (уш. с, 1H, NH(мочевина)), 4.55 - 4.38 (м, 2H, CH_2Ph), 4.38-4.20 (м, 2H, CH), 3.36-3.20 (м, 4H, CH_2), 3.15 (т, 1H, J_1 = 7.6 Гц, CH_2), 2.44 - 2.23 (м, 5H, CH_2), 2.13 - 2.02 (м, 2H, CH_2), 1.91 - 1.78 (м, 1H, CH_2), 1.78 - 1.49 (м, 10H, CH_2), 1.49 - 1,32 (м, 36H, t-Bu+CH_2), 1.32 - 1.10 (м, 4H, CH_2);

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

187.8 (C(O)N), 173.6 (C(O)O(t-Bu)), 173.0 (C(O)O(t-Bu), 172.50 (C(O)O(t-Bu), 172.44 (C(O)O(t-Bu)), 172.35 (C(O)O(t-Bu), 172.2 (C(O)O(t-Bu), 157.3 ((C(O) мочевина), 157.0 ((C(O) мочевина), 156.5 (Ar), 156.1 (Ar), 129.5 (Ar),128.7 (Ar), 127.6 (Ar), 127.3 (Ar), 116.0 (Ar), 115.6 (Ar), 82.3 ($C(CH_3)_3$), 82.0 ($C(CH_3)_3$), 81.9 ($C(CH_3)_3$), 81.5 ($C(CH_3)_3$), 80.7 ($C(CH_3)_3$), 80.5 ($C(CH_3)_3$), 53.6 (CH), 53.3 (CH), 53.0 (CH), 52.9 (CH), 51.2 (CH_2Ph), 50.9 (CH_2Ph), 47.0 (CH_2), 45.6 (CH_2), 34.6 (CH_2), 33.2 (CH_2), 32.9 (CH_2), 31.8 (CH_2), 31.60 (CH_2), 31.57 (CH_2), 28.72 (CH_2), 28.66 (CH_2), 28.49 (CH_2), 28.33 (CH_2), 28.07 ($C(CH_3)_3$), 28.00 ($C(CH_3)_3$), 27.98 ($C(CH_3)_3$), 26.7 (CH_2), 26.6 (CH_2) 26.5 (CH_2), 25.0 (CH_2), 24.9 (CH_2), 22.53 (CH_2), 22.49 (CH_2).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{37}H_{60}N_6O_9$ [M+H^+]: 733.4495, найдено: 733.4500; m/z рассчитано для [M+Na^+]: 755.4314, найдено: 755.4315; m/z рассчитано для [M+K^+]: 771.4058, найдено: 771.4053.

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(11-азидо-N-(4-фторбензил)ундеканамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовой кислоты (47)

Из соединения **40** (120 мг, 0,149 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **47** с выходом 95 % (90 мг, 0.142 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.53 (с, 3H, COOH), 7.28 – 7.04 (м, 4H, ArH), 6.45 – 6.19 (м, 1H, NH), 4.51 – 4.43 (м, 2H, CH_2Ar), 4.10 – 3.91 (м, 1H, CH, CH), 3.30 – 3.10 (м, 4H, CH_2NR_2, CH_2N_3), 2.34 – 2.16 (м, 4H, CH, $CH_2C(O)OH$, $CH_2C(O)NR_2$), 1.96 – 1.80 (м, 1H, CH_2), 1.56 – 1.17 (м, 23H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.86 (COOH), 174.55 (COOH), 174.13 (COOH), 172.53 ($CONR_2$), 157.64 (NHC(O)NH), 131.92 (Ar), 131.60 (Ar), 130.13 (Ar), 129.00 (Ar), 52.62 (CH), 52.47 (CH), 52.05 (CH_2NR_2), 51.03 (CH_2Ar), 47.39 (CH_2N_3), 32.30 (CH_2), 30.31 (CH_2), 29.30 (CH_2), 29.14 (CH_2), 28.96 (CH_2), 28.66 (CH_2), 27.95 (CH_2), 26.57 (CH_2), 25.42 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2928 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2856 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2096 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1723 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OH)

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{30}H_{46}N_6O_8F$ [M+H^+]: 637.3356, найдено: 637.3354; рассчитано для [M+Na^+]: 659.3175, найдено: 659.3180

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(11-азидо-N-(4-хлорбензил)ундеканамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовой кислоты (48)

Из соединения **41** (47 мг, 0,057 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **48** с выходом 100 % (37 мг, 0.057 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.40 (уш. с, 3H, COOH), 7.39 – 7.31 (м, 2H, ArH), 7.21 – 7.13 (м, 2H, ArH), 6.32 – 6.22 (м, 2H, NHC(O)), 4.49 – 4.41 (м, 2H, CH_2Ar), 4.10 – 3.96 (м, 2H, CH, CH), 3.31 – 3.23 (м, 2H, CH_2NR_2), 3.21 – 3.06 (м, 2H, CH_2N_3), 2.31 (т, *J* = 7.3 Гц, 1H, CH_2), 2.26 – 2.11 (м, 3H, CH_2C(O)OH, CH_2C(O)NR_2), 1.93 – 1.83 (м, 1H, C<u>H</u>$_2$CH), 1.72 – 1.36 (м, 9H, CH_2), 1.30 – 1.09 (м, 14H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

174.86 (COOH), 174.55 (COOH), 174.13 (COOH), 172.53 ($CONR_2$), 157.64 (NH<u>C</u>(O)NH), 131.92 (Ar), 131.60 (Ar), 130.13 (Ar), 129.00 (Ar), 52.62 (CH), 52.47 (CH), 52.05 (CH_2NR_2), 51.03 (CH_2Ar), 47.39 (CH_2N_3), 32.30 (CH_2), 30.31 (CH_2), 29.30 (CH_2), 29.14 (CH_2), 28.96 (CH_2), 28.66 (CH_2), 27.95 (CH_2), 26.57 (CH_2), 25.42 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2928 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2856 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2096 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1723 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OH).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{30}H_{46}N_6O_8Cl$ [M+H^+]: 653.3060, найдено: 653.3065; рассчитано для [M+Na^+]: 675.2880, найдено: 675.2886

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(11-азидо-N-(4-бромбензил)ундеканамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовой кислоты(49)

Из соединения **42** (143 мг, 0,165 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **49** с выходом 93 % (107 мг, 0.153 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.40 (с, 3H, COOH), 7.52 – 7.44 (м, 2H, ArH), 7.15 – 7.07 (м, 2H, ArH), 6.33 – 6.28 (м, 2H, NH), 4.48 – 4.42 (м, Гц, 2H, CH_2Ar), 4.10 – 3.96 (м, 2H, CH, CH), 3.31 – 3.23 (м, 2H, CH_2NR_2), 3.21 – 3.06 (м, 2H, CH_2N_3), 2.31 (т, *J* = 7.3 Гц, 1H, CH_2), 2.26 – 2.11 (м, 3H, CH_2C(O)OH, CH_2C(O)NR_2), 1.93 – 1.83 (м, 1H, C<u>H</u>$_2$CH), 1.72 – 1.36 (м, 9H, CH_2), 1.30 – 1.09 (м, 14H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

174.86 (COOH), 174.55 (COOH), 174.13 (COOH), 172.53 ($CONR_2$), 157.64 (NH<u>C</u>(O)NH), 131.92 (Ar), 131.60 (Ar), 130.13 (Ar), 129.00 (Ar), 52.62 (CH), 52.47 (CH), 52.05 (CH_2NR_2), 51.03 (CH_2Ar), 47.39 (CH_2N_3), 32.30 (CH_2), 30.31 (CH_2), 29.30 (CH_2), 29.14 (CH_2), 28.96 (CH_2), 28.66 (CH_2), 27.95 (CH_2), 26.57 (CH_2), 25.42 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2928 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2856 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2096 $см^{-1}$ (N_3 вал.), 1723 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OH).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{30}H_{46}N_6O_8{}^{79}Br$ [M(^{79}Br)+H^+]: 697.2555, найдено: 697.2558;m/z рассчитано для $C_{30}H_{46}N_6O_8{}^{81}Br$ [M(^{81}Br)+H^+]: 699.2535, найдено: 699.2540;m/z рассчитано для [M(^{79}Br)+Na^+]: 719.2374, найдено: 719.2380; m/z рассчитано для [M(^{81}Br)+Na^+]: 721.2354, найдено: 721.2364

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(6-азидо-N-(4-фторбензил) гексанамидо)-1-карбоксипентил) уреидо) пентандиовой кислоты (50)

Из соединения **43** (80 мг, 0,109 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **50** с выходом 95 % (95 мг, 0.103 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.47 (с, 3H, COOH), 7.30 – 7.03 (м, 4H, ArH), 6.35 – 6.25 (м, 2H, NH), 4.53 – 4.45 (м, 2H, CH_2Ar), 4.15 – 3.96 (м, 2H, CH, CH), 3.33 – 3.08 (м, 4H, CH_2NR_2, CH_2N_3), 2.35 (т, J = 7.2 Гц, 1H, CH_2), 2.30 – 2.14 (м, 3H, $CH_2C(O)OH$, $CH_2C(O)NR_2$), 1.97 – 1.82 (м, 1H, C<u>H</u>$_2$CH), 1.75 – 1.12 (м, 13H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.86 (COOH), 174.57 (COOH), 174.13 (COOH), 172.31 ($CONR_2$), 157.65 (NH<u>C</u>(O)NH), 129.94 (Ar), 129.86 (Ar), 128.87 (Ar), 128.79 (Ar), 115.94 (Ar), 115.73 (Ar), 115.58 (Ar), 115.37 (Ar), 52.45 (CH), 52.05 (CH), 51.03 (CH_2NR_2), 50.96 (CH_2Ar), 46.95 (CH_2N_3), 32.56 (CH_2), 32.19 (CH_2), 30.31 (CH_2), 28.61 (CH_2), 28.51 (CH_2), 27.95 (CH_2), 27.11 (CH_2), 26.35 (CH_2), 26.26 (CH_2), 24.92 (CH_2), 24.77 (CH_2).

ИКспектр (ZnSe, $см^{-1}$): 2933 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$вал.), 2866 $см^{-1}$ (C-$H_{алиф}$вал.), 2096 $см^{-1}$ (N_3вал.), 1711 $см^{-1}$ (C=O вал., C(O)OH), 1645 $см^{-1}$ (C=O вал., $C(O)NR_2$), 1635 $см^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{25}H_{36}N_6O_8F$ [M+H^+]: 567.2278, найдено: 567.2574; m/z рассчитано для [M+Na^+]: 589.2383, найдено: 589.2383

Синтез ди-*трет*-бутил-2-(3-(6-(11-азидо-N-(4-хлоробензил)гексанамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата(51)

Из соединения **44** (109 мг, 0,145 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **51** с выходом 84 % (71 мг, 0.122 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.39 (с, 3H), 7.42 – 7.28 (м, 2H, ArH), 7.22 – 7.13 (м, 2H, ArH), 6.35 – 6.20 (м, 2H, NH), 4.53 – 4.41 (м, 2H, CH_2Ar), 4.11 – 3.93 (м, 2H, CH, CH), 3.28 – 3.06 (м, 4H, CH_2NR_2, CH_2N_3), 2.33 (т, *J* = 7.3 Гц, 1H, CH_2), 2.26 – 2.12 (м, 3H, $CH_2C(O)OH$, $CH_2C(O)NR_2$), 1.93 – 1.81 (м, 1H, $C\underline{H}_2CH$), 1.69 – 1.16 (м, 13H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.86 (COOH), 174.56 (COOH), 174.13 (COOH), 172.37 ($CONR_2$), 157.65 ($NH\underline{C}(O)NH$), 131.81 (Ar), 129.75 (Ar), 129.02 (Ar), 128.69 (Ar), 52.45 (CH), 52.04 (CH), 51.02 (CH_2NR_2), 50.95 (CH_2Ar), 47.11 (CH_2N_3), 32.54 (CH_2), 32.16 (CH_2), 30.31 (CH_2), 28.61 (CH_2), 28.51 (CH_2), 28.11 (CH_2), 27.94 (CH_2), 26.34 (CH_2), 26.25 (CH_2), 24.91 (CH_2), 24.75 (CH_2).

ИКспектр (ZnSe, см$^{-1}$): 2976 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$вал.), 2932 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$вал.), 2864 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$вал.), 2094 см$^{-1}$ (N_3вал.), 1727 см$^{-1}$ (C=O вал., C(O)OH), 1683 см$^{-1}$ (C=O вал., $C(O)NR_2$), 1644 см$^{-1}$ (C=O вал., HNC(O)NH).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{25}H_{36}N_6O_8F$ [$M+H^+$]: 583.2278, найдено: 583.2278; m/z рассчитано для [$M+Na^+$]: 605.2097, найдено: 605.2099; m/z рассчитано для [$M+K^+$]: 621.1836, найдено: 621.1841

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(6-азидо-N-(4-бромбензил)гексанамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовой кислоты (52)

Из соединения **45** (120 мг, 0,151 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **52** с выходом 88 % (83 мг, 0.133 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.24 (с, 3H, COOH), 7.55 – 7.42 (м, 2H, ArH), 7.16 – 7.08 (м, 2H, ArH), 6.34 – 6.20 (м, 2H, NH), 4.56 – 4.35 (м, 2H, CH_2Ar), 4.13 – 3.92 (м, 2H, CH, CH), 3.30 – 3.09 (м, 4H, CH_2NR_2, CH_2N_3), 2.33 (т, *J* = 7.1 Гц, 1H, CH_2), 2.26 – 2.12 (м, 3H, $CH_2C(O)OH$, $CH_2C(O)NR_2$), 1.88 (м, 1H, $C\underline{H}_2CH$), 1.72 – 1.10 (м, 13H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.86 (COOH), 174.56 (COOH), 174.13 (COOH), 172.37 ($CONR_2$), 157.65 ($NH\underline{C}(O)NH$), 131.93 (Ar), 131.60 (Ar), 130.12 (Ar), 129.05 (Ar), 52.45 (CH), 52.05 (CH), 51.02 (CH_2NR_2), 50.95 (CH_2Ar), 47.12 (CH_2N_3), 32.54 (CH_2), 32.20 (CH_2), 30.30 (CH_2), 28.61 (CH_2), 28.51 (CH_2), 28.01 (CH_2), 26.34 (CH_2), 26.25 (CH_2), 24.90 (CH_2), 24.74 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, см$^{-1}$): 2933 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2865 см$^{-1}$ (C-$H_{алиф}$ вал.), 2094 см$^{-1}$ (N_3 вал.), 1717 см$^{-1}$ (C=O вал., C(O)OH).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{25}H_{36}N_6O_8{}^{79}Br$ [M(^{79}Br)+H^+]: 627.1773, найдено: 627.1763; m/z рассчитано для $C_{25}H_{36}N_6O_8{}^{81}Br$ [M(^{81}Br)+H^+]: 629.1752, найдено: 629.1744; m/z рассчитано для [M(^{79}Br)+Na^+]: 649.1592, найдено: 649.1581; m/z рассчитано для [M(^{81}Br)+Na^+]: 651.1561, найдено: 651.1571

Синтез 2-(3-(5-((6-азидо-N-(4-гидроксибензил) гексанамидо)-1- карбоксипентил) уреидо) пентандиовой кислоты (53)

Из соединения **46** (66 мг, 0,090 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **53** с выходом 90 % (46 мг, 0.081 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

12.42 (уш. с, 3H, COOH), 7.04 - 6.94 (м, 2H, ArH), 6.72 (д, 1H, J_1 = 8.4 Гц, ArH), 6.67 (д, 1H, J_1 = 8.3 Гц, ArH), 6.38 - 6.24 (м, 2H, NH(мочевина)), 5.74 (с, 1H, OH), 4.55 - 4.38 (м, 2H, CH_2Ph), 4.45 - 4.35 (м, 2H, CH_2Ph), 4.12 - 3.96 (м, 2H, CH), 3.42 - 3.23 (м, 2H, CH_2), 3.16 (т, 1H, J_1 = 7.0 Гц, CH_2), 3.09 (т, 1H, J_1 = 6.9 Гц, CH_2), 2.36 - 2.15 (м, 9H, CH_2), 1.96 - 1.86 (м, 2H, CH_2), 1.78 - 1.49 (м, 10H, CH_2), 1.32 - 1.10 (м, 10H, CH_2).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{25}H_{36}N_6O_9$ [M+H^+]: 565.2617, найдено: 565.2617; m/z рассчитано для [M+Na^+]: 587.2436, найдено: 587.2441; m/z рассчитано для [M+K^+]: 603.2175, найдено: 603.2179.

Синтез паклитаксел 2'-(5-гексиновой ксилоты) сложный эфир (53a)

Синтез проводился в атмосфере аргона. В 1 мл дихлорметана растворили 0,300 г (0,000351 моль, 1 экв) паклитаксела. Далее добавили 0,050 г (0,000409 моль, 1,2 экв) ДМАП, 0,066 г (0,000523 моль, 1,5 экв) ДИК, 0,038 (0,000339 моль, 0,97 экв) гексин-5-овой кислоты. Смесь перемешивали 24 ч. Растворитель удалили под вакуумом, последующую очистку проводили с помощью обращено-фазовой хроматографии(C18-Column, Puriflash) (ацетонитрил:вода, градиент от 0:100 до 100:0 в течение 30 мин, скорость потока: 20 мл/мин). Выделено 0,310 г(93%) белого твердого продукта **53a**.

Спектр ЯМР^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.15 (д, 2H, CO_2Ph), 7.74 (д, 2H, NHBz 7.35-7.62 (м, 11H, phenyl, NHBz, CO_2Ph), 6.89 (д, J=9 Гц 1H, H-10), 6.25-6.30 (т, 1H, H-13), 5.96 (дд, J1=9 Гц J2=2 Гц 1H, H-3 5.69 (д, J1=7.2, 1H, H-2), 5.51 (д, J1=3.1 Гц,1H, H-2′),4.98 (д, J1=8.2 Гц 1H, H-5), 4.45 (bc, 1H, H-7), 4.32-4.34 (д, 1H, H-20), 4.20-4.22 (д, 1H, H-20), 3.82-3.84 (д, 1H, H-3), 2.56-2.64 (м, 2H, HC≡CCH2CH2C$\underline{H_2}$OCO-), 2.47 (м, 4H, HC≡C$\underline{CH2CH2}$CH2OCO-), 2.35-2.42 (м, 1H, H-6), 2.23 (с, 3H, C-4 CH_3C(O)), 2.18 (с, 1H, HC≡C,1.98 (м, 1H, H-14), 1.95 (с, 3H, C-10 CH_3C(O)), 1.69 (с, 3H, H-18), 1.60 (м, 1H, H-14), 1.24 (м, 1H, H-6), 1.22 (с, 3H, H-19), 1.20 (с, 3H, H-17), 1.14 (с, 3H, H-16).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):

203.8 (C(O)), 172.1(C(O)NH), 171.2 (C(O)NH), 169.8 (C(O)NH), 168.1 (C(O)NH), 167.1 (C(O)NH), 167.0 (C(O)NH), 142.7 (C(Ar)), 142.2 (C(Ar)), 137.0 (C(Ar)), 133.66 (C(Ar)), 133.65 (C(Ar)), 132.8 (C(Ar)), 132.0 (C(Ar)), 130.2 (C(Ar)), 129.2 (C(Ar)), 129.1 (C(Ar)), 128.9 (C(Ar)), 129.74 (C(Ar)), 128.72 (C(Ar)), 128.5 (C(Ar)), 127.1 (C(Ar)), 126.6 (C(Ar)), 116.4 (C(Ar)), 84.4 (C≡C), 83.0 (C≡C), 81.0, 79.1, 76.4, 75.6, 75.1, 74.0, 72.1, 71.8, 69.5, 62.9, 58.5, 52.8, 45.6, 43.2, 35.57, 35.54, 32.3, 26.8, 23.4, 22.7, 22.1, 20.8, 17.5, 14.8, 9.6, 1.9

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{53}H_{58}NO_{15}$ $[M+H^+]$: 948.3801, найдено: 948.3864; m/z рассчитано для $[M+Na^+]$: 970.3620, найдено 970.3639;

Синтез паклитаксел 2'-OTBDMS (54)

Паклитаксел (200 мг, 0.234 ммоль) растворили в ДМФА DMF (3 мл). Имидазол (27 мг, 0.402 ммоль),трет-бутил-диметилсилил хлорид (TBDMSCl) (294 мг, 1.953 ммоль) прибавили к полученному раствору. Смесьперимешиваливинертнойатмосфереаргонаприкомнатнойтемпературе 24 часа. Далеерастворительудалилиприпониженномдавлении.
Цевлевойпродуктбылвыделенсиспользованиемобращенно-фазовойхроматографиисградиентомацетонитрил/вода (30:700 → 100:0, в течение 18 минут, скорость потока 20 мл/мин), в результате было получено соединение **54** (55%, 124 мг).

Спектр ЯМР^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.14 (д, 2H, J_1=8.2, -CO2Ph), 7.75 (д, 2H, J_1=8.2, -NHBz), 7.60 (т, 1H, J_1=6.7, phenyl), 7.57-7.46 (м, 3H, phenyl, -NHBz, -CO2Ph**),**), 7.44-7.29 (м, 8H, phenyl, -NHBz, -CO2Ph**),** **7**.08 (д, 1H, J_1=8.9 Гц NH), 6.30 (с, 2H, **CH**OAc), 5.74 (д, 1H, J_1=8.7, **CH**OBz), 5.69 (д, 1H, J_1=7.2, **CH**OBz), 4.98 (д, 1H, J_1=9.5 Гц, **CH**O(oxetane)), 4.67 (с, 1H, CH), 4.43 (дд, 1H, J_1=10.2 Гц, J_1=7 Гц, CH_2), 4.32 (д, 1H, J_1=8.4 Гц, CH_2 (oxetane)), 4.23 (д, 1H, J_1=8.2 Гц, CH_2 (oxetane)), 3.83 (д, 1H, J_1=6.8 Гц, CH), 2.65-2.53 (м, 5H, CH_2+CH_3CH3(O) (oxetane)), 2.45-2.37 (м, 2H, CH_2), 2.23 (с, 3H,CH_3(O)), 2.17-2.10 (м, 1H, CH_2), 1.95-1.77 (м, 6H, CH_2+CH_3), 1.69 (с, 3H, CH_3), 1.25 (с, 3H, CH_3), 1.14 (с, 3H, **CH_3**), 0.81 (с, 9H, Si(t-Bu)), -0.03 (с, 3H, Si**CH_3**), -0.28 (с, 3H, Si**CH_3**).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):

203.7 (C(O) (ketone)), 171.37 (C(O)), 171.27 (C(O)), 170.1 (C(O)), 167.0 (C(O)), 166.9 (C(O)), 142.4 (CH_3C=C), 138.2 (C(Ar)), 134.1 (C(Ar)), 133.7 (C(Ar)), 132.9 (CH_3C=C), 131.8 (C(Ar)), 130.2 (C(Ar)), 129.2 (C(Ar)), 128.77 (C(Ar)), 128.74 (C(Ar)), 128.0 (C(Ar)), 127.0

(C(Ar)), 126.4 (C(Ar)), 84.4(CH-O(oxetane)), 81.1(C-OAc (oxetane)), 79.1 (**C**-OH), 76.5(CH_2O (oxetane), 75.5 (CHO (ester)), 75.2 (CHO (ester)), 75.1 (CHO (ester)), 72.1 (CH-OH), 71.4(CH-O -tail), 58.5 (**C**-CH_3), 55.7 (**CH**-NH), 45.5 (CH), 43.2 (**C**$(CH_3)_2$), 35.2 (CH_2), 35.6 (CH_2), 26.8 (CH_3), 25.5 (SiC(**CH₃**)$_3$), 23.0 (CH_3), 22.3(CH_3), 20.8(CH_3), 18.2 (Si**C**$(CH_3)_3$), 15.0(CH_3), 9.6(CH_3), -5.2 ($SiCH_3$), -5.8 ($SiCH_3$).

ESI-HRMS: m/zрассчитанодля$C_{53}H_{65}NO_{14}Si$ + H^+ [M + H^+]: 968.4247. Найдено: 968.4255; m/zрассчитанодля$C_{53}H_{65}NO_{14}Si$ + Na^+ [M + Na^+]: 990.4067. Найдено: 990.4067; m/zрассчитанодля$C_{53}H_{65}NO_{14}Si$ + K^+ [M + K^+]: 1006.3806. Найдено: 1006.3805.

Синтез паклитаксел-2'-(OTBDMS)-7-(5-гексиновой ксилоты) сложный эфир (55)

Паклитаксел 2'-OTBDMS **54** (124 мг, 0.128ммоль) растворили в дихлорметане (3 mL). Также добавили N,N'-диизопропилкарбодиимид(25 мкл, 0.160 ммоль), 5-гексиновую кислоту (18 мг, 0.158 ммоль) и каталитические количества 4-(N,N'-диметиламино) пиридин. Реакционнуюсмесьперимешиваливинертнойатмосфереаргонавтечение 24 часов. Далеерастворительбылудаленприпониженном давлении. Цевлевойпродуктбылвыделенсиспользованиемобращенно-фазовойхроматографиисградиентомацетонитрил/вода (0:100 → 100:0, в течение 30 минут, скорость потока 20 мл/мин) в результате было получено соединение **55** (86%, 117 мг).

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.09 (д, 2H, J1=7.1, -CO_2Ph), 7.75 (д, 2H, J1=7.1, -NHBz), 7.58 (м, 1H, phenyl), 7.54-7.43 (м, 3H, phenyl, -NHBz, -CO_2Ph), 7.44-7.26 (м, 8H, phenyl, -NHBz, -CO_2Ph), 7.07 (д, 1H, J1=8.9 Гц NH), 6.26 (м, 2H, CHOAc), 5.71 (дд, 1H, J1=8.9, J2=1.8, CH), 5.67 (д, 1H, J1=7.1, CHOBz), 5.60 (dд, 1H, J1=10.6, J2=7.1, CH_2), 4.95 (д, 1H, J1=8.0 Гц, CHO(oxetane)), 4.65 (д, 1H, J1=2.1 Гц, CH≡C), 4.31 (д, 1H, J1=8.4 Гц, CH_2 (oxetane)), 4.18 (д, 1H, J1=8.2 Гц, CH_2 (oxetane)), 3.94 (д, 1H, J1=7.0 Гц, CH), 2.63-2.52 (м, 4H, CH_2+ CH_3C(O) (oxetane)), 2.49-2.32 (м, 4H, CH_2), 2.27-2.17 (м, 3H, CH_2), 2.17-2.09 (м, 4H, CH_3+CH_2), 1.98-1.92 (м, 5H, CH_2+CH_3), 1.87-1.74 (м, 6H, CH_3+CH_2), 1.18 (с, 3H, CH_3), 1.14 (с, 3H, CH_3), 0.78 (с, 9H, Si(t-Bu)), -0.05 (с, 3H, $SiCH_3$), -0.32 (с, 3H, $SiCH_3$).

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):

202.0 (C(O) (ketone)), 172.2 (C(O)), 171.4 (C(O)), 169.8 (C(O)), 168.9 (C(O) hexynoic ester), 166.94 (C(O)), 166.87 (C(O)), 140.9 (CH3C=C), 138.2 (C(Ar)), 134.1 (C(Ar)), 133.7 (C(Ar)), 132.7 (CH3C=C), 131.8 (C(Ar)), 130.2 (C(Ar)), 129.0 (C(Ar)), 128.75 (C(Ar)), 128.71 (C(Ar)), 128.0 (C(Ar)), 127.0 (C(Ar)), 126.4 (C(Ar)), 83.9 (C≡CH), 83.6 (CH-O(oxetane)), 80.9 (C-OAc (oxetane)), 78.6 (C-OH), 76.4 (CH2O (oxetane), 75.11 (CHO (ester)), 75.04 (CHO (ester)), 74.5 (CHO (ester)), 71.3 (CH-OH), 71.2 (CH-O -tail), 68.8 (C≡CH), 56.0 (CH-NH),

55.6 (C-CH_3), 46.8 ($C(CH_3)_2$), 43.3 (CH), 35.5 (CH_2), 33.4 (CH_2), 32.8 (CH_2), 26.3 (CH_3), 25.5 ($SiC(CH_3)_3$), 23.2 (CH_2), 23.0 (CH_3), 21.37 (CH_2), 20.7(CH_3), 18.1 (CH_2), 17.8 (CH_3), 15.3 ($SiC(CH_3)_3$), 14.6 (CH_3), 10.86 (CH_3), -5.2 ($SiCH_3$), -5.8 ($SiCH_3$).

ESI-HRMS: m/zрассчитанодля$C_{59}H_{71}NO_{15}Si$ + H^+ [M + H^+]: 1062.4666. Найдено: 1062.4683; m/zрассчитанодля$C_{59}H_{71}NO_{15}Si$ + Na^+ [M + Na^+]: 1084.4485. Найдено: 1084.4489; m/zрассчитанодля$C_{59}H_{71}NO_{15}Si$ + K^+ [M + K^+]: 1100.4225. Найдено: 1100.4197.

Синтез паклитаксел 7-(5-гексиновой ксилоты) сложный эфир (56)

К раствору паклитаксел-2'-(OTBDMS)-7-(5-гексиновой ксилоты) сложный эфир **55** (117 мг, 0.110 ммоль) вТГФ (3 мл) добавили 117 мкл (0.110 ммоль) 1Мраствора TBAF вTHF. Реакционную смесь перемешивали в течение 15 минут. Далее растворитель был удален при пониженном давлении. Цевлевой продукт был выделен с использованием обращенно-фазовой хроматографии с градиентом ацетонитрил/вода (0:100 → 100:0, в течение 30 минут, скорость потока 20 мл/мин), в результате было получено соединение **56** (41%, 43 мг, 0.045 ммоль).

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.11 (д, 2H, J_1=7.5, -CO_2Ph), 7.76 (д, 2H, J_1=7.5, -NHBz), 7.62 (м, 1H, phenyl), 7.56-7.45 (м, 5H, phenyl, -NHBz, -CO_2Ph), 7.45-7.38 (м, 4H, phenyl, -NHBz, -CO_2Ph), 7.35 (м, 1H, phenyl), 7.26 (м, 1H, phenyl), 7.11 (д, 1H, J1=8.7 Гц, NH), 6.23 (с, 1H, CHOAc), 6.17 (т, 1H,J1=8.5 Гц, CH), 5.80 (д, 1H, J1=8.7, CHOBz), 5.67 (д, 1H, J1=6.6, CHOBz), 5.56 (д, 1H, J1=8.7, CH_2), 4.95 (д, 1H, J1=9.2 Гц, CHO(oxetane)),4,80(с, 1H, HC≡C), 4.31 (д, 1H, J1=8.3 Гц, CH_2 (oxetane)), 4.19 (д, 1H, J1=8.4 Гц, CH_2 (oxetane)), 4.12 (м,1H, CH_2), 3.91 (д, 1H, J1=6.6 Гц, CH), 2.65-2.54 (м, 1H, CH_2), 2.52-2.40 (м, 2H, CH_2), 2.37 (с, 3H, CH_3C(O) (oxetane)), 2.32 (т, 2H, J1=8.6, CH_2), 2.24 (т, 2H, J1=6.1, CH_2), 2.16 (с, 1H, CH_3), 1.95 (м, 1H, CH),1.88-1.75 (м, 10H, 2×CH_3+ CH_2),1.30-1.22 (м, 2H, CH_2), 1.20 (с, 3H, CH_3), 1.16 (с, 3H, CH3).

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):

201.9 (C(O) ketone), 192.4(C(O)), 172.3 (C(O)), 172.2 (C(O)), 170.3 (C(O)), 168.8 (C(O)), 166.8 (C(O)), 140.3 (C(Ar)), 138.0 (C(Ar)), 133.8 (C(Ar)), 133.6 (C(Ar)), 133.0 (C(Ar)), 131.9 (C(Ar)), 130.1 (C(Ar)), 129.0 (C(Ar)), 128.9 (C(Ar)), 128.70 (C(Ar)), 128.68 (C(Ar)), 128.3 (C(Ar)), 127.04 (C(Ar)), 127.01 (C(Ar)), 114.4 (C(Ar)) 103.6 (C(Ar)), 83.9 (C≡C), 83.6 (C≡C), 81.0, 78.5, 77.3, 77.0, 76.7, 75.2, 74.3, 73.2, 72.1, 71.2, 68.8, 56.2, 54.8, 46.9, 43.2, 35.5, 33.4, 32.8, 26.5, 23.2, 22.5, 20.7, 17.8, 14.6, 14.2, 10.8.

ESI-HRMS: m/zрассчитанодля$C_{53}H_{57}NO_{15}$ + H^+ [M + H^+]: 948.3801. Найдено: 948.3821; m/zрассчитано для$C_{53}H_{57}NO_{15}$ + Na^+ [M + Na^+]: 970.3620. Найдено: 970.3627; m/zрассчитано для$C_{53}H_{57}NO_{15}$ + K^+ [M + K^+]: 986.3360. Найдено: 986.3361.

Синтез (S)-2-(3-((S)-1-карбокси-5-(11-(4-(4-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-9-(((2R,3S)-3-бензамидо-2-гидрокси-3-фенилпропанил)окси)-12-(бензоилокси)-11-гидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-охо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-4-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил) ундеканамидо)пентил)уреидо) пентандиоваяксилота (57)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,020 г (0,021 ммоль) модифицированного паклитаксела **56**, а также 0,024 г (0,046ммоль) **6**.Отдельно смешали растворы 0,002 г (17 мкмоль) $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,003 г аскорбата натрия (8мкмоль) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,010 г (32%) белого твердого соединения **57**.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.55 (с, 3H, COOH), 9.03 (д, *J* = 8.5 Гц, 1H, NHC(O)Ph),7.96 (д, 2H, J_1=7.6, -CO_2Ph), 7.88 (д, 2H, J_1=7.5, -NHBz), 7.84 (м, 1H, phenyl), 7.77-7.67 (м, 2H, phenyl, -NHBz, -CO_2Ph), 7.67-7.58 (м, 2H, phenyl, -NHBz, -CO_2Ph), 7.57-7.52 (м, 1H, phenyl), 7.52-7.43 (м, 2H, phenyl),7,44-7.33 (м, 4H, NH), 7.27-7.15 (м, 1H, NH),6.47-6.12 (м, 2H, CH_2), 6.06 (с, 1H, CHOAc), 5.88 (т, 1H, J1=8.9, CHOBz), 5.47-5.35 (м, 3H, CH_2), 4.95 (д, 1H, J1=9.4Гц, CHO(oxetane)), 4,80(с, 1H, HC=C), 4.26 (т, 1H, J1=6.3 Гц, CH_2 (oxetane)), 4.22-3.77 (м, 5H, CH_2), 3.70 (д, J = 6.8 Гц, 1H),3.04-2.87 (м, 3H, CH_2), 2.64-2.53 (м, 2H, CH_2),2.47-2.35 (м, 1H, CH_2),2.34-2.13 (м, 7H, CH_2+CH_3), 2.07 (с, 3H, CH_3),2.05-1.95 (м, 3H, CH_2),1.94-1.82 (м, 2H, CH_2), 1.82-1.67 (м, 9H, CH_2+CH_3), 1.67-1.54 (м, 5H, CH_2+CH_3), 1.54-1.30 (м, 8H, CH_2), 1.30-1.10 (м, 18H, CH_2+CH_3), 1.02 (с, 3H, CH_3), 0.97 (с, 3H, CH_3).

ESI-HRMS: m/zрассчитанодля$C_{76}H_{97}N_7O_{23}$ + H^+ [M + H^+]: 1476.6631. Найдено: 1476.6709; m/zрассчитанодля$C_{76}H_{97}N_7O_{23}$ + Na^+ [M+ Na^+]: 1498.6442. Найдено: 1498.6528; m/z рассчитано для $C_{76}H_{97}N_7O_{23}$ + K^+ [M + K^+]: 1514.6212. Найдено: 1514.6267.

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(6-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензоилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-

1H-7,11-метаноциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил)окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)гексанамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиоваяксилота (58)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,020 г ($2{,}11\cdot10^{-5}$ моль, 1 экв) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,019 г ($4{,}23\cdot10^{-5}$ моль, 2,2 экв) **30.** Отдельно смешали растворы 0,0042 г ($26{,}3\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,010 г аскорбата натрия ($51{,}48\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,011 г (37%) белого твердого соединения **58**.

Спектр ЯМР^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

9.23 (д, J = 8.4 Гц, 1H), 7.96 (д, J = 7.2 Гц, 2H), 7.82 (д, J = 7.2 Гц, 2H), 7.71-7,74 (м, 2H), 7.65 (т, J = 7.4 Гц, 2H), 7.52-7.56 (м, 1H), 7.43-7.48 (м, 5H), 7.15-7.18 (м, 1H), 6.53 (bs, 1H), 6.27-6.33 (м, 2H), 5.80 (т, J = 9 Гц, 1H), 5.52 (т, J = 8.7 Гц, 1H), 5.40 (д, J = 7.1 Гц, 1H), 5.34 (д, J = 9.2 Гц, 1H), 4.91 (т, J = 10.5 Гц, 2H), 4.63 (с, 1H), 4.23 (т, J = 7.1 Гц, 2H), 4.07-4.11 (м, 2H), 3.97-4.03 (м, 2H), 3.56-3.57 (м, 2H), 2.95-3.00 (м, 2H), 2.60 (т, J = 7.5 Гц, 2H), 2.53 (с, 10H), 2.44-2.45 (м, 2H), 2.28-2.32 (м, 1H), 2.22 (с, 4H), 2.09 (с, 2H), 2.01 (т, J = 7.3 Гц, 2H), 1.88-1.92 (м, 1H), 1.81-1.86 (м, 2H), 1.70-1.76 (м, 5H), 1.61-1.68 (м, 3H), 1.48-1.52 (м, 6H), 1.33-1.35 (м, 2H), 1.22-1.28 (м, 2H), 1.17-1.18 (м, 2H), 0.98-1.01 (м, 5H).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{71}H_{87}N_7O_{23}$ + H^+ [M + H^+]: 1406.5853. Найдено: 1406.5991; m/z рассчитано для $C_{71}H_{87}N_7O_{23}$+ Na^+ [M+Na^+]: 1428.5751. Найдено: 1428.5751.

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(11-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензоилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил)окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил) окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)ундеканамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовая кислота (59)

В 20 мл диметилформамида растворили 0,162 г (0,307ммоль) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,194 г (0,204ммоль) **31.** Отдельно смешали растворы 0,021 г (82мкмоль) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 500 мкл деионизованной воды и 0,032 г аскорбата натрия (163мкмоль) в 500 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию,

содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 4 мл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,188 г (62%) белого твердого соединения **59**.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

9.24 (д, J = 8.7 Гц, 1Н), 7.96 (д, 7.2 Гц, 2Н), 7.82 (д, J = 7.1 Гц, 2Н), 7.63-7.67 (м, 2Н), 7.52-7.56 (м, 1Н), 7.39-7.48 (м, 5Н), 7.17 (уш с, 1Н), 6.38 (м, 1Н), 6.27 (с, 1Н), 5.79 (т, J = 8.8 Гц, 1Н), 5.52 (т, J = 8.6 Гц, 1Н), 5.40 (д, J = 7.2 Гц, 1Н), 5.34 (д, J = 9.2Гц, 1Н), 4.90 (д, J = 9.3 Гц, 1Н), 4.63 (с, 1Н), 4.23 (т, J = 7.2 Гц, 2Н), 4.09 (м, 1Н), 4.00 (м, 4Н), 3.57 (д, J = 6.7 Гц, 2Н), 2.96-2.98 (м, 2Н), 2.61 (т, J = 7.6 Гц, 2Н), 2.53 (с, 5Н), 2.19-2.31 (м, 6Н), 2.07-2.09 (м, 2Н), 2.00 (т, J = 7.3 Гц, 2Н), 1.81-1.86 (м, 2Н), 1.74-1.77 (м, 6Н), 1.59-1.65 (м, 2Н), 1.44-1.48 (м, 7Н), 1.35 (м, 2Н), 1.20-1.22 (14Н), 0.98-1.01 (м, 6Н).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{77}H_{99}N_7O_2$ + H^+ [M + H^+]: 1476.6714. Найдено: 1476.6698; m/z рассчитано для $C_{77}H_{99}N_7O_2$ + Na^+ [M + Na^+]: 1498.6534. Найдено: 1498.6500.

Синтез (3S,7S)-19-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацтокси-12-(бензилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1Н-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b] оксет-9-ил)окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил) окси)-4-оксобутил)-1Н-1,2,3-триазол-1-ил)-5,13-диоксо-4,6,12,14-тетраазанонадекан-1,3,7-трикарбоновая кислота (60)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,011 г ($1{,}16\cdot10^{-5}$ моль) модифицированного паклитаксела **53а**, а также 0,011 г ($2{,}325\cdot10^{-5}$ моль) **34**.Отдельно смешали растворы 0,0022 г (13,9мкмоль) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,0055 г аскорбата натрия (27,9мкмоль) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,0015 г (9%) белого твердого соединения **60**.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

9.23 (д, J = 7.8 Гц, 1Н), 7.96 (д, J = 7.2 Гц, 2Н), 7.82 (д, J = 7.7 Гц, 2Н), 7.73 (м, 2Н), 7.65-7.67 (м, 2Н), 7.53-7.54 (м, 1Н), 7.43-7.46 (м, 6Н), 7.17 (bs, 1Н), 6.35 (м, 1Н), 6.28 (м, 1Н),

5.75-5.79 (м, 3H), 5.50-5.54 (м, 1H), 5.39 (м, 1H), 5.34 (д, J = 9.4 Гц, 1H), 4.89-4.91 (м, 2H), 4.63 (с, 1H), 4.24 (м, 2H), 4.09 (м, 1H), 3.99 (м, 3H), 3.56 (м, 2H), 2.92 (м, 5H), 2.61-2.66 (м, 2H), 2.31 (м, 1H), 2.23 (м, 4H), 2.08 (д, J = 6.5 Гц, 4H), 1.81-1.84 (м, 4H), 1.77 (м, 7H), 1.62 (м, 2H), 1.48 (м, 5H), 1.33 (м, 5H), 1.19-1.22 (м, 5H), 0.98-1.01 (м, 6H).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{71}H_{88}N_8O_{23}$ + H^+ [M + H^+]: 1421.6041. Найдено: 1421.6019.

Синтез (3S,7S)-24-(4-(4-(((1S, 2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензоилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека [3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил) окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-yl)-5,13-диоксо-4,6,12,14-тетраазатетракозан-1,3,7-трикарбоновая кислота (61)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,017 г ($1{,}84\cdot10^{-5}$ моль) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,020 г ($3{,}68\cdot10^{-5}$ моль) **35**.Отдельно смешали растворы 0,0036 г (22,1мкмоль) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,0087 г аскорбата натрия (44,4мкмоль) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,012 г (44%) белого твердого соединения **61**.

Спектр ЯМР^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

9.23 (д, J = 8.4 Гц, 1H), 8.30 (bs, 2H), 7.94-7.97 (м, 3H), 7.82 (д, J = 7.5 Гц, 2H), 7.63-7.66 (м, 2H), 7.52-7.56 (м, 1H), 7.42-7.47 (м, 5H), 7.16 (bs, 1H), 6.27-6.33 (м, 2H), 5.74-5.82 (м, 2H), 5.51 (т, J = 8.7 Гц, 1H), 5.40 (д, J = 7.1 Гц, 1H), 5.34 (д, J = 9.2 Гц, 1H), 4.91 (т, J = 7.8 Гц, 2H), 4.62 (с, 1H), 4.23 (т, J = 6.8 Гц, 2H), 4.09 (м, 2H), 4.00 (м, 4H), 3.56 (д, J = 6.8 Гц, 2H), 3.07-3.08 (м, 4H), 2.91-2.92 (м, 4H), 2.87 (с, 2H0, 2.71 (с, 2H), 2.60 (м, 2H), 2.44 (м, 2H), 2.28-2.34 (м, 1H), 2.22 (с, 4H), 1.97 (с, 1H), 1.91 (с, 1H), 1.81-1.86 (м, 2H), 1.72-1.76 (м, 6H), 1.59-1.65 (м, 2H), 1.48 (м, 4H), 1.30-1.37 (м, 3H), 1.14-1.20 (м, 16H), 0.98-1.00 (м, 5H).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{76}H_{98}N_8O_{23}$ + H^+ [M + H^+]: 1491.6826. Найдено: 1491.6818;m/z рассчитано для $C_{76}H_{98}N_8O_{23}$ + Na^+ [M + Na^+]: 1513.6630. Найдено: 1513.6637.

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(11-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензоилокси)-4,11-

дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил) окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-N-(4-фторбензил)ундеканамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовая кислота (62)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,020 г ($2{,}11\cdot10^{-5}$ моль, 1 экв) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,029 г ($4{,}64\cdot10^{-5}$ моль, 2,2 экв) **47.** Отдельно смешали растворы 0,0021 г ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,0033 г аскорбата натрия ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,0123 г (37%) белого твердого соединения **62** (чистота 98%)**.**

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

12.46 (с, 3H, COOH), 9.20 (д, *J* = 8.5 Гц, 1H, NHC(O)Ph), 7.94 (д, *J* = 8.0 Гц, 2H, OBz), 7.80 (д, *J* = 7.7 Гц, 2H, NBz), 7.74 – 7.67 (м, 2H, OBz, CH(триазол)), 7.62 (т, *J* = 7.6 Гц, 2H, OBz), 7.51 (т, *J* = 7.2 Гц, 1H, NBz), 7.47 – 7.37 (м, 6H, NBz, C_6H_4F), 7.24 – 7.03 (м, 5H, Ph), 6.33 – 6.22 (м, 3H, NH, CHOAc), 5.78 (т, *J* = 8.8 Гц, 1H, CHOC(O)R), 5.50 (т, *J* = 8.8 Гц, 1H, PhC<u>H</u>NH), 5.38 (д, *J* = 7.0 Гц, 1H, CHOC(O)Ph), 5.33 (д, *J* = 9.0 Гц, 1H, RC(O)OCHOC(O)R'), 4.93 – 4.84 (м, 2H, CHO(оксетан), C<u>H</u>OH), 4.60 (с, 1H, CH_2Ar), 4.48 (с, 1H, CH_2O<u>H</u>), 4.42 (с, 1H, CH_2Ar), 4.21 (т, *J* = 6.7 Гц, 2H, CH_2N(триазола)), 4.11 – 3.94 (м, 5H, HNC<u>H</u>COOH, CH_2(оксетан), COH), 3.55 (д, *J* = 7.1 Гц, 1H, R_3CH), 3.19 – 3.08 (м, 2H, CH_2NR_2), 2.58 (т, *J* = 7.4 Гц, 2H, CH_2C(триазол)), 2.48 – 2.45 (м, 5H, CH_2), 2.43 – 2.40 (м, 1H, CH_2), 2.34 – 2.26 (м, 2H, CH_2), 2.24 – 2.16 (м, 5H, CH_2, $C(O)CH_3$), 2.06 (с, 3H, $C(O)CH_3$) 2.05 – 2.03 (м, 1H, CH_2), 1.92 – 1.54 (м, 12H, CH_2, CH_3), 1.52 – 1.34 (м, 9H, CH_2, CH_3), 1.27 – 1.11 (м, 13H, CH_2), 1.03 - 0.91 (м, 6H, $R_2C(C$<u>H</u>$_3)_2$).

ESI-HRMS: рассчитано для $C_{83}H_{103}N_7O_{23}F$ [M^+]: 1584.7084, найдено: 1584.7111; рассчитано для [$M+Na^+$]: 1606.6904, найдено: 1606.6912

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(11-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензоилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил)окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-

ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-N-(4-хлорбензил)ундеканамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовая кислота (63)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,020 г ($2{,}11\cdot10^{-5}$ моль, 1 экв) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,030 г ($4{,}64\cdot10^{-5}$ моль, 2,2 экв) **48.** Отдельно смешали растворы 0,0021 г ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,0033 г аскорбата натрия ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,0118 г (35%) белого твердого соединения **63** (чистота 96%)**.**

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

9.24 (д, *J* = 8.1 Гц, 1H, NHC(O)Ph), 7.96 (д, *J* = 7.3 Гц, 2H, OBz), 7.82 (д, *J* = 7.1 Гц, 2H, NBz), 7.75 – 7.61 (м, 4H, OBz, CH(триазол)), 7.52 (д, *J* = 7.2 Гц, 1H, NBz), 7.49 – 7.31 (м, 8H, NBz, C_6H_4F, Ph), 7.24 – 7.12 (м, 3H, Ph), 6.29 (д, *J* = 15.9 Гц, 3H, NH, CHOAc), 5.78 (д, *J* = 9.3 Гц, 1H, CHOC(O)R), 5.51 (т, *J* = 8.6 Гц, 1H, PhC<u>H</u>NH), 5.40 (д, *J* = 6.9 Гц, 1H, CHOC(O)Ph), 5.34 (д, *J* = 9.2 Гц, 1H, RC(O)OCHOC(O)R'), 4.99 – 4.84 (м, 2H, CHO(оксетан), C<u>H</u>OH), 4.63 (с, 1H, CH_2Ar), 4.52 (с, 1H, CH_2O<u>H</u>), 4.44 (с, 1H, CH_2Ar), 4.27 – 4.19 (м, 2H, CH_2N(триазола)), 4.01 (д, *J* = 9.8 Гц, 5H, HNC<u>H</u>COOH, CH_2(оксетан), COH), 3.56 (д, *J* = 7.0 Гц, 1H, R_3CH), 3.17 – 3.12 (м, 2H, CH_2NR_2), 2.59 (м, CH_2C(триазол)), 2.45 (м, 5H, CH_2), 2.36 – 2.29 (м, 1H, CH_2), 2.25 – 2.18 (м, 5H, CH_2,C(O)CH_3), 2.07 (м, 4H, C(O)CH_3, CH_2), 1.86 – 1.69 (м, 9H, CH_2, CH_3), 1.65 – 1.58 (м, 1H, CH_2), 1.54 – 1.42 (м, 8H, CH_2, CH_3), 1.26 – 1.12 (м, 16H, CH_2), 1.03 – 0.95 (м, 6H, $R_2C(C\underline{H}_3)_2$).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{83}H_{101}N_7O_{23}Cl[M^-]$: 1598.6642, найдено: 1598.6664; рассчитано для $C_{83}H_{103}N_7O_{23}Cl$ $[M^+]$: 1600.6789, найдено: 1600.6766; рассчитано для $[M+Na^+]$: 1622.6608, найдено: 1622.6556

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(11-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензоилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил)окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-N-(4-бромбензил)ундеканамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовая кислота (64)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,020 г ($2{,}11\cdot10^{-5}$ моль, 1 экв) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,032 г ($4{,}64\cdot10^{-5}$ моль, 2,2 экв) **49.** Отдельно смешали растворы 0,0021 г ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,0033 г аскорбата натрия ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,0131 г (38%) белого твердого соединения **64** (чистота 94%)**.**

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

9.25 (д, *J* = 8.2 Гц, 1H, NHC(O)Ph), 7.96 (д, *J* = 7.4 Гц, 2H, OBz), 7.82 (д, *J* = 7.4 Гц, 2H, NBz), 7.75 – 7.69 (м, 2H, OBz, CH(триазол)), 7.65 (т, *J* = 7.3 Гц, 2H, OBz), 7.53 (д, *J* = 6.6 Гц, 2H, NBz), 7.49 – 7.38 (м, 7H, NBz, C_6H_4F, Ph), 7.24 – 7.12 (м, 3H, Ph), 6.38 – 6.24 (м, 3H, NH, CHOAc), 5.79 (т, *J* = 9.0 Гц, 1H, CHOC(O)R), 5.51 (т, *J* = 8.6 Гц, 1H, PhC<u>H</u>NH), 5.40 (д, *J* = 7.0 Гц, 1H, CHOC(O)Ph), 5.35 (д, *J* = 9.2 Гц, 1H, RC(O)OCHOC(O)R'), 4.98 – 4.86 (м, 2H, CHO(оксетан), C<u>H</u>OH), 4.63 (с, 1H, CH_2Ar), 4.50 (с, 1H, CH_2O<u>H</u>), 4.43 (с, 1H, CH_2Ar), 4.27 – 4.19 (т, *J* = 6.1 Гц, 2H, CH_2N(триазола)), 4.12 – 3.94 (м, 5H, HNC<u>H</u>COOH, CH_2(оксетан), COH), 3.56 (д, *J* = 7.0 Гц, 1H, R_3CH), 3.16 – 3.10 (м, 2H, CH_2NR_2), 2.60 (т, *J* = 7.3 Гц, 2H, CH_2C(триазол)), 2.54 – 2.50 (м, 4H, CH_2), 2.46 – 2.40 (м, 4H, CH_2), 2.34 – 2.30 (м, 1H, CH_2), 2.24 – 2.19 (м, 5H, CH_2,C(O)CH_3), 2.09 – 2.05 (м, 4H, C(O)CH_3, CH_2), 1.86 – 1.72 (м, 9H, CH_2, CH_3), 1.65 – 1.58 (м, 1H, CH_2), 1.52 – 1.41 (м, 9H, CH_2, CH_3), 1.25 – 1.13 (м, 17H, CH_2), 1.03 – 0.96 (м, 6H, $R_2C(C\underline{H}_3)_2$).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{83}H_{101}N_7O_{23}{}^{79}Br[M^-]$: 1642.6137, найдено: 1642.6158; рассчитано для $C_{83}H_{101}N_7O_{23}{}^{81}Br[M^-]$: 1644.6117, найдено: 1644.6143; рассчитано для $C_{83}H_{103}N_7O_{23}{}^{79}Br[M^+]$: 1644.6284, найдено: 1644.6229; рассчитано для $C_{83}H_{103}N_7O_{23}{}^{81}Br[M^+]$: 1646.6263, найдено: 1646.6268

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(6-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил)окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-N-(4-фторбензил)гексанамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовая кислота (65)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,020 г ($2{,}11\cdot10^{-5}$ моль, 1 экв) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,026 г ($4{,}64\cdot10^{-5}$ моль, 2,2 экв) **50.** Отдельно смешали растворы 0,0021 г ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,0033 г аскорбата натрия ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,0144 г (45%) белого твердого соединения **65** (чистота 100%)**.**

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

12.68 – 12.33 (м, 3H, COOH), 9.21 (д, *J* = 8.2 Гц, 1H, NHC(O)Ph), 7.94 (д, *J* = 8.1 Гц, 2H, OBz), 7.80 (д, *J* = 7.5 Гц, 2H, NBz), 7.74 – 7.68 (м, 2H, OBz, CH(триазол)), 7.62 (т, *J* = 7.7 Гц, 2H, OBz), 7.54 – 7.48 (м, 1H, NBz), 7.45 – 7.37 (м, 6H, NBz, C_6H_4F), 7.24 – 7.04 (м, 5H, Ph), 6.34 – 6.23 (м, 3H, NH, CHOAc), 5.78 (т, *J* = 8.6 Гц, 1H, CHOC(O)R), 5.50 (т, *J* = 8.6 Гц, 1H, PhC<u>H</u>NH), 5.38 (д, *J* = 7.1 Гц, 1H, CHOC(O)Ph), 5.32 (д, *J* = 9.1 Гц, 1H, RC(O)OCHOC(O)R'), 4.95 – 4.83 (м, 2H, CHO(оксетан), C<u>H</u>OH), 4.60 (с, 1H, CH_2Ar), 4.48 (с, 1H, CH_2O<u>H</u>), 4.42 (с, 1H, CH_2Ar), 4.26 – 4.16 (м, 2H, CH_2N(триазола)), 4.11 – 3.92 (м, 5H, HNC<u>H</u>COOH, CH_2(оксетан), COH), 3.55 (д, *J* = 7.0 Гц, 1H, R_3CH), 3.18 – 3.08 (м, 2H, CH_2NR_2), 2.58 (т, *J* = 7.4 Гц, 2H, CH_2C(триазол)), 2.49 – 2.39 (м, 5H, CH_2, OC(O)CH_3), 2.34 – 2.27 (м, 2H, CH_2), 2.24 – 2.16 (м, 5H, CH_2, OC(O)CH_3), 2.05 – 2.02 (м, 1H, CH_2), 1.88 – 1.33 (м, 20H, CH_2, CH_3), 1.20 (с, 5H, CH_2), 1.03 – 0.91 (м, 6H, $R_2C(C\underline{H}_3)_2$).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{78}H_{91}N_7O_{23}F[M^-]$: 1512.6155, найдено: 1512.6167; рассчитано для $C_{78}H_{93}N_7O_{23}F$ $[M^+]$: 1514.6302, найдено: 1514.6318; рассчитано для $[M+Na^+]$: 1536.6121, найдено: 1536.6121

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(6-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил)окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-N-(4-хлорбензил)гексанамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиоваяксилота (66)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,020 г ($2{,}11\cdot10^{-5}$ моль, 1 экв) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,027 г ($4{,}64\cdot10^{-5}$ моль, 2,2 экв) **51**.Отдельно смешали растворы 0,0021 г ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,0033 г

аскорбата натрия ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^{+}, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,0122 г (38%) белого твердого соединения **66**(чистота 100%)**.**

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

9.22 (т, *J* = 8.1 Гц, 1H, NHC(O)Ph), 7.94 (д, *J* = 7.4 Гц, 2H, OBz), 7.80 (д, *J* = 7.8 Гц, 2H, NBz), 7.73 – 7.67 (м, 2H, OBz, CH(триазол)), 7.62 (т, *J* = 7.5 Гц, 2H, OBz), 7.53 – 7.30 (м, 9H, NBz, C_6H_4Cl, Ph), 7.21 – 7.11 (м, 3H, Ph), 6.34 – 6.22 (м, 3H, NH, CHOAc), 5.78 (т, *J* = 8.5 Гц, 1H, CHOC(O)R), 5.50 (т, *J* = 8.6 Гц, 1H, PhC<u>H</u>NH), 5.38 (д, *J* = 7.1 Гц, 1H, CHOC(O)Ph), 5.33 (д, *J* = 9.3 Гц, 1H, RC(O)OCHOC(O)R'), 4.94 – 4.84 (м, 2H, CHO(оксетан), C<u>H</u>OH), 4.60 (с, 1H, CH_2Ar), 4.49 (с, 1H, CH_2O<u>H</u>), 4.43 (с, 1H, CH_2Ar), 4.25 – 4.16 (м, 2H, CH_2N(триазола)), 4.10 – 3.94 (м, 5H, HNC<u>H</u>COOH, CH_2(оксетан), COH), 3.55 (д, *J* = 7.2 Гц, 1H, R_3CH), 3.18 – 3.10 (м, 2H, CH_2NR_2), 2.58 (т, *J* = 7.2 Гц, 2H, CH_2C(триазол)), 2.48 – 2.41 (м, 5H, CH_2, OC(O)CH_3), 2.34 – 2.24 (м, 2H, CH_2), 2.24 – 2.17 (м, 5H, CH_2, OC(O)CH_3), 2.05 – 2.02 (м, 1H, CH_2), 1.83 – 1.36 (м, 20H, CH_2, CH_3), 1.25 – 1.11 (м, 5H, CH_2), 1.03 – 0.91 (м, 6H, $R_2C(C\underline{H}_3)_2$).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{78}H_{91}N_7O_{23}Cl[M^-]$: 1528.5860, найдено: 1528.5870; рассчитано для $C_{78}H_{93}N_7O_{23}Cl$ $[M^+]$: 1530.6006, найдено: 1530.6028; рассчитано для $[M+Na^+]$: 1552.5826, найдено: 1552.5828

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(6-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил)окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-N-(4-бромбензил)гексанамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиовая ксилота (67)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,020 г ($2{,}11\cdot10^{-5}$ моль, 1 экв) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,029 г ($4{,}64\cdot10^{-5}$ моль, 2,2 экв) **52**.Отдельно смешали растворы 0,0021 г ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) $CuSO_4\cdot5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,0033 г аскорбата натрия ($8{,}44\cdot10^{-6}$ моль, 0,4 экв) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^{+}, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды.

Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,0127 г (38%) белого твердого соединения **67** (чистота 99%)**.**

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

12.78 – 12.38 (с, 3H, COOH), 9.22 (д, *J* = 8.4 Гц, 1H, NHC(O)Ph), 7.94 (д, *J* = 7.9 Гц, 2H, OBz), 7.80 (д, *J* = 8.1 Гц, 2H, NBz), 7.74 – 7.68 (м, 2H, OBz, CH(триазол)), 7.62 (т, *J* = 7.7 Гц, 2H), 7.55 – 7.34 (м, 9H, NBz, C_6H_4Br, Ph), 7.17 – 7.07 (м, 3H, Ph), 6.33 – 6.21 (м, 3H, NH, CHOAc), 5.78 (т, *J* = 9.2 Гц, 1H, CHOC(O)R), 5.50 (т, *J* = 8.7 Гц, 1H, PhC<u>H</u>NH), 5.38 (д, *J* = 7.1 Гц, 1H, CHOC(O)Ph), 5.33 (д, *J* = 9.2 Гц, 1H, RC(O)OCHOC(O)R'), 4.94 – 4.84 (м, 2H, CHO(оксетан), C<u>H</u>OH), 4.60 (с, 1H, CH_2Ar), 4.47 (с, 1H, CH_2O<u>H</u>), 4.41 (с, 1H, CH_2Ar), 4.26 – 4.15 (м, 2HCH_2N(триазола)), 4.11 – 3.94 (м, 5H, HNC<u>H</u>COOH, CH_2(оксетан), COH), 3.55 (д, *J* = 7.2 Гц, 1H, R_3CH), 3.16 – 3.10 (м, 2H, CH_2NR_2), 2.58 (т, *J* = 7.2 Гц, 2H, CH_2C(триазол)), 2.45 (д, *J* = 15.4 Гц, 5H, OC(O)CH_3), 2.35 – 2.27 (м, 2H, CH_2), 2.23 – 2.15 (м, 5H, CH_2, OC(O)CH_3), 2.05 – 2.00 (м, 1H, CH_2), 1.85 – 1.37 (м, 20H, CH_2, CH_3), 1.26 – 1.10 (м, 5H, CH_2), 1.05 – 0.91 (м, 6H, $R_2C(C\underline{H}_3)_2$).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{78}H_{91}N_7O_{23}{}^{79}Br[M^-]$: 1572.5355, найдено: 1572.5361; рассчитано для $C_{78}H_{91}N_7O_{23}{}^{81}Br[M^-]$: 1574.5334, найдено: 1574.5365; рассчитано для $C_{78}H_{93}N_7O_{23}{}^{79}Br$ $[M^+]$: 1574.5501, найдено: 1574.5513; рассчитано для $C_{78}H_{93}N_7O_{23}{}^{81}Br[M^+]$: 1576.5481, найдено: 1576.5514

Синтез (S)-2-(3-((S)-5-(6-(4-(4-(((1S,2R)-1-бензамидо-3-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-6,12b-диацетокси-12-(бензилокси)-4,11-дигидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метанциклодека[3,4]бензо[1,2-b]оксет-9-ил)окси)-3-оксо-1-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-N-(4-гидроксибензил)гексанамидо)-1-карбоксипентил)уреидо)пентандиоваяксилота (68)

В 4 мл диметилформамида растворили 0,016 г (0,0169 ммоль, 1 экв) модифицированного паклитаксела **53a**, а также 0,014 г (0,0253 моль, 1,5 экв) **53**.Отдельно смешали растворы 0,0025 г (0,010 ммоль, 0,4 экв) $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в 100 мкл деионизованной воды и 0,004 г аскорбата натрия (0,020 ммоль, 0,4 экв) в 100 мкл деионизованный воды. Полученную светло-желтую суспензию, содержащую катионы Cu^+, перенесли в колбу с раствором остальных компонентов реакции в диметилформамиде, затем добавили 800 мкл воды. Через полученный раствор продували аргон в течение 20 минут, после чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. Упарили растворитель, провели

предварительную очистку. После очистки методом ВЭЖХ-МС выделено 0,014 г (53%) белого твердого соединения **68** (чистота 99%)**.**

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

13.00 (с, 3H, COOH), 9.25 (т, J = 9.0 Гц, 1H, ArH), 7.96 (д, J = 7.6 Гц, 2H, ArH), 7.82 (д, J = 7.3 Гц, 2H, ArH), 7.77 – 7.69 (м, 2H, ArH, CH(триазол)), 7.64 (т, J = 7.5 Гц, 2H, ArH), 7.58 – 7.40 (м, 7H, ArH), 7.17 (уш. с., J = 7.8 Гц, 1H, ArH), 6.97 (т, J = 7.6 Гц, 1H, ArH), 6.73 (д, 1H, J_1=7.4, NH(мочевина)), 6.67 (д, 1H, J= 6.6, NH(мочевина)), 6.40 - 6.30 (м, 1H, NH), 6.28 (с, 1H, CHOAc), 5.78 (т, J = 8.63 Гц, 1H, CHOC(O)R), 5.52 (т, J = 8.7 Гц, 1H, PhCHNH), 5.40 (д, 1H, J = 7.1 Гц, CHOC(O)Ph), 5.35 (д, 1H, J = 9 Гц, RC(O)OCHOC(O)R'), 4.99 – 4.86 (м, 2H, CHO(оксетан), CHOH), 4.63 (с, 1H, CH), 4.36 (с, J = 12.5 Гц, 2H, CH_2Ar), 4.27 – 4.18 (м, 2H, CH_2N(триазола)), 4.15 - 3.94 (м, 5H, HNCHCOOH, CH_2(оксетан), COH), 3.57 (д, J = 7.1 Гц, 1H, R_3CH), 3.18 - 3.12 (м , 1H, CH_2NR_2), 3.11 – 3.04 (м, 1H, CH), 2.60 (м, 2H, CH_2C(триазол)), 2.47 – 2.41 (м, 2H, CH_2), 2.30 – 2.27 (м, 3H OC(O)CH_3), 2.23 (м, 5H, CH_3CO, CH_2CO), 2.07 (д, J = 10.3 Гц, 4H, CH_2), 1.89 – 1.80 (м, 3H, CH_2), 1.77 (м, 5H, CH_2), 1.66 – 1.51 (м, 4H, CH_2), 1.48 (с, 6H, CH_3), 1.29 – 1.11 (м, 5H, CH_2), 0.99 (д, J = 11.6 Гц, 6H, CH_2).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{78}H_{93}N_7O_{24}$ [M+H$^+$]: 1512.6345, найдено: 1512.6311; m/z рассчитано для [M+Na$^+$]: 1534.6164, найдено: 1534.6104.

Синтез комплекса с Zn (II) конъюгата диметилового эфира 13^1 -(пропаргилкарбамоил)хлоринае6 с лигандом 31 ПСМА (70).

Смесь соединений **69** (33.7 мг; 0.048 ммоль) и **31** (26 мг; 0.053 ммоль) растворили в ДМФА (5 ml) с добавлением DIPEA (8 мкл, 0.048ммоль). К полученной смеси добавили йодид меди (I) (0.4 мг, 0.002 ммоль) полученную реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч. Окончание протекания реакции контролировали по ТСХ. Далее растворитель упарили при пониженном давлении, полученную маслянистую фракцию промыли ацетонитрилом (5 мл), далее смесью 1/1 ацетонитрил/вода (5 мл), а затем гексаном (5мл). Целевой продукт был получен в виде тёмно-зелеёного порошка, выход соединения **70** составил 59 мг (98%).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{62}H_{81}N_{11}O_{13}Zn$ [M+H$^+$]: 1252.5380, найдено: 1252.5350.

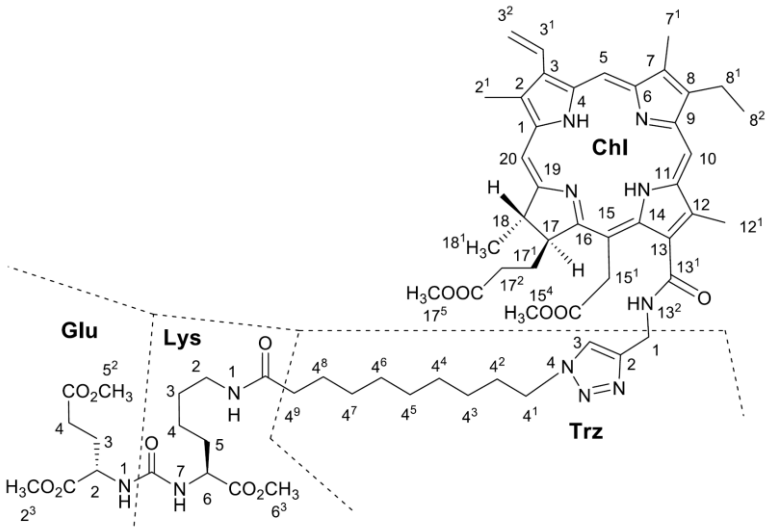
UV/vis (H_2O), lmax, nm (e, M-1 .sm-1): 432 (177000), 521 (6050), 598 (12100), 641 (85000).

Синтез конъюгата диметилового эфира 13^1 -(пропаргилкарбамоил)хлорина е6 с лигандом 31 ПСМА (71).

Соединение**70** (10 мг; 0.008 ммоль) растворили в 2 мл предварительно дегазированной смесиDMSOиTFA (10:1), далее реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут без доступа света. Далеереакционнуюсмесьразбавили 4 млводы, образовавшийсяосадокотделили и промыли 3 раза (2 мл) дегазированной деионизованной водой. Выход соединения **71**составил 8.5 мг (85%).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{62}H_{81}N_{11}O_{13}$ $[M+H^+]$: 1190.6245, найдено: 1190.6206.

Синтез метилового эфира конъюгата 71 (71a).



Соединение **71** (7 мг; 0.0063 ммоль) растворили в смесиCH_3OH/DCM (1ml; 1/1, v/v), к полученному раствору добавили тионил хлорид (7мкл, 0.103 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут, и далее разбавили 10 мл DCM. Полученныйрастворпромыли 5% растворомNaHCO$_3$ (2 × 20 ml). Очистку реакционной смеси проводили с помощью препаративной ТСХ, в гезультате было выделено 6 мгсоединения **71a** (83%).

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

9.71 (с, 1Н, 10-СН), 9.67 (с, 1Н, 5-СН), 8.85 (с, 1Н, 20-СН), 8.09 (дд, 1Н, J_1=17.9 Гц, J_2=11.7 Гц, 3^1-СН), 7.56 (уш с, 3Н, 13^3-CH_3), 6.36 (д, 1 Н, J=17.9 Гц, 3^{2a}-СН), 6.17 (д, 1Н, J=11.7 Гц, 3^{2b}-СН), 5.80 (д, 1Н, J=8.0 Гц, NH), 5.72 (д, 1Н, J=8.0 Гц, NH), 5.52 (д, 1Н, J=19.0 Гц, 15^{1a}-СН), 5.45 (д, 1Н, J=19.0 Гц, 15^{1b}-СН), 5.10 (дд, 1Н, J_1=15.0 Гц, J_2=5.2 Гц, CH_2-Triazole), 4.95(дд, 1Н, J_1=15.0 Гц, J_2=5.2 Гц, CH_2-Triazole), 4.48 (м, 1Н, 18-СН), 4.45 (м, 2Н, CH_2), 4.48 (т, 2Н, J=6.9 Гц, CH_2), 4.41 (м, 2Н, CH_2), 4.38 (м, 2Н, CH_2), 4.40 (м, 1Н, 17-СН), 3.71 (с, 2Н, 15^4-NH), 3.80 (кв, 2Н, J=7.7 Гц, 8^1-CH_2), 3.62 (с, 3Н, 17^5-CH_3), 3.59 (с, 3Н, CH_3),), 3.58 (м, 3Н, CH_3), 3.56 (с, 3Н, 12^1-CH_3), 3.50 (с, 3Н, 2^1-CH_3), 3.50 (с, 3Н, CH_3), 3.33 (с, 3Н, 7^1-CH_3), 2.59 (м, 2Н, CH_2), 2.53 (м, 1Н, 17^{2a}-СН), 2.31 (м, 2Н, CH_2), 2.31 (м, 1Н,17^{1a}-СН), 2.14

(м, 1H, 17^{2b}-CH), 2.05 (м, 2H, CH_2), 2.02 (м, 2H, CH_2), 1.98 (м, 2H, CH_2), 1.86 (м, 2H, CH_2), 1.85 (уш с, 1H, NH (хлорин)), 1.83 (м, 1H, 17^{1b}-CH), 1.83 (м, 2H, CH_2), 1.72 (д, 3H, J=7.5 Гц, 18^1-CH_3), 1.70 (уш с, 1H, NH (хлорин)), 1.70(кв, 3H, J=7.7 Гц, 8^2-CH_3), 1.57 (м, 2H, CH_2), 1.44 (м, 2H, CH_2), 1.27 (м, 10H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.78, 173.61, 173.52, 173.45, 173.38, 173.33, 169.31, 157.22, 144.45, 139.34, 135.94, 134.91, 130.54, 129.96, 129.30, 127.91, 122.07, 101.23, 98.77, 94.09, 70.57, 53.13, 52.61, 52.32, 52.30, 52.17, 52.02, 51.65, 51.63, 50.48, 49.28, 38.10, 36.28, 36.08, 31.55, 31.02, 30.94, 30.16, 30.06, 29.71, 29.63, 29.00, 28.87, 28.71, 28.46, 27.75, 26.26, 25.50, 23.06, 22.01, 19.68, 17.61, 14.13, 12.17.

Синтез комплекса с Zn (II) конъюгата диметилового эфира 15^2 -(пропаргилкарбамоил)хлорина е6 с лигандом 31 ПСМА (73).

Проведениереакциианалогичносинтезусоединения**70**. С использованием соединение **72** (34 мг; 0.051 ммоль) было получено57мгконъюгата **73** (89%).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{62}H_{81}N_{11}O_{13}Zn$ [M+H^+]: 1252.5380, найдено: 1252.5362.

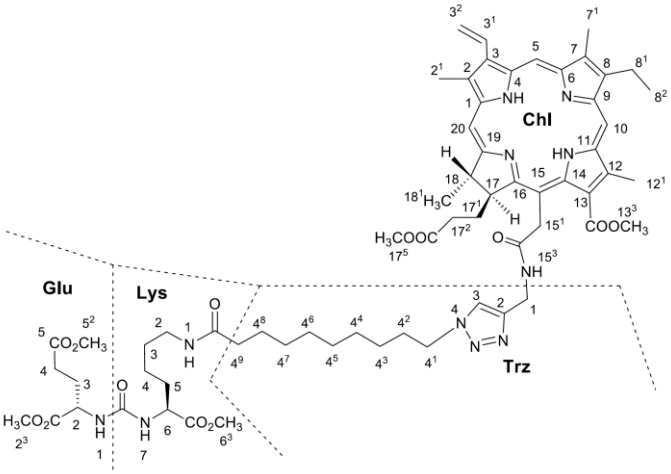
UV/vis (H2O), lmax, nm (e, M-1 .sm-1): 414 (171000), 519 (4200), 597 (11500), 632 (62000).

Синтез конъюгата диметилового эфира 15^2 -(пропаргилкарбамоил)хлорина е6 с лигандом 31 ПСМА (74).

Проведениереакциианалогичносинтезусоединения**71**. С использованием соединение **73** (18мг; 0.014ммоль) было15мгконъюгата **74** (89%).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{62}H_{81}N_{11}O_{13}$ [M+H^+]: 1190.6245, найдено: 1190.6214.

Синтез метилового эфира конъюгата 74 (74a).



Проведениереакциианалогичносинтезусоединения**71**а.С использованием соединение **74**(14 мг; 0.013 ммоль) было получено 11.9 мг соединения **74а** (85%).

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

9.71 (с, 1Н, 10-СН), 9.59 (с, 1Н, 5-СН), 8.75 (с, 1Н, 20-СН), 6.37 (д, 1 Н, J=17.9 Гц, 3^{2a}-СН), 8.06 (дд, 1Н, J_1=17.8 Гц, J_2=11.4 Гц, 3^{1}-СН), 6.34 (т, 2Н, J=5.7, 15^{3}-NH), 6.17 (д, 1Н, J=11.7 Гц, 3^{2b}-СН), 5.71 (д, 1Н, J=8.0 Гц, NH), 5.70 (д, 1Н, J=8.0 Гц, NH), 5.24 (д, 1Н, J=19.0 Гц, 15^{1a}-СН), 5.11 (д, 1Н, J=19.0 Гц, 15^{1b}-СН), 4.49 (м, 1Н, CH_2-Triazole), 4.47 (дд, 1Н, CH_2-Triazole), 4.41 (м, 2Н, CH_2), 4.40 (м, 2Н, CH_2), 4.39 (м, 1Н, 17-СН), 4.33 (м, 1Н, 18-СН), 4.33 (м, 2Н, CH_2), 4.22 (с, 3Н, 13^{3}-CH_3), 4.15 (т, 2Н, J=7.0 Гц, CH_2), 3.79 (кв, 2Н, J=7.7 Гц, 8^{1}-CH_2), 3.58 (с, 3Н, 17^{5}-CH_3), 3.56 (с, 3Н, CH_3), 3.55 (м, 3Н, CH_3), 3.53 (с, 3Н, CH_3), 3.51 (с, 3Н, 12^{1}-CH_3), 3.47 (с, 3Н, 2^{1}-CH_3), 3.33 (с, 3Н, 7^{1}-CH_3), 2.55 (м, 1Н, 17^{2a}-СН), 2.52 (м, 2Н, CH_2), 2.17 (м, 2Н, CH_2), 2.35 (м, 2Н, CH_2), 2.34 (м, 1Н,17^{1a}-СН), 2.08 (м, 2Н, CH_2), 2.05 (м, 2Н, CH_2), 1.89 (м, 1Н, 17^{1b}-СН), 1.73 (м, 2Н, CH_2), 1.73 (м, 2Н, CH_2), 1.60 (д, 3Н, J=7.4 Гц, 18^{1}-CH_3), 1.54 (м, 2Н, CH_2), 1.52 (уш с, 1Н, NH (хлорин)), 1.51 (м, 2Н, CH_2), 1.51 (кв, 3Н, J=7.7 Гц, 8^{2}-CH_3), 1.39 (уш с, 1Н, NH (хлорин)), 1.19 (м, 10Н, CH_2), 2.10 (м, 1Н, 17^{2b}-СН).

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.76, 173.61, 173.46, 173.39, 173.33, 172.55, 169.77, 169.42, 166.94, 157.21, 155.16, 149.11, 145.27, 144.81, 139.69, 136.27, 136.23, 135.57, 135.06, 134.82, 130.87, 129.35, 129.20, 123.63, 122.42, 122.15, 102.29, 101.53, 99.00, 93.79, 53.32, 52.81, 52.61, 52.34, 52.21, 52.06, 51.72, 51.69, 50.11, 49.12, 40.96, 38.39, 36.53, 35.39, 31.67, 31.19, 30.08, 29.98, 29.73, 29.62, 28.97, 28.94, 28.90, 28.66, 28.62, 27.78, 26.14, 25.58, 22.96, 22.11, 19.67, 17.75, 12.36, 12.18, 11.36.

Синтез (S)-ди-трет-бутил-2-(3-((S)-6-(бензиламино)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил) уреидо)пентадионата (75)

Из соединения **2** (400 мг, 0.823 ммоль), бензальдегида (87 мг, 0.823 ммоль) в 15 мл дихлорметана в присутствии добавили 261 мг (1.232 ммоль) триацетоксиборогидрида натрия было получено соединение **75** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 80 % (379 мг). (Раздел 4.2.4)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.44 (д, 2Н, ArH), 7.33 (м, 3Н, ArH), 6.60 (уш. с, 1Н, CH_2NH), 6.16 (д, 1Н, NH (мочевина)), 5.93 (д, 1Н, NHC(O)NH) 4.38 (дд, 1Н, CH,), 4.29 (дд, 1Н, CH), 4,00 (д, 2Н, CH_2Ar), 2.84-2.75 (м, 2Н, CH_2), 2.36- 2.29 (м, 2Н, CH_2), 2.07-2.03 (м, 1Н, CH_2), 1.84- 1.79 (м, 1Н, CH_2), 1.73-1.58 (м, 4Н, CH_2), 1.44-1.43 (м, 27Н, t-Bu), 1.25 (м, 2Н, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.96 (C(O)OCMe$_3$), 172.41 (C(O)OCMe$_3$), 172.29 (C(O)OCMe$_3$), 157.60 (NHC(O)NH), 132.56 (Ar), 131.80 (Ar), 131.09 (Ar), 128.93 (Ar), 127.90 (Ar), 81.76 (C(O)OCMe$_3$), 81.39 (C(O)OCMe$_3$), 80.36 (C(O)OCMe$_3$), 53.15 (CH), 52.69 (CH), 51.25 (CH_2NH), 46.18 (CH_2Ar), 31.66 (CH_2), 31.48 (CH_2), 28.41 (CH_2), 28.11 (C(O)OCMe$_3$), 28.08 (C(O)OCMe$_3$), 28.02 (C(O)OCMe$_3$), 26.25 (CH_2), 22.29 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{31}H_{51}N_3O_7$: m/z рассчитано для $[M+Na]^+$ 600.3619, найдено: 600.3616.

Синтез ди-*трет*-бутил 2-(3-(1-(*трет*-бутокси)-6-((3-хлоробензил)амино)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентанедиоата (76)

Из соединения **2** (28,774 г, 59.0 ммоль), *м*-хлорбензальдегида (8.293 г, 59.0 ммоль) в 400 мл дихлорметана в присутствии добавили 18,885 г (89.1 ммоль) триацетоксиборогидрида натрия было получено соединение **76** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 89 % (30.39 г). (Раздел 4.2.4)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.41 (с, 1Н, ArH), 7.25-7.32 (м, 3Н, ArH), 5.840 (д, 1Н, J=8.1 Гц, NH (мочевина)), 5.28 (д, 1Н, J=7.5 Гц, NH (мочевина)), 4.33 (м, 2Н, CH), 3.89 (с, 2Н, CH_2Ar), 2.63-2.80 (м, 2Н, CH_2), 2.23-2.40 (м, 2Н, CH_2), 2.02-2.10 (м, 1Н, CH_2), 1.67 -1.88 (м, 2Н, CH_2), 1.55-1,68 (м, 3Н, CH_2), 1.40-1.50 (м, 28Н, t-Bu+CH_2), 1.40-1.26 (м, 2Н, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.7 (C(O)OCMe$_3$), 172.4 (C(O)OCMe$_3$), 172.3 (C(O)OCMe$_3$), 157.33((C(O) мочевина), 134.5 (Ar), 130.0 (Ar), 129.4 (Ar), 128.4 (Ar), 127.4 (Ar), 81.9 (C(O)OCMe$_3$), 81.5 (C(O)OCMe$_3$), 80.4 (C(O)OCMe$_3$), 53.2 (CH), 52.8 (CH), 51.5 (CH_2Ar), 47.2 (CH_2), 32.0 (CH_2), 31.6 (CH_2), 28.5 (CH_2), 28.4 (C(O)OCMe$_3$) 28.1 (C(O)OCMe$_3$), 28.0 (C(O)OCMe$_3$), 27.4 (CH_2), 22.4 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{31}H_{50}ClN_3O_7$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$612.3410, найдено: 612.3417

Синтез ди-*трет*-бутил 2-(3-(1-(*трет*-бутокси)-6-((4-хлоро-2-фторбензил)амино)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентанедиоата (77)

Из соединения **2** (400 мг, 0.820 ммоль), *о*-фтор-*м*-хлорбензальдегида (130 мг, 0.820 ммоль) в 15 мл дихлорметана в присутствии добавили 261 мг (1.230 ммоль) триацетоксиборогидрида натрия было получено соединение **77** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 88 % (453 мг). (Раздел 4.2.4)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.40 (т, 1H, J1=8.1 Гц, ArH), 7.13 (дд, 1H, J_1=8.2 Гц, J_2=1.7 Гц, ArH), 7.09 (дд, 1H, J_1=9.7 Гц, J_2=1.8 Гц, ArH), 6.46 (уш. с, 1H, NH),5.59 (д, 1H, J=8.1 Гц, NH (мочевина)), 5.46 (д, 1H, J=7.0 Гц, NH(мочевина)), 4.32 (м, 2H, CH), 3.92 (с, 2H, CH_2Ar), 2.63-2.75 (м, 2H, CH_2), 2.23-2.40 (м, 2H, CH_2), 2.02-2.10 (м, 1H, CH_2), 1.67 -1.88 (м, 2H, CH_2), 1.51-1.68 (м, 3H, CH_2), 1.40-1.51 (м, 28H, t-Bu+CH_2), 1.40-1.22 (м, 3H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.6 (C(O)OCMe$_3$)172.44 (C(O)OCMe$_3$), 172.40 (C(O)OCMe$_3$), 157.2 ((C(O) мочевина), 132.00 (Ar), 131.95 (Ar), 124.79 (Ar), 124.76 (Ar), 116.3 (Ar), 116.1 (Ar), 81.9 (C(O)OCMe$_3$), 81.6 (C(O)OCMe$_3$), 80.4 (C(O)OCMe$_3$), 53.4 (CH), 53.3 (CH), 52.8 (CH_2Ar), 47.6 (CH_2), 45.1 (CH_2), 32.3 (CH_2), 31.6 (CH_2), 28.4 (CH_2), 28.1 (C(O)OCMe$_3$), 28.0 (C(O)OCMe$_3$), 22.6 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{31}H_{49}ClFN_3O_7$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 630.3316, найдено: 630.3323; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$: 652.3135, найдено: 652.3132

Синтез ди-*трет*-бутил 2-(3-(1-(*трет*-бутокси)-6-((4-хлоро-3-фторбензил)амино)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентанедиоата (78)

Из соединения **2** (400 мг, 0.820 ммоль), *м*-фтор- *п*-хлор бензальдегида (115 мг, 0.820 ммоль) в 15 мл дихлорметана в присутствии добавили 261 мг (1.230 ммоль) триацетоксиборогидрида натрия было получено соединение **78** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 90 % (467мг). (Раздел 4.2.4)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.36 (т, 1H, J_1=7.8 Гц, ArH), 7.26 (дд, 1H, J_1=9.5 Гц, J_2=1.6 Гц, ArH), 7.14 (дд, 1H, J_1=8.2 Гц, J_2=1.0 Гц, ArH), 7.05-7,20 (уш. с, 1H, NH), 5.77 (д, 1H, J=8.1 Гц, NH (мочевина)), 5.57 (д, 1H, J=7.2 Гц, NH(мочевина)), 4.33 (м, 2H, NHCH), 3.91 (с, 2H, CH_2Ar), 2.63-2.78 (м, 2H, CH_2), 2.23-2.40 (м, 2H, CH_2), 2.03-2.11 (м, 1H, CH_2), 1.67 -1.88 (м, 2H, CH_2), 1.51-1.68 (м, 3H, CH_2), 1.40-1.51 (м, 28H, t-Bu+CH_2), 1.40-1.22 (м, 3H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.7 (C(O)OCMe$_3$), 172.37 (C(O)OCMe$_3$), 172.34 (C(O)OCMe$_3$), 157.3 ((C(O) мочевина), 130.8 (Ar), 125.64 (Ar), 125.60 (Ar), 124.76 (Ar), 117.5 (Ar), 117.3 (Ar), 81.9 (C(O)OCMe$_3$), 81.6 (C(O)OCMe$_3$), 80.4 (C(O)OCMe$_3$), 53.4 (CH), 53.2 (CH), 52.8 (CH_2Ar), 51.0 (CH_2), 47.2 (CH_2), 32.0 (CH_2), 31.6 (CH_2), 28.4 (C(O)OCMe$_3$), 28.1 (C(O)OCMe$_3$), 28.0 (C(O)OCMe$_3$), 27.3 (CH_2), 23.0 (CH_2) 22.4 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{31}H_{49}ClFN_3O_7$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 630.3316, найдено: 630.3324; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$: 652.3135, найдено: 652.3133; m/z рассчитано для $[M+K]^+$: 668.2875, найдено: 668.2875

Синтез (14S, 18S)-три-трет-бутил-9-бензил-3,8,16-триоксо-1-фенил-2-окса-4,9,15,17-тетраазаикосан-14,18,10-трикарбоксилата (79)

Из соединения **75** (366 мг, 0.567 ммоль), 4-Z-аминобутановой кислоты (201 мг, 0.850 ммоль), DIPEA (307 мкл, 1,792 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 463 мг (0,894 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **79** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 25 % (86 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.02-7.99 (м, 1H, ArH); 7.68-7.66 (м, 2H, ArH); 7.33 (т, 5H, Ar); 7.12 (д, 2H, ArH); 4.50-4.48 (м, 2H, NH (мочевина)); 4.36-4.32 (м, 2H, CH); 3.49-3.47 (м, 2H, CH_2); 2.34-2.32 (м, 4H, CH_2); 1.90-1.52 (м, 12H, CH_2) 1.43 (с, 27H, t-Bu), 1.40-1.26 (м, 2H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

167.4(C(O)$OCMe_3$), 166.8 (амид), 152.2 ((C(O) мочевина), 151.5((NHC(O)O), 132.3 (Ar), 131.5 (Ar), 131.2 (Ar), 123.8 (Ar), 123.4 (Ar), 123.3 (Ar), 123.2 (Ar), 122.9 (Ar), 122.8 (Ar), 122.7 (Ar), 122.5 (Ar), 122.1 (Ar), 120.9 (Ar), 76.8 (CH_2Ar), 61.3 (CH_2Ar), 55.2 (CH_2), 48.5 (CH_2), 47.6 (CH_2), 45.8 (CH_2), 40.2 (CH_2), 25.1 (CH_2), 23.4 (CH_2), 23.0 (CH_2), 21.2 (CH_2), 16.9 (CH_2), 15.8 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{43}H_{64}N_4O_{10}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 799.4762, найдено: 799.4732; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$: 820.4548, найдено: 820.4507.

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(6-азидо-N-бензилгексанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогесан-2-ил)уреидо)пентадионат (80)

Из соединения **75** (379 мг, 0.655 ммоль), 6-азидогексановой кислоты (154 мг, 0.984 ммоль), DIPEA (337 мкл, 1,964 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 512 мг (0,984 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **80** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 30 % (247 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.35 (д ,1H, ArH), 7.30-7.29 (м, 1H, ArH), 7.15-7.14 (м, 3H, ArH), 4.58 (д, 1H, NH (мочевина)), 4.52 (д, 1H, NH (мочевина)), 4.34-4.32 (м, 2H, CH,), 3.35-3.29 (м, 1H, CH_2), 3.23-3.20 (м, 3H, CH_2N_3), 3.15 (т, 1H, CH_2NR_2), 2.33 (м, 4H, CH_2C(O)Ot-Bu), 1,85- 1,65 (м, 6H, CH_2), 1,58-1,53 (м, 4H, CH_2), 1.44-1.42 (м, 27H, t-Bu), 1.37-1.30 (м, 4H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

176.45 (C(O)NR_2), 172.47 (C(O)NR_2), 172.44 (C(O)$OCMe_3$), 172.28 (C(O)$OCMe_3$), 172.11 (C(O)$OCMe_3$), 171.65 (C(O)$OCMe_3$), 170.86 (C(O)$OCMe_3$), 157.20 (NHC(O)NH), 156.92 (NHC(O)NH), 137.52 (Ar), 135.40 (Ar), 136.56 (Ar), 132.98 (Ar), 128.92 (Ar), 128.52 (Ar),

127.97 (Ar), 127.59 (Ar), 127.27 (Ar), 126.21 (Ar), 81.95 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 81.82 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 81.69 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 81.39 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 80.52 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 80.40 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 53.46 (CH), 53.12 (CH), 53.15 (CH), 52.96 (CH), 52.83 (CH_2NR_2), 51.94 (CH_2NR_2), 48.15 (CH_2Ar), 47.79 (CH_2Ar), 45.41 (CH_2N_3), 32.99 (CH_2), 31.94 (CH_2), 31.58 (CH_2), 28.50 (C(O)OC<u>Me</u>$_3$), 28.40 (C(O)OC<u>Me</u>$_3$), 27.85 (C(O)OC<u>Me</u>$_3$), 22.45 (CH_2), 22.40 (CH_2), 21.71 (CH_2), 21.33 (CH_2), 21.05 (CH_2).

ESI-LCMS для $C_{37}H_{60}N_6O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$717.25, найдено: 717.40.

Синтез ди-*трет*-бутил-2-(3-(6-(11-азидо-N-(4-хлоробензил)гексанамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентандиоата (81)

Из соединения **76** (30,390 г, 49.72 ммоль), 6-азидогексановой кислоты (8.154 г, 51.8 ммоль), DIPEA (17.022 мл, 99.44 ммоль) в 250 мл диметилформамида добавили 31,046 г (59,66 ммоль) реагента PyBOP, в результате было получено соединение **81** в виде желтоватого маслянистого вещества, с выходом 73 % (39.496 г). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.30 (д, *J* = 8.4 Гц, 1H, ArH), 7.25 – 7.21 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H, ArH), 7.13 (д, *J* = 8.4 Гц, 1H), 7.06 (д, *J* = 8.3 Гц, 1H, ArH), 5.44 (с, 1H, NH (мочевина)), 5.20 (с, 1H, NH (мочевина)), 4.48 (с, 2H, CH_2Ar), 4.27 (м, 2H, CH), 3.32 – 3.19 (м, 3H, CH_2NR_2+CH_2N_3), 3.11 (т, *J* = 7.8 Гц, 1H, CH_2NR_2), 2.30 (м, 4H, $CH_2C(O)OCMe_3$, $CH_2C(O)NR_2$), 2.08 – 1.99 (м, 1H, C<u>H</u>$_2$CH), 1.87 – 1.47 (м, 10H, CH_2), 1.46 – 1.17 (м, 30H, t-Bu+CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

176.45 (<u>C</u>(O)NR_2), 173.30 (<u>C</u>(O)NR_2), 172.78 (<u>C</u>(O)OCMe_3), 172.41 (<u>C</u>(O)OCMe_3), 172.30 (<u>C</u>(O)OCMe_3), 172.16 (<u>C</u>(O)OCMe_3), 157.11 (NH<u>C</u>(O)NH), 156.90 (NH<u>C</u>(O)NH), 136.45 (Ar), 135.40 (Ar), 133.37 (Ar), 132.98 (Ar), 129.37 (Ar), 129.08 (Ar), 128.64 (Ar), 127.52 (Ar), 82.10 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 81.98 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 81.81 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 81.53 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 80.57 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 80.44 (C(O)O<u>C</u>Me$_3$), 53.41 (CH), 53.12 (CH), 53.00 (CH), 52.82 (CH), 51.27 (CH_2NR_2), 51.25 (CH_2NR_2), 47.77 (CH_2Ar), 47.08 (CH_2Ar), 45.77 (CH_2N_3), 33.75 (CH_2), 33.07 (CH_2), 33.03 (CH_2), 32.75 (CH_2), 31.97 (CH_2), 31.58 (CH_2), 31.56 (CH_2), 28.77 (CH_2), 28.68 (CH_2), 28.57 (CH_2), 28.40 (CH_2), 28.17 (CH_2), 28.07 (C(O)OC<u>Me</u>$_3$), 28.01 (C(O)OC<u>Me</u>$_3$), 27.98 (C(O)OC<u>Me</u>$_3$), 26.69 (CH_2), 26.55 (CH_2), 26.45 (CH_2), 26.22 (CH_2), 24.90 (CH_2), 24.72 (CH_2), 24.34 (CH_2), 22.49 (CH_2), 22.42 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{37}H_{60}N_6O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 751.4156, найдено: 751.4157.

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(6-азидо-N-(4-хлор-2-фторбензил)гексанамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогесан-2-ил)уреидо)пентадионата (82)

Из соединения **77** (453 мг; 0.719 ммоль), 6-азидогексановой кислоты (180 мг; 1.148 ммоль), DIPEA (226 мкл; 1.078 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 448 мг (0.861 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **82** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 52 % (82 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.21-2.76 (м,1Н, Ar), 7.00-7.17 (м, 2Н, Ar), 4.56 (с, 1Н, CH_2Ar), 4.50 (с, 1Н, CH_2Ar), 4.23-4.37 (м, 2Н, CH), 3.22-3.35(м, 3Н, CH_2), 3.13-3.22 (т,1Н, J=7.8 Гц, CH_2), 2.18-2.40 (м, 5Н, CH_2), 2.00-2.13 (м, 1Н, CH_2), 1.49 -1.90 (м, 10Н, CH_2), 1.37-1.48 (м, 30Н, t-Bu+CH_2), 1.27-1.37 (м, 3Н, CH_2);

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.23 (C(O)N), 172.91 (C(O)$OCMe_3$), 172.54 (C(O)$OCMe_3$), 172.24 (C(O)$OCMe_3$), 172.15 (C(O)$OCMe_3$), 172.0 (C(O)$OCMe_3$), 157.07 ((C(O) мочевина), 156.84 ((C(O) мочевина), 131.43 (Ar), 132.38 (Ar), 130.9 (Ar), 130.8 (Ar), 128.50 (Ar), 128.46 (Ar), 124.95 (Ar), 124.91 (Ar), 124.77 (Ar), 124.77 (Ar), 116.1 (Ar), 115.8 (Ar), 82.26 ($C(CH_3)_3$), 82.05 (C(O)OCMe_3), 81.98 (C(O)OCMe_3), 81.65 (C(O)OCMe_3), 80.61 (C(O)OCMe_3), 80.54 (C(O)OCMe_3), 60.47 (CH), 53.56 (CH), 53.25 (CH), 53.03 (CH), 52.89 (CH_2), 51.36 (CH_2), 47.64 (CH2), 45.73 (CH_2), 45.05 (CH_2), 41.63 (CH_2), 33.15 (CH_2), 32.87 (CH_2), 32.75 (CH_2), 31.96 (CH_2), 31.56 (CH_2), 31.53 (CH_2), 28.80 (CH_2), 28.75 (CH_2), 28.63 (CH_2), 28.45 (CH_2), 28.91 (C(O)OCMe_3), 28.15 (C(O)OCMe_3), 27.99 (C(O)OCMe_3), 26.66 (CH_2), 26.57 (CH_2), 26.44 (CH_2), 24.83 (CH_2), 24.65 (CH_2), 22.55 (CH_2), 22.46 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{37}H_{58}N_6O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$769.4061, найдено: 769.4065; m/z рассчитано для $[M+K]^+$807.3620, найдено: 807.3616

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(6-азидо-N-(4-хлор-3-фторбензил)гексанамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогесан-2-ил)уреидо)пентадионата (83)

Из соединения **78** (362 мг; 0.574 ммоль), 6-азидогексановой кислоты (135 мг; 0.861 ммоль), DIPEA (200 мкл; 1.148 ммоль) в 10 мл диметилформамида в присутствии добавили 448 мг (0.861 ммоль) реагента PyBOP было получено соединение **83** в виде бесцветного маслянистого вещества, с выходом 64 % (284 мг). (Раздел 4.2.5)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.39-7.31 (м, 1Н, ArH), 7.04 (д, *J* = 9.84 Гц, 1Н, ArH), 6.97 (д, *J* = 8.93 Гц, 1Н, ArH), 5.43 (уш. с, 1Н, NH (мочевина)), 5.08 (уш.с, 1Н, NH(мочевина)), 4.53-4.49 (м, 2Н, CH_2Ar), 4.32-4.29 (м, 2Н, CH, CH), 3.35-3.24 (м, 4Н, CH_2N_3) 2.40-2.27 (м, 5Н, $CH_2C(O)OCMe_3$, $CH_2C(O)NR_2$), 1.87-1.55 (м, 14Н, CH_2CH), 1.46-1.43 (м, 27Н, t-Bu), 1.39-1.24 (м, 4Н, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.22 (C(O)NR_2), 172.83 (C(O)$OCMe_3$), 172.47 (C(O)$OCMe_3$), 172.32 (C(O)$OCMe_3$), 172.21 (C(O)$OCMe_3$), 172.08 (C(O)$OCMe_3$), 157.06 (NHC(O)NH), 156.85 (NHC(O)), 139.10 (Ar), 139.05 (Ar), 131.15 (Ar), 130.57 (Ar), 124.24 (Ar), 124.24 (Ar), 122.38 (Ar), 116.12 (Ar), 115.92 (Ar), 80.51 (C(O)OCMe_3), 82.08 (C(O)OCMe_3), 81.91 (C(O)OCMe_3), 81.65 (C(O)OCMe_3), 80.62 (C(O)OCMe_3), 80.44 (C(O)OCMe_3), 53.45 (CH), 53.39 (CH), 53.09 (CH), 53.04 (CH), 51.27 (CH_2NR_2), 51.24 (CH_2NR_2), 47.71 (CH_2Ar), 47.33 (CH_2Ar), 45.85 (CH_2N_3), 33.65 (CH_2), 33.07 (CH_2), 33.00 (CH_2), 32.69 (CH_2), 31.98 (CH_2), 31.55 (CH_2), 28.77 (CH_2), 28.69 (CH_2), 28.56 (CH_2), 28.53 (CH_2), 28.34 (CH_2), 28.18 (CH_2), 28.06 (C(O)OCMe_3), 28.00 (C(O)OCMe_3), 27.97 (C(O)OCMe_3), 26.65 (CH_2), 26.54 (CH_2), 26.44 (CH_2), 26.21 (CH_2), 24.84 (CH_2), 24.66 (CH_2), 24.31 (CH_2), 22.45 (CH_2), 22.38 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{37}H_{58}ClFN_6O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 770.4095, найдено: 770.4094; m/z рассчитано для $[M+K]^+$ 839.3591, найдено: 839.3594.

Синтез (R)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(4-азидо-N-бензилгексанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогесан-2-ил)уреидо)пентадионата (84)

Соединение **52** 120 мг (0.181 ммоль) растворили в 20 мл метанола, добавили 12 мг палладия на активированном угле. Реакция проводилась в атмосфере водорода. Контроль окончания реакции проводился с помощью тонкослойной хроматографии. Далее полученная реакционная смесь была отфильтрована через диатомитовый порошок Kiselgur. Растворитель был удален при пониженном давлении. Получили 68 мг (70%) продукта **57** в виде прозрачного маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.37-7.34 (м, 2H, Ar), 7.21 (м, 1H, Ar), 7.05 (д, J = 7.1 Гц, 2H, Ar), 6.27-6.23 (м, 2H, NH (мочевина)), 4.42-4.38 (м, 2H, CH), 3.37-3.30 (м, 2H, CH_2), 3.06-3.00 (м, 2H, CH_2), 2.35-2.27 (м, 4H, CH_2), 2.15-2.10 (м, 1H, CH_2), 1.89-1.72 (м, 3H, CH_2), 1.69-1.55 (м, 4H, CH_2), 1.50-1.43 (м, 4H, CH_2), 1.39 (с, 29H, t-Bu+CH_2), 1.35-1.21 (м, 2H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

176.9 (C(O)NR_2), 175.1 (C(O)$OCMe_3$), 166.9 (C(O)$OCMe_3$), 156.6 (C(O)$OCMe_3$), 153.7 (NHC(O)NH), 138.8 (Ar), 131.7 (Ar), 128.5 (Ar), 128.1 (Ar), 125.7 (Ar), 111.7 (Ar), 107.2 (Ar), 89.7 (CH_2Ar), 81.6(C(O)OCMe_3), 80.1(C(O)OCMe_3), 77.5(C(O)OCMe_3), 52.8 (CH_2), 41.5(CH_2), 41.1(CH_2), 27.6(C(O)OCMe_3), 25.9(C(O)OCMe_3), 22.2(CH_2), 20.0(CH_2), 17.0(CH_2), 15.5(CH_2), 13.9(CH_2).

ESI-HRMS для $C_{35}H_{57}N_4O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$663.4316, найдено: 663.4358

Синтез (S)-ди-трет-бутил 2-(3-((S)-6-(6-амино-N-бензилгексанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентанедиоата (85)

К раствору соединения **53** (161 мг, 0.187 ммоль) в 10 мл метаноле добавили 21 мг 10% Pd/C в 400 мкл воды. Реакция проводилась в атмосфере водорода. Контроль окончания реакции проводился с помощью тонкослойной хроматографии. Далее полученная реакционная смесь была отфильтрована через диатомитовый порошок Kiselgur. Растворитель был удален при пониженном давлении. Получили 96 мг (71%) продукта **58** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.34-7.30 (м, 2H, Ar), 7.16 (д, J = 7.1 Гц, 1H, Ar), 7.10 (д, J = 7.2 Гц, 2H, Ar), 6.27-6.11 (м, 2H, NH (мочевина)), 4.62-4.44 (м, 2H, CH), 3.37-3.14 (м, 2H, CH_2), 3.06-2.99 (м, 2H, CH_2), 2.39-2.29 (м, 4H, CH_2), 2.10-2.02 (м, 1H, CH_2), 1.88-1.81 (м, 3H, CH_2), 1.73-1.51 (м, 4H, CH_2), 1.55-1.48 (м, 4H, CH_2), 1.40 (с, 29H, t-Bu+CH_2), 1.31-1.21 (м, 2H, CH_2)

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.85 (C(O)OCMe$_3$), 172.61 (C(O)OCMe$_3$), 172.50 (C(O)OCMe$_3$), 157.63 ((C(O) мочевина), 156.50 ((C(O) мочевина), 137.37 (Ar), 136.37 (Ar), 128.88 (Ar), 128.51 (Ar), 127.76 (Ar), 126.19 (Ar), 77.41 (C(O)OCMe$_3$), 77.09 (C(O)OCMe$_3$), 76.78 (C(O)OCMe$_3$), 53.50 (CH), 53.42 (CH), 53.41 (CH_2), 52.93 (CH_2), 50.91 (CH2), 39.83 (CH_2), 39.63 (CH_2Ar), 32.44 (CH_2NH_2), 32.29 (CH_2), 31.73 (CH_2), 31.69 (CH_2), 28.27 (CH_2), 28.15 (CH_2), 28.02 (C(O)OCMe$_3$), 27.98 (C(O)OCMe$_3$), 27.95 (C(O)OCMe$_3$), 26.77 (CH_2), 25.81 (CH_2), 25.69 (CH_2), 24.39 (CH_2), 24.09 (CH_2), 22.46 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{43}H_{62}N_4O_{10}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 691.4640, найдено: 691.4646

4.2.7 Общая методика проведение реакции Штаудингера.

К раствору соединения азида (1 моль) в смеси ТГФ/вода (5/1) было добавлено (2 моль) Ph_3P, полученную смесь перемешивали 6 часов при температуре 60 ^{o}C. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Дальнейшую очистку проводили с помощью колоночной хроматографии с элюентом метилен (1% триэтиламин) : метанол (Puriflash 50μ 25g от 2 до 15% метанола в течение 20 минут, от 15% до 100% метанола за 10 минут).

Синтез (S)-Ди-трет-бутил 2-(3-((S)-6-(6-амино-N-(4-хлоробензил)гексанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентанедиоат (86)

Из соединения **44** (526 мг, 0.700 ммоль) в 25 мл смеси ТГФ/вода (5/1) в присутствии (368 мг 1.402 ммоль) Ph_3P, было получено соединение **86** в виде желтоватого маслянистого вещества с выходом 93 % (471 мг). (Раздел 4.2.7)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.31 (д, J = 8.3 Гц, 1H, Ar), 7.25 (д, J = 8.3 Гц, 1H, Ar), 7.15 (д, J = 8.3 Гц, 1H, Ar), 7.08 (д, J = 8.3 Гц, 1H, Ar), 5.70-5.78 (м, 1H, NH (мочевина)), 5.59 (дд, J = 16 Гц, 1H, NH (мочевина)), 4.46-4.53 (м, 2H, CH_2Ar), 4.24-4.31 (м, 2H, CH), 3.23-3.41 (м, 1H, CH_2), 3.12 (м, 4H, CH_2), 2.74-2.81 (м, 2H, CH_2), 2.35-2.40 (м, 1H, CH_2), 2.22-2.32 (м, 3H, CH_2), 2.03-2.06 (м, 1H, CH_2), 1.81-1.88 (м, 1H, CH_2), 1.63-1.73 (м, 3H, CH_2), 1.47-1.58 (м, 5H, CH_2), 1.41-1.43 (с, 27H, t-Bu), 1.30-1.37 (м, 3H, CH_2), 1.24-1.27 (м, 2H, CH_2).

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.63 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 173.03 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.70 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.60 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.53 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.47 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.36 (C(O)N), 157.21(C(O) мочевина), 157.05 (C(O) мочевина), 136.45 (Ar), 135.42 (Ar), 133.33 (Ar), 132.98 (Ar), 129.36 (Ar), 129.07 (Ar), 128.65 (Ar), 127.58 (Ar), 81.99, 81.86 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 81.77 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 81.49 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 80.64 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 80.49 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 53.40 (CH), 53.19 (CH), 52.99 (CH), 52.87 (CH), 50.39 (CH_2), 47.57 (CH_2), 46.93 (CH_2), 45.50 (CH_2), 41.35 (CH_2), 41.24 (CH_2), 32.90 (CH_2), 32.81 (CH_2), 32.67 (CH_2), 31.88 (CH_2), 31.69, 31.58 (CH_2), 28.39 (CH_2),, 28.33 (CH_2), 28.20 (CH_2), 28.07 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 28.02 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 27.99 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 26.79 (CH_2), 26.35 (CH_2), 26.22 (CH_2), 24.87 (CH_2), 24.60 (CH_2), 22.41 (CH_2).

ESI-LCMS для $C_{37}H_{61}ClN_4O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 725.43, найдено: 725.40.

Синтез (S)-Ди-трет-бутокси 2-(3-((S)-6-(6-амино-N-(4-бромобензил)гексанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо)пентанедиоата (87)

Из соединения **45** (128 мг, 0.167 ммоль) в 11 мл смеси ТГФ/вода (5/1) в присутствии (88 мг 0.333 ммоль) Ph_3P, было получено соединение **87** в виде желтоватого маслянистого вещества с выходом 43 % (55 мг). (Раздел 4.2.7)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.43 (д,J = 8.4 Гц, 1H, Ph), 7.37 (д,J = 8.3 Гц, 1H, Ph), 7.06 (д,J = 8.2 Гц, 1H, Ph), 7.00 (д,J = 8.4 Гц, 1H, Ph), 6.21-6.24 (м, 1H, NH), 6.18 (д,J = 8.4 Гц, 1H, NH), 4.41-4.51 (м, 2H, CH_2), 4.20-4.27 (м, 2H, CH), 3.34-3.39 (м, 1H, CH_2), 3.17-3.28 (м, 1H, CH_2), 2.50 (bs, 2H, NH_2), 2.33-2.42 (м, 1H, CH_2), 2.24-2.32 (м, 3H, CH_2), 1.97-2.04 (м, 1H, CH_2), 1.78-1.85 (м, 3H, CH_2), 1.66-1.71 (м, 2H, CH_2), 1.58-1.64 (м, 2H, CH_2), 1.44-1.55 (м, 4H, CH_2), 1.42-1.43 (м, 2H, CH_2), 1.38-1.39 (с, 29H, t-Bu+CH_2), 1.24-1.31 (м, 2H, CH_2).

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.57 (C(O)N), 173.02 (C(O)O(t-Bu)), 172.90, 172.82 (C(O)O(t-Bu)), 172.63, 172.51 (C(O)O(t-Bu)), 157.96 (C(O) urea), 136.87, 135.86 (C(Ph)), 131.98, 132.59 (C(Ph)), 129.63, 128.02 (C(Ph)), 121.30, 121.00 (C(Ph)), 81.82, 81.71 ($OC(CH_3)_3$), 81.47, 81.33 ($OC(CH_3)_3$), 80.57, 80.45 ($OC(CH_3)_3$), 53.45, 53.36 (CH), 52.95 (CH), 50.36 (CH_2), 47.59 (CH_2), 46.90

(CH_2), 45.50 (CH_2), 39.71, 39.44 (CH_2), 32.41, 32.27 (CH_2), 32.02 (CH_2), 31.83 (CH_2), 29.61 (CH_2), 28.31, 28.13 (CH_2), 27.04 (CH_2), 26.62 (CH_3(t-Bu)), 26.48 (CH_3(t-Bu)), 25.75 (CH_3(t-Bu)), 25.33 (CH_2), 24.12 (CH_2), 23.65 (CH_2), 22.45 (CH_2).

ESI-LCMS для $C_{37}H_{61}BrN_4O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 769.37, найдено: 769.30.

Синтез (S)-ди-*трет*-бутил-2-(3-((S)-6-(6-амино-N-(3-хлорбензил)гексанамидо)-1-(*трет*-бутокси)-1-оксогесан-2-ил)уреидо)пентадионата (88)

Из соединения **81** (28.661 г, 38.146 ммоль) в 20 мл смеси ТГФ/вода (5/1) в присутствии (20,011 г 76.293 ммоль) Ph_3P, было получено соединение **88** в виде желтоватого маслянистого вещества с выходом 91 % (25.261 г). (Раздел 4.2.7)

Спектр ЯМР^{1}Н(400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.28 (м, 1H, ArH), 7.21 (д, 2H, ArH), 7.13 (м, 1H, ArH), 5.68 (уш. с, 1H, NH (мочевина)), 5.49 (уш.с, 1H, NH(мочевина)), 4.58-4.48 (м, 2H, CH_2Ar), 4.31 (м, 2H, CH), 3.46-3.17 (м, 2H, CH_2) 2.76-2.73 (м, 2H, CH_2NH_2), 2.64-2.59 (м, 6H, $C\underline{H_2}C(O)OCMe_3$), 2.31 (уш. с, 1H, $CH_2C(O)NR_2$), 1.71 (м, 8H, $C\underline{H_2}CH$), 1.43-1.42 (м, 27H, t-Bu), 1.10-1.06 (м,10H, CH_2).

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.61 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 173.03 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.49 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.60 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 172.36 (C(O)N), 157.05(C(O) мочевина), 156.83 (C(O) мочевина), 139.20 (Ar), 130.21 (Ar), 129.80 (Ar), 127.86 (Ar), 127.86 (Ar), 127.77 (Ar), 127.40 (Ar), 126.31 (Ar), 126.05 (Ar), 124,28 (Ar), 82.02 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 81.77 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 81.49 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 80.60 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 80.49 ($C(O)O\underline{C}Me_3$), 53.39 (CH), 53.17 (CH), 53.02 (CH), 52.85 (CH), 50.49 (CH_2Ar), 47.70 (CH_2), 47.05 (CH_2), 46.22 (CH_2), 45.56 (CH_2), 41.93 (CH_2), 41.81 (CH_2), 33.07 (CH_2), 33.03 (CH_2), 32.98 (CH_2), 32.93 (CH_2), 32.07 (CH_2), 31.90 (CH_2), 31.67 (CH_2), 31.38 (CH_2), 28.51 (CH_2), 28.26 (CH_2), 28.08 ($C(O)OC\underline{Me}_3$), 28.03 ($C(O)OC\underline{Me}_3$), 28.00 ($C(O)OC\underline{Me}_3$), 26.70 (CH_2), 26.55 (CH_2), 25.09 (CH_2), 24.87 (CH_2), 22.41 (CH_2), 22.32 (CH_2).

ESI-LCMS для $C_{37}H_{61}ClN_4O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 725.43, найдено: 725.40.

Синтез (S)-ди-трет-бутил 2-(3-((S)-6-(6-амино-N-(4-хлор-2-фторбензил) гексанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо) пентадиоата(89)

Из соединения **82** (139 мг, 0.181 ммоль) в 11 мл смеси ТГФ/вода (5/1) в присутствии (95 мг, 0.362 ммоль) Ph_3P, было получено соединение **89** в виде желтоватого маслянистого вещества с выходом 64 % (86 мг). (Раздел 4.2.7)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.23 (т, 1H, J=8.3 Гц, Ar), 7.15-6.97 (м, 2H, Ar), 5.72-5.42 (м, 2H, NH (мочевина)), 4.60-4.45 (м, 2H, $\underline{CH_2}Ar$), 4.36-4.22 (м, 2H, CH), 3.41-3.22 (м, 1H, CH_2), 3.22-3.11 (м, 1H, CH_2), 2.78-

2.68 (м, 2H, CH_2), 2.49-2.20 (м, 7H, CH_2+NH_2), 2.11 -1.99 (м, 1H, CH_2), 1.89-1.47 (м, 9H, CH_2), 1.47-1.36 (м, 29H, t-Bu+CH_2), 1.36-1.20 (м, 2H, CH_2)

ESI-HRMS для $C_{37}H_{60}ClFN_4O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 743.4156, найдено: 743.4188.

Синтез (S)-Ди-трет-бутил 2-(3-((S)-6-(6-амино-N-(4-хлоро-3-фторбензил) гексанамидо)-1-(трет-бутокси)-1-оксогексан-2-ил)уреидо) пентанедиоата (90)

Из соединения **83** (227 мг, 0.306 ммоль) в 15 мл смеси ТГФ/вода (5/1) в присутствии (161 мг 0.611 ммоль) Ph_3P, было получено соединение **89** в виде желтоватого маслянистого вещества с выходом 61 % (138 мг). (Раздел 4.2.7)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.43-7.44 (м, 1H, Ar), 7.42-7.43 (м, 1H, Ar), 7.40-7.41 (м, 1H, Ar), 6.31 (д, J = 8 Гц, 1H, NH), 6.22-6.25 (м, 1H, NH (мочевина)), 4.21-4.26 (м, 2H, CH), 3.18 (т, J = 7.1 Гц, 1H, CH_2), 3.03 (т, J = 7.7 Гц, 2H, CH_2), 2.90 (уш. с, 2H, NH_2), 2.59-2.65 (м, 2H, CH_2), 2.27 (т,J = 7.4 Гц, 1H, CH_2), 2.14-2.22 (м, 3H, CH_2), 1.91-1.95 (м, 1H, CH_2), 1.65-1.70 (м, 1H, CH_2), 1.57-1.64 (м, 2H, CH_2), 1.52-1.55 (м, 1H, CH_2), 1.40-1.47 (м, 4H, CH_2), 1.35-1.38 (м, 1H, CH_2), 1.30-1.32 (с, 27H, t-Bu), 1.16-1.24 (м, 3H, CH_2)

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.57 (C(O)N), 173.18 ($\underline{C}$(O)OCMe$_3$), 172.58 ($\underline{C}$(O)OCMe$_3$), 172.45 ($\underline{C}$(O)OCMe$_3$), 157.21 (C(O) мочевина), 131.09, 130.54 (Ar), 124.21 (Ar), 122.51 (Ar), 116.02 (Ar), 115.88 (Ar), 81.90 (Ar), 81.77 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 81.49 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 80.61 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 80.50 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 67.04 (CH), 53.31, 53.14 (CH), 52.94, 52.85 (CH), 50.09 (CH_2), 47.52 (CH_2), 47.21 (CH_2), 45.63 (CH_2), 41.07 (CH_2), 32.70, 32.58 (CH_2), 32.01 (CH_2), 31.69 (CH_2), 30.94 (CH_2), 28.29 (CH_2), 28.03 (C(O)OC$\underline{Me}_3$)), 27.99 (C(O)OC$\underline{Me}_3$)27.96 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 26.78 (CH_2), 26.25 (CH_2), 26.14 (CH_2), 24.76 (CH_2), 24.55 (CH_2), 22.40 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{37}H_{60}ClFN_4O_8$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 743.4156, найдено: 743.4196.

(S)-2-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-фенилпропанамидо)-3-фенилпропановая кислоты (91)

К раствору (300 мг, 0.960 ммоль) дипептида L-фенилаланин-L-фениаланин в 40 мл смеси диоксан/вода (3/1) было добавлено (252 мг, 1.108 ммоль) Boc_2O и 242 мг (2,880 ммоль) $NaHCO_3$, полученную смесь перемешивали в течение 6 часов. Далее реакционную смесь упаривали и растворяли в 50 мл EtOAc и промывали раствором 0.1MHCl (pH=1).

Полученную органическую фракцию сушили над Na_2SO_4 и упаривали при пониженном давлении. Получили 392 мг (99%) продукта **91** в виде бесцветного маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.48 (д, 1Н, J=6.4 Гц, NH), 7.07-7,27 (м, 12Н, Ar+NH), 3.94-4.07 (м, 2Н, CH), 3.05-3.12 (м, 1Н, CH_2), 2.87-3.0 (м, 2Н, CH_2), 2.58-2.70 (м, 1Н, CH_2), 1.26 (с, 9Н, t-Bu).

Спектр ЯМР ^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.57 (C(O)N), 173.18 (C(O)OCMe$_3$), 172.58 (C(O)OCMe$_3$), 172.45 (C(O)OCMe$_3$), 157.21 (C(O) мочевина), 131.09, 130.54 (Ar), 124.21 (Ar), 122.51 (Ar), 116.02 (Ar), 115.88 (Ar), 81.90 (Ar), 81.77 (C(O)OCMe$_3$), 81.49 (C(O)OCMe$_3$), 80.61 (C(O)OCMe$_3$), 80.50 (C(O)OCMe$_3$), 67.04 (CH), 53.31, 53.14 (CH), 52.94, 52.85 (CH), 50.09 (CH_2), 47.52 (CH_2), 47.21 (CH_2), 45.63 (CH_2), 41.07 (CH_2), 32.70, 32.58 (CH_2), 32.01 (CH_2), 31.69 (CH_2), 30.94 (CH_2), 28.29 (CH_2), 28.03 (C(O)OCMe$_3$)), 27.99 (C(O)OCMe$_3$)27.96 (C(O)OCMe$_3$), 26.78 (CH_2), 26.25 (CH_2), 26.14 (CH_2), 24.76 (CH_2), 24.55 (CH_2), 22.40 (CH_2)

^{13}C NMR (101 МГц, $CDCl_3$) δ 172.8, 171.7, 155.1, 138.1, 137.3, 129.3, 129.2, 128.2, 127.9, 126.5, 126.1, 78.0, 55.7, 53.3, 37.5, 36.8, 28.1.

ESI-HRMS для $C_{23}H_{28}N_2O_5$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 413.2076, найдено: 413.2076.

Синтез (S)-трет-бутил-(S)-(1-((1-((3-азидопропил) амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил) амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил) карбамата (92)

К раствору соединения **91** (392 мг 0.952 ммоль) в 10 мл DMF было добавлено (492 мг, 4.921 ммоль) раствора 3-азидопропиламина в Et_2O, HBTU (540 мг 1.423 ммоль) и DIPEA (248 мкл, 1.442 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов. Полученную реакционную смесь упарили при пониженном давлении. Дальнейшую очистку проводили методом колоночной хроматографии от 5 до 100 об. % EtOAc в гексане. Получили 365 мг (78%) продукта **92** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.10-7.35 (м, 8Н, Ar), 7.3 (м, 2Н, Ar), 6.87 (м, 1Н, NH), 6.72 (м, 1Н, NH), 5.23 (м, 1Н, NH), 4.68 (м, 1Н, CH), 4.38 (м, 1Н, CH), 3.23-3.35 (м, 1Н, CH_2), 2.80-3.22 (м, 7Н, CH_2), 1.50-1.68 (м, 2Н, CH_2), 1.31 (с, 9Н, t-Bu).

Синтез (S)-2-амино-(S)-N-(1-((3-азидопропил)амино)–1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)-3-фенилпропанамид (93)

Соединение **92** (760 мг, 1.536 ммоль) было растворено в 1800 мкл DCM после чего реационной смеси было добавлено 200 мкл TFA. Реакционную смесь перемешивали 3

часа, контроль протекания реакции проводили методом ТСХ. После окончания реакционную смесь промыли диэтиловым эфиром. Получили 510 мг (65%) продукта **93** в виде желтоватого аморфного вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

8.03 (д, 1Н, J=6.8 Гц, Ar), 7.07-7.25 (м, 9Н, Ar+ NH), 7.05 (м, 2Н, NH), 4.54-4.65 (м, 1Н, CH), 4.34-4.45 (м, 1Н, CH), 4.68 (м, 1Н, CH), 4.38 (м, 1Н, CH), 3.23-3.35 (м, 1Н, CH_2), 3.07-3.25 (м, 3Н, CH_2), 2.95-3.07 (м, 3Н, CH_2), 2.83-2.95 (м, 3Н, CH_2), 1.45-1.56 (м, 2Н, CH_2).

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

170.1 (C=O), 167.8(C=O), 137.3(Ar), 134.7(Ar), 129.6(Ar), 129.2(Ar), 128.5(Ar), 128.2(Ar), 127.1(Ar), 126.5(Ar), 54.5 (CH), 53.1 (CH), 48.1 (CH_2), 38.1 (CH_2), 36.9 , 35.7(CH_2), 28.2(CH_2).

ESI-HRMS для $C_{21}H_{26}N_6O_2$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 395.2190, найдено: 395.2200.

Синтез (R)-2-((R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-фенилпропанамидо)-3-фенилпропановая кислоты (94)

К раствору дипептида D-фенилаланин-D-фениаланина (500 мг, 1.603 ммоль) в 40 мл смеси диоксан/вода (3/1) было добавлено (479 мг, 2.197 ммоль) Boc_2O и (242 мг, 5.476 ммоль) $NaHCO_3$, полученную смесь перемешивали в течение 6 часов. Далее реакционную смесь упаривали и растворяли в 50 мл EtOAc и промывали раствором 0.1MHCl (pH=1). Полученную органическую фракцию сушили над Na_2SO_4 и упаривали при пониженном давлении. Получили 638 мг (97%) продукта **94** в виде бесцветного маслянистого вещества.

Спектр ЯМР ^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.30-7.12 (м, 9Н, Ar+NH), 7.08 (д, 2HJ=6,1 Гц, Ar), 6.82 (д, 1Н, J=7,1 Гц, NH), 5.38-5.28 (м, 1Н, CH), 4.53-4.40 (м, 1Н, CH), 4.46 (с, 1Н, OH), 3.18-3.09 (м, 1Н, CH_2), 3.07-2.87 (м, 3Н, CH_2), 1.39 (с, 9Н, t-Bu)

ESI-HRMS для $C_{23}H_{28}N_2O_5$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 413.2071, найдено: 413.2070.

Синтез трет-бутил ((R)-1-(((R)-1-((3-азидопропил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)карбамата (95)

Соединение **94** (588 мг, 1.425 ммоль) растворили в примерно 20 мл ДМФА. К раствору прибавили 649 мг HBTU (1.711 ммоль) и 192 мг HOBT (1.421 ммоль). К смеси прилили 372 мкл DIPEA (2,136 ммоль). Затем в реакционную смесь ввели 596 мг NH_2-$(CH_2)_3$-N_3 (5,96 ммоль). Реакционная смесь перемешивалась в течении 16 часов, после

чего удалили растворитель при пониженном давлении. Очистка вещества производилась с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 15μ 25gF0025, система этилацетат/петролейный эфир, этилацетат от 5% до 40 в течение 6 минут, от 40% до 60 в течении 15 минут, от 60% до 100% в течении 6 минут, 100% в течении 3 минут). Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Получили 406 мг (58%) продукта **95** в виде бесцветного маслянистого вещества.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):
7.31 (м, 2H, Ar), 7.20 (м, 9H, Ar+NH), 6.73 (м, 1H, NH), 6.43 (м, 1H, NH), 4.65 (м, 1H, CH), 4.28 (м, 1H, CH), 3.27-3.15 (м, 8H, CH_2) 3.11-3.04 (м, 4H, CH), 1.63 (м, 3H, CH_2), 1.3 (с, 9H, t-Bu).

Синтез (R)-2-амино-N-((R)-1-((3-азидопропил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)-3-фенилпроанамид (96)

Соединение **95** (406 мг, 0.822 ммоль) растворили в 13,5 мл ДХМ. К раствору прибавили 1,5 мл трифторуксусной кислоты. Смесь перемешивали в течение 3 часов. После этого удалили растворитель при пониженном давлении. Затем растворили полученное вещество в ДХМ, добавили насыщенный раствор $NaHCO_3$ в воде, перемешивали в течении 10 минут, экстрагировали и оставили органическую фазу сушиться над Na_2SO_4 на ночь. Получили 274 мг (85%) продукта **96** в виде бесцветного аморфного вещества.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):
7.31-7.28 (м, 6H, Ar+NH), 7.20-7.15 (м, 6H, Ar+NH), 6.87 (м, 1H, NH), 4,59 (т, 1H, J=7.9 Гц, CH), 4.44-4.38 (м, 1H, J=7.9 Гц, CH), 3,18 (м, 2H, CH_2), 3,15 (м, 2H, CH_2), 3,04 (м, 3H, CH_2), 1,64 (т, 2H, J=6.7 Гц, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

167.8 (C=O), 129.0 (Ar), 128.8 (Ar), 128.2 (Ar), 126.8 (Ar), 91.3 (Ar), 54.9 (CH), 52.9 (CH), 48.1 (CH_2), 27.7 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{21}H_{26}N_6O_2$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 393.2190, найдено: 393.2045.

Синтез (S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-фенилпропановая кислоты (97)

К суспензии L-фенилаланина (1.32 г, 8 ммоль) в 50 мл смеси растворителей ТГФ – вода (3:2) при 0 ^{o}C добавили NaOH (0.32 г, 8 ммоль,) и ди-трет-бутил дикарбонат Boc_2O (1.74 г, 8 ммоль,). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 суток. Реакционную смесь сконцентрировали в вакууме роторного испарителя

до удаления органического растворителя. Затем в водный остаток добавляли 1М раствором соляной кислоты до pH = 6 и экстрагировали этилацетатом (3*50 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ и NaCl, сушили Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме. Затем повторно переупаривали с дихлорметаном. Получили 1.91г (90%) продукта **97** в виде бесцветного аморфного вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.31 (т, *J* = 7.3 Гц, 2H, Ar), 7.28 – 7.24 (м, 2H, Ar), 7.20 (д, *J* = 7.1 Гц, 1H, Ar), 4.93 (с, 1H, CH), 4.61 (с, 1H, NH), 3.20 (д, *J* = 13.4 Гц, 2H, CH_2Ar), 1.43 (с, 9H, t-Bu).

Спектр ЯМР ^{13}С (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

155.39 (COOH), 135.85 (Ar), 132.h11 (Ar), 130.65 (Ar), 129.40 (Ar), 128.60 (Ar), 127.11 (Ar), 80.31 ($\underline{C}(CH_3)$), 54.27 (CHNH), 37.79 ($C(\underline{C}H_3)$, 35.4 ($C(\underline{C}H_3)$, 32.43 ($C(CH_3)$, 28.29 (CH_2).

ESI-LCMS для $C_{14}H_{19}NO_4$: m/z рассчитано для $[M-H]^-$ 264.13, найдено: 264.00; m/z рассчитано для $[2M-H]^-$: 529.26, найдено: 529.15

Синтез (S)-2-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-фенилпропанамидо)-3-(4-гидроксифенил)пропановая кислота (98)

К раствору соединения **97** (1.91 г, 7.2 ммоль) в 50 мл дихлорметана добавили EDC*HCl (1.65 г, 8.6 ммоль), PfpOH (1.31 г, 7.12 ммоль) и перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Затем в реакционную смесь добавляли силикагель (10 г) и полученную суспензию хроматографировали на колонке с силикагелем (элюент – дихлорметан). Продукт реакции (желтое маслянистое вещество) растворяли в 60 мл смеси ТГФ – вода (2:1) и добавляли при перемешивании L-тирозин (1.45 г, 8 ммоль). К полученному раствору прикапывали DIPEA (1.4 мл, 8 ммоль) и перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. По окончании реакции реакционную смесь концентрировали в вакууме роторного испарителя до полного удаления органического растворителя. Остаток в колбе подкисляли 1М раствором HCl до pH = 2 и экстрагировали этилацетатом (3*50 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ и NaCl, сушили Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме. Полученный бесцветный аморфный остаток растворяли в минимальном количестве дихлорметана и прикапывали при перемешивании 100 мл гексана. Выпавший осадок отфильтровали и ресуспендировали в 50 мл гексана в УЗИ-бане, затем заново отфильтровали. Получили 1.78 г (52%) продукта **98** в виде бесцветного маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.26-7.25 (м, 2H, Ar), 7.20-7.18 (м, 3H, Ar), 6.86 (д, *J* = 6.1 Гц, 2H, Ar), 6.64 (д, *J* = 7.2 Гц, 2H, Ar), 4,65 (д, 2H, NH), 4.65 (м, 2H, CH), 4.32 (с, 1H, OH), 3.06 – 2.87 (м, 4H, CH_2), 1.31 (с, 9H, t-Bu).

ESI-LCMS для $C_{23}H_{28}N_2O_6$: m/z рассчитано для $[M-H]^-$ 427.19, найдено: 427.05; m/z рассчитано для $[2M-H]^-$: 855.38, найдено: 855.30

Синтез (S)-1-(((S)-1-((3- азидопропил)амино)-3-(4- гидроксифенил)-1-оксопропан-2-ил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-аммоний трифторацетата (99)

К раствору соединения **98** (1.78 г, 4.16 ммоль) в 50 мл дихлорметана добавили EDC*HCl (0.95 г, 5 ммоль), PfpOH (0.76 г, 4.16 ммоль) и перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Затем в реакционную смесь добавляли силикагель (10 г) и полученную суспензию хроматографировали на колонке с силикагелем (элюент – дихлорметан/этилацетат 40:1). Продукт реакции (желтое маслянистое вещество) растворяли в 60 мл ТГФ и добавляли при перемешивании азидопропиламин (0.42 г, 4 16 ммоль). К полученному раствору прикапывали DIPEA (0.72 мл, 4.16 ммоль) и перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. По окончании реакции реакционную смесь концентрировали в вакууме роторного испарителя и хроматографировали остаток на колонке с силикагелем (элюент – дихлорметан/метанол 40:1). Полученный продукт растворяли в 20 мл безводного дихлорметана и охлаждали на бане со льдом до 0 ^oC. Далее при перемешивании прикапывали 2 мл трифторуксусной кислоты и перемешивали реакционный раствор при комнатной температуре в течение 3-4 часов до полного исчезновения исходного вещества (ТСХ-контроль). По окончании реакции упаривали смесь в вакууме роторного растворителя, переупаривали остаток дважды с дихлорметаном и вакуумировали до полного удаления органического растворителя. Получили 1.24 г (57%) продукта **99** в виде бесцветного аморфного вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.32 – 7.28 (м, 2H, Ar), 7.15 (т, *J* = 6.2 Гц, 3H, Ar), 6.82 (с, 2H, Ar), 6.72 (д, *J* = 8.5 Гц, 2H, Ar), 5.25 (д, *J* = 6.6 Гц, 1H, NH), 5.03 (д, 1H, NH), 4.57 (м, 1H, CH), 4.27 (д, *J* = 6.0 Гц, 1H), 3.27 (дд, *J* = 13.2, 6.7 Гц, 1H), 3.21 – 3.09 (м, *J* = 17.7, 12.3, 6.4 Гц, 2H), 3.03 (д, *J* = 14.5, 9.0 Гц, 1H), 2.80 – 2.69 (м, 1H), 2.54 (м, *J* = 13.3, 6.1 Гц, 1H, CH_2), 1.67 – 1.61 (м, 3H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}С (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

171.28 (<u>C</u>(O)NH), 170.93 (<u>C</u>(O)NH), 155.60 (<u>C</u>H_2Ar), 130.36 (Ar), 129.28 (Ar), 129.20 (Ar), 128.90 (Ar), 128.81 (Ar), 128.04 (Ar), 127.37 (Ar), 126.67 (Ar), 115.78 (Ar), 36.95 (CH), 36.92 (CH), 36.63, 28.37 (CH_2), 28.22 (CH_2), 28.09 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{21}H_{26}N_6O_3$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 411.2139, найдено: 411.2141.

Синтез (R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-фенилпропановой кислоты (100)

К суспензии D-фенилаланина (2 г, 12 ммоль) в 40 мл смеси растворителей диоксан – вода (1:1) при 0 °C добавили 20 мл 2 М раствора KOH, смесь перемешивали до полного растворения D-фенилаланина. Затем добавили ди-трет-бутил дикарбонат Boc_2O (3,17 г, 14,5 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 суток. Реакционную смесь промыли диэтиловым эфиром (3×30 мл) и после сконцентрировали в вакууме роторного испарителя до удаления органического растворителя. Затем в водный остаток добавляли 10% раствор лимонной кислоты до pH = 3 и экстрагировали хлористым метиленом (3×50 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ и NaCl, сушили Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме. Затем трижды переупаривали с дихлорметаном. Получили 3.12 г (98%) продукта **100** в виде бесцветного аморфного вещества.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

1.29 (с, 3H, CH_3), 1.42 (с, 6H, $2CH_3$), 3.06-3.22 (м, 2H, CH_2), 4.42 (с, 0.31H, CH), 4.61 (кв, J = 8 Гц, J = 16 Гц 0.69H, CH), 4.94 (д, J = 7.9 Гц, 0.64H, NH), 6.24 (с, 0.32H, NH), 7.19 (д, J = 7.8 Гц, 2CH, 2H), 7.28-7.33 (м, 3H, 3CH), 10.19 (уш. с, 1H, COOH).

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):
155.1 (COOH), 129.1 (Ar), 128.9 (Ar), 128.2 (Ar), 53.8 (CHNH), 37.3 (C($\underline{C}H_3$), 30.8 (C($\underline{C}H_3$), 27.9 (C(CH_3), 27.6 (CH), 26.8 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{14}H_{19}NO_4$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 266.1387, найдено: 266.1259

Синтез (R)-2-((R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-фенилпропанамидо)-3-(4-гидроксифенил)пропановая кислота (101)

К раствору соединения **100** (6.25 г, 23 ммоль) в 120 мл дихлорметана добавили EDC*HCl (5.28 г, 27 ммоль), PfpOH (4.2 г, 23 ммоль) и перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем в реакционную смесь добавляли силикагель (50 г) и полученную суспензию хроматографировали на колонке с силикагелем (элюент – дихлорметан). Продукт реакции (желтое маслянистое вещество) растворяли в 110 мл смеси ТГФ – вода (8:3) и добавляли при перемешивании D-тирозин (8 г, 46 ммоль). К полученному раствору прикапывали DIPEA (8 мл, 46 ммоль) и перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. По окончании реакции реакционную смесь концентрировали в вакууме до полного удаления органического растворителя. Остаток в

колбе подкисляли 1М раствором HCl до pH = 3 и экстрагировали этилацетатом (3*80 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ и NaCl, сушили Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме. Полученный бесцветный аморфный остаток растворяли в минимальном количестве дихлорметана и прикапывали при перемешивании 100 мл гексана. Выпавший осадок отфильтровали и ресуспендировали в 50 мл диэтилового эфира в УЗИ-бане, затем заново отфильтровали. Получили 8.25 г (84%) продукта **101** в виде бесцветного маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.35 – 7.24 (м, 6H, Ar), 7.23 – 7.16 (м, 4H, Ar), 6.54 (д, *J* = 7.6 Гц, 1H, NH), 6.19 (д, *J* = 7.4 Гц, 1H, NH), 4.95 (м, 4H, CH_2Ar), 4.61 (м, 1H, CH), 3.15 (м, 2H, CH_2), 1.43 (с, 6H, t-Bu), 1.30 (с, 3H, t-Bu)

ESI-HRMS для $C_{23}H_{28}N_2O_6$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 429.2020, найдено: 429.1947.

Синтез (R)-2-амино-N-((R)-1-((3-азидопропил)амино)-3-(4-гидроксифенил)-1-оксорпропан-2-ил)-3-фенилпропаммоний трифторацетата (102)

К раствору соединения **101** (8.25 г, 19 ммоль) в 90 мл дихлорметана добавили EDC*HCl (4.4 г, 23 ммоль), PfpOH (3.5 г, 19 ммоль) и перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Затем в реакционную смесь добавляли силикагель (40 г) и полученную суспензию хроматографировали на колонке с силикагелем (элюент – гексан/этилацетат 4:1). Продукт реакции (желтое маслянистое вещество) растворяли в 90 мл ТГФ и добавляли при перемешивании азидопропиламин (1.6 г, 19 ммоль). К полученному раствору прикапывали DIPEA (4 мл, 23 ммоль) и перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. По окончании реакции реакционную смесь концентрировали в вакууме роторного испарителя и хроматографировали остаток на колонке с силикагелем (элюент – дихлорметан/метанол 40:1). Полученный продукт растворяли в 60 мл безводного дихлорметана и охлаждали на бане со льдом до 0 ^oC. Далее при перемешивании прикапывали 4 мл трифторуксусной кислоты и перемешивали реакционный раствор при комнатной температуре в течение 3-4 часов до полного исчезновения исходного вещества (ТСХ-контроль). По окончании реакции упаривали смесь в вакууме роторного растворителя, переупаривали остаток дважды с дихлорметаном и вакуумировали до полного удаления органического растворителя. Полученное масло ресуспендировали в 50 мл диэтилового эфира в УЗИ-бане, затем отфильтровали. Получили 4.0 г (40%) продукта **102** в виде бесцветного аморфного вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

9.54 (уш. с, 1H, OH), 7.35 – 7.24 (м, 6H, Ar), 7.23 – 7.16 (м, 3H, Ar), 6.65 (м, 2H, NH), 4.95 (т, 1H, CH), 4.61 (м, 1H, CH), 3,22 (м, 2H, CH_2), 3.15 (м, 2H, CH_2), 3,07 (м, 2H, CH_2)

ESI-HRMS для $C_{21}H_{26}N_6O_3$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 411.2139, найдено: 411.2150.

Синтез (R)-3-(3-бром-4-гидроксифенил)-2-((R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-фенилпропанамидо)пропановая кислота (103)

К раствору соединения **100** (1.04 г, 3.92 ммоль) в 20 мл дихлорметана добавили EDC*HCl (0.98 г, 5.1 ммоль), PfpOH (0.79 г, 4.33 ммоль,) и перемешивали в течение 3 часов при комнатной температуре. Затем в реакционную смесь добавляли силикагель (50 г) и полученную суспензию хроматографировали на колонке с силикагелем (элюент – дихлорметан). Продукт реакции (белый порошок) растворяли в 20 мл смеси ТГФ – вода (2:1) и добавляли при перемешивании D-бромтирозин (2.08 г, 8.23 ммоль). К полученному раствору прикапывали DIPEA (1.7 мл, 9.8 ммоль) и перемешивали в течение 10 часов при комнатной температуре. По окончании реакции реакционную смесь концентрировали в вакууме до полного удаления ТГФ. Остаток в колбе подкисляли 10% раствором лимонной кислоты до pH = 3 и экстрагировали этилацетатом (3×50 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным раствором NaCl, сушили Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме. Полученный желтоватый аморфный остаток растворяли в минимальном количестве этилацетата и прикапывали при перемешивании 100 мл гексана. Выпавший осадок отфильтровали и ресуспендировали в 50 мл диэтилового эфира в УЗИ-бане, затем заново отфильтровали и переупаривали с диэтиловым эфиром. Получили 1.57 г (79%) продукта **103** в виде бесцветного маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):
12.79 (уш. с, 1H, COOH), 10.02 (уш. с, 1H, OH), 7.30 (с, 1H, Ar), 7.14-7.23 (м, 5H, Ar), 7.01 (д, *J* = 7.9 Гц, 1H, Ar), 6.82 (д, *J* = 7.9 Гц, 1H, Ar), 6.72 (д, *J* = 7.8 Гц, 1H, NH), 6.28 (д, *J* = 7.6 Гц, 1H, NH), 4.78 (м, 4H, CH_2Ar), 4.37-4.42 (м, 1H, CH), 4.16-4.21 (м, 1H, CH), 1.27 (с, 6H, t-Bu), 1.23 (с, 3H, t-Bu).

ESI-HRMS для $C_{23}H_{27}BrN_2O_6$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 507.113074, найдено: 507.1142.

Синтез (R)-1-(((R)-1-((3-азидопропил)амино)-3-(3-бром-4-гидроксифенил)-1-оксопропан-2-ил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-аммоний трифторацетат (104)

К раствору соединения **103** (1.57 г, 3.1 ммоль) в 20 мл дихлорметана добавили EDC*HCl (0,71 г, 3.72 ммоль), PfpOH (0.63 г, 3.4 ммоль) и перемешивали в течение 4 часов при комнатной температуре. Затем в реакционную смесь добавляли силикагель (7 г)

и полученную суспензию хроматографировали на колонке с силикагелем (элюент – гексан/этилацетат 4:1). Продукт реакции (белый порошок) растворяли в 20 мл ТГФ и добавляли при перемешивании азидопропиламин (267 мг, 3,1 ммоль). К полученному раствору прикапывали DIPEA (1 мл, 6,2 ммоль) и перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. По окончании реакции реакционную смесь концентрировали в вакууме роторного испарителя и хроматографировали остаток на колонке с силикагелем (элюент – гексан/этилацетат 1:1 → этилацетат). Полученный продукт растворяли в 5 мл дихлорметана и охлаждали на бане со льдом до -5 ^{o}C. Далее при перемешивании прикапывали 10 мл охлажденного 10% раствора трифторуксусной кислоты в дихлорметане и перемешивали реакционную смесь при температуре ниже 100С в течение 8-10 часов до полного исчезновения исходного вещества (ТСХ-контроль, элюент – этилацетат). По окончании реакции упаривали смесь в вакууме роторного растворителя, переупаривали остаток дважды с дихлорметаном и вакуумировали до полного удаления органического растворителя. Полученное масло ресуспендировали в 20 мл диэтилового эфира в УЗИ-бане, затем отфильтровали. Получили 125 мг (14%) продукта **104** в виде бесцветного аморфного вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

9.32 (уш. с, 1H, OH). 7.39 – 7.30 (м, 5H, Ar), 7.25 – 7.19 (м, 3H, Ar), 7.00 (м, 1H, NH), 6.14 (с, 1H, NH), 5.03 (т, 1H, CH), 4.82 (м, 1H, CH), 3.25-3.19 (м, 2H, CH_2), 3.03-2.97 (м, 2H, CH_2), 2.23-1.69 (м, 2H, CH_2)

ESI-HRMS для $C_{21}H_{25}BrN_6O_3$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 489.1244, найдено: 489.1258.

Синтез (3S,7S,23S,26S)-три-трет-бутил 31-азидо-12,23,26-трибензил-5,13,18,21,24,27-гексаоксо-4,6,12,17,22,25,28-гептаазагентриаконтан-1,3,7-трикарбоксилата (105)

К раствору соединения **84** (60 мг, 0.092 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарный ангидрид (10 мг 0.096 ммоль) и DIPEA (23 мкл 0.135 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептид **93** (51 мг, 0.160 ммоль), HOBt (13 мг, 0.096 ммоль), HBTU (55 мг, 0.144 ммоль), DIPEA (19 мкл, 0,110 ммоль). Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол,

от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюент для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 51 мг (49%) продукта **105** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.85-7.45 (м, 2H, C(O)NH), 7.43-6.65 (м, 19H, C(O)NH+Ar), 6.10-5.92 (м, 1H, NH(мочевина)), 5.68 (м, 1H, NH(мочевина)), 4.72-4.40 (м, 4H, ArC$\underline{H_2}$+ C$\underline{H_2}$), 4.41-4.19 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.49-2.71 (м, 13H, CH_2), 2.71-2.52 (м, 1H, CH_2), 2.53-2.11 (м, 6H, CH_2), 2.12-1.95 (м, 7H, CH_2), 1.51-1.32 (м, 26H, t-Bu), 1.32-1.18 (м, 5H, CH_2).

ESI-LCMS для $C_{60}H_{86}N_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1139.65, найдено: 1219.60; m/z рассчитано для $[M+Na^+]$: 1161.63, найдено: 1161.55.

Синтез (3S,7S)-три-трет-бутил 33-азидо-12,25,28-трибензил-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбоновой кислоты (106)

К раствору соединения **85** (88 мг, 0.127 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарного ангидрида (14 мг, 0.134 ммоль) и DIPEA (34 мкл, 0.191 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептида **93 (**51 мг, 0.160 ммоль), HOBt (21 мг, 0.152 ммоль), HBTU (58 мг, 0.152 ммоль), DIPEA (26 мкл, 0.152 ммоль). Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 34 мг (30%) продукта **79** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.82 (м, 1H, C(O)NH), 7.45-6.95 (м, 18H, C(O)NH+Ar), 6.82-6.70 (м, 1H, C(O)NH), 6.58-6.48 (м, 1H, C(O)NH), 5.90-5.70 (м, 1H, NH(мочевина)), 5.65-5.50 (м, 1H, NH(мочевина)), 4.75-4.60 (м, 2H, C$\underline{H_2}$), 4.59-4.42 (м, 3H, ArC$\underline{H_2}$+CH_2)), 4.39-4.22 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.39-2.95

(м, 12H, CH_2), 2.84-2.55 (м, 3H, CH_2), 2.55-2.05 (м, 7H, CH_2), 2.10-1.96 (м, 1H, CH_2), 1.90-1.78 (м, 1H, CH_2), 1.76-1.46 (м, 8H, CH_2), 1.46-1.37 (м, 27H, t-Bu), 1.37-1.25 (м, 3H, CH_2).

ESI-LCMS для $C_{62}H_{90}N_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1167.68, найдено: 1167.65.

Синтез (3S, 7S, 25S, 28S)-три-трет-бутил 33-азидо-25, 28-дибензил-12-(4-бромобензил)-5, 13, 20, 23, 26, 29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-трикарбоксилата (107)

К раствору соединения **87** (50 мг, 0.065 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарный ангидрид (7 мг, 0.068 ммоль) и DIPEA (23 мкл, 0.130 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептида **93 (**25 мг, 0.049 ммоль), HOBt (8 мг, 0.060 ммоль), HBTU (23 мг, 0.060 ммоль), DIPEA (20 мкл, 0.116 ммоль). Смесь перемешивали 16 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 35 мг (70%) продукта **107** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):
8.30-8.38 (м, 1H, CH(Ph)), 8.08-8.19 (м, 1H, CH(Ph)), 7.53 (д, J = 8.1 Гц, 1H, CH(Ph)), 7.48 (д, J = 7.7 Гц, 1H, CH(Ph)), 7.19-7.27 (м, 5H, CH(Ph)), 7.07-7.16 (м, 5H, CH(Ph)), 6.27-6.34 (м, 2H, NH), 4.49 (с, 1H, CH2(Bz)), 4.43 (с, 1H, CH2(Bz)), 4.37-4.39 (м, 1H, CH), 4.28-4.39 (м, 2H, CH), 4.01-4.09 (м, 2H, CH), 3.34-3.39 (м, 6H, CH_2), 3.22-3.26 (м, 2H, CH_2), 3.13-320 (м, 2H, CH_2), 2.88-3.09 (м, 6H, CH_2), 2.72-2.79 (м, 1H, CH_2), 2.52-2.67 (м, 1H, CH_2), 2.28-2.35 (м, 2H, CH_2), 2.18-2.25 (м, 4H, CH_2), 1.88-1.91 (м, 1H, CH_2), 1.66-1.76 (м, 1H, CH_2), 1.54-1.61 (м, 3H, CH_2), 1.36-1.49 (м, 6H, CH_2), 1.14-1.30 (м, 4H, CH_2).

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}BrN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+Na+2H]^+$: 1269.59, найдено: 1269.55.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25,28-дибензил-12-(4-бромбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата (108)

К раствору соединения **87 (**124 мг, 0.161 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарный ангидрид (17 мг, 0.169 ммоль) и DIPEA (41 мкл, 0.241 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептида **96 (**60 мг, 0.077 ммоль), HOBt (17 мг, 0.117 ммоль), HBTU (44 мг, 0.117 ммоль), DIPEA (26 мкл, 0.156 ммоль). Смесь перемешивали 16 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 60 мг (31%) продукта **108** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.84-7.79 (м, 1H, C(O)NH), 7.72-7.69 (м, 1H, C(O)NH), 7.48-7.46 (д, 1H, ArH), 7.42-7.40 (д, 1H, ArH), 7.31-7.29 (м, 1H, ArH), 7.24-7.15 (м, 2H, C(O)NH+ArH), 7,07-7,00 (м, 4H, ArH), 6.59-6.50 (д, 1H, C(O)NH), 5.78-5.76 (м, 1H, NH(мочевина)), 5.47-5.41 (м, 1H, NH(мочевина)), 4.50-4.45 (м, 3H, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.35-4.27 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.62-3.58 (м, 2H, CH_2), 3.39-3.04 (м, 12H, CH_2), 2.77-2.71 (м, 2H, CH_2Ar), 2.35-2.28 (м, 6H, CH_2), 1.87-1.73 (м, 6H, CH_2), 1.66-1.50 (м, 6H, CH_2), 1.44 (с, 27H, t-Bu), 1.35-1.32 (м, 3H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

173.25 (C(O)NR_2), 173.06 (C(O)OCMe_3), 172.94 (C(O)OCMe_3), 172.56 (C(O)OCMe_3), 172.48 (PhCH_2NC(O)), 172.42 (PhCH_2NC(O)), 159.63 (NHC(O)NH), 158.49 (NHC(O)NH), 136.89 (Ar), 132.06 (Ar), 131.63 (Ar), 129.54 (Ar), 129.33 (Ar), 129.13 (Ar), 128.94 (Ar), 128.77 (Ar), 128.57 (Ar), 128.39 (Ar), 128.39 (Ar), 127.90 (Ar), 127.03 (Ar), 81.98 (C(O)OCMe_3), 81.84 (C(O)OCMe_3), 81.54 (C(O)OCMe_3), 53.46 (CH), 53.35 (CH), 42.18 (CH2NR_2), 41.66 (CH2Ar), 40.96 (CH_2Ar), 40.41 (CH_2N_3), 41.53 (CH_2), 37.40 (CH_2), 36.85 (CH_2), 36.65 (CH_2), 33.11 (CH_2), 32.81 (CH_2), 32.46 (CH_2), 31.71 (CH_2), 31.63 (CH_2), 28.55 (C(O)OCMe_3), (C(O)OCMe_3), 27.99 (C(O)OCMe_3), 27.08 (CH_2), 26.64 (CH_2), 26.28 (CH_2), 25.55 (CH_2), 24.28 (CH_2), 23.00 (CH_2), 22.43 (CH_2), 22.42 (CH_2), 22.35 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}BrN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1245.5918, найдено: 1245.5916, m/z рассчитано для $[M+Na]^+$: 1267.5737, найдено: 1267.5739.

Синтез (3S, 7S, 25R, 28R)-три-трет-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(-4-бромобензил)-28-(4-гидроксибензил)-5, 13, 20, 23, 26, 29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-трикарбоксилата (109)

К раствору соединения **87 (**69 мг, 0.089 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарного ангидрида (9 мг, 0.093 ммоль) и DIPEA (23 мкл, 0.133 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили надNa_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептида **102** (70 мг, 0.133 ммоль), HOBt (20 мг, 0.133 ммоль), HBTU (51 мг, 0.133 ммоль), DIPEA (31 мкл, 0.178 ммоль). Смесь перемешивали 16 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 100 мг (89%) продукта **109** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.81-7.56 (м, 1H, C(O)NH), 7.47-7.28 (м, 2H, C(O)NH), 7.23-6.77 (м, 12H, Ar + C(O)NH), 6.75-6.59 (м, 2H, Ar), 6.15-5.65 (м, 2H, C(O)NH(urea)), 4.71-4.36 (м, 3H, ArCH2 + CH), 4.37-4.16 (м, 2H, CH), 3.65-3.47 (м, 1H, CH), 3.38-2.65 (м, 13H, CH2), 2.64-2.10 (м, 8H, CH2), 1.89-1.75 (м, 1H, CH2), 1.75-1.48 (м, 7H, CH2), 1.48 -1.28 (м, 29H, CH2+tBu)1.28-1.05 (м, 5H, CH2)

Спектр ЯМР ^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

171.2 (COOt-Bu), 132.0 (C(Ph)), 131.6 (C(Ph)), 130.2(C(Ph)), 128.6 (C(Ph)), 128.0 (C(Ph)), 127.0 (C(Ph)), 82.0 (C(t-Bu)), 80.8 (C(t-Bu)), 53.5 (CH), 48.7 (CH2), 36.7 (CH2), 31.5 (CH2), 28.0 (CH3(t-Bu)), 27.9 (CH3(t-Bu)).

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}{}^{79}BrN_{10}O_{13}$ m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1260.5833, найдено: 1260.5788.

Синтез (3S, 7S, 25R, 28R)-три-трет-бутил-33-азидо-25-бензил-28-(-3-бромо-4-гидроксибензил)-12-(4-бромобензил)-5, 13, 20, 23, 26, 29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-трикарбоксилата (110)

К раствору соединения **87** (41 мг, 0.053 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарного ангидрида (6 мг, 0.056 ммоль) и DIPEA (14 мкл, 0.080 ммоль). Смесь перемешивали 24

часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептида **104 (**48 мг, 0.080 ммоль), HOBt (12 мг, 0.080 ммоль), HBTU (30 мг, 0.080 ммоль), DIPEA (18 мкл, 0.106 ммоль). Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 53 мг (74%) продукта **110** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.78-7.56 (м, 1H, C(O)NH), 7.48-7.40 (м, 1H, C(O)NH), 7.40-7.28 (м, 2H, C(O)NH), 7.23-6.96 (м, 10H, Ar), 6.91-6.80 (м, 2H, Ar), 6.07 -5.55 (м, 2H, NH(urea)), 4.8-4.4 (м, 4H, ArCH2 + CH), 4.39-4.20 (м, 2H, CH), 3.5-2.65 (м, 14H, CH2), 2.64-2.11 (м, 8H, CH2), 1.89-1.76 (м, 1H, CH2), 1.76-1.48 (м, 8H, CH2), 1.48 -1.32 (м, 32H, CH2+tBu)1.32-1.10 (м, 1H, CH2).

Спектр ЯМР ^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

174.4 (C(O)NH), 172.5 (C(O)NH) 171.2 (C(O)NH), 157.3 (C(O) (urea)), 132.0 (Ar),131.7 (Ar), 129.4 (Ar), 128.5 (Ar), 128.0 (Ar), 60.4 (CH), 53.0 (CH), 48.8 (CH), 45.3 (CH), 36.6 (CH2), 32.0 (CH2), 26.1 (CH2), 22.4 (CH2), 21.1 (CH2), 19.0 (CH2).

ESI-HRMS для $C_{62}H_{88}Br_2N_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1341.4951, найдено: 1341.4995.

Синтез 3S,7S,25S,28S)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(4-бромбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата (111)

К раствору соединения **87 (**124 мг, 0.161 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарного ангидрида (17 мг, 0.169 ммоль) и DIPEA (41 мкл, 0.141 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептида **99 (**60 мг, 0.199 ммоль), HOBt (23 мг, 0.148 ммоль), HBTU (56 мг, 0.148 ммоль), DIPEA (34мкл, 0.199 ммоль). Смесь перемешивали 16 ч. Далее удалили растворитель при

пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 98 мг (48%) продукта **111** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.98 (с, 1Н, C(O)NH), 7.44-7.35 (м, 3Н, C(O)NH + Ar), 7.17 (м, 3Н, C(O)NH + ArH), 7.03-6.98 (м, 7Н, C(O)NH+ArH), 6.72 (с, 2Н, C(O)NH+ArH), 5.73 (м, 2Н, NH(urea)), 4.44 (м, 3Н, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.29 (м, 2Н, CH, CH), 3.11 (м, 9Н, CH_2), 2.78 (м, 5Н, CH_2Ar), 2.31-2.28 (м, 6Н, CH_2), 1.56 (м, 6Н, CH_2), 1.40 (с, 27Н, t-Bu), 1.26-1.22 (м, 8Н, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.55 ($\underline{C}$(O)NR_2), 171.52 ($\underline{C}$(O)NR_2), 172.31 ($\underline{C}$(O)NR_2), 172.28 ($\underline{C}$(O)NR_2) 171.24 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 162.84 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 162.81 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 157.37 (NH$\underline{C}$(O)NH), 132.05 (Ar), 131.66 (Ar), 130.49 (Ar), 130.30 (Ar), 130.23 (Ar), 129.40 (Ar), 129.06 (Ar), 128.66 (Ar), 127.98 (Ar), 115.64 (Ar), 82.18 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 81.97 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 80.71 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 55.08 (CH), 52.99 (CH), 48.71 (CH_2NR_2), 48.69 (CH_2NR_2), 37.07 (CH_2Ar), 36.62 (CH_2NH_2), 32.47 (CH_2), 31.59 (CH_2), 31.52 (CH_2), 28.68 (CCH_3), 28.62 (CCH_3), 28.57 (CCH_3), 28.42 (CCH_3), 28.30 (CCH_3), 28.34 (CCH_3), 28.04 (CCH_3), 27.95 (CCH_3), 26.16 (CH_2), 25.06 (CH_2), 22.48 (CH_2), 21.06 (CH_2), 18.52 (CH_2), 17.13 (CH_2) .

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}{}^{79}BrN_{10}O_{13}$ m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1260.5833, найдено: 1260.5801.

Синтез (3S, 7S, 25S, 28S)-три-трет-бутил 33-азидо-25, 28-дибензил-12-(-4-хлоробензил)-5, 13, 20, 23, 26, 29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-трикарбоксилат (112)

К раствору соединения **86 (**70 мг, 0.096 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарного ангидрида (11 мг, 0.105 ммоль) и DIPEA (34 мкл, 0.191 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептида **93 (**47 мг, 0.142 ммоль), HOBt (20 мг, 0.131 ммоль), HBTU (49 мг, 0.131 ммоль), DIPEA (26 мкл, 0.152 ммоль). Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии

(Puriflash 50µ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 59 мг (51%) продукта **112** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.88 (д, J = 7.5 Гц, 1H, NH), 7.61 (уш. с, 1H, NH), 7.30 (д, J = 8.3 Гц, 1H, Ar), 7.21-7.25 (м, 5H, Ar), 7.18-7.20 (м, 5H, Ar), 7.09-7.11 (м, 2H, Ar), 7.06 (д, J = 7.9 Гц, 2H, Ar), 6.75 (уш.с, 1H, NH), 6.65 (уш.с, 1H, NH), 5.76-5.84 (м, 1H, CH_2Ar), 5.60-5.67 (м, 1H, CH_2Ar), 4.56-4.64 (м, 1H, CH), 4.48-4.47 (м, 1H, CH), 4.26-4.33 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.41-3.48 (м, 1H, CH_2), 3.10-3.30 (м, 9H, CH_2), 2.86-3.03 (м, 4H, CH_2), 2.62-2.79 (м, 2H, CH_2), 2.39-2.45 (м, 2H, CH_2), 2.24-2.35 (м, 4H, CH_2), 1.81-1.88 (м, 1H, CH_2), 1.66-1.71 (м, 2H, CH_2), 1.57-1.64 (м, 3H, CH_2), 1.49-1.52 (м, 2H, CH_2), 1.41-1.43 (с, 27H, t-Bu), 1.33 (д, J = 6.5 Гц, 4H, CH_2), 1.20-1.28 (м, 3H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.60 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 171.57 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 170.49 ($\underline{C}(O)OCMe_3$), 129.29 (Ar), 129.13, 129.10 (Ar), 128.24 (Ar), 128.74, 128.70 (Ar), 128.54 (Ar), 128.46 (Ar), 127.63, (Ar), 127.03 (Ar), 126.64 (Ar), 81.95 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 80.67 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 80.52 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 55.51 (CH), 55.03 (CH), 53.46 (CH), 52.98 (CH), 50.58 (CH_2Ar), 48.72 (CH_2), 48.07 (CH_2), 36.77 (CH_2), 32.56 (CH_2), 31.63 (CH_2), 28.42 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 28.06 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 27.99 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 22.41 (CH_2), 18.97 (CH_2), 17.19 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}ClN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1201.6344, найдено: 1201.6483.

Синтез (3S, 7S, 25S, 28S)-три-трет-бутил 33-азидо-25-бензил-12-(-4-хлоробензил)-28-(4-гидроксибензил)-5, 13, 20, 23, 26, 29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-трикарбоксилата (113)

К раствору соединения **86** (56 мг, 0.0778 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарного ангидрида (8 мг, 0.0817 ммоль) и DIPEA (27 мкл, 0,1557 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и удалили растворитель при пониженном давлении. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептида **99 (**58 мг, 0.1106 ммоль), HOBt (17 мг, 0.1106 ммоль), HBTU (42 мг, 0.1106 мкмоль), DIPEA (26 мкл, 0.1476 ммоль). Смесь

перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50µ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 65 мг (69%) продукта **113** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.70-7.79 (м, 1H, NH), 7.40 (м, 1H, NH), 7.29 (д, J = 6.4 Гц, 1H, Ar),7.16-7.22 (м, 5H, Ar), 7.04-7.09 (м, 2H, Ar), 6.94 (д, J = 6.7 Гц, 2H, Ar), 6.86 (м, 2H, Ar), 6.72 (м, 2H, Ar), 5.92-6.03 (м, 1H, CH_2Ar), 5.70-5.76 (м, 1H, CH_2Ar), 4.46-4.56 (м, 2H, CH_2Ar), 4.31 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.11-3.17 (м, 9H, CH_2), 2.30-2.55 (м, 8H, CH_2), 1.84-1.85 (м, 1H, CH_2), 1.51-1.64 (м, 7H, CH_2), 1.41 (с, 29H, t-Bu+CH_2), 1.18-1.27 (м, 6H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}С (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.03 ($\underline{C}$(O)OCMe$_3$), 171.54 ($\underline{C}$(O)OCMe$_3$), 170.98 ($\underline{C}$(O)OCMe$_3$), 129.09 (Ar), 128.71 (Ar), 127.64 (Ar), 126.99 (Ar), 129.08 (Ar), 128.74 (Ar), 82.23 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 82.75 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 55.33 (CH), 53.46 (CH), 50.21 (CH_2Ar), 48.72 (CH_2), 36.81 (CH_2), 36.45 (CH_2), 32.99 (CH_2), 31.66 (CH_2), 28.05 (CH_2), 28.35 (CH_2), 28.21 (CH_2), 28.05 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 27.99 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 27.96 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 26.05(CH_2), 25.13 (CH_2), 23.47 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}ClN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+Na]^+$: 1239.6191, найдено: 1239.6191.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-три-трет-бутил 33-азидо-25-бензил-12-(4-хлоробензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбоксилат (114)

К раствору соединения **86** (62 мг 0.0855 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарного ангидрида (9 мг, 0.0898 ммоль) и DIPEA (30 мкл 0.1711 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и удалили растворитель при пониженном давлении. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептид **102** (50 мг, 0.1222 ммоль), HOBt 19 мг (0.1222 ммоль), HBTU (47 мг, 0.1222 ммоль), DIPEA (28 мкл, 0.1628 ммоль). Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50µ 4g, элюент: система

петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюент для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 67 мг (64%) продукта **114** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.30 (д, J = 7.8 Гц, 1H, Ar),7.22 (д, J = 7.8 Гц, 2H, Ar), 7.10-7.16 (м, 4H, Ar), 7.05 (д, J = 7.8 Гц, 2H, Ar), 6.86 (м, 2H, Ar), 6.66 (м, 2H, Ar), 5.76-5.87 (м, 2H, CH_2(Bz)), 4.45 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 4.31 (м, 2H, CH), 3.11-3.35 (м, 7H, CH_2), 2.59 (м, 2H, CH_2), 2.45 (м, 2H, CH_2), 2.28-2.29 (м, 5H, CH_2), 1.77-1.84 (м, 1H, CH_2), 1.57-1.69 (м, 6H, CH_2), 1.41 (с, 33H, t-Bu+CH_2), 1.18-1.27 (м, 7H, CH_2)

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}ClN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1217.6391, найдено: 1217.6372.

Синтез (3S, 7S, 25R, 28R)-три-трет-бутил 33-азидо-25, 28-дибензил-12-(-4-хлоробензил)-5, 13, 20, 23, 26, 29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-трикарбоксилата (115)

К раствору соединения **86** (47 мг 0.0677 ммоль) в 10 мл ДХМ добавили янтарного ангидрида (7 мг, 0.0711 ммоль) и DIPEA (27 мкл, 0.0157 ммоль). Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и удалили растворитель при пониженном давлении. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили дипептида **96** (50 мг, 0.0961 ммоль), HOBt (15 мг, 0.0961 ммоль), HBTU (37 мг, 0,961 ммоль), DIPEA (23 мкл, 0.128 мкмоль). Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюент для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 35 мг (34%) продукта **115** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.76-7,85 (м, 1H, NH), 7.66 (д, J = 8.1 Гц, 1H, NH), 7.34-7.52 (м, 2H, NH), 7.31 (д, J = 8.3 Гц, 1H, Ar), 7.24-7.25 (м, 4H, Ar), 7.18-7.22 (м, 5H, Ar), 7.10-7.15 (м, 4H, Ar), 7.06 (д, J = 7.8 Гц, 2H, Ar), 6.73 (уш.с, 1H, NH), 5.81-5.87 (м, 1H, CH_2Ar), 5.61-5.63 (м, 1H, CH_2Ar), 4.61-4.63 (м, 1H, CH), 4.49-4.45 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 4.26-4.40 (м, 2H, CH), 3.22-3.37 (м, 4H, CH_2),

3.06-3.16 (м, 7H, CH_2), 2.97-3.02 (м, 2H, CH_2), 2.95 (м, 1H, CH_2), 2.88-2.90 (м, 1H, CH_2), 2.71-2.80 (м, 1H, CH_2), 2.38-2.47 (м, 2H, CH_2), 2.23-2.34 (м, 4H, CH_2), 2.04-2.10 (м, 1H, CH_2), 1.79-1.85 (м, 1H, CH_2), 1.70-1.75 (м, 1H, CH_2), 1.59-1.62 (м, 4H, CH_2), 1.49-1.52 (м, 2H, CH_2), 1.42-1.46 (с, 27H, t-Bu), 1.20-1.34 (м, 5H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}C (100 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.51 (C(O)OCMe$_3$), 172.36 (C(O)OCMe$_3$), 171.41 (C(O)OCMe$_3$), 129.40 (Ar), 129.28 (Ar), 129.21 (Ar), 129.16 (Ar), 129.08 (Ar), 128.91, 128.88 (Ar), 128.72 (Ar), 128.66 (Ar), 128.51 (Ar), 128.47 (Ar), 128.35 (Ar), 127.55, 127.52 (Ar), 126.98 (Ar), 82.05 (C(O)OCMe$_3$), 82.03 (C(O)OCMe$_3$), 54.75 (CH), 52.85 (CH), 48.82 (CH_2), 48.74 (CH_2), 48.71 (CH_2), 47.00 (CH_2), 36.77 (CH_2), 36.66 (CH_2), 32.48 (CH_2), 31.66, 31.60 (CH_2), 28.71 (CH_2), 28.50 (CH_2), 28.32 (CH_2), 28.05 (C(O)OCMe$_3$), 28.01 (C(O)OCMe$_3$), 27.98 (C(O)OCMe$_3$), 26.23 (CH_2), 26.13 (CH_2), 24.53 (CH_2).

ESI-LCMS для $C_{62}H_{89}ClN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1201.64, найдено: 1201.55, m/z рассчитано для $[M+Na]^+$: 1223.62, найдено: 1223.60

Синтез (3S,7S,25S,28S)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата(116)

К раствору (84 мг, 0.069 ммоль) соединения **88** в 10 мл ДХМ добавили (7 мг, 0.073 ммоль) янтарного ангидрида и (18 мкл, 0.103 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили (72 мг, 0.141 ммоль) дипептида **93**, (16 мг, 0.118 ммоль) HOBт, (72 мг, 0.177 ммоль) HBTU, (24 мкл, 0.141 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 76 мг (92%) продукта **116** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.88-7.77 (м, 1H, C(O)NH), 7.49-6.94 (м, 17H, C(O)NH+Ar), 6.80-6.59 (м, 1H, C(O)NH), 5.98-5.55 (м, 2H, NH), 4.70-4.55 (м, 1H, CH_2), 4.54-4.42 (м, 2H, ArCH_2), 4.39-4.22 (м, 2H, CH

(Glu, Lys)), 3.39-2.95 (м, 11H, CH_2), 2.84-2.58 (м, 2H, CH_2), 2.55-2.15 (м, 7H, CH_2), 2.10-1.96 (м, 1H, CH_2), 1.92-1.78 (м, 1H, CH_2), 1.78-1.46 (м, 9H, CH_2), 1.46-1.37 (м, 27H, t-Bu), 1.37-1.25 (м, 6H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.56 (C(O)NH), 171.65 (C(O)NH), 170.72 (C(O)NH), 169.82 (C(O)NH), 168.29 (C(O)NH), 167.42 (C(O)NH), 166.22 (C(O)NH), 162.75 (C(O)NH), 157.18 (C(O)NH), 137.63 (Ar), 136.25 (Ar), 134.86 (Ar), 130.32 (Ar), 129.91 (Ar), 129.25 (Ar), 128.93 (Ar), 128.55 (Ar), 128.46 (Ar), 127.58 (Ar), 126.99 (Ar), 126.65 (Ar), 126.26 (Ar), 125.85 (Ar), 124.36 (Ar), 82.18 (C (t-Bu)), 80.75 (C (t-Bu)), 60.42 (CH), 55.52 (CH), 54.57 (CH), 53.46 (CH), 52.93 (CH), 48.71 (CH_2), 39.16 (CH_2), 36.58 (CH_2), 32.77 (CH_2), 31.62 (CH_2), 29.69 (CH_2), 26.67 (CH_2), 28.58 (CH_2), 28.41 (CH_2), 28.05 (t-Bu), 27.98 (t-Bu), 26.64 (CH_2), 26.19 (CH_2), 22.37 (CH_2), 21.06 (CH_2), 14.18 (CH_2)

ESI-LCMS для $C_{62}H_{89}ClN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1201.64, найдено: 1201.58.

Синтез (3S,7S,2S,28S)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата (117)

К раствору (160 мг, 0.280 ммоль) соединения **88** в 10 мл ДХМ добавили (37 мг, 0.376 ммоль) янтарного ангидрида и (54 мкл, 0.315 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили (53 мг, 0.210 ммоль) дипептида **99**, (31 мг, 0.210 ммоль) HOBт, (79 мг, 0.210 ммоль) HBTU, (36 мкл, 0.210 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 109 мг (45%) продукта **117** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}H(400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.95 (с, 1H, C(O)NH), 7.71-7.42 (м, 1H, C(O)NH), 7.22-7.07 (м, 10H, C(O)NH + ArH), 6.84 (м, 2H, C(O)NH+ArH), 6.71 (с, 2H, C(O)NH+ArH), 5.75 (м, 2H, NH(мочевина)), 4.45 (м, 3H, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.28 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.64-3.57 (м, 2H, CH_2), 3.18-3.09 (м, 8H, CH_2), 2.93-2.84 (м, 5H, CH_2Ar), 2.28 (м, 6H, CH_2), 1.84 (м, 2H, CH_2), 1.55 (м, 6H, CH_2), 1.39 (с, 27H, t-Bu), 1.35-1.32 (м, 9H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}C(101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):

174.10 ($\underline{C}$(O)NR_2), 173.70 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 173.09 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.64 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.56 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.48 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.23 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 171.91 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 171.22 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 162.87 (NH$\underline{C}$(O)NH), 130.32 (Ar), 130.26 (Ar), 130.20 (Ar), 129.40 (Ar), 129.26 (Ar), 129.10 (Ar), 129.05 (Ar), 128.98 (Ar), 128.64 (Ar), 128.52 (Ar), 126.52 (Ar), 128.05 (Ar), 127.45 (Ar), 115.56 (Ar), 82.08 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.91 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.78 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.72 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.29 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 80.65 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 60.40 (CH), 55.12 (CH), 50.45 (CH_2NR_2), 48.67 (CH_2Ar), 43.13 (CH_2Ar), 37.08 (CH_2), 36.84 (CH_2), 36.73 (CH_2), 36.63 (CH_2), 33.88 (CH_2), 33.52 (CH_2), 32.89 (CH_2), 32.75 (CH_2), 32.46 (CH_2), 31.57 (CH_2), 31.51 (CH_2), 28.31 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 28.02 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 27.93 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 26.13 (CH_2), 19.93 (CH_2), 18.47 (CH_2), 17.04 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}ClN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1217.6372, найдено: 1217.6384.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата(118)

К раствору (62 мг, 0.086 ммоль) соединения **88** в 10 мл ДХМ добавили (90 мг, 0.089 ммоль) янтарного ангидрида и (22 мкл, 0.129 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили (64 мг, 0.127 ммоль) дипептида **96**, (20 мг, 0.174 ммоль) HOBт, (48 мг, 0.174 ммоль) HBTU, (29 мкл, 0.145 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут).

Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 84 мг (82%) продукта **118** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.81 (с, 1Н, C(O)NH), 7.71 (м, 1Н, C(O)NH), 7.41 (м, 1Н, C(O)NH), 7.24-7.05 (м, 14Н, C(O)NH + ArH), 5.77 (м, 1Н, NH(мочевина)), 5.55 (м, 1Н, NH(мочевина)), 4.69-4.49 (м, 4Н, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.33 (м, 2Н, CH (Glu, Lys)), 3.27-3.01 (м, 10Н, CH_2), 2.96-2.87 (м, 5Н, CH_2Ar), 2.29 (м, 6Н, CH_2), 1.83 (м, 1Н, CH_2), 1.57 (м, 7Н, CH_2), 1.45-1.42 (с, 27Н, t-Bu), 1.34-1.26 (м, 6Н, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):

176.67 ($\underline{C}$(O)NR_2), 176.53 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.42 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.22 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 167.94 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 167.68 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 167.39 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 164.15 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 161.59 (NH$\underline{C}$(O)NH), 130.29 (Ar), 129.87 (Ar), 129.22 (Ar), 129.10 (Ar), 128.87 (Ar), 128.73 (Ar), 128.54 (Ar), 128.41 (Ar), 127.86 (Ar), 127.55 (Ar), 127.43 (Ar), 128.06 (Ar), 127.00 (Ar), 126.97 (Ar), 86.84 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.91 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.78 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.72 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 86.43 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 85.91 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 64.97 (CH), 58.19 (CH), 52.87 (CH_2NR_2), 49.08 (CH_2Ar), 48.70 (CH_2Ar), 37.46 (CH_2), 36.80 (CH_2), 36.76 (CH_2), 36.55 (CH_2), 33.88 (CH_2), 33.52 (CH_2), 32.89 (CH_2), 32.75 (CH_2), 32.46 (CH_2), 31.56 (CH_2), 31.46 (CH_2), 28.03 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 27.95 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 27.95 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 26.47 (CH_2), 26.25 (CH_2).

ESI-LCMS для $C_{62}H_{89}ClN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1201.88, найдено: 1201.557.

Синтез (3S,7S,2R,28R)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата (119)

К раствору (62 мг, 0.086 ммоль) соединения **88** в 10 мл ДХМ добавили (90 мг, 0.091 ммоль) янтарного ангидрида и (22 мкл, 0.129 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили (53 мг, 0.141 ммоль) дипептида **102**, (20 мг, 0.158 ммоль) HOBt, (48 мг, 0.158 ммоль) HBTU, (24 мкл, 0.158 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до

100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 80 мг (76%) продукта **119** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):
7.19-6.95 (м, 2H, C(O)NH), 6.74 (м, 11H, C(O)NH + ArH), 6.84 (м, 2H, C(O)NH+ArH), 5.87 (м, 1H, NH(мочевина)), 5.68 (м, 1H, NH(мочевина)), 4.49 (м, 3H, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.32 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.66 (м, 2H, CH_2), 3.14 (м, 8H, CH_2), 2.96-2.87 (м, 5H, CH_2Ar), 2.31 (м, 6H, CH_2), 2.17 (м, 5H, CH_2), 1.84 (м, 2H, CH_2), 1.55 (м, 4H, CH_2), 1.43-1.39 (с, 27H, t-Bu), 1.35-1.32 (м, 3H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):
175.03 ($\underline{C}$(O)NR_2), 172.62 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.58 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.54 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.52 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.48 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.23 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 171.33 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 171.22 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 162.76 (NH$\underline{C}$(O)NH), 130.72 (Ar), 130.36 (Ar), 130.33 (Ar), 130.29 (Ar), 129.20 (Ar), 129.11 (Ar), 128.56 (Ar), 127.89 (Ar), 127.54 (Ar), 127.07 (Ar), 115.64 (Ar), 82.24 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.50 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 80.75 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 60.42 (CH), 55.30 (CH), 48.75 (CH_2NR_2), 48.64 (CH_2Ar), 43.31 (CH_2Ar), 37.22 (CH_2), 36.89 (CH_2), 36.61 (CH_2), 36.63 (CH_2), 32.52 (CH_2), 31.57 (CH_2), 31.52 (CH_2), 29.21 (CH_2), 28.08 (C(O)OC$\underline{Me_3}$), 28.04 (C(O)OC$\underline{Me_3}$), 27.97 (C(O)OC$\underline{Me_3}$), 22.19 (CH_2), 21.07 (CH_2), 19.48 (CH_2), 18.55 (CH_2), 17,16 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}ClN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1217.6372, найдено: 1217.6376.

Синтез (3S,7S,2R,28R)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-28-(3-бром-4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата (120)

К раствору (52 мг, 0.071 ммоль) соединения **88** в 10 мл ДХМ добавили (7,5 мг 0.074 ммоль) янтарного ангидрида и (18 мкл, 0.108 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили (53 мг, 0.109 ммоль) дипептида **104**, (17 мг, 0.109 ммоль) HOBt, (41 мг, 0.109 ммоль) HBTU, (24 мкл, 0.145 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0%

метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 78 мг (84%) продукта **120** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.70 (м, 4H, C(O)NH + Ar), 7.17-7.00 (м, 11H, C(O)NH + Ar), 6.88-6.86 (м, 4H, C(O)NH + ArH), 5.65 (м, 2H, NH(мочевина)), 4.46 (м, 2H, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.31 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.60 (с, 2H, CH_2), 3.23-3.10 (м, 10H, CH_2), 2.93-2.84 (м, 2H, CH_2Ar), 2.28-2.26 (м, 8H, CH_2), 1.84 (м, 2H, CH_2), 1.55 (м, 7H, CH_2), 1.41-1.39 (с, 24H, t-Bu), 1.35-1.25 (м, 6H, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):

175.75 ($\underline{C}$(O)NR_2), 173.70 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.50 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.47 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.23 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 171.18 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 162.70 (NH$\underline{C}$(O)NH), 129.63 (Ar), 129.52 (Ar), 129.15 (Ar), 129.14 (Ar), 129.02 (Ar), 128.95 (Ar), 128.71 (Ar), 128.61 (Ar), 128.49 (Ar), 128.44 (Ar), 82.07 (C(O)O$\underline{C}$$Me_3$), 81.97 (C(O)O$\underline{C}$$Me_3$), 80.80 (C(O)O$\underline{C}$$Me_3$), 80.70 (C(O)O$\underline{C}$$Me_3$), 80.65 (C(O)O$\underline{C}$$Me_3$), 60.39 (CH), 58.93 (CH), 50.45 (CH_2NR_2), 48.66 (CH_2Ar), 36.56 (CH_2), 35.59 (CH_2), 34.02 (CH_2), 31.57 (CH_2), 31.51 (CH_2), 31.46 (CH_2), 30.03 (CH_2), 28.66 (CH_2), 28.43 (CH_2), 28.02 (C(O)OC$\underline{Me_3}$), 27.94 (C(O)OC$\underline{Me_3}$), 26.36 (CH_2), 22.49 (CH_2), 21.03 (CH_2), 20.71 (CH_2), 20.17 (CH_2), 18.54 (CH_2), 17.17 (CH_2), 14.16 (CH_2), 13.13 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{62}H_{89}ClBrN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1298.5568, найдено: 1298.5515; m/z рассчитано для $[M+K]^+$ 1338.5064, найдено: 1338.5098; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$ 1320.5354, найдено: 1320.5328.

Синтез (3S,7S,2S,28S)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(4-хлор-2-фторбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата (121)

К раствору (86 мг, 0.116 ммоль) соединения **89** в 10 мл ДХМ добавили (13 мг, 0.127 ммоль) янтарного ангидрида и (22 мкл, 0.127 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили 60 мг (0,152 ммоль) дипептида **93**, (21 мг, 0.152 ммоль) HOBт, (58 мг, 0.152 ммоль) HBTU, (27 мкл, 0.152 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0%

метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 70 мг (49%) продукта **121** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.80 (д, 1H, J=8.3 Гц, C(O)NH), 7.27-7.16 (м, 8H, C(O)NH+Ar), 7.15-7.08 (м, 1H, C(O)NH), 7.08-6.96 (м, 4H, C(O)NH+Ar), 6.77 (уш с, 1H, C(O)NH), 6.62 (уш с, 1H, C(O)NH), 5.82-5.57 (м, 2H, NH), 4.75-4.67 (м, 1H, C$\underline{H}_2$), 4.60-4.47 (м, 3H, ArC$\underline{H}_2$+ C$\underline{H}_2$), 4.39-4.26 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.36-3.12 (м, 9H, CH_2), 2.07-2.96 (м, 2H, CH_2), 2.83-2.63 (м, 2H, CH_2), 2.46-2.24 (м, 7H, CH_2), 2.10-2.03 (м, 1H, CH_2), 1.90-1.79 (м, 1H, CH_2), 1.79-1.46 (м, 11H, CH_2), 1.46-1.37 (м, 28H, t-Bu), 1.37-1.22 (м, 5H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}С (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

172.53 ($\underline{C}$(O)NH), 172.40 ($\underline{C}$(O)NH), 171.39 ($\underline{C}$(O)OCMe$_3$), 165.36 ($\underline{C}$(O)OCMe$_3$), 157.07 ($\underline{C}$(O)OCMe$_3$), 153.16 ($\underline{C}$(O)NH), 129.16 (Ar), 126.98 (Ar), 128.95 (Ar), 128.73 (Ar), 128.40 (Ar), 127.01 (Ar), 126.56 (Ar), 124.97 (Ar), 124.74 (Ar), 82.13 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 81.92 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 80.60 (C(O)O$\underline{C}$Me$_3$), 54.87 (CH), 52.93 (CH), 48.77 (CH), 47.42 (CH), 44.89 (CH), 41.99 (CH_2), 39.26 (CH_2), 37.12 (CH_2), 31.62 (CH_2), 31.02 (CH_2), 28.70 (CH_2), 28.59 (CH_2), 28.53 (CH_2), 28.06 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 28.03 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 28.00 (C(O)OC$\underline{Me}_3$), 26.29 (CH_2), 24.28 (CH_2), 22.43 (CH_2), 15.12 (CH_2), 12.60 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{62}H_{88}ClFN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+Na]^+$ 1240.6148, найдено: 1241.6142.

Синтез (3S, 7S,25S, 28S)-три-трет-бутил 33-азидо-25-бензил-12-(4-хлор-3-фторбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбоксилата (122)

К раствору (130 мг, 0.175 ммоль) соединения **90** в 10 мл ДХМ добавили (18 мг, 0.184 ммоль) янтарного ангидрида и (46 мкл, 0.265 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили (98 мг, 0.192 ммоль) дипептида **93**, (22 мг, 0.160 ммоль) HOBт, (91 мг, 0.240 ммоль) HBTU, (33 мкл, 0.192 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0%

метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 65 мг (30%) продукта **122** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.84-7.75 (м, 1H, C(O)NH), 7.37-6.82 (м, 13H, C(O)NH+Ar), 6.69 (уш с, 1H, C(O)NH), 6.50 (уш с, 1H, C(O)NH), 6.00-5.52 (м, 2H, NH), 4.77-4.62 (м, 1H, C$\underline{H_2}$), 4.60-4.42 (м, 3H, ArC$\underline{H_2}$+ C$\underline{H_2}$), 4.42-4.23 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.41-2.92 (м, 10H, CH_2), 2.83-2.62 (м, 2H, CH_2), 2.58-2.18 (м, 7H, CH_2), 2.14-1.98 (м, 1H, CH_2), 1.91-1.79 (м, 1H, CH_2), 1.79-1.49 (м, 9H, CH_2), 1.49-1.35 (м, 27H, t-Bu), 1.35-1.09 (м, 4H, CH_2)

ESI-LCMS для $C_{62}H_{88}ClFN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1219.63, найдено: 1219.60; m/z рассчитано для $[M+Na^+]$: 1241.61, найдено: 1241.60

Синтез (3S, 7S, 25R, 28R)-три-трет-бутил 33-азидо-25-бензил-12-(4-хлор-3-фторбензил)- 5, 13, 20, 23, 26, 29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-трикарбоксилата (123)

К раствору (156 мг, 0.210 ммоль) **90** в 10 мл ДХМ добавили (22 мг, 0.221 ммоль) янтарного ангидрида и (55 мкл, 0.318 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили (106 мг 0.208 ммоль) дипептида **96**, (48 мг 0.311 ммоль) HOBт, (118 мг, 0.311 ммоль) HBTU, (71 мкл, 0.311 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 217 мг (85%) продукта **123** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.84-7.68 (м, 1H, C(O)NH), 7.41-6.83 (м, 17H, C(O)NH+Ar), 6.71 (уш с, 2H, C(O)NH), 6.00-5.52 (м, 2H, NH), 4.57-4.40 (м, 3H, ArC$\underline{H_2}$+ C$\underline{H_2}$), 4.40-4.25 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.44-2.97 (м, 10H, CH_2), 2.97-2.74 (м, 2H, CH_2), 2.13-1.98 (м, 1H, CH_2), 1.91-1.85 (м, 1H, CH_2), 1.85-1.50 (м, 9H, CH_2), 1.47-1.37 (м, 27H, t-Bu), 1.24-1.05 (м, 4H, CH_2)

ESI-LCMS для $C_{62}H_{88}ClFN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1219.63, найдено: 1219.65;m/z рассчитано для $[M+Na^+]$: 1241.61, найдено: 1241.60

Синтез (3S,7S,2S,28S)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(4-хлор-3-фтор-бензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата (124)

К раствору (156 мг, 0.210 ммоль) соединения **90** в 10 мл ДХМ добавили 22 мг (0,221 ммоль) янтарного ангидрида и (55 мкл, 0.318 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ. Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили (63 мг, 0.120 ммоль) дипептида **99**, (14 мг, 0.100 ммоль) HOBт, (57 мг, 0.150 ммоль) HBTU, (21 мкл, 0.120 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 217 мг (85%) продукта **124** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):
7.84-7.30 (м, 10H, C(O)NH), 7.24-6.63 (м, 13H, C(O)NH+Ar), 7.12-7.07 (м, 1H, C(O)NH), 6.65 (уш с, 1H, C(O)NH), 5.65-5.60 (м, 2H, NH), 4.63-4.38 (м, 3H, ArC$\underline{H_2}$+ C$\underline{H_2}$), 4.37-4.18 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 3.42-2.99 (м, 9H, CH_2), 2.87-2.96 (м, 2H, CH_2), 2.83-2.63 (м, 2H, CH_2), 2.63-2.12 (м, 7H, CH_2), 2.03-1.95 (м, 1H, CH_2), 1.90-1.78 (м, 1H, CH_2), 1.76-1.50 (м, 7H, CH_2), 1.50-1.33 (м, 28H, t-Bu+CH_2), 1.33-1.26 (м, 3H, CH_2)

ESI-HRMS для $C_{62}H_{88}ClFN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1235.6278, найдено: 1235.6246.

Синтез (3S,7S,2R,28R)-три-*трет*-бутил-33-азидо-25-бензил-12-(4-хлор-3-фтор-бензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикоарбоксилата (125)

К раствору (159 мг, 0.210 ммоль)соединения **90** в 10 мл ДХМ добавили (22 мг, 0.22 ммоль) янтарного ангидрида и (55 мкл, 0.318 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 часа. Далее добавили 5 мл метанола и перемешивали 30 минут. Далее удалили растворитель при пониженном давлении и растворили сухой остаток в 20 мл ДХМ.

Раствор промыли трижды 10 мл 0,1 М раствора HCl. Органическую фракцию высушили над Na_2SO_4 и упарили. Сухой остаток растворили в 10 мл ДМФА и добавили (60 мг, 0.114 ммоль) дипептида **102**, (17 мг, 0.114 ммоль) HOBt, (43 мг, 0.114 ммоль) HBTU, (26 мкл, 0.152 ммоль) DIPEA. Смесь перемешивали 24 ч. Далее удалили растворитель при пониженном давлении. Продукт выделяли с помощью метода колоночной хроматографии (Puriflash 50μ 4g, элюент: система петролейный эфир/этилацетат => этилацетат/метанол, от 5% EtOAc до 100% EtOAc в течение 15 минут, 100% EtOAc в течение 1 минуты, от 0% метанола до 100% метанола в течение 5 минут, 100% метанола в течение 5 минут). Элюента для ТСХ – EtOAc/MeOH = 5:1. Получили 93 мг (36%) продукта **125** в виде желтоватого маслянистого вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

7.96 (с, 1Н, C(O)NH), 7.33 (м, 1Н, C(O)NH), 7.15-7.06 (м, 7Н, C(O)NH + ArH), 6.87 (м, 5Н, C(O)NH+ArH), 6.70 (с, 3Н, C(O)NH+ArH), 5.78 (м, 2Н, NH(мочевина)), 4.45 (м, 3Н, Ar$C\underline{H_2}$NC(O)), 4.31 (м, 2Н, CH, CH), 3.32-3.10 (м, 9Н, CH_2), 2.93-2.84 (м, 5Н, CH_2Ar), 2.29 (м, 6Н, CH_2), 1.83 (м, 2Н, CH_2), 1.55 (м, 8Н, CH_2), 1.41-1.39 (с, 27Н, t-Bu).

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):

174.10 ($\underline{C}$(O)NR_2), 173.07 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.80 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 172.64 ($\underline{C}$(O)OCMe_3), 169.08 (Ph$C\underline{H_2}$NC(O)), 162.86 (Ph$C\underline{H_2}$NC(O)), 156.77 (NH$\underline{C}$(O)NH), 157.02 (NH$\underline{C}$(O)NH), 130.66 (Ar), 130.61 (Ar), 130.27 (Ar), 130.17 (Ar), 129.31 (Ar), 129.26 (Ar), 129.22 (Ar), 129.01 (Ar), 128.69 (Ar), 128.63 (Ar), 128.55 (Ar), 128.48 (Ar), 81.96 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.83 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 81.74 (C(O)O$\underline{C}Me_3$), 53.38 (CH), 53.16 (CH), 52.98 (CH), 52.84 (CH), 50.45 (CH_2NR_2), 41.44 (CH_2Ar), 46.96 (CH_2Ar), 46.13 (CH_2N_3), 45.50 (CH_2N_3), 41.53 (CH_2), 32.93 (CH_2), 32.85 (CH_2), 32.69 (CH_2), 32.07 (CH_2), 31.87 (CH_2), 31.67 (CH_2), 29.68 (CH_2), 28.42 (CH_2), 28.34 (CH_2), 28.07 (C(O)OC$\underline{Me_3}$), 28.02 (C(O)OC$\underline{Me_3}$), 27.99 (C(O)OC$\underline{Me_3}$), 26.75 (CH_2), 26.41 (CH_2), 26.29 (CH_2), 26.15 (CH_2), 24.94 (CH_2), 24.70 (CH_2), 22.42 (CH_2), 22.35 (CH_2).

ESI-LCMS для $C_{62}H_{88}ClFN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M-H]^-$ 1233.37, найдено: 1233.50

Синтез (3S,7S,23S,26S)-31-азидо-12,23,26-трибензил-5,13,18,21,24,27-гексаоксо-4,6,12,17,22,25,28-гептаазахентриасонтан 1,3,7-триовой кислоты (126)

Из соединения **105** (34 мг, 0,0298 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **126** с выходом 83 % (24 мг, 0.025 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

8.25-8.27 (м, 1H, NH), 8.15 (т, J = 7.8 Гц, 1H, NH), 7.96-7.97 (м, 1H, NH), 7.61-7.62 (м, 1H, NH), 7.16-7.32 (м, 15H, Ar), 6.33 (д, J = 8.7 Гц, 1H, CH_2Ar), 6.28 (д, J = 8.4 Гц, 1H, CH_2Ar), 4.48 (д, J = 13.6 Гц, 2H, CH), 4.37-4.39 (м, 1H, CH), 4.31 (м, 1H, CH_2), 4.04-4.09 (м, 2H, CH), 4.00-4.03 (м, 1H, CH_2), 3.16-3.22 (м, 4H, CH_2), 3.02-3.12 (м, 7H, CH_2), 2.18-2.36 (м, 7H, CH_2), 1.89-1.91 (м, 1H, CH_2), 1.56-1.72 (м, 6H, CH_2), 1.44-1.49 (м, 3H, CH_2), 1.16-1.22 (м, 3H, CH_2)

ИК-спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 3305.87 (NH), 3086 (C-$H_{вал}$), 2959.79 (Ar), 2098.17 (N_3), 1702.84 (C(O)), 1641.61 (C(O) (мочевина)), 1536.51 (C(O)).

ESI-HRMS для $C_{48}H_{62}N_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 971.4577, найдено: 971.4642

Синтез (3S,7S,25S,28S)-33-азидо-12,25,28-трибензил-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбоновая кислота (127)

Из соединения **106** (40 мг, 0,034 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **127** с выходом 94 % (32 мг, 0.032 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.43 (уш.с, 3H, COOH), 8.30 (д, 1H, J=7.2 Гц, C(O)NH), 8.17 (м, 1H, C(O)NH), 7.93 (м, 1H, C(O)NH), 7.58 (м, 1H, C(O)NH), 7.40-7.10 (м, 16H, C(O)NH + Ar), 6.30 (м, 2H, NH(мочевина)), 4.54-4.43 (м, 2H, ArC$\underline{H_2}$), 4.45-4.22 (м, 2H, CH (Phe)), 4.13-3.96 (м, 2H, CH (Glu, Lys)), 4.08 (м, 2H, CH, CH), 3.26-2.83 (м, 11H, CH_2), 2.81-2.57 (м, 2H, CH_2), 2.41-2.08 (м, 7H, CH_2), 1.89 (м, 1H, CH_2), 1.70 (м, 1H, CH_2), 1.65-1.33 (м, 8H, CH_2), 1.33-1.11 (м, 5H, CH_2)

ИК спектр 3316 (NH), 3086 (C-$H_{вал}$), 2935 (Ar), 2102 (N_3), 1729 (C(O)), 1644 (C(O) (мочевина)), 1551 (C(O)), 1293 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{66}N_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 999.4934, найдено: 999.4906

Синтез (3S,7S,25S,28S)-33-азидо-25,28-бензил-12-(4-бромбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-трикарбовой кислоты (128)

Из соединения **107** (23 мг, 0,018 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **128** с выходом 85 % (17 мг, 0.015 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.43 (уш. с, 2H, COOH), 8.30-8.38 (м, 1H, CH(Ph)), 8.08-8.19 (м, 1H, CH(Ph)), 7.53 (д, J = 8.1 Гц, 1H, CH(Ph)), 7.48 (д, J = 7.7 Гц, 1H, CH(Ph)), 7.19-7.27 (м, 5H, CH(Ph)), 7.07-7.16 (M, 5H, CH(Ph)), 6.27-6.34 (м, 2H, NH), 4.49 (с, 1H, CH_2(Bz)), 4.43 (с, 1H, CH_2(Bz)),

4.37-4.39 (м, 1H, CH), 4.28-4.39 (м, 2H, CH), 4.01-4.09 (м, 2H, CH), 3.34-3.39 (м, 6H, CH_2), 3.22-3.26 (м, 2H, CH_2), 3.13-320 (м, 2H, CH_2), 2.88-3.09 (м, 6H, CH_2), 2.72-2.79 (м, 1H, CH_2), 2.52-2.67 (м, 1H, CH_2), 2.28-2.35 (м, 2H, CH_2), 2.18-2.25 (м, 4H, CH_2), 1.88-1.91 (м, 1H, CH_2), 1.66-1.76 (м, 1H, CH_2), 1.54-1.61 (м, 3H, CH_2), 1.36-1.49 (м, 6H, CH_2), 1.14-1.30 (м, 4H, CH_2)

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 1639 (NHC(O)NH), 2097 (N_3)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}BrN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1077.4040, найдено: 1077.4022.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-33-азидо-25-бензил-12-(4-бромбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбовой кислоты (129)

Из соединения **108** (60 мг, 0,048 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **129** с выходом 37% (40 мг, 0.057 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.36 (уш.с, 3H, COOH), 8.30 (дд, 1H, C(O)NH), 8.17 (дд, 1H, C(O)NH), 7.79 (м, 1H, C(O)NH), 7.59-7.47 (м, 3H, C(O)NH+ArH), 7.21-7.09 (м, 14H, ArH), 6.29 (м, 2H, NH(мочевина)), 4.49 (с, 1H, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.42 (с, 1H, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.07 (м, 1H, CH, CH), 4.42 (с, 2H, CH_2Ar), 4.39-4.27 (м, 2H, CH_2Ar), 3.22-2.88 (м, 2H, CH_2), 2.76-2.58 (м, 2H, CH_2), 2.31-2.21 (м, 2H, CH_2), 1.89 (с, 1H, CH_2), 1.22 (м, 18H, C$\underline{H_2}$CH)

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

207.79 (COOH), 174.55 ($\underline{C}$(O)NR_2), 174.13 ($\underline{C}$(O)NR_2), 173.10 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 172.48 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 171.97 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 171.49 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 157.66 (NH$\underline{C}$(O)NH), 138.37 (Ar), 131.99 (Ar), 131.94 (Ar), 131.60 (Ar), 130.11 (Ar), 129.86 (Ar), 129.57 (Ar), 129.41 (Ar), 129.40 (Ar), 128.57 (Ar), 128.46 (Ar), 126.70 (Ar), 52.06 (CH), 50.95 (CH), 48.63 (CH_2NR_2), 48.55 (CH_2Ar), 47.40 (CH_2Ar), 38.10 (CH_2), 37.44 (CH_2), 36.28 (CH_2), 34.37 (CH_2), 33.28 (CH_2), 33.72 (CH_2), 30.90 (CH_2), 29.11 (CH_2), 28.56 (CH_2), 28.14 (CH_2), 27.78 (CH_2), 25.12 (CH_2), 17.61 (CH_2), 15.68 (CH_2), 14,38 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}BrN_{10}O_{12}$ m/z рассчитано для $[M+H]^+$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1077.4084, найдено: 1077.4084.

Синтез (3S, 7S, 25R, 28R)-33-азидо-25-бензил-12-(4-бромбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5, 13, 20, 23, 26, 29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-триокарбоновой кислоты (130)

Из соединения **109** (90 мг, 0,071 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **130** с выходом 77 % (37 мг, 0.055 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.42 (уш.с, 3Н, COOH), 9.17 (уш.с, 1Н, OH) 8.38-8.20 (м, 1Н, C(O)NH), 8.15-8.00 (м, 1Н, C(O)NH), 7.99-7.85 (м, 1Н, C(O)NH), 7.83-7.67 (м, 1Н, C(O)NH), 7.61-7.43 (м, 2Н, Ar), 7.35-7.04 (м, 9Н, Ar), 7.04-6.92 (м, 2Н, Ar), 6.40 -6.20 (м, 2Н, NH(мочевина)), 4.53-4.39 (м, 2Н, $ArCH_2$), 4.37-4.23 (м, 2Н, CH) 4.17-3.95 (м, 2Н, CH), 3.28-2.55 (м, 13Н, CH_2), 2.42-2.10 (м, 9Н, CH_2), 1.98-1.82 (м, 1Н, CH_2), 1.70-1.34 (м, 8Н, CH_2), 1.32-1.10 (м, 5Н, CH_2).

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.9 (COOH), 174.6 (C(O)NH), 174.2 (C(O)NH), 172.5 (C(O)NH) 171.5 (C(O)NH), 157.7 (C(O) (мочевина)), 138.5 (Ar), 132.0 (Ar),131.7 (Ar), 130.5 (Ar), 130.4 (Ar), 130.1 (Ar), 129.6 (Ar), 129.5 (Ar), 129.1 (Ar), 128.5 (Ar), 128.4 (Ar), 115.4 (Ar), 115.3 (Ar), 55.2 (CH), 54.8 (CH), 52.1 (CH), 48.7 (CH), 48.6 (CH), 37.2 (CH2), 36.3 (CH_2), 32.2 (CH_2), 31.1 (CH_2), 30.4 (CH_2), 29.5 (CH_2), 28.7 (CH_2), 28.2 (CH_2), 28.0 (CH_2), 22.9 (CH_2).

ИКспектр (ZnSe, $см^{-1}$): 3313 (NH), 3088 (C-H вал), 2937 (Ar), 2100 (N3), 1728 (C(O)), 1643 (C(O)), 1554 (C(O)), 1296 (Ar).

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}BrN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1095.3968, найдено: 1095.4030.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-33-азидо-25-бензил-12-(4-бромбензил)-28-(3-бром-4-гидроксобензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикарбоксильной кислоты (131)

Из соединения **110** (49 мг, 0,036 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **131** с выходом 88 % (38 мг, 0.032 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.42 (уш.с, 3Н, COOH), 9.98 (уш.с, 1Н, OH) 8.40-8.21 (м, 1Н, C(O)NH), 8.21-8.01 (м, 1Н, C(O)NH), 8.00-7.85 (м, 1Н, C(O)NH), 7.84-7.60 (м, 1Н, C(O)NH), 7.58-7.43 (м, 2Н, Ar), 7.41-7.04 (м, 9Н, Ar), 7.04-6.95 (м, 1Н, Ar), 6.88 -6.76 (м, 1Н, Ar), 6.43 -6.19 (м, 2Н, NH(мочевина)), 4.54-4.22 (м, 4Н, $ArCH_2$ + CH), 4.18-3.90 (м, 2Н, CH), 3.32-2.51 (м, 13Н, CH2), 2.42-2.09 (м, 8Н, CH_2), 1.90-1.82 (м, 1Н, CH_2), 1.77-1.35 (м, 8Н, CH_2), 1.31- 1.11(м, 5Н, CH_2).

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.6 (C(O)NH), 174.2 (C(O)NH), 171.5 (C(O)NH), 157.7 (C(O) (мочевина)), 138.5 (Ar), 138.4 (Ar),133.8 (Ar), 132.0 (Ar), 131.7 (Ar), 130.6 (Ar), 130.2 (Ar), 129.6 (Ar), 129.1 (Ar), 128.4 (Ar), 54.7 (CH), 52.1 (CH), 48.7 (CH), 48.6 (CH), 36.3 (CH_2), 32.3 (CH_2), 32.2 (CH_2), 31.2 (CH_2), 31.1 (CH_2), 30.3 (CH_2), 29.5 (CH_2), 28.7 (CH_2), 28.0 (CH_2), 25.05 (CH_2).

ИКспектр (ZnSe, $см^{-1}$): 3313 (NH), 3086 (C-H вал), 2937 (Ar), 2100 (N_3), 1724 (C(O)), 1643 (C(O)), 1554 (C(O)), 1290 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{64}Br_2N_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1073.3073, найдено: 1073.3143.

Синтез (3S,7S,25S,28S)-33-азидо-25-бензил-12-(4-бромбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбовой кислоты (132)

Из соединения **111** (66 мг, 0.055 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **132** с выходом 70 % (52 мг, 0.038 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.52 (уш.с, 3H, COOH), 8.31 (с, 1H, C(O)NH), 8.09 (с, 1H, C(O)NH), 7.91 (с, 1H, C(O)NH), 7.79 (с, 1H, C(O)NH), 7.54-7.47 (с, 2H, C(O)NH + Ar), 7.54-7.47 (с, 2H, C(O)NH + Ar), 7.15 (м, 7H, C(O)NH+ArH), 6.30 (м, 1H, NH(мочевина)), 4.51-4.43 (м, 4H, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.08 (м, 2H, CH, CH), 3.26-2.93 (м, 8H, CH_2Ar), 2.71 (м, 2H, CH_2Ar), 2.22 (м, 6H, CH_2), 2.19 (м, 4H, CH_2), 1.90 (с, 1H, CH_2), 1.47 (м, 9H, CH_2), 1.16 (м, 5H, C$\underline{H_2}$CH).

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

207.18 (COOH), 174.92 ($\underline{C}$(O)NR_2), 174.63 ($\underline{C}$(O)NR_2), 174.19 ($\underline{C}$(O)NR_2), 174.55 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 172.48 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 171.49 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 171.30 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 157.71 (NH$\underline{C}$(O)NH), 138.47 (Ar), 138.74 (Ar), 131.98 (Ar), 131.66 (Ar), 130.54 (Ar), 130.36 (Ar), 130.15 (Ar), 129.60 (Ar), 129.47 (Ar), 129.08 (Ar), 128.50 (Ar), 128.42 (Ar), 126.68 (Ar), 54.04 (CH), 52.08 (CH), 48.66 (CH_2NR_2), 36.27 (CH_2), 32.34 (CH_2), 32.21 (CH_2), 31.07 (CH_2), 30.33 (CH_2), 29.47 (CH_2), 28.55 (CH_2), 27.97 (CH_2), 26.68 (CH_2), 25.14 (CH_2).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 3311 (NH), 2935 (Ar), 2100 (N_3), 1643 (C(O)NH), 1292 (Ar), 700 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}BrN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1091.3832, найдено: 1091.3823.

Синтез (3S,7S,25S,28S)-33-азидо-25,28-бензил-12-(4-хлорбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-трикарбовой кислоты (133)

Из соединения **112** (57 мг, 0.028 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **133** с выходом 100 % (49 мг, 0.028 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.36 (уш. с, 2H, COOH), 8.29-8.37 (м, 1H, NH), 8.17 (д, J = 7.6 Гц, 1H, NH), 8.02-8.10 (м, 1H, NH), 7.93 (м, 1H, NH), 7.40 (д, J = 8.2 Гц, 1H, Ar), 7.34 (д, J = 7.9 Гц, 1H, Ar), 7.23-7.25

(м, 2H, Ar), 7.19-7.21 (м, 5H, Ar), 7.17 (м, 3H, Ar), 6.27-6.33 (м, 1H, NH), 4.51 (с, 1H, CH_2(Bz)), 4.44 (с, 1H, CH_2(Bz)), 4.29-4.40 (м, 2H, CH), 4.03-4.08 (м, 2H, CH), 3.44-3.60 (м, 4H, CH_2), 3.18-3.26 (м, 3H, CH_2), 3.12-3.15 (м, 2H, CH_2), 3.02-3.06 (м, 2H, CH_2), 2.89-3.00 (м, 3H, CH_2), 2.74-2.79 (м, 1H, CH_2), 2.56-2.67 (м, 1H, CH_2), 2.28-2.32 (м, 3H, CH_2), 2.22-2.26 (м, 4H, CH_2), 1.90-1.91 (м, 1H, CH_2), 1.69-1.72 (м, 1H, CH_2), 1.58-1.60 (м, 3H, CH_2), 1.36-1.49 (м, 5H, CH_2), 1.18-1.26 (м, 8H, CH_2)

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.85 (C(O)OH), 174.57 (C(O)OH), 172.41 (C(O)OH), 172.25 (C(O)OH), 171.97 (C(O)OH), 171.66 (C(O)OH), 171.50 (C(O)OH), 171.43 (C(O)N), 157.66 (C(O) мочевина), 138.45 (Ar), 138.38 (Ar), 138.45, 130.38 (Ar), 137.51 (Ar), 132.06, 131.81 (Ar), 129.74 (Ar), 129.58 (Ar), 129.52 (Ar), 129.41 (Ar), 128.70, 128.57 (Ar), 128.46 (Ar), 128.37 (Ar), 54.81 (CH), 54.72 (CH), 54.00 (CH), 52.61, 52.49 (CH), 52.05 (CH), 48.64, 48.54 (CH_2), 46.74 (CH_2), 42.26 (CH_2), 38.93 (CH_2), 37.99 (CH_2), 37.20 (CH_2), 36.26 (CH_2), 32.20, 32.19 (CH_2), 31.09, 31.05 (CH_2), 30.31 (CH_2), 29.49 (CH_2), 28.59 (CH_2), 28.55 (CH_2), 28.14 (CH_2), 27.95 (CH_2), 26.65 (CH_2), 26.57 (CH_2), 25.11 (CH_2), 24.98 (CH_2), 22.74 (CH_2), 19.24 (CH_2).

ИКспектр (ZnSe, см$^{-1}$): 3291 (NH), 3062 (C-$H_{вал}$), 2930 (Ar), 2097 (N_3), 1722 (C(O)), 1639 (C(O) (мочевина)), 1552 (C(O)), 1252 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}ClN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1035.4545, найдено: 1035.4545; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$: 1056.4364, найдено: 1056.4421.

Синтез (3S,7S,25S,28S)-33-азидо-25-бензил-12-(4-хлорбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбовой кислоты (134)

Из соединения **113** (62 мг, 0.051 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **134** с выходом 99 % (53 мг, 0.050 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.40 (уш. с, 3H, COOH), 8.74-8.81 (м, 1H, NH), 8.09-8.21 (м, 2H, NH), 7.79 (м, 1H, NH), 7.41 (д, J = 8.2 Гц, 1H, Ar), 7.35 (д, J = 8.2 Гц, 1H, Ar), 7.27-7.29 (м, 1H, Ar), 7.20-7.23 (м, 5H, Ar), 6.99 (д,J = 7.6 Гц, 2H, Ar), 6.62-6.66 (м, 1H, Ar), 6.29-6.35 (м, 2H, Ar), 4.53 (с, 1H, CH_2Ar), 4.46 (с, 1H, CH_2Ar), 4.39-4.41 (м, 1H, CH), 4.03-4.09 (м, 3H, CH), 3.14-3.21 (м, 4H, CH_2), 2.95-3.04 (м, 5H, CH_2), 2.54-2.63 (м, 1H, CH_2), 2.49 (м, 6H, CH_2), 2.38-2.40 (м, 2H, CH_2), 2.32-2.35 (м, 1H, CH_2), 2.20-2.29 (м, 4H, CH_2), 1.90-1.92 (м, 1H, CH_2), 1.67-1.72 (м, 1H, CH_2), 1.57-1.60 (м, 2H, CH_2), 1.44-1.55 (м, 4H, CH_2), 1.36-1.40 (м, 2H, CH_2), 1.15-1.30 (м, 5H, CH_2)

Спектр ЯМР^{13}С (100 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.68 (C(O)OH), 174.57 (C(O)OH), 172.45 (C(O)OH), 172.22 (C(O)OH), 171.95 (C(O)OH), 171.58 (C(O)OH), 171.37, 171.26 (C(O)N), 157.67 (C(O) мочевина), 156.21 (C(O) мочевина), 138.40 (Ar), 138.00 (Ar), 130.49 (Ar), 130.33 (Ar), 129.74 (Ar), 129.55 (Ar), 129.43 (Ar), 129.02 (Ar), 128.70 (Ar), 128.45 (Ar), 128.37 (Ar), 127.79 (Ar), 126.63 (Ar), 115.36 (Ar), 115.25 (Ar), 65.34 (CH), 55.20 (CH), 54.72 (CH) 52.50 (CH), 52.05 (CH_2), 51.69 (CH_2), 48.63, 48.56 (CH_2), 47.11 (CH_2), 37.62, 37.22 (CH_2), 36.24 (CH_2), 32.72 (CH_2), 32.31, 32.19 (CH_2), 31.07 (CH_2), 30.31 (CH_2), 29.43 (CH_2), 28.61, 28.57 (CH_2), 28.01, 27.95 (CH_2), 26.69 (CH_2), 25.11, 24.98 (CH_2), 22.90 (CH_2),15.59 (CH_2).

ИК-спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 3238 (NH), 3066 (C-$H_{вал}$), 2931 (Ar), 2097 (N_3), 1722 (C(O)), 1643 (C(O) (мочевина)), 1548 (C(O)), 1205 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}ClN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$: 1049.4494, найдено: 1049.4565.

Синтез (3S, 7S, 25R, 28R)-33-азидо-25-бензил-12-(4-хлорбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5, 13, 20, 23, 26, 29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриаконтан-1, 3, 7-триокарбоновой кислоты (135)

Из соединения **114** (35 мг, 0,028 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **135** с выходом 90 % (27 мг, 0.025 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.35 (уш. с, 3Н, COOH), 9.22 (д, J = 17 Гц, 1Н, NH), 8.81-8.74 (м, 1Н, NH), 8.21-8.09 (м, 2Н, NH), 7.79 (м, 1Н, NH), 7.41 (д, J = 8.2 Гц, 1Н, Ar), 7.35 (д, J = 8.2 Гц, 1Н, Ar), 7.29-7.27 (м, 1Н, Ar), 7.23-7.20 (м, 5Н, Ar), 6.99 (д, J = 7.6 Гц, 2Н, Ar), 6.66-6.62 (м, 1Н, Ar), 6.35 - 6.29 (м, 2Н, Ar), 4.53 (с, 1Н, CH_2(Bz)), 4.46 (с, 1Н, CH_2(Bz)), 4.41-4.39(м, 1Н, CH), 4.09-4.03 (м, 3Н, CH), 3.21-3.14 (м, 4Н, CH_2), 3.04-2.95 (м, 5Н, CH_2), 2.63 -2.54 (м, 1Н, CH_2), 2.49 (м, 6Н, CH_2), 2.40-2.38 (м, 2Н, CH_2), 2.35-2.32 (м, 1Н, CH_2), 2.29-2.20 (м, 4Н, CH_2), 1.90-1.92 (м, 1Н, CH_2), 1.72-1.67 (м, 1Н, CH_2), 1.60-1.57 (м, 2Н, CH_2), 1.55-1.44 (м, 4Н, CH_2), 1.40-1.436 (м, 2Н, CH_2), 1.30-1.15 (м, 5Н, CH_2)

ИК-спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 3305.97 (NH), 3159.79 (C-$H_{вал}$), 2934.16 (Ar), 2098.17 (N_3), 1702.84 (C(O)), 1649.20 (C(O) (мочевина)), 1536.51 (C(O)), 1200.47 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}ClN_{10}O_{13}$: м/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1051.4464, найдено 1051.4419.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-33-азидо-25-бензил-12-(4-хлорбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбовой кислоты (136)

Из соединения **115** (35 мг, 0.029 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **136** с выходом 76 % (23 мг, 0.022 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-д6, δ, м.д.):

12.46 (уш.с., 2Н, COOH), 8.29-8.34 (м, 1Н, NH), 8.07-8.14 (м, 2Н, NH), 7.92 (м, 1Н, NH), 7.78 (м, 1Н, NH), 7.58 (м, 1Н, NH), 7.39 (м, 1Н, Ar), 7.33 (м, 1Н, Ar), 7.21 (м, 10Н, Ar), 7.08 (м, 1Н, Ar), 6.28-6.31 (м, 1Н, Ar), 4.39-4.51 (м, 4Н, CH+CH_2(Ar)), 4.08 (м, 3Н, CH), 3.74 (м, 8Н, CH_2), 3.14-3.24 (м, 5Н, CH_2), 2.97-3.06 (м, 5Н, CH_2), 2.65-2.76 (м, 2Н, CH_2), 2.21-2.31 (м, 6Н, CH_2), 1.91 (м, 1Н, CH_2), 1.49-1.70 (м, 8Н, CH_2), 1.22 (м, 4Н, CH_2) (Рисунок 1.276)

ИК-спектр (ZnSe, см$^{-1}$): 3311 (NH), 3064 (C-$H_{вал}$), 2935 (Ar), 2100 (N_3), 1725 (C(O)), 1644 (C(O) (мочевина)), 1554 (C(O)), 1201 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}ClN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1033.4545, найдено 1033.4596

Синтез (3S,7S,25S,28S)-33-азидо-25,28-дибензил-12-(3-хлорбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбоновой кислоты(137)

Из соединения **116** (77 мг, 0.064 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **137** с выходом 84% (56 мг, 0.054 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

8.45-8.25 (м, 1Н, C(O)NH), 8.21-8.05 (м, 1Н, C(O)NH), 8,00-7.85 (м, 1Н, C(O)NH), 7.83-7.50 (м, 1Н, C(O)NH), 7.40-7.00 (м, 14Н, Ar), 6.39-6.21 (с, 2Н, NH(мочевина)), 4.58-4.40 (м, 2Н, PhC<u>H</u>$_2$), 4.44-4.22 (м, 2Н, CH), 4.15-3.98 (м, 2Н, CH), 3.29-2.83 (м, 11Н, CH_2), 2.82-2.51 (м, 2Н, CH_2), 2.41-2.08(м, 7Н, CH_2), -1.98-1.84 (м, 1Н, CH_2), 1.76-0.93 (м, 17Н, C<u>H</u>$_2$)

Спектр ЯМР ^{13}С (90 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.91 (<u>C</u>(O)NH), 174.62 (<u>C</u>(O)NH), 174.18 (<u>C</u>(O)NH), 138.42 (Ar), 133.48 (Ar), 130.67 (Ar), 129.56 (Ar), 129.45 (Ar), 128.61 (Ar), 128.50 (Ar), 128.42 (Ar), 127.62 (Ar), 127.62 (Ar), 127.26 (Ar), 126.74 (Ar), 126.51 (Ar), 85.05 (CH), 54.76 (CH), 52.08 (CH), 48.57 (CH), 45.79 (CH), 36.29 (CH_2), 32.30 (CH_2), 31.13 (CH_2), 30.33 (CH_2), 28.58 (CH_2), 27.98 (CH_2), 26.67 (CH_2), 13.03 (CH_2)

ИКспектр(ZnSe, см$^{-1}$): 3311 (NH), 3087 (C-H вал), 2935 (Ar), 2100 (N_3), 1727 (C(O)), 1645 (C(O) (мочевина)), 1556 (C(O)), 1292 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}ClN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1033.4545, найдено: 1033.4591.

Синтез 52(3S,7S,25S,28S)-33-азидо-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-28-(4-гидроксобензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикарбоксильной кислоты(138)

Из соединения **117** (109 мг 0.089 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **138** с выходом 80 % (75 мг, 0.071 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.33 (уш.с, 3Н, С(О)ОН), 8.28 (с, 1Н, С(О)NH), 8.07 (с, 1Н, С(О)NH), 7.89 (с, 1Н, С(О)NH), 7.78-7.55 (м, 2Н, С(О)NH+ArH), 7.30-6.99 (м, 13Н, С(О)NH+ArH), 6.67-6.62 (м, 2Н, С(О)NH+ArH), 6.29 (м, 2Н, NH(мочевина)), 4.54 (с, 1Н, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.46 (с, 1Н, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.08 (м, 2Н, CH, CH), 3.62-3.37 (м, 4Н, CH_2Ar), 3.51 (м, 9Н, CH_2), 3.26-2.93 (м, 2Н, CH_2Ar), 3.26-2.99 (м, 16Н, CH_2), 2.22 (м, 8Н, CH_2), 1.90 (с, 1Н, CH_2), 1.24 (м, 18Н, C$\underline{H_2}$CH)

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, ДМСО-d6, м.д.):

175.27 (С(О)ОН), 174.98 ($\underline{C}$(O)NR_2), 174.56 ($\underline{C}$(O)NR_2), 171.85 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 172.98 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 172.37 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 171.87 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 158.09 (NH$\underline{C}$(O)NH), 138.82 (Ar), 131.39 (Ar), 131.04 (Ar), 130.90 (Ar), 130.75 (Ar), 129.96 (Ar), 129.83 (Ar), 128.87 (Ar), 128.79 (Ar), 127.99 (Ar), 127.63 (Ar), 125.08 (Ar), 126.87 (Ar), 115.77 (Ar), 54.41 (CH), 52.46 (CH), 49.04 (CH_2NR_2), 48.96 (CH_2Ar), 47.76 (CH_2Ar), 42.67 (CH_2), 36.65 (CH_2), 32.67 (CH_2), 30.72 (CH_2), 29.90 (CH_2), 29.02 (CH_2), 28.59 (CH_2), 28.36 (CH_2), 27.04 (CH_2), 25.53 (CH_2), 18.89 (CH_2), 17.53 (CH_2), 13.30 (CH_2)

ИКспектр(ZnSe, см$^{-1}$): 3314 (NH), 2932 (Ar), 2099 (N_3), 1642 (С(О) (мочевина), 1291 (Ar), 699 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}ClN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1050.4527, найдено: 1050.4583.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-33-азидо-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-5, 13, 20,23,26,29-гексаоксо-4, 6, 12, 19, 24, 27, 30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикарбоксильной кислоты (139)

Из соединения **118** (66 мг 0.055 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **139** с выходом 70 % (52 мг, 0.038 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.44 (уш.с, 3Н, СООН), 8.78 (с, 1Н, С(О)NH), 8.33 (с, 3Н, С(О)NH + Ar), 7.78 (с, 1Н, С(О)NH), 7.18 (м, 14Н, С(О)NH+ArH), 6.27 (м, 1Н, NH(мочевина)), 4.51-4.35 (м, 4Н,

PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.05 (м, 2H, CH, CH), 3.19-3.13 (м, 4H, CH_2Ar), 3.10-2.78 (м, 2H, CH_2Ar), 2.30 (м, 4H, CH_2), 2.19 (м, 4H, CH_2), 1.87 (с, 2H, CH_2), 1.47 (м, 9H, CH_2), 1.21 (м, 6H, C$\underline{H_2}$CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО-d6, м.д.):

186.35 (C(O)OH), 174.97 ($\underline{C}(O)NR_2$), 174.54 ($\underline{C}(O)NR_2$), 171.84 ($\underline{C}(O)NR_2$), 171.84 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 169.59 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 167.01 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 158.07 (NH$\underline{C}$(O)NH), 138.81 (Ar), 131.01 (Ar), 129.97 (Ar), 129.92 (Ar), 129.80 (Ar), 128.96 (Ar), 128.87 (Ar), 128.79 (Ar), 127.99 (Ar), 127.99 (Ar), 127.62 (Ar), 127.09 (Ar), 126.87 (Ar), 55.14 (CH), 52.48 (CH), 49.03 (CH_2NR_2), 49.00 (CH_2Ar), 48.94 (CH_2Ar), 36.70 (CH_2), 36.68 (CH_2), 36.32 (CH_2), 33.10 (CH_2), 32.61 (CH_2), 31.51 (CH_2), 31.46 (CH_2), 31.43 (CH_2), 30.72 (CH_2), 30.56 (CH_2), 29.89 (CH_2), 29.56 (CH_2), 29.10 (CH_2), 29.01 (CH_2), 28.95 (CH_2), 28.60 (CH_2), 28.37 (CH_2), 27.02 (CH_2), 25.52 (CH_2), 23.12 (CH_2).

ИКспектр(ZnSe, см$^{-1}$): 3315.03 (NH), 2933.20 (Ar), 2100.10 (N_3), 1643.05 (C(O) (мочевина)), 1292.07 (Ar), 700.03 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}ClN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1035.4945, найдено: 1035.4585

Синтез(3S,7S,25R,28R)-33-азидо-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-28-(4-гидроксобензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикарбоксильной кислоты(140)

Из соединения **119** (72 мг 0.089 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **140** с выходом 84 % (52 мг, 0.075 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.44 (уш.с, 3H, COOH), 8.26 (с, 1H, C(O)NH), 8.06 (с, 1H, C(O)NH), 7.87 (с, 1H, C(O)NH), 7.26-6.97 (м, 16H, C(O)NH+ArH), 6.60 (м, 1H, C(O)NH+ArH), 6.27 (м, 1H, NH(мочевина)), 4.44-4.28 (м, 3H, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.05 (м, 2H, CH, CH), 3.50 (м, 4H, CH_2Ar), 3.10-2.78 (м, 2H, CH_2Ar), 2.19 (м, 4H, CH_2), 1.87 (с, 1H, CH_2), 1.47 (м, 5H, CH_2), 1.21 (м, 17H, C$\underline{H_2}$CH)

ИК спектр (ZnSe, см$^{-1}$): 3313 (NH), 3070 (C-$H_{вал}$), 2938 (Ar), 2100.10 (N_3), 1646 (C(O) (мочевина)), 1261 (Ar), 700 (CH_2).

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}ClN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1049.4494, найдено: 1049.4496.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-33-азидо-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-28-(3-бром-4-гидроксобензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикарбоксильной кислоты(141)

Из соединения **120** (80 мг 0.061 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **141** с выходом 77 % (53 мг, 0.047 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.)

12.40 (уш.с, 3Н, C(O)OH), 8.38 (с, 1Н, C(O)NH), 8.07 (с, 3Н, C(O)NH + Ar), 7.93 (с, 1Н, C(O)NH), 7.34-7.09 (м, 14Н, C(O)NH+ArH), 6.29-6.26 (м, 1Н, NH(мочевина)), 4.54-4.31 (м, 4Н, PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 4.08-4.05 (м, 2Н, CH, CH), 3.59-3.28 (м, 4Н, CH_2Ar), 3.17-2.71 (м, 2Н, CH_2Ar), 2.21-2.07 (м, 8Н, CH_2), 1.62-1.49 (с, 2Н, CH_2), 1.29-1.24 (м, 9Н, CH_2).

Спектр ЯМР ^{13}С (101 МГц, ДМСО-d6, м.д.):

207.18 (C(O)OH), 203.53 (C(O)OH), 198.85 (C(O)OH), ($\underline{C}$(O)NR_2), 175.27 ($\underline{C}$(O)NR_2), 174.98 ($\underline{C}$(O)NR_2), 174.55 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 172.97 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 171.67 (PhC$\underline{H_2}$NC(O)), 158.07 (NH$\underline{C}$(O)NH), 139.80 (Ar), 138.74 (Ar), 137.90 (Ar), 131.03 (Ar), 130.91 (Ar), 129.96 (Ar), 129.83 (Ar), 128.87 (Ar), 128.74 (Ar), 127.99 (Ar), 127.63 (Ar), 126.94 (Ar), 126.67 (Ar), 55.05 (CH), 52.46 (CH), 48.96 (CH_2NR_2), 36.70 (CH_2), 30.72 (CH_2), 29.91 (CH_2), 29.05 (CH_2), 28.35 (CH_2), 26.96 (CH_2), 25.38 (CH_2), 24.80 (CH_2), 24.01 (CH_2), 23.18 (CH_2), 23.12 (CH_2), 18.78 (CH_2), 18.09 (CH_2), 17.55 (CH_2).

ИКспектр(ZnSe, см$^{-1}$): 3311.18 (NH), 2935.13 (Ar), 2100.10 (N_3), 1643.05 (C(O)NH), 1292.01 (Ar), 700.03 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{65}ClBrN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1131.3690, найдено: 1131.3624; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$ 1152.3476, найдено: 1152.3442.

Синтез (3S,7S,25S,28S)-33-азидо-25,28-дибензил-12-(4-хлоро-2-фторбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатриаконтан-1,3,7-трикарбоновая трикабоновой кислоты(142)

Из соединения **121** (70 мг 0.057 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **142** с выходом 96 % (58 мг, 0.055 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

8.31 (д, 1Н, J=7.1 Гц, C(O)NH), 8.18 (д, 1Н, J=8.3 Гц, C(O)NH), 7,96-7.90 (м, 1Н, C(O)NH), 7,64-7.54 (м, 1Н, C(O)NH), 7,45-7.35 (м, 1Н, Ar), 7.30-7.10 (м, 12Н, Ar),6,36 -6.20 (м, 2Н, NH(мочевина)), 4.58-4.43 (м, 2Н, ArC$\underline{H_2}$), 4.42-4.25 (м, 2Н, C$\underline{H}$), 4.12-3.95 (м, 2Н, C$\underline{H}$), 3.37-

2.83 (м, 12H, CH_2), 2.74-2.58 (м, 1H, CH_2), 2.41-2.08(м, 8H, CH_2), 1.98-1.85 (м, 1H, CH_2), 1.76-1.10 (м, 15H, C$\underline{H}_2$)

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

176.81 (C(O)OH), 174.95 (C(O)OH), 174.61 (C(O)NH), 174.19 (C(O)NH), 173.27 (C(O)NH), 172.02 (C(O)NH), 171.55 (C(O)NH), 171.14 (C(O)NH), 157.70 (C(O) (мочевина)), 138.50 (Ar), 138.42 (Ar), 129.45 (Ar), 128.61 (Ar), 128.50 (Ar), 126.75 (Ar), 126.68 (Ar), 55.36 (CH), 52.59 (CH), 48.57 (CH), 36.29 (CH_2), 32.22 (CH_2), 31.06 (CH_2), 30.34 (CH_2), 29.45 (CH_2), 28.57 (CH_2), 26.65 (CH_2), 25.05 (CH_2)

ИКспектр(ZnSe, см$^{-1}$): 3313 (NH), 3084 (C-$H_{вал)}$, 2932 (Ar), 2098 (N_3), 1726 (C(O)), 1641 (C(O) (мочевина)), 1549 (C(O)), 1290 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{64}ClFN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1052.4484, найдено: 1052.4484

Синтез (3S,7S,25S,28S)-33-азидо-25,28-дибензил-12-(4-хлор-3-фторбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатриаконтан-1,3,7-трикарбоновой кислоты(143)

Из соединения **122** (80 мг 0.066ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **143** с выходом 100 % (68 мг, 0.065 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.43 (уш.с, 3H, COOH), 8.40-8.27 (м, 1H, C(O)NH), 8.22-8.07 (м, 1H, C(O)NH), 7.97-7.89 (м, 1H, C(O)NH), 7.84-7.73 (м, 1H, C(O)NH), 7,62-7.52 (м, 1H, Ar), 7.52-7.45 (м, 1H, Ar), 7.30-6.97 (м, 11H, Ar), 6,36 -6.22 (м, 2H, NH(мочевина)), 4.58-4.43 (м, 2H, ArC$\underline{H}_2$), 4.43-4.20 (м, 2H, C$\underline{H}$), 4.12-3.95 (м, 2H, C$\underline{H}$), 3.30-2.82 (м, 10H, CH_2), 2.83-2.70 (м, 1H, CH_2), 2.70-2.52 (м, 1H, CH_2), 2.41-2.08 (м, 7H, CH_2), 1.98-1.85 (м, 1H, CH_2), 1.80-1.11 (м, 16H, C$\underline{H}_2$)

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.92 (C(O)NH), 174.62 (C(O)NH), 174.19 (C(O)NH), 173.28 (C(O)NH), 172.66 (C(O)NH), 172.31 (C(O)NH), 172.03 (C(O)NH), 171.55 (C(O)OH), 171.48 (C(O)OH), 171.32 (C(O)OH), 171.14 (C(O)OH), 157.71 (C(O) (мочевина)), 156.33 (C(O) (мочевина)), 138.50 (Ar), 138.42 (Ar), 131.30 (Ar), 130.91 (Ar), 129.62 (Ar), 129.56 (Ar), 129.45 (Ar), 128.61 (Ar), 128.50 (Ar), 128.42 (Ar), 126.74 (Ar), 126.68 (Ar), 125.05 (Ar), 125.02 (Ar), 55.36 (CH), 54.76 (CH), 52.53 (CH), 52.09 (CH), 48.65 (CH), 48.58 (CH), 47.39 (CH), 36.29 (CH_2), 32.29 (CH_2), 32.23 (CH_2), 31.03 (CH_2), 30.34 (CH_2), 29.47 (CH_2), 28.62 (CH_2), 28.22 (CH_2), 27.98 (CH_2), 26.68 (CH_2), 25.10 (CH_2), 24.99 (CH_2), 22.91 (CH_2), 22.74 (CH_2), 15.63 (CH_2)

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 3311 (NH), 3086 (C-$H_{вал}$), 2934 (Ar), 2099 (N_3), 1727 (C(O)), 1642 (C(O) (мочевина)), 1554 (C(O)), 1291 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{64}ClFN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1054.4450, найдено: 1054.4503.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-33-азидо-25,28-дибензил-12-(4-хлор-3-фторбензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатриаконтан-1,3,7-трикарбоновая кислота (144)

Из соединения **123** (217 мг 0.178 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **144** с выходом 90 % (170 мг, 0.160 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.44 (уш.с, 3H, COOH), 8.41-8.27 (м, 1H, C(O)NH), 8.22-8.05 (м, 1H, C(O)NH), 7.99-7.89 (м, 1H, C(O)NH), 7.84-7.73 (м, 1H, C(O)NH), 7.64-7.52 (м, 1H, Ar), 7.52-7.43 (м, 1H, Ar), 7.30-6.97 (м, 11H, Ar), 6.37 -6.22 (м, 2H, NH(мочевина)), 4.58-4.43 (м, 2H, ArC$\underline{H}_2$), 4.43-4.21 (м, 2H, C$\underline{H}$), 4.13-3.96 (м, 2H, C$\underline{H}$), 3.30-2.82 (м, 10H, CH_2), 2.80-2.52 (м, 2H, CH_2), 2.41-2.08 (м, 7H, CH_2), 1.98-1.80 (м, 1H, CH_2), 1.79-1.10 (м, 16H, CH_2)

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

177.46 (C(O)OH), 174.92 (C(O)OH), 174.63 (C(O)NH), 174.19 (C(O)NH), 172.01 (C(O)NH), 171.48 (C(O)NH), 171.13 (C(O)NH), 157.69 (C(O) (мочевина)), 138.42 (Ar), 130.92 (Ar), 129.62 (Ar), 129.57 (Ar), 129.45 (Ar), 128.61 (Ar), 128.50 (Ar), 128.42 (Ar), 126.74 (Ar), 125.05 (Ar), 52.07 (CH), 48.64 (CH), 48.57 (CH), 47.34 (CH), 36.29 (CH_2), 31.07 (CH_2), 30.34 (CH_2), 28.62 (CH_2), 27.97 (CH_2), 25.09 (CH_2), 22.74 (CH_2), 20.98 (CH_2)

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$): 3314 (NH), 3084 (C-$H_{вал}$), 2932 (Ar), 2099 (N_3), 1727 (C(O)), 1642 (C(O) (мочевина)), 1549 (C(O)), 1291 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{64}ClFN_{10}O_{12}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1051.4450, найдено: 1051.4406

Синтез (3S,7S,25S,28S)-33-азидо-25-бензил-12-(4-хлор-3-фторбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатриаконтан-1,3,7-трикарбоновой кислоты(145)

Из соединения **124** (63 мг 0.051 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **145** с выходом 78 % (43 мг, 0.040 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

8.41-8.25 (м, 1H, C(O)NH), 8.21-8.02 (м, 1H, C(O)NH), 7.99-7.87 (м, 1H, C(O)NH), 7.84-7.69 (м, 1H, C(O)NH), 7.65-7.43 (м, 2H, Ar), 7.30-6.90 (м, 10H, Ar), 6.69 -6.53 (м, 2H, Ar), 6.42 - 6.19 (м, 2H, NH(мочевина)), 4.58-4.40 (м, 2H, ArC$\underline{H}_2$), 4.40-4.21 (м, 2H, C$\underline{H}$), 4.13-3.96 (м, 2H, C$\underline{H}$), 3.31-2.52 (м, 14H, CH_2), 2.41-1.98 (м, 8H, CH_2), 1.98-1.80 (м, 1H, CH_2), 1.79-1.10 (м, 17H, C$\underline{H}_2$)

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

174.91 (C(O)NH), 174.62 (C(O)NH), 174.18 (C(O)NH), 171.48 (C(O)NH), 171.30 (C(O)NH), 157.72 (C(O) (мочевина)), 156.26 (C(O) (мочевина)), 131.29 (Ar), 130.91 (Ar), 130.53 (Ar), 130.37 (Ar), 129.60 (Ar), 129.47 (Ar), 128.50 (Ar), 128.42 (Ar), 126.68 (Ar), 126.60 (Ar), 125.01 (Ar), 119.59 (Ar), 115.40 (Ar), 115.28 (Ar), 52.08 (CH), 48.67 (CH), 48.59 (CH), 47.40 (CH), 36.27 (CH_2), 32.30 (CH_2), 32.22 (CH_2), 30.34 (CH_2), 28.64 (CH_2), 28.20 (CH_2), 27.96 (CH_2), 25.09 (CH_2), 15.62 (CH_2)

ИКспектр (ZnSe, см$^{-1}$): 3310 (NH), 3086 (C-$H_{вал}$), 2933 (Ar), 2098 (N_3), 1726 (C(O)), 1643 (C(O) (мочевина)), 1555 (C(O)), 1290 (Ar)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{64}ClFN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1067.4400, найдено: 1067.4372; m/z рассчитано для $[M+Na]^+$ 1089.4219, найдено: 1089.4191.

Синтез (3S,7S,25R,28R)-33-азидо-25-бензил-12-(4-хлор-3-фторбензил)-28-(4-гидроксобензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриацонат-1,3,7-трикарбоксильной кислоты(146)

Из соединения **125** (72 мг 0.058 ммоль) в 5 мл смеси 1:9 (TFA:CH_2Cl_2) было получено соединение **146** с выходом 89 % (56 мг, 0.052 ммоль). (Раздел 4.2.2)

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

12.42 (уш.с, 3H, COOH), 9.15 (с, 1H, C(O)NH), 8.28 (с, 1H, C(O)NH), 8.09 (дд, 1H, C(O)NH), 7.90-7.78 (м, 2H, C(O)NH+ArH), 7.55-7.79 (м, 1H, C(O)NH+ArH), 7.20-6.99 (м, 12H, C(O)NH+ArH), 6.30 (м, 2H, NH(мочевина)), 4.53 (с, 1H, PhC$\underline{H}_2$NC(O)), 4.45 (с, 1H, PhC$\underline{H}_2$NC(O)), 4.08 (м, 1H, CH, CH), 3.51 (м, 9H, CH_2), 4.39-4.27 (м, 2H, CH_2Ar), 4.08 (м, 2H, CH, CH), 3.51 (м, 9H, CH_2), 3.26-2.99 (м, 16H, CH_2), 2.22 (м, 8H, CH_2), 1.90 (с, 1H, CH_2), 1.24 (м, 18H, C$\underline{H}_2$CH).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, ДМСО-d6, м.д.):

208.22 (COOH), 204.88 (COOH), 175.27 (C(O)NR_2), 174.98 (C(O)NR_2), 174.56 (C(O)NR_2), 171.85 (PhC$\underline{H}_2$NC(O)), 171.68 (PhC$\underline{H}_2$NC(O)), 158.09 (NHC(O)NH), 138.80 (Ar), 131.66 (Ar), 131.28 (Ar), 130.90 (Ar), 130.74 (Ar), 130.40 (Ar), 129.96 (Ar), 128.83 (Ar), 129.31 (Ar),

128.87 (Ar), 128.79 (Ar), 125.37 (Ar), 116.60 (Ar), 55.72 (CH), 55.46 (CH), 49.04 (CH_2NR_2), 48.96 (CH_2Ar), 47.76 (CH_2Ar), 36.55 (CH_2), 32.67 (CH_2), 32.58 (CH_2), 31.51 (CH_2), 31.48 (CH_2), 30.72 (CH_2), 29.88 (CH_2), 29.84 (CH_2), 29.79 (CH_2), 29.02 (CH_2), 28.96 (CH_2), 31.51 (CH_2), 28.34 (CH_2), 27.05 (CH_2), 25.45 (CH_2), 23.11 (CH_2), 17.53 (CH_2).

ИКспектр (ZnSe, $см^{-1}$): 3312 (NH), 2938 (Ar), 2099 (N_3), 1646 (C(O) (мочевина)), 1293 (Ar), 699 (CH_2)

ESI-HRMS для $C_{50}H_{64}ClFN_{10}O_{13}$: m/z рассчитано для $[M+H]^+$ 1067.4400, найдено: 1067.4418

Синтез (2R,3S)-1-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-12bS)-12b-ацетокси-12-(бензоилокси)-4,6,11-тригидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо-25-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метаноциклодека[3,4]бензо[1,2-b]октет-12-ил) бензоата (147)

Раствор доцетаксела (8 г, 0.0099 моль), 5-гексиновой кислоты (1.22 г, 0.0148 моль) и Dmap (181 мг, 1.482 ммоль) в дихлорметане охлаждают до 0°C на ледяной бане. После этого прикапывают DIC (1.874 г, 0.0148 моль). Реакционную смесь выдерживают 2 часа при 0°C, затем оставляют перемешиваться при комнатной температуре на сутки. После чего упаривают. Вещество выделяли путем колончной хроматографии (Puriflash 50µ 120g, система: этилацетат : гексан, от 5% до 100% этилацетата за 45 минут). Получили 5.350 мг (60%) продукта **147** в виде белого аморфного вещества.

Спектр ЯМР ^{1}H(400 МГц, CDCl3, м.д.):

8,11 (д, 2H, Bz-H); 7,61 (т, 1H, Bz-H); 7,52 (т, 2H, Bz-H); 7,39 (м, 2H, Ph-H); 7,38 (м, 2H, Ph-H); 7,31 (м, 1H, Ph-H); 6,21 (т, 1H, C-13H); 5,66 (д, 1H, C-2H); 5,50 (д, 1H, NH), 5,26 (д, 1H, C-30H); 5,22 (с, 1H, C-10H); 4,95 (дд, 1H, C-5H); 4,62 (уш. с., 1H, C-20H); 4,32 (д, 1H, C-20Hb); 4,22 (дд, 1H, C-7H); 4.19 (д, 1H, C-20Ha); 3,91 (д, 1H, C-3H); 2,56 (м, 1H, C-6Hb); 2,37 (с, 3H, Ac); 2, 27 (м, 2H, C-14H2); 1,85 (с, 3H, C-18H3); 1,81 (м, 1H, C-6Ha); 1,75 (с, 7H, C-19H3); 1,34 (с, 9H, Boc); 1,26 (с, 3H, C-16H3); 1,12 (с, 3H, C-17H3).

Спектр ЯМР ^{13}C (101 МГц, $CDCl_3$, м.д.):

211.22 (C-9), 170.31 (C=O of Ac), 166.97 (C=O of Bz), 155.40 (C=O), 135.99 (C-11), 133.64 (C-p-Bz), 130.16 (C-o-Bz), 129.20 (C1-Bz), 128.80 (C-o-Ph), 128.67 (C-m-Bz), 128.05 (C-p-Ph), 126.77 (C-m-Ph), 84.19 (C-5), 81.08 (C-4), 78.77 (C-1), 76.59 (C-20), 74.84 (C-2), 74.55 (C-10), 71.92 (C-7), 57.64 (C-8), 56.15 (C-30), 46.49 (C-3), 43.07 (C-15), 36.87 (C-6), 35.71 (C-14), 28.14 ($C(CH_3)_3$), 26.44 (C-16), 22.52 (CH_3), 20.57 (C-17), 14.29 (C-18), 9.87 (C-19).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{49}H_{59}N_{15}O_{13}$ $[M+K]^+$ 912.4359, найдено: 912.4349.

Синтез Val-Cit-PAB-OH (148)

Fmoc-Val-Cit-PABOH (450 мг, 0,748 ммоль) и диэтиламин (3.7 мл, 0.020 моль) растворили в DMF (8 мл). Полученный раствор перемешивался в течение 3 часов. Далее был удален растворитель при пониженном давлении и продукт осаждался EtOAc (5x13 мл), полученный гель центрифугировался и промывался диэтиловым эфиром. Соединение **148** было выделено в виде белого порошка, выход составил 220 мг (78 %).

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

10.02 (с, 1H, ArNHC(O)), 8.10 (м, 1H, C(O)NH), 7.53 (д, J=8.2 Гц, 2H, Ar), 7.23 (д, J=8.2 Гц, 2H, Ar), 5.95 (с, 1H,NHC(O)NH_2), 5.39 (с, 2H, NHC(O)NH_2), 5.09 (т, J=5.5 Гц, 1H, OH), 4.46 (м, 1H, CH), 4.42 (д, J=5.3 Гц, 2H, PhCH_2,), 3.00-3.01 (д, 2H, NH_2), 2.91-2.98 (м, 2H, CH_2), 1.90-1.96 (м, 2H, CH_2), 1.79, 1.65-1.167, 1.55-1.57, 1.36-1.39 (м, 6H, CH_2), 0.87 (д, J=6.8 Гц, 3H, CH_3), 0.77 (д, J= 6.7 Гц, 3H, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

175.31 (C(O)NH), 171.31 (C(O)NH), 159.68 (NHC(O)NH), 138.33 (Ar), 138.27 (Ar), 127.76 (Ar), 119.76 (Ar), 63.41 (CH_2OH), 60.50 (NHCH_2C(O)), 53.31 (NHCH_2C(O)), 32.18 (CH_2NH_2), 31.00 ($CH(CH_3)_2$), 27.54 (CH_2), 20.40 (CH_3), 17.74 (CH_3), 14.92 (CH_2).

Синтез 5-гексинамидо-Val-Cit-PAB-OH (149)

Val-Cit-PAB-OH **(148)** (1000 мг, 2.635 ммоль) растворили в 20 мл DMF с добавлением DIPEA (505 мкл, 2.899 ммоль), HBTU (1.099 г, 2.899 ммоль) и 5-гексиновой кислоты (325 мг, 2.899 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 24 часов. Конечный продукт выделяли с помощью препаративной обращенно-фазовой хроматографии (градиент от 10/90 до 100/0 ацетонитрил/вода, в течение 30 минут, хроматографическая колонка Puriflash-C18-HP, 120 г, 15 мкм). Соединение **149** было выделено в виде белого порошка, выход составил 1223 мг (98 %).

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

9.89 (с, 1H, ArNHC(O)), 8.06 (д, J= 7.6 Гц, 1H, C(O)NH), 7.88 (д, J= 8.6 Гц, 1H, C(O)NH), 7.53 (д, J= 8.3 Гц, 2H, Ar), 7.22 (д, J= 8.3 Гц, 2H, Ar), 5.97 (т, J= 5.5 Гц, 1H,NHC(O)NH_2), 5.40 (с, 2H, NHC(O)NH_2), 5.09 (т, J= 5.6 Гц, 1H, ArCH_2OH), 4.41 (д, J= 5.4 Гц, 2H, ArCH_2OH), 4.34-4.37 (м, 1H, CH), 4.17 (т, J= 7.6 Гц, 1H, CH),2.90-3.03 (м, 2H, CH_2), 2.77 (т, J= 2.4 Гц, 1H, CH), 2.21-2.31 (м, 2H, CH_2), 2.12-2.16 (м, 2H, CH_2), 1.92-1.99 (м, 1H, CH_2), 1.56-1.69 (м, 4H, CH_2), 1.32-1.44 (м, 2H, CH_2), 1.11-1.22 (м, 2H, CH_2), 0.85 (д, J= 6.7 Гц, 3H, CH_3), 0.82 (д, J= 6.7 Гц, 3H, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

172.31 (C(O)NH), 171.70 (C(O)NH), 170.86 (C(O)NH), 159.35 (NHC(O)NH), 137.99 (Ar), 137.86 (Ar), 127.38 (Ar), 119.29 (Ar), 71.92 (HC≡C-), 63.05 (CH_2OH), 58.18 (NHCHC(O)), 53.55 (NHCHC(O)), 34.49 ($CH_2C(O)$), 30.78 ($CH(CH_3)_2$), 29.79 (CH_2), 27.28 (CH_2), 24.91 (CH_2), 19.70 (CH_3), 18.66 (CH_3), 17.85 (CH_2).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{24}H_{35}N_5O_5$ [M+H$^+$]: 474.2711, найдено: 474.2715, m/z рассчитано для [M+Na$^+$]: 496.2530, найдено: 496.2536, m/z рассчитано для [M+K$^+$]: 512.2270, найдено: 512.2283

Синтез 5-гексинамидо-Val-Cit-PAB-PNP (150)

5-гексинамидо-Val-Cit-PAB-OH (**149**) (1223 мг, 2.582 ммоль), бис(4-паранитрофенил)карбонат (2.357 мг, 7.747 ммоль), DIPEA (494 мкл, 2.840 ммоль) растворили в 40 мл DMF и перемешивали в течение 5 часов. Растворитель удалили при пониженном давлении, полученный осадок промыли раствором этилацетата. Целевой продукт выделяли с помощью препаративной обращенно-фазовой хроматографии (градиент от 10/90 до 100/0 ацетонитрил/вода, в течение 40 минут, хроматографическая колонка Puriflash-C18-HP, 120 г, 15 мкм). Соединение **150** было выделено в виде белого порошка, выход составил 1.584 мг (96%).

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

10.06 (с, 1H, ArNHC(O)), 8.30 (д, J=9 Гц, 2H, Ph) 8.11 (д, J=7.3 Гц, 1H, C(O)NH), 7.87 (д, J=8.7 Гц, 1H, C(O)NH), 7.64 (д, J=8.4 Гц, 2H, Ph,), 7.56 (д, J= 9.2 Гц, 2H, Ph,), 7.22 (д, J= 8.6 Гц, 2H, Ph), 5.97 (т, J= 5.5 Гц, 1H, NHC(O)NH_2), 5.41 (с, 2H, NHC(O)NH_2), 5.23 (с, 2H, $ArCH_2$), 4.35-4.40 (м, 1H, CH), 4.18 (т, J= 7.6 Гц, 1H, CH),2.90-3.03 (м, 2H, CH_2), 2.76-2.78 (м, 1H, CH), 2.22-2.32 (м, 2H, CH_2), 2.07-2.16 (м, 2H, CH_2), 1.92-2.01 (м, 1H, CH), 1.58-1.69 (м, 4H, CH_2), 1.33-1.44 (м, 2H, CH_2), 0.86 (д, J= 6.8 Гц, 3H, CH_3), 0.83 (д, J= 6.7 Гц, 3H, CH_3).

Спектр ЯМР ^{13}C (90 МГц, ДМСО-d6, δ, м.д.):

171.83 (C(O)NH), 171.30 (C(O)NH), 170.77 (C(O)NH), 158.91 (OC(O)O), 155.29 (NHC(O)NH), 151.97 (Ar), 145.17 (Ar), 139.42 (Ar), 129.51 (Ar), 129.26 (Ar), 125.41 (Ar), 122.64 (Ar), 119.01 (Ar), 84.14 ($CH_2OC(O)O$), 71.47 (HC≡C-), 70.26 (HC≡C-), 62.60 (NHCHC(O)), 57.67 (NHCHC(O)), 53.17 (NHCH_2C(O)), 34.04 ($CH_2C(O)$), 30.37 ($CH(CH_3)_2$), 29.22 (CH_2), 26.86 (CH_2), 24.47 (CH_2), 19.24 (CH_3), 18.22 (CH_3), 17.40 (CH_2).

ESI-HRMS:m/z рассчитано для $C_{31}H_{38}N_6O_9$ [M+H$^+$]: 639.2773, найдено: 639.2787, m/z рассчитано для [M+Na$^+$]: 661.2592, найдено: 661.2612, m/z рассчитано для [M+K$^+$]: 677.2332, найдено: 677.2346

Синтез 5-гексинамидо-Val-Cit-PAB-MMAE (151)

К раствору вещества (**150**) (934 мг, 1.436 ммоль), MMAE (1000 мг, 1.393 ммоль), HOBt (40 мг, 0.307 ммоль) в 20 мл ДМФА добавили пиридин (2,667 мл, 33.110 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов, полученную реакционную смесь вылили в этилацетат (40мл). Выпавший осадок несколько раз промыли этилацетатом. Конечный продукт выделяли с помощью препаративной обращенно-фазовой хроматографии (градиент от 10/90 до 100/0 ацетонитрил/вода, в течение 40 минут, хроматографическая колонка Puriflash-C18-HP, 120 г, 15 мкм). Соединение **151** было выделено в виде белого аморфного вещества, выход составил 1,276 мг (75%).

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

9.97-9.99 (м, 1H), 8.29-8.31 (м,1H), 8.09-8.11 (м, 2H), 7.86-7.90 (м, 2H), 7.62-7.65 (д, J= 8.7 Гц, 1H), 7.56-7.58 (д,J= 6.4 Гц, 2H), 7.23-7.30 (м, 6H), 7.14-7.18 (м, 1H), 5.96-5.98 (м, 1H), 5.41-542 (м, 3H), 5.34-5.35 (м, 1H), 4.94-5.10 (м, 2H), 4.41-4.48 (м, 1H), 4.33-4.40 (м, 2H), 3.90-4.02 (м, 2H), 3.31-3.28 (м, 1H), 3.23-3.16 (м, 9H), 3.10-3.04 (м, 3H), 3.03-2.96 (м, 5H), 2.87-2.80 (м, 4H), 2.77-2.76 (м, 2H), 2.31-2.42 (м, 2H), 2.21-2.25 (м, 3H), 2.09-2.15 (м, 4H), 1.89-2.06 (м, 3H), 1.62-1.74 (м, 5H), 1.52-1.58 (м, 2H), 1.42-1.47 (м, 2H), 1.22-1.37 (м, 2H), 0.96-1.09 (м, 4H), 0.80-0.85 (м, 12H), 0.72-0.77 (м, 11H).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{64}H_{100}N_{10}O_{13}$ [M+H]$^+$ 1217.7544, найдено: 1217.7544; m/z рассчитано для [M+Na]$^+$ 1239.7364, найдено: 1239.7361, m/z рассчитано для [M+K]$^+$: 1255.7103, найдено: 1255.7090

Синтез (3R,7S,25S,28R)-33-(4-(4-(((2R,3S)-1-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-12bS)-12b-ацетокси-12-(бензоилокси)-4,6,11-тригидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо25-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метаноциклодека[3,4]бензо[1,2-b]октет-9-ил)окси)-3-((трет-бутоксикарбонил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-12,25,28-трибензил-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриконтан-1,3,7-трикарбоксильнойкислоты (152)

Соединение **127** (16 мг, 0,016 ммоль) растворить в 3 мл ДМФА и 0,9 мл воды. Колбу заполнить аргоном. Далее добавить DXL алкин (22 мг, 0,024 ммоль), аскорбат натрия (1,5 мг, 0,006 мкмоль) и пентагидрат сульфата меди (1,1 мг, 0,006 мкмоль). Смесь перемешивать 24 часа. Далее упарить растворитель. Дальнейшую очистку проводить с помощью метода обращенной фазовой хроматографии: Puriflash 15C18HP-F0004, система вода/ацетонитрил, от 5% ацетонитрила до 100% ацетонитрила в течение 25 минут, далее 5 минут промывка метанолом, скорость потока – 20 мл/мин. Получили 11 мг (36%) продукта **152** в виде белого аморфного вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

12.41 (уш.с, 3Н, COOH), 10.17 (уш. с, 1Н), 8.32 (м, 2Н), 8.20 (м, 2Н), 7.98-7.96 (м, 3Н, Ar + C(O)NH), 7.92-7.85 (м, 3Н, (м, 3Н, Ar + C(O)NH), 7.80 (м, 2Н, Ar + C(O)NH), 7.71-7.64(м, 8Н, Ar + C(O)NH), 7.39-7.33 (м, 7Н, Ar + C(O)NH), 7.28-7.14 (м, 15Н, Ar + C(O)NH), 6.31-6.29 (м, 2Н, NH(мочевина)), 5.39-5.37 (м, 2Н), 5.11-5.00 (м, 7Н), 4.92-4.87 (м, 4Н), 4,51 (с, 1Н), 4.47 (с, 1Н), 4.42 (с, 4Н), 4.34-4.30 (м, 2Н, CH (Gly, Lys)), 3.63-3.61 (м, 2Н), 3.19-2.89 (м, 18Н), 2.68-2.60 (м, 6Н, CH_2), 2.37-2.30 (м, 8Н, CH_2), 1.91-1.84 (м, 8Н, CH_2), 1.53-1.44 (м, 11Н, CH_2), 1.28-1.15 (м, 8Н, CH_2).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{99}H_{125}N_{11}O_{27}$ $[M+H]^{2+}$ 950.9446, найдено: 950.9434.

Синтез (3R,7S,25S,28R)-33-(4-(4-(((2R,3S)-1-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-12bS)-12b-ацетокси-12-(бензоилокси)-4,6,11-тригидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо25-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1Н-7,11-метаноциклодека[3,4]бензо[1,2-b]октет-9-ил)окси)-3-((трет-бутоксикарбонил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1Н-1,2,3-триазол-1-ил)-12-(4-хлор-3-фторбензил)-25,28-дибензил-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриконтан-1,3,7-трикарбоксильнойкислоты (153)

Соединение **143** (155 мг, 0.1474 ммоль) растворить в 10 мл ДМФА и 3 мл воды. Колбу заполнить аргоном. Далее добавить DXL алкин (160 мг, 0.177 ммоль), аскорбат натрия (23 мг, 0,059 мкмоль) и пентагидрат сульфата меди (15 мг, 0.059 мкмоль). Смесь перемешивать 24 часа. Далее упарить растворитель. Дальнейшую очистку проводить с помощью метода обращенной фазовой хроматографии: Puriflash 15C18HP-F0004, система вода/ацетонитрил, от 5% ацетонитрила до 100% ацетонитрила в течение 25 минут, далее 5 минут промывка метанолом, скорость потока – 20 мл/мин. Получили 125 мг (43%) продукта **153** в виде белого аморфного вещества.

Спектр ЯМР^{1}Н (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

12.50 (уш.с, 2H, COOH), 8.32 (м, 2H), 8.20 (м, 2H), 7.97-7.96 (м, 4H, Ar + C(O)NH), 7.82-7.81 (м, 3H, Ar + C(O)NH), 7.65-7.62 (м, 2H, Ar + C(O)NH), 7.39-7.33(м, 4H, Ar + C(O)NH), 7.39-7.33 (м, 7H, Ar + C(O)NH), 7.24-7.14 (м, 11H, Ar + C(O)NH), 6.31-6.29 (м, 2H, NH(мочевина)), 5.39-5.37 (м, 2H), 5.10-5.02 (м, 7H), 4.93-4.87 (м, 3H), 4.53 (с, 1H), 4.47 (с, 1H), 4.45 (с, 5H), 4.42-4.22 (м, 2H, CH (Gly, Lys) + CH_2), 4.02-4.00 (м, 5H), 3.63-3.61 (м, 1H), 3.18-2.87 (м, 9H), 2.80-2.62 (м, 4H, CH_2), 2.33-2.22 (м, 13H, CH_2), 1.89-1.79 (м, 8H, CH_2), 1.49-1.22 (м, 17H, CH_2), 0.96 (с, 6H, CH_2).

ESI-HRMS m/z рассчитано для $C_{99}H_{123}ClFN_{11}O_{27}$ $[M+H]^+$ 1952.8335, найдено: 1952.8348; m/z рассчитано для $C_{99}H_{123}ClFN_{11}O_{27}$ $[M+H]^{2+}$ 976.9204, найдено: 976.9214.

Синтез (3R,7S,25S,28R)-33-(4-(4-(((2R,3S)-1-(((2aR,4S,4aS,6R,9S,11S,12S,12aR,12bS)-12bS)-12b-ацетокси-12-(бензоилокси)-4,6,11-тригидрокси-4a,8,13,13-тетраметил-5-оксо25-2a,3,4,4a,5,6,9,10,11,12,12a,12b-додекагидро-1H-7,11-метаноциклодека[3,4]бензо[1,2-b]октет-9-ил)окси)-3-((трет-бутоксикарбонил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)окси)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-25-бензил-12-(3-хлорбензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриконтан-1,3,7-трикарбоксильнойкислоты(154)

Соединение **138** (2.909 г, 2.105 ммоль) растворить в 46 мл ДМФА и 14 мл воды. Колбу заполнить аргоном. Далее добавить DXL алкин (1.992 мг, 2.208 ммоль), аскорбат натрия (500 мг, 2.524 ммоль) и пентагидрат сульфата меди (212 мг, 0,849 ммоль). Смесь перемешивать 24 часа. Далее упарить растворитель. Дальнейшую очистку проводить с помощью метода обращенной фазовой хроматографии: Puriflash 15C18HP, 120 г, элюент вода/ацетонитрил, от 5% ацетонитрила до 100% ацетонитрила в течение 40 минут, далее 5 минут промывка метанолом, скорость потока – 60 мл/мин. Получили 3.245 г (79%) продукта **154** в виде белого аморфного вещества. Чистота полученного соединения по данным ВЭЖХ-МС составила 97%.

Спектр ЯМР^{1}H (400 МГц, $CDCl_3$, δ, м.д.):

12.50 (уш.с, 2H, COOH), 8.30 (м, 3H), 8.20 (м, 2H), 7.96-7.9 (м, 5H, Ar + C(O)NH), 7.80-7.79 (м, 7H, Ar + C(O)NH), 7.69-7.60 (м, 5H, Ar + C(O)NH), 7.38-7.30 (м, 5H, Ar + C(O)NH), 7.18-7.14 (м, 11H, Ar + C(O)NH), 6.99-6.98 (м, 2H), 6.64-6.61 (м, 2H, NH(мочевина)), 6.29 (уш. с. 1H), 5.75 (м, 2H), 5.37-5.36 (м, 2H), 5.09-5.05 (м, 3H), 5.09-5.05 (м, 7H), 4.92-4.88 (м, 2H), 4.39-4.41 (м, 3H), 4.39 (с, 1H), 4.39-4.36 (м, 2H, CH (Gly, Lys) + CH_2), 3.61-3.16 (м, 11H), 2.97-2.94 (м, 1H), 2.62-2.60 (м, 3H, CH_2), 2.47-2.43 (м, 4H, CH_2), 2.31-2.21 (м, 7H), 1.86-1.80 (м, 4H, CH_2), 1.67-1.30 (м, 20H), 0.94 (м, 5H, CH_2). (*см. Приложение 1*).

ИК спектр (ZnSe, $см^{-1}$):3316.96 (NH), 3062.41 (Ar), 2940.91 (Ar), 1733.69 (C(O)NH), 1717.30 (C(O)NH), 1651.73 (C(O)NH), 1540.84 (C(O)NH), 1540.84 (C(O)NH), 1517.70 (C(O)NH), 1453.10 (C(O)NH)

ESI-HRMS: m/z рассчитано для $C_{99}H_{124}ClN_{11}O_{28}$ $[M+H]^{2+}$ 975.9226, найдено: 975.9187.

Синтез (3S,7S,25S,28S)-25-бензил-33-(4-(4-(((R)-1-(((S)-1-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-сек-бутил)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил)амино)-1-метокси-2-метил-3-оксопропил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-5,8-диизопропил-4,10-диметил-3,6,9-триоксо-2,13-диокса-4,7,10-триазатетрадецил)фенил)амино)-1-оксо-5-уреидопентан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-4-оксобутил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)-12-(3-хлорибензил)-28-(4-гидроксибензил)-5,13,20,23,26,29-гексаоксо-4,6,12,19,24,27,30-гептаазатритриаконтан-1,3,7-трикарбоновая ксилота (155)

В смеси 35 мл диметилформамида и 10 мл деионизованной воды растворили 1.633 г (1.341 ммоль) модифицированного монометил ауристатина Е **151**, а также 1.408 г (1,341 ммоль) вещества **(138)**. К полученному раствору прибавили 135 мг (0.536 ммоль) $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ и 318 мг аскорбата натрия (1,608 ммоль). Реакцию проводили в инертной атмосфере аргона. После чего перемешивали раствор в течение 24 ч при комнатной температуре. После окончания реакции растворители упарили при пониженном давлении. Дальнейшую очистку проводили с помощью препаративной обращенно-фазовой хроматографии (градиент от 10/90 до 100/0 ацетонитрил/вода, в течение 40 минут, хроматографическая колонка Puriflash-C18-HP, 120 г, 15 мкм). Выделено 2,390 г (79%) белого твердого соединения **155**. Чистота полученного соединения по данным ВЭЖХ-МС составила 95%.

Спектр ЯМР ^{1}H (400 МГц, ДМСО-d6, м.д.)

9.97 (м, 3H), 8.28 (м, 3H), 8.12 (м, 2H), 8.03 (м, 2H), 7.92 (с, 1H), 7.77-7.85 (м, 3H), 7.55-7.60 (м, 4H), 7.20-7.28 (м, 6H), 7.12-7.17 (м, 6H), 6.98 (м, 2H), 6.58-6.64 (м, 3H), 5.97 (м, 3H), 5.32-5.43 (м, 4H), 4.91-5.05 (м, 4H), 4.59-4.70 (м, 3H), 4.33-4.44 (м, 4H), 4.25-4.23 (м, 1H), 4.20 (м, 3H), 3.88-4.02 (м, 4H) 3.73-3.75 (м, 2H), 3.50-3.55 (м, 2H), 3.14-3.21 (м, 6H), 3.08 (м, 2H), 2.94-3.03 (м, 7H), 2.84-2.86 (м, 2H), 2.76-2.81 (м, 4H), 2.63-2.68 (м, 1H), 2.49-2.55 (м, 2H), 2.35-2.39(м, 2H), 2.20-2.30 (м, 4H), 1.99-2.11 (м, 5H), 1.67-1.96 (м, 11H), 1.06-1.55 (м, 17H), 0.90-1.02 (м, 5H), 0.71-0.85 (м, 16H).

ESI-HRMS: m/z рассчитано для$C_{114}H_{165}ClN_{20}O_{26}$ $[M+3H]^{3+}$756.4048, найдено: 756.4039, m/z рассчитано для $[M+2H]^{2+}$1134.1036, найдено: 1134.1046. (*см. Приложение 2*).

4.3 *In vitro* тестирование

4.3.1 Протокол проведения измерения ферментативной активности ПСМА.

LNCaP – андроген-чувствительная клеточная линия аденокарциномы человека, являются адгерентными эпителиальными клетками, растут в виде агрегатов и одиночных клеток. ПСМА-положительные.

Клетки линии LNCaP культивировались в среде RPMI с 10% FBS (Gibco), 1xGlutamax (Gibco) и 1x смесью пенициллин-стрептомицин (Gibco). Для суспендирования клеток с 25 $см^2$ флакона убирали культуральную среду, промывали клетки буфером PBS и инкубировали 5 минут с 0,25% трипсином (1 мл). Трипсин инактивировали полной культуральной средой (2 мл), промывали PBS, переносили 10^6 клеток в пробирку и добавляли 500 мкл лизирующего буфера (0,5% Triton X-100, 50 mM Tris-HCl (pH 7,5), 1x Proteinase Inhibition cocktail). Суспензию инкубировали 30 минут во льду и обрабатывали ультразвуком (7 раз по 7 секунд с интервалами 20-30 секунд) во льду во избежание перегрева. Центрифугировали 10 мин 1000g на 4°C и надосадочный раствор использовали в дальнейшем анализе.

Анализ ингибирования препаратами ПСМА проводился по нерадиоактивному протоколу с детекцией высвобождаемого в ходе реакции глутамата. Экстракт клеток линии LNCaP (10 µL) смешивался с 2 µL препарата соответствующего разведения. Для первичного тестирования использовалась серия разведений препаратов 2 нМ-100 мкМ с шагом разведения 3-5 раз. К полученной смеси добавлялся 1 µL 100 µM раствора NAAG. Полученная смесь инкубировалась 2 часа при 37°C. После инкубации смесь разводилась вдвое реакционным буфером (13 µL) из набора Amplex Red Glutamic Acid Kit (Molecular Probes Inc., Eugene) и добавлялась многокомпонентная реакционная смесь для детекции глутамата, приготовленная в соответствии с протоколом производителя (26 µL). Рабочий раствор Amplex Red: 5 мкл Amplex® Red reagent stock solution, 1,25 мкл HRP stock solution, 8 мкл L-glutamate oxidase, 2,5 мкл L-glutamate–pyruvate transaminase, 0,5 мкл L-alanine, 483 мкл 1X Reaction Buffer. Проводилась инкубация 1 час при 37°C. Флуоресценция резоруфина, полученного в результате сопряженных реакций глутамат-детектирующего набора детектировалась на планшетном мультидетекторе VICTORX5 (Perkin Elmer Inc.) при длине возбуждения 555 нм и детекции при 580 нм. В качестве контроля эндогенного уровня глутамата с заменой раствора NAAG на воду.

4.3.2 Проведение тестирования цитотоксичности

В данной работе использовались клеточные линии: иммортализованные клетки LNCaP – андроген-чувствительная клеточная линия аденокарциномы человека, являются

адгерентными эпителиальными клетками, растут в виде агрегатов и одиночных клеток (ПСМА-положительные). 22Rv1 – клеточная линия карциномы человека, являются адгерентными эпителиальными клетками (ПСМА-положительные). PC3 – клеточная линия аденокарциномы человека, являются адгерентными эпителиальными клетками (ПСМА-отрицательные), иммортализованные клетки почки эмбриона человека Hek293T, клетки иммортализованных фибробластов легкого VA-13, рака молочной железы MCF-7 и клетки аденокарциномы легкого человека A549.

При рутинном ведении клетки линии LNCaP, PC3, 22Rv1 культивировали в среде RPMI без фенолового красного с 10% FBS (Gibco), 1xGlutamax (Gibco), 1× смесью пенициллин-стрептомицин (Gibco), 1× смесью витаминов для RPMI среды. Клетки культивировали в матрасиках T25 в CO2 инкубаторе при 5% CO2 и температуре 37°C до достижения 80% конфлюэнтного монослоя.

Клетки линии Hek293T, A549, MCF7, Va-13 культивировались в среде DMEM/F-12 (Gibco, США) с 10% эмбриональной телячьей сыворотки FBS (Gibco, США), стрептомицином (0.05 мг/мл) и пенициллином (50 ед/мл). Культивирование проводилось при 37°C и 5% CO_2. Клеточные культуры были проверены на отсутствие микоплазмы.

Проведение МТТ-теста (3-(4,5-диметилтриазол-2-ил)2,5-дифенил тетразолиум бромид - тест) был проведено в соответствии с методикой, опубликованной в статье Ferrari с соавторами.[101] Клетки Hek293T, A549, MCF7 рассевались в количестве 2500 на лунку 96-луночного планшета, клетки линии VA-13 по 4000 на лунку в среде DMEM/F-12 с 10% эмбриональной телячьей сыворотки FBS (Gibco, США), стрептомицином (0.05 мг/мл) и пенициллином (50 ед/мл). Через 24 часа после посева клеток к ним добавлялись химические препараты, разведенные в соответствующей культуральной среде. Для каждой концентрации препарата использовали три технических реплики. Далее клетки инкубировались 72 часа с препаратами при 37°C и 5%CO2. Затем к клеткам прибавлялся МТТ до 0,5 г/л (использовался 10х кратный раствор в стандартном буфере PBS) и клетки инкубировались еще 2 часа. После инкубации среда отбиралась и осадок растворялся в 140 мкл ДМСО (ООО «Фармамед», Россия) в течении 15 минут при перемешивании на орбитальном шейкере (60 об/мин). Измеряли оптическую плотность каждой лунки при длине волны 565 нм. Каждый эксперимент проводился в трех репликах. Данные обрабатывали с помощью ПО “GraphPad Prism 5” (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA), строя зависимости доза-ответ и определяя CC_{50}.

5. Основные результаты и выводы

В результате работы были получены следующие наиболее значимые результаты и могут быть сделаны следующие выводы:

1. Разработаны и впервые синтезированы новые высокоселективные лиганды простатического специфического мембранного антигена, а также разработаны способы получения низкомолекулярных конъюгатов с противоопухолевыми препаратами на их основе.
2. Предложен синтетический подход к конъюгатам доксорубицина с лигандами ПСМА на основе гидролитически лабильных гидразон содержащих линкеров. Продемонстрирована их высокая цитотоксичность, благодаря высвобождению свободного доксорубицина.
3. Разработан метод синтеза азидсодержащих лигандов ПСМА для создания конъюгатов с использованием реакции азид-алкинового циклоприсоединения. Получено 12 новых лигандов ПСМА, а также 12 конъюгатов паклитаксела на их основе.
4. На примере одного из полученных конъюгатов паклитаксела показано, что введение адресного фрагмента на основе лиганда ПСМА не влечет за собой снижения противоопухолевой активности *in vivo*.
5. Впервые получены конъюгаты лиганда ПСМА и фотосенсибилизатора хлорина е6, замещенного в положения 13^1 и 15^2 макроциклической системы. Продемонстрировано увеличение токсического эффекта конъюгата, замещенного в положение 13^1, по сравнению с контрольным препаратом Радахлорином, а также увеличение селективности его действия к ПСМА-экспрессирующей клеточной линии.
6. Получен 21 новый лиганд ПСМА, содержащий в линкере три ароматических структурных фрагмента. Проведено исследование их аффинности к ПСМА, продемонстрировано повышенное связывание с белковой мишенью по сравнению со стандартным лигандом на основе производного глутаминовой кислоты и лизина (DCL).
7. На основе отобранных, по данным исследования аффинности, лигандов-лидеров впервые получен их низкомолекулярный конъюгат на основе монометил ауристатина Е, а также 3 конъюгата с доцетакселом. Для лучшего по результатам *in vitro* тестирований конъюгата доцетаксела показана его высокая эффективность в терапии ксенографтной опухоли предстательной железы. По результатам

доклинических исследований данного конъюгата показано снижение среднесмертельной дозы конъюгата по сравнению с доцетакселом

6. Список литературы

(1) Bray, F.; Ferlay, J.; Soerjomataram, I. Global Cancer Statistics 2018 : GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA. Cancer J. Clin.* **2018**, *68* (6), 394–424.

(2) Williams, A. J.; Lu, X. M.; Slusher, B.; Tortella, F. C. Electroencephalogram Analysis and Neuroprotective Profile of the N-Acetylated-Alpha-Linked Acidic Dipeptidase Inhibitor, GPI5232, in Normal and Brain-Injured Rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *299* (1), 48–57.

(3) Stamey T.A., Yang N., Hay A.R., McNeal J.E., Freiha F.S., R. E. Prostate-Specific Antigen as a Serum Marker for Adenocarcinoma of the Prostate. *N. Engl. J. Med.* **1987**, *317* (15), 909–916.

(4) Hodge, K. K.; Mcneal, J. E.; Terris, M. K.; Stamey, T. A. Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate. *J. Urol.* **1989**, *142* (1), 71–74.

(5) Veldscholte J., RisStalpers C., Kuiper G., Jenster G., Berrevoets C., C. E. A Mutation in the Ligand Binding Domain of the Androgen Receptor of Human LNCaP Cells Affects Steroid Binding Characteristics and Response to Antiandrogens. *Biochem. Biophis. Res. Commun.* **1990**, *173* (2), 534–540.

(6) Shipley W.U., Zietman A.L., H. G. E. Treatment Related Sequelae Following External Beam Radiation for Prostate Cancer: A Review with an Update in Patients with Stages T1 and T2 Tumor. *J. Urol.* **1994**, *152*, 1799–1805.

(7) Lundgren, R.; Nordle, O. M. A. N.; Josefsson, K.; Cancer, P.; Group, S. Immediate Estrogen Or Estramustine Phosphate Therapy Versus Deferred Endocrine Treatment In Nonmetastatic Prostate Cancer : A Randomized Multicenter Study With 15 Years Of Followup. *J. Urol.* **1995**, *153* (5), 1580–1586.

(8) Hurwitz, M. Chemotherapy in Prostate Cancer. *Curr. Onco.l Rep.* **2015**, 17(10):44.

(9) Strebhardt, K.; Ullrich, A. Paul Ehrlich ' s Magic Bullet Concept : 100 Years of Progress. *Nat. Rev. Cancer* **2008**, *8* (6), 473–480.

(10) Severin E.S. New Approaches to Targeted Drug Delivery to Tumour Cells. *Russ. Chem. Rev.* **2015**, *84* (1), 43–60.

(11) Чехонин, В. П.; Григорьев, М. Э.; Жирков, Ю. А.; Лебеде, Д. В. Простатический Специфический Мембранный Антиген И Его Роль В Диагностике Рака Предстательной Железы. *Вопросы медицинской хими* **2002**, *48*, 31–43.

(12) King, M.; Wagner, A. Developments in the Field of Bioorthogonal Bond Forming Reactions - Past and Present Trends. *Bioconjugate Chem.* **2014**, *25* (5), 825–839.

(13) Machulkin, A. E.; Ivanenkov, Y. A.; Aladinskaya, A. V.; Veselov, M. S.; Aladinskiy, V. A.; Beloglazkina, E. K.; Koteliansky, V. E.; Shakhbazyan, A. G.; Sandulenko, Y. B.; Majouga, A. G. Small-Molecule PSMA Ligands. Current State, SAR and Perspectives. *J. Drug Target.* **2016**, *24* (8).

(14) Ghosh, A.; Heston, W. D. W. Tumor Target Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA) and Its Regulation in Prostate Cancer. *J. Cell. Biochem.* **2004**, *91* (3), 528–539.

(15) Suffoletto, P.; Brien, O. Prostate-Specific Human Membrane Carcinoma Antigen : Cells ' A Novel Folate Hydrolase in Prostatic. **1996**, *2* (September), 1445–1451.

(16) Haffner, M. C.; Kronberger, I. E.; Ross, J. S.; Sheehan, C. E.; Zitt, M.; Mühlmann, G.; Öfner, D.; Zelger, B.; Ensinger, C.; Yang, X. J.; et al. Prostate-Specific Membrane Antigen Expression in the Neovasculature of Gastric and Colorectal Cancers. *Hum. Pathol.* **2009**, *40* (12), 1754–1761.

(17) Davis, M. I.; Bennett, M. J.; Thomas, L. M.; Bjorkman, P. J. Crystal Structure of Prostate-Specific Membrane Antigen, a Tumor Marker and Peptidase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2005**, *102* (17), 5981–5986.

(18) Helliwell, C. A.; Chin-atkins, A. N.; Wilson, I. W.; Chapple, R.; Dennis, E. S. The Arabidopsis AMP1 Gene Encodes a Putative Glutamate Carboxypeptidase. **2001**, *13*, 2115–2125.

(19) Taneja, S. S. ProstaScint ® Scan : Contemporary Use in Clinical Practice. *Rev. Urol.* **2004**, *6*, 19–28.

(20) Serval, V.; Galli, T.; Cheramy, A.; Glowinski, J.; Lavielle, S. In Vitro and in Vivo Inhibition of N-Acetyl-L-Aspartyl-L-Glutamate Catabolism by N-Acylated L-Glutamate Analogs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, *260* (3), 1093 LP-1100.

(21) Subasinghe, N. Synthesis of Acyclic and Dehydroaspartic Acid Analogues of Ac-Asp-Glu-OH and Their Inhibition of Rat Brain N-Acetylated a-Linked Acidic Dipeptidase (NAALA Dipeptidase). **1990**, No. 5, 2734–2744.

(22) Barrett, J. A.; Babich, J. W.; Zimmerman, C. N.; Maresca, K. P.; Hillier, S. M.; Eckelman, W. C.; Barone, C.; Femia, F. J.; Keith, D.; Joyal, J. L.; et al. A Series of Halogenated Heterodimeric Inhibitors of Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA) as Radiolabeled Probes for Targeting Prostate Cancer. *J. Med. Chem.* **2008**, *52* (2), 347–357.

(23) Jackson, P. F.; Cole, D. C.; Slusher, B. S.; Stetz, S. L.; Ross, L. E.; Donzanti, B. A.; Trainor, D. A. Design, Synthesis, and Biological Activity of a Potent Inhibitor of the Neuropeptidase N-Acetylated α-Linked Acidic Dipeptidase. *J. Med. Chem.* **1996**, *39* (2), 619–622.

(24) Barinka Cyril; Rovenska Miroslava; Mlcochova Petra. Structural Insight into the Pharmacophore Pocket of Human Glutamate Carboxypeptidase II ⊥. **2007**, *50*, 3267–3273.

(25) Jackson, P. F.; Tays, K. L.; Maclin, K. M.; Ko, Y.; Li, W.; Vitharana, D.; Tsukamoto, T.; Stoermer, D.; Lu, X. M.; Wozniak, K.; et al. Design and Pharmacological Activity of Phosphinic Acid Based NAALADase Inhibitors. **2001**, 4170–4175.

(26) Tsukamoto, T.; Flanary, J. M.; Rojas, C.; Slusher, B. S.; Valiaeva, N.; Coward, J. K. Phosphonate and Phosphinate Analogues of N -Acylated Potent Inhibitors of Glutamate Carboxypeptidase II. **2002**, *12*, 2189–2192.

(27) Williams, A. J.; Lu, X. M.; Slusher, B.; Tortella, F. C. Electroencephalogram Analysis and Neuroprotective Profile of the N-Acetylated-Alpha-Linked Acidic Dipeptidase Inhibitor, GPI5232, in Normal and Brain-Injured Rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *299* (1), 48–57.

(28) Graham, K.; Lesche, R.; Gromov, A. V; Bo, N.; Scha, M.; Hassfeld, J. Radiofluorinated

Derivatives of 2-(Phosphonomethyl)Pentanedioic Acid as Inhibitors of Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA) for the Imaging of Prostate Cancer. **2012**, *55* (22), 9510–9520.

(29) Husarik, D. B.; Miralbell, R.; Dubs, M.; John, H.; Giger, O. T.; Gelet, A.; Cservenyàk, T.; Hany, T. F. Evaluation of [(18)F]-Choline PET/CT for Staging and Restaging of Prostate Cancer. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2008**, *35* (2), 253–263.

(30) Nan, F.; Bzdega, T.; Pshenichkin, S.; Wroblewski, J. T.; Wroblewska, B.; Neale, J. H.; Kozikowski, A. P. Dual Function Glutamate-Related Ligands: Discovery of a Novel, Potent Inhibitor of Glutamate Carboxypeptidase II Possessing MGluR3 Agonist Activity. **2000**, *43* (5), 772–774.

(31) Dauter, M.; Konvalinka, J.; Majer, P.; Slusher, B. S.; Hlouchova, K.; Ko, Y.-S.; Hin, N.; Rovenska, M.; Lubkowski, J.; Barinka, C.; et al. Structural Basis of Interactions between Human Glutamate Carboxypeptidase II and Its Substrate Analogs. *J. Mol. Biol.* **2008**, *376* (5), 1438–1450.

(32) Barinka Jacek, Dauter, M.; Konvalinka, J.; Majer, P.; Slusher, B. S.; Hlouchova, K.; Ko, Y.-S.; Hin, N.; Rovenska, M.; Lubkowski, C.; Tsukamoto, T. Structural Basis of Interactions between Human Glutamate Carboxypeptidase II and Its Substrate Analogs. *J. Mol. Biol.* **2008**, *376* (5), 1438–1450.

(33) Ganguly, T.; Dannoon, S.; Geruntho, J. G.; Hopkins, M. R.; Murphy, S.; Cahaya, H.; Blecha, J. E.; Jivan, S.; Barinka, C.; Jones, E. F.; et al. A High-Affinity [18F]-Labeled Phosphoramidate Peptidomimetic PSMA-Targeted Inhibitor for PET Imaging of Prostate Cancer. *Nucl. Med. Biol.* **2015**, *42* (10), 780–787.

(34) Majer, P.; Hin, B.; Stoermer, D.; Adams, J.; Xu, W.; Duvall, B. R.; Delahanty, G.; Liu, Q.; Stathis, M. J.; Wozniak, K. M.; et al. Structural Optimization of Thiol-Based Inhibitors of Glutamate Carboxypeptidase II by Modification of the P1 ′ Side Chain. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (10), 2876–2885.

(35) Stoermer, D.; Vitharana, D.; Hin, N.; Delahanty, G.; Duvall, B.; Ferraris, D. V; Grella, B. S.; Hoover, R.; Rojas, C.; Shanholtz, M. K.; et al. Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of Glutamate Carboxypeptidase II (GCPII) Inhibitors Based on Thioalkylbenzoic Acid Scaffolds. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (12), 5922–5932.

(36) Glutamate, U. I.; Kozikowski, A. P.; Nan, F.; Conti, P.; Zhang, J.; Ramadan, E.; Bzdega, T.; Wroblewska, B.; Neale, J. H. Design of Remarkably Simple, Yet Potent Urea-Based Inhibitors of Glutamate Carboxypeptidase II (NAALADase). *J. Med. Chem.* **2001**, *44* (3), 298–301.

(37) Jr, O. B. G.; Barwe, S. P.; Ritter, B.; Mcpherson, P. S.; Vasko, A.; Keen, J. H.; Nanus, D. M.; Bander, N. H.; Rajasekaran, A. K. Interaction of Prostate Specific Membrane Antigen with Clathrin and the Adaptor Protein Complex-2. *Int. J. Oncol.* **2007**, *31*, 1199–1203.

(38) Foss, C. A.; Mease, R. C.; Fan, H.; Foss, C. A.; Mease, R. C.; Fan, H.; Wang, Y.; Ravert, H.; Dannals, R. F.; Olszewski, R. T.; et al. Radiolabeled Small-Molecule Ligands for Prostate-Specific Membrane Antigen: In Vivo Imaging in Experimental Models of Prostate Cancer. *Clin. Cancer. Res.* **2005**, *11* (11), 4022–4028.

(39) Wang, H.; Byun, Y.; Barinka, C.; Pullambhatla, M.; Bhang, H. C.; Fox, J. J.; Lubkowski, J.; Mease, R. C.; Pomper, M. G. Bioisosterism of Urea-Based GCPII Inhibitors: Synthesis and Structure-Activity Relationship Studies. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (1), 392–

397.

(40) Tykvart, J.; Schimer, J.; Bařinková, J.; Pachl, P.; Poštová-Slavětínská, L.; Majer, P.; Konvalinka, J.; Šácha, P. Rational Design of Urea-Based Glutamate Carboxypeptidase II (GCPII) Inhibitors as Versatile Tools for Specific Drug Targeting and Delivery. *Bioorganic Med. Chem.* **2014**, *22* (15), 4099–4108.

(41) Pillow Thomas, Sadowsky Jack, Z. D. Decoupling Stability and Release in Disulfide Bonds with Antibody-Small Molecule Conjugates. *Chem. Sci.* **2017**, *8* (1), 366–370.

(42) Johnstone, T. C.; Suntharalingam, K.; Lippard, S. J. The Next Generation of Platinum Drugs : Targeted Pt (II) Agents , Nanoparticle Delivery , and Pt (IV) Prodrugs. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 3436–3486.

(43) Wagstaff, A. J.; Ward, A.; Benfield, P.; Heel, R. C. Carboplatin. A Preliminary Review of Its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Efficacy in the Treatment of Cancer. *Drugs.* **1989**, *37* (2), 162–190.

(44) Mckeage, M. J. Satraplatin in Hormone-Refractory Prostate Cancer and Other Tumour Types Pharmacological Properties and Clinical Evaluation. *Drugs.* **2007**, *67* (6), 859–869.

(45) Culy, C. R.; Clemett, D.; Wiseman, L. R.; Borner, M. M.; Oncology, M.; Chollet, P.; Perrin, C. J.; Cvitkovic, E.; Brousse, H. P.; Moore, M. Oxaliplatin. A Review of Its Pharmacological Properties and Clinical Efficacy in Metastatic Colorectal Cancer and Its Potential in Other Malignancies. *Drugs.* **2000**, *60* (4), 895–924.

(46) Etienne Borre, Dahm Georges; Guichard Gilles, Bellemin-Laponnaz Stephane. Post-Functionalization of Platinum-NHC Complexes by Oxime Ligation for Ligand Targeted Therapy. *New J. Chem.* **2016**, *40*, 3164–3171.

(47) Pathak, R. K.; McNitt, C. D.; Popik, V. V.; Dhar, S. Copper-Free Click-Chemistry Platform to Functionalize Cisplatin Prodrugs. *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20* (23), 6861–6865.

(48) Agard, N. J.; Prescher, J. A.; Bertozzi, C. R. A Strain-Promoted [3 + 2] Azide - Alkyne Cycloaddition for Covalent Modification of Biomolecules in Living Systems. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (46), 15046–15047.

(49) Abal, M.; Andreu, J. M.; Barasoain, I. Taxanes : Microtubule and Centrosome Targets , and Cell Cycle Dependent Mechanisms of Action. *Curr. Cancer Drug Targets* **2003**, *3* (3), 193–203.

(50) Rabbani, A.; Finn, R. M.; Ausio, J. The Anthracycline Antibiotics : Antitumor Drugs That Alter Chromatin Structure. *BioEssays.* **2004**, *27* (1), 50–56.

(51) Maderna, A.; Leverett, C. A. Recent Advances in the Development of New Auristatins : Structural Modi Fi Cations and Application in Antibody Drug Conjugates. *Mol. Pharm.* **2015**, *12* (6), 1798–1812.

(52) Veronese, F. M.; Schiavon, O.; Pasut, G.; Mendichi, R.; Andersson, L.; Tsirk, A.; Ford, J.; Wu, G.; Kneller, S.; Davies, J.; et al. PEG-Doxorubicin Conjugates: Influence of Polymer Structure on Drug Release, in Vitro Cytotoxicity, Biodistribution, and Antitumor Activity. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16* (4), 775–784.

(53) Wong, E. H. H.; Barner-kowollik, C.; Junkers, T. Polymer Chemistry Nitrones in Synthetic Polymer Chemistry under the Joint Supervision Of. *Polym. Chem.* **2011**, *2*,

1008–1017.

(54) Wong, L.; Bulmus, V. Doxorubicin Conjugated , Crosslinked , PEGylated Particles Prepared via One-Pot Thiol-Ene Modification of a Homopolymer Scaffold : Synthesis and in Vitro Evaluation †. *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 385–393.

(55) Jiang, T.; Li, Y.; Lv, Y.; Cheng, Y.; He, F.; Zhuo, R. Colloids and Surfaces B : Biointerfaces Amphiphilic Polycarbonate Conjugates of Doxorubicin with PH-Sensitive Hydrazone Linker for Controlled Release. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2013**, *111*, 542–548.

(56) Mueller, B. M.; Wrasidlo, W. A.; Reisfeldt, R. A. Antibody Conjugates with Morpholinodoxorubicin and Acid-Cleavable Linkers. *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1* (5), 325–330.

(57) Jayaprakash, S.; Wang, X.; Heston, W. D.; Kozikowski, A. P. Design and Synthesis of a PSMA Inhibitor-Doxorubicin Conjugate for Targeted Prostate Cancer Therapy. *ChemMedChem* **2006**, *1* (3), 299–302.

(58) Firestone, R. A.; Padilla, L.; Trail, P. A.; Mosure, K.; Knipe, J. O.; Lasch, S. J.; Willner, D.; Dubowchik, G. M.; Hofstead, S. J. Cathepsin B-Labile Dipeptide Linkers for Lysosomal Release of Doxorubicin from Internalizing Immunoconjugates: Model Studies of Enzymatic Drug Release and Antigen-Specific In Vitro Anticancer Activity. *Bioconjug. Chem.* **2002**, *13* (4), 855–869.

(59) Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Srirangam, K.; Hogan-pierson, F.; Williams, M. D. The Dolastatins. 19. Synthesis of Dolaisoleuinel. *J. Org. Chem.* **1994**, *59* (7), 1796–1800.

(60) Doronina, S. O.; Toki, B. E.; Torgov, M. Y.; Mendelsohn, B. A.; Cerveny, C. G.; Chace, D. F.; Deblanc, R. L.; Gearing, R. P.; Bovee, T. D.; Siegall, C. B.; et al. Development of Potent Monoclonal Antibody Auristatin Conjugates for Cancer Therapy. *Nat Biotechnol.* **2003**, *21* (7), 778–784.

(61) Dipippo, V. A.; Nguyen, H. M.; Brown, L. G.; Olson, W. C.; Vessella, R. L.; Corey, E. Addition of PSMA ADC to Enzalutamide Therapy Significantly Improves Survival in In Vivo Model of Castration Resistant Prostate Cancer. *Prostate.* **2016**, *76* (3), 325–334.

(62) Ojima, I.; Duclos, O.; Zucco, M.; Bissery, M.-C.; Combeau, C.; Vrignaud, P.; Riou, J. F.; Lavellen, F. Synthesis and Structure-Activity Relationships of New Antitumor Taxoids. Effects of Cyclohexyl Substitution at the C - 3 and/or C-2 of Taxotere (Docetaxel). *J. Med. Chem.* **1994**, *37* (16), 2602–2608.

(63) Kim, H.; Lee, Y.; Lee, I.; Kim, S.; Kim, D.; Saw, P. E.; Lee, J.; Choi, M.; Kim, Y.; Jon, S. Synthesis and Therapeutic Evaluation of an Aptide–docetaxel Conjugate Targeting Tumor-Associated Fibronectin. *J. Control. Release* **2014**, *178*, 118–124.

(64) Peng, Z.; Sima, M.; Salama, M. E.; Kopec, P. Spacer Length Impacts the Efficacy of Targeted Docetaxel Conjugates in Prostate-Specific Membrane Antigen Expressing Prostate Cancer. *J .Drug Target.* **2013**, *21* (10), 968–980.

(65) Kularatne, S. A.; Venkatesh, C.; Santhapuram, H. K. R.; Wang, K.; Vaitilingam, B.; Henne, W. A.; Low, P. S. Synthesis and Biological Analysis of Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Anticancer Prodrugs. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (21), 7767–7777.

(66) Morris, M. J.; Sartor, A. O.; Vogelzang, N. J.; Shore, N. D.; Cislo, P.; Bangerter, K.; Sweeney, C. Effect of Radium-223 Dichloride (Ra-223) on Pain from US EAP. *J. Clin. Oncol.* **2015**, *33* (7), 160.

(67) Kularatne, S. A.; Zhou, Z.; Yang, J.; Post, C. B.; Low, P. S. Design, Synthesis, and Preclinical Evaluation of Prostate-Specific Membrane Antigen Targeted 99mTc-Radioimaging Agents. *Mol. Pharm.* **2009**, *6* (3), 790–800.

(68) Dao, K. L.; Sawant, R. R.; Hendricks, J. A.; Ronga, V.; Torchilin, V. P.; Hanson, R. N. Design, Synthesis, and Initial Biological Evaluation of a Steroidal Anti-Estrogen - Doxorubicin Bioconjugate for Targeting Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer Cells. *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23* (4), 785–795.

(69) Mandal, D.; Parang, K.; Kumar, A.; St. Jean, N.; Chhikara, B. S. Fatty Acyl Amide Derivatives of Doxorubicin: Synthesis and in Vitro Anticancer Activities. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (6), 2037–2042.

(70) Chen, Q.; Sowa, D. A.; Cai, J.; Gabathuler, R. Synthesis of Doxorubicin Conjugates through Hydrazone Bonds to Melanotransferrin P97. *Synth. Commun.* **2003**, *33* (14), 2377–2390.

(71) Patil, R.; Portilla-Arias, J.; Ding, H.; Konda, B.; Rekechenetskiy, A.; Inoue, S.; Black, K. L.; Holler, E.; Ljubimova, J. Y. Cellular Delivery of Doxorubicin via PH-Controlled Hydrazone Linkage Using Multifunctional Nano Vehicle Based on Poly(β-L-Malic Acid). *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13* (9), 11681–11693.

(72) Murelli, R. P.; Zhang, A. X.; Michel, J.; Jorgensen, W. L.; Spiegel, D. A. Chemical Control Over Immune Recognition: A Class of Antibody-Recruiting Molecules (ARMs) That Target Prostate Cancer. *J. Am Chem Soc.* **2009**, *131* (47), 17090–17092.

(73) Kumar, P.; Agnihotri, S. Synthesis of Dox Drug Conjugation and Citric Acid Stabilized Superparamagnetic Iron-Oxide Nanoparticles for Drug Delivery. *Biochem. Physiol. Open Access* **2016**, *5* (1), 1–6.

(74) Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. Amide Bond Formation and Peptide Coupling. *Tetrahedron* **2005**, *61* (46), 10827–10852.

(75) Al-Warhi, T. I.; Al-Hazimi, H. M. A.; El-Faham, A. Recent Development in Peptide Coupling Reagents. *J. Saudi Chem. Soc.* **2012**, *16* (2), 97–116.

(76) Lee, H. L.; Aubé, J. Intramolecular and Intermolecular Schmidt Reactions of Alkyl Azides with Aldehydes. *Tetrahedron* **2007**, *63* (36), 9007–9015.

(77) Chen, S.-H.; Farina, V. Paclitaxel Structure—Activity Relationships and Core Skeletal Rearrangements. *ACS Symp. Ser.* **2009**, 247–261.

(78) Fang, W.-; Liang, X.-. Recent Progress in Structure Activity Relationship and Mechanistic Studies of Taxol Analogues. *Mini-Reviews Med. Chem.* **2012**, *5* (1), 1–12.

(79) Yang, X.; Liu, F.; Ma, Y.; Fu, Q.; Liu, D.; Zhang, D.; He, Z.; Wang, Y.; Fallon, J. K. Programmed Hydrolysis in Designing Paclitaxel Prodrug for Nanocarrier Assembly. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 12023.

(80) Barltrop, J. A.; Owen, T. C.; Cory, A. H.; Cory, J. G. 5-(3-Carboxymethoxyphenyl)-2-(4,5-Dimethylthiazolyl)-3-(4-Sulfophenyl)Te Trazolium, Inner Salt (MTS) and Related Analogs of 3-(4,5-Dimethylthiazolyl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) Reducing

to Purple Water-Soluble Formazans As Cell-Viability Indica. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **1991**, *1* (11), 611–614.

(81) Странадко, Е. Ф. ОсновНые Этапы РазвИтия Фотодинамической Терапии в России. *Фотодинамическая терапия и фотодиагностика*. **2015**, *4* (1), 3–10.

(82) Betrouni, N.; Mordon, S.; Nevoux, P.; Villers, A.; Bozzini, G.; Puech, P.; Colin, P.; Ouzzane, A. Photodynamic Therapy in Urology: What Can We Do Now and Where Are We Heading? *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* **2012**, *9* (3), 261–273.

(83) Smith, A. M.; Mancini, M. C.; Nie, S. Bioimaging: Second Window for in Vivo Imaging. *Nat. Nanotechnol.* **2009**, *4* (11), 710–711.

(84) Moret, F.; Reddi, E. Strategies for Optimizing the Delivery to Tumors of Macrocyclic Photosensitizers Used in Photodynamic Therapy (PDT). *J. Porphyr. Phthalocyanines* **2017**, *21* (4–6), 239–256.

(85) Stallivieri, A.; Colombeau, L.; Jetpisbayeva, G.; Moussaron, A.; Myrzakhmetov, B.; Arnoux, P.; Acherar, S.; Vanderesse, R.; Frochot, C. Folic Acid Conjugates with Photosensitizers for Cancer Targeting in Photodynamic Therapy: Synthesis and Photophysical Properties. *Bioorganic Med. Chem.* **2017**, *25* (1), 1–10.

(86) You, H.; Yoon, H. E.; Jeong, P. H.; Ko, H.; Yoon, J. H.; Kim, Y. C. Pheophorbide-a Conjugates with Cancer-Targeting Moieties for Targeted Photodynamic Cancer Therapy. *Bioorganic Med. Chem.* **2015**, *23* (7), 1453–1462.

(87) Suvorov, N. V.; Mironov, A. F.; Grin, M. A. Folic Acid and Its Derivatives for Targeted Photodynamic Therapy of Cancer. *Russ. Chem. Bull.* **2017**, *66* (11), 1982–2008.

(88) Chen, Y.; Chatterjee, S.; Lisok, A.; Minn, I.; Pullambhatla, M.; Wharram, B.; Wang, Y.; Jin, J.; Bhujwalla, Z. M.; Nimmagadda, S.; et al. A PSMA-Targeted Theranostic Agent for Photodynamic Therapy. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **2017**, *167*, 111–116.

(89) Banevicius, L.; Genady, A.; Valliant, J. Preparation and Evaluation of Chlorin E6-PSMA Inhibitor Constructs as Multi-Purpose and Isostructural Molecular Imaging and Therapy Agents for Prostate Cancer. *J. Nucl. Med.* **2013**, *54* (supplement 2), 1179–1179.

(90) Suvorov, N. V.; MacHulkin, A. E.; Ivanova, A. V.; Popkov, A. M.; Bondareva, E. A.; Plotnikova, E. A.; Yakubovskaya, R. I.; Majouga, A. G.; Mironov, A. F.; Grin, M. A. Synthesis of PSMA-Targeted 131- and 152-Substituted Chlorin E6 Derivatives and Their Biological Properties. *J. Porphyr. Phthalocyanines* **2018**, *22* (11), 1–9.

(91) Trepalin, S. V.; Gerasimenko, V. A.; Kozyukov, A. V.; Savchuk, N. P.; Ivaschenko, A. A. New Diversity Calculations Algorithms Used for Compound Selection. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42* (2), 249–258.

(92) Liu, S.; Edgar, K. J. Staudinger Reactions for Selective Functionalization of Polysaccharides: A Review. *Biomacromolecules* **2015**, *16* (9), 2556–2571.

(93) Yamada, K.; Hashizume, D.; Shimizu, T.; Ohki, S.; Yokoyama, S. A Solid-State 17O NMR, X-Ray, and Quantum Chemical Study of N-α-Fmoc-Protected Amino Acids. *J. Mol. Struct.* **2008**, *888* (1–3), 187–196.

(94) KING, D. S.; FIELDS, C. G.; FIELDS, G. B. A Cleavage Method Which Minimizes Side Reactions Following Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis. *Int. J. Pept. Protein Res.* **1990**, *36* (3), 255–266.

(95) Guénard, D.; Guéritte-Voegelein, F.; Potier, P. Taxol and Taxotere: Discovery, Chemistry, and Structure-Activity Relationships. *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26* (4), 160–167.

(96) Senter, P. D.; Sievers, E. L. The Discovery and Development of Brentuximab Vedotin for Use in Relapsed Hodgkin Lymphoma and Systemic Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Nat. Biotechnol.* **2012**, *30* (7), 631–637.

(97) Ciuk, A. K.; Lindhorst, T. K. Synthesis of Carbohydrate-Scaffolded Thymine Glycoconjugates to Organize Multivalency. *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 668–674.

(98) Tang, W.; Becker, M. L. "click" Reactions: A Versatile Toolbox for the Synthesis of Peptide-Conjugates. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (20), 7013–7039.

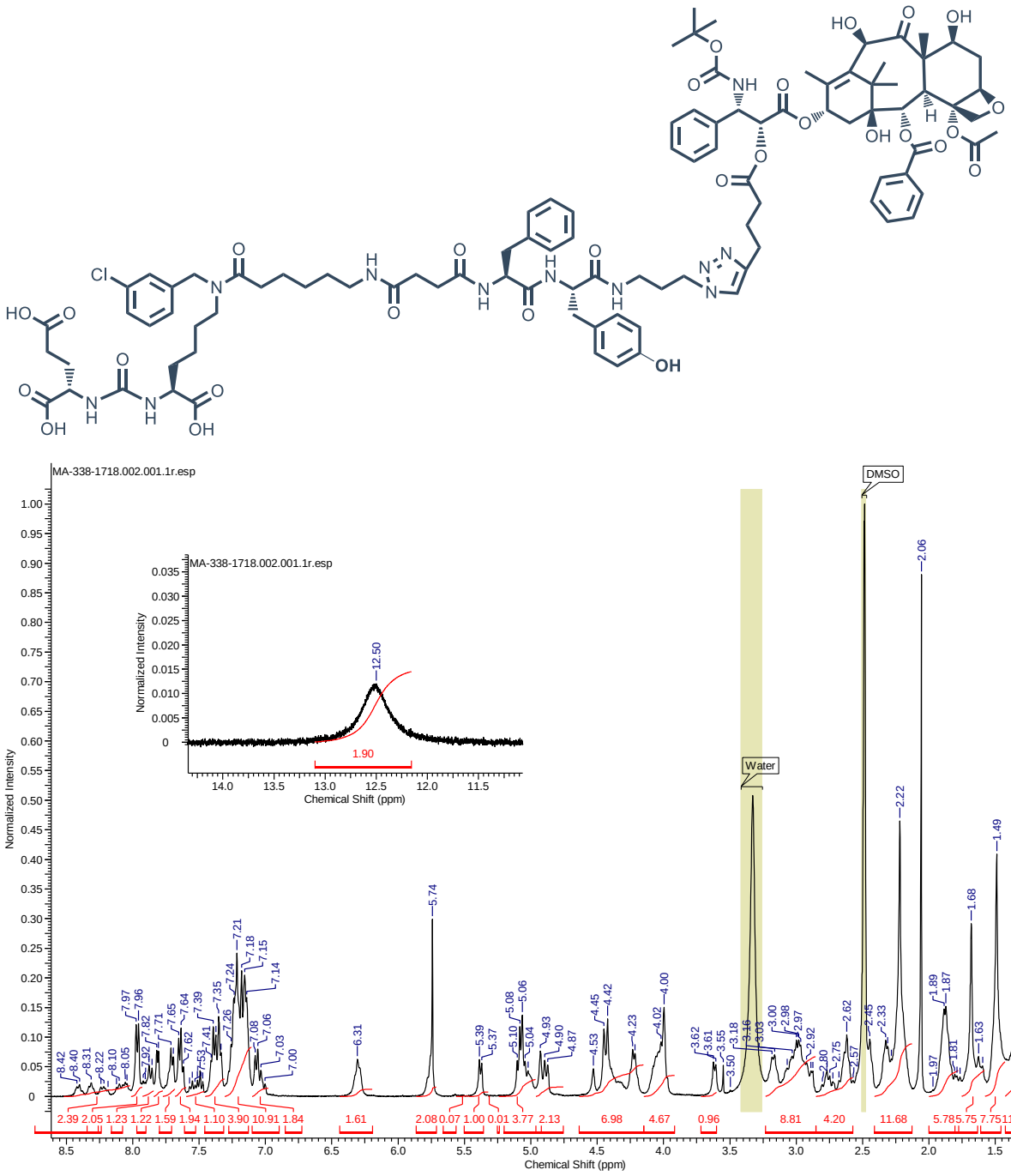
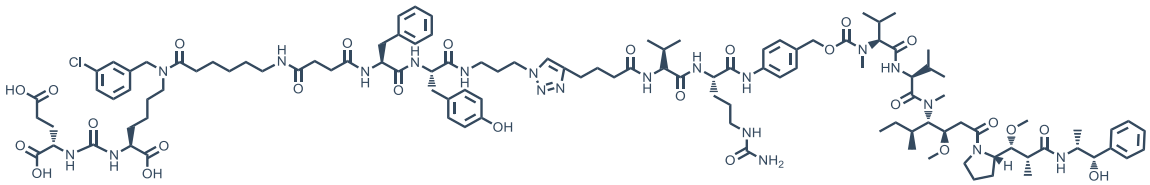
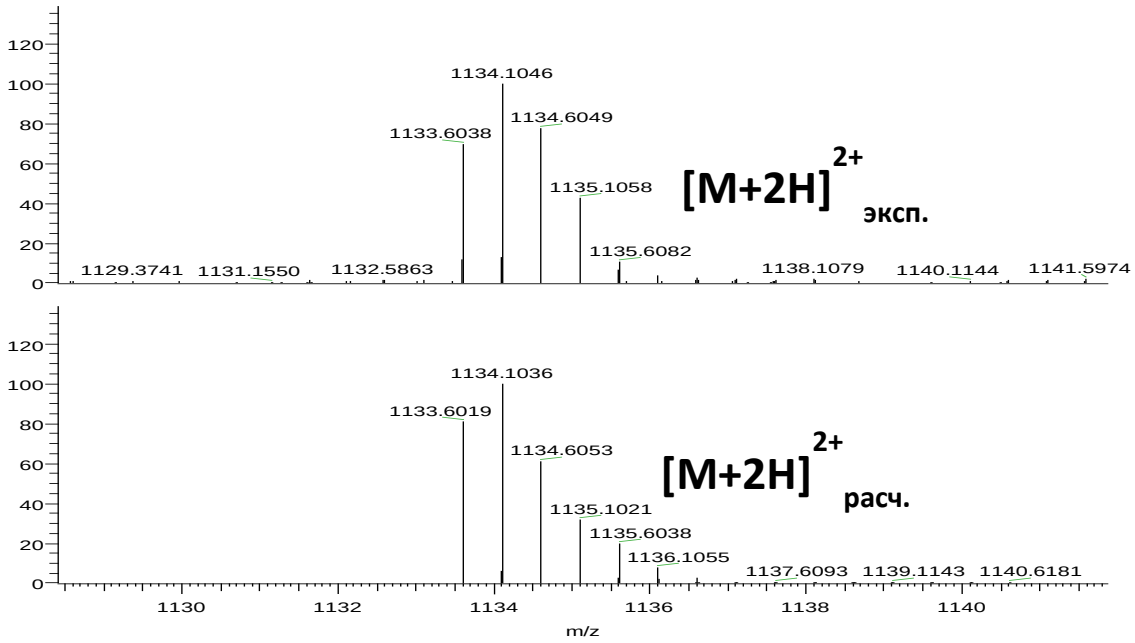
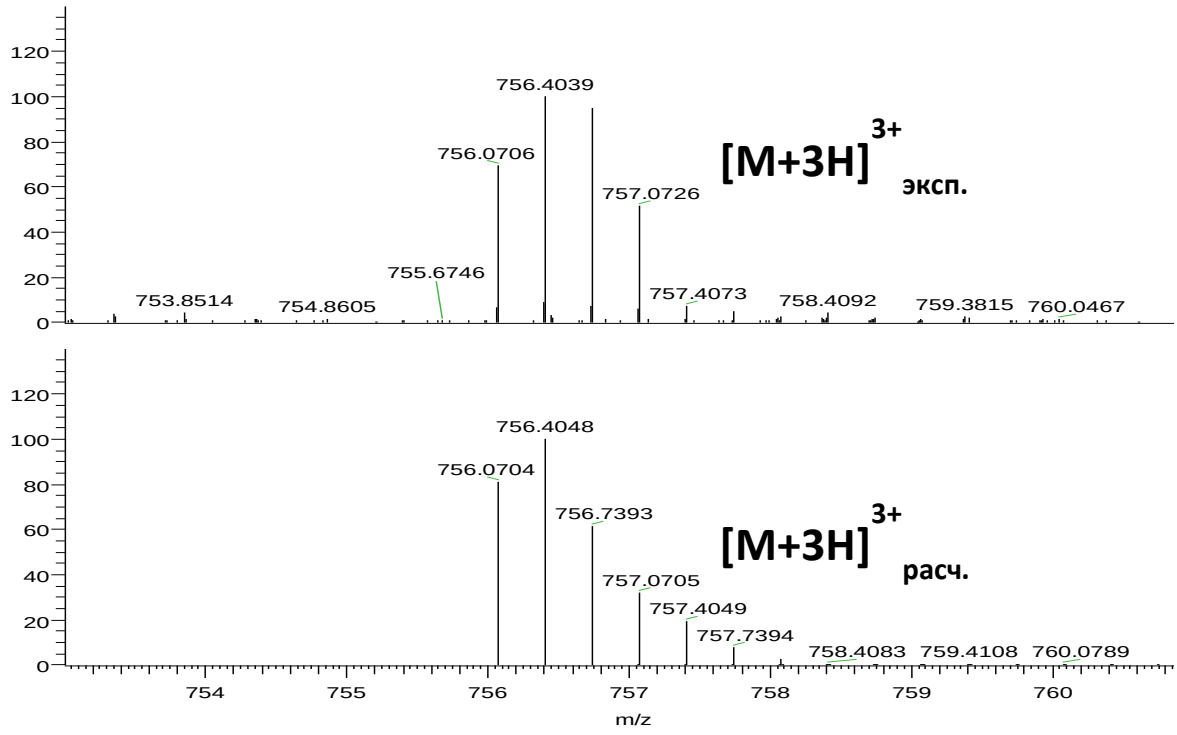
(99) Krasnopolsky, Y. M.; Dudnichenko, A. S. Experimental Study Of Liposomal Docetaxel Analysis Of Docetaxel Incorporation And Stability. *Exp. Oncol.* **2017**, *39* (2), 121–123.

(100) Титце, Л.; Айхер, Т. *ПрепаративНая Органическая Химия.*; М: МГУ, 2009.

(101) Ferrari, M.; Fornasiero, M. C. MTT Colorimetric Assay for Testing Macrophage Cytotoxic Activity in Vitro. *J. Immunol. Methods* **1990**, *131*, 165–172.

7. Приложение

Приложение 1. Спектр ^{1}H ЯМР конъюгата **154** (DMSO-d6).



Приложение 2. Масс-спектр высокого разрешения (ESI-HRMS) конъюгата **155** (эксепериментальный – сверху, рассчетный – снизу).