



Конструирование и синтез нового димерного дипептидного миметика 4-й петли нейротрофина-3 гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) и его D,D-стереоизомера

Сазонова Н. М., Филиппова М. Ю., Мельникова М. В., Ребеко А. Г., Кузнецов Д. Н., Поварнина П. Ю., Гудашева Т. А.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Введение. Нейротрофин-3 (NT-3), как и другие белки семейства нейротрофинов, играет важную роль в поддержании гомеостаза нервной системы, а нарушения его сигналинга ассоциированы с широким спектром неврологических и психических заболеваний. Преодолеть ограничения клинического применения NT-3 (низкая биодоступность, риск развития побочных эффектов) возможно созданием фармакологически пригодных низкомолекулярных миметиков.

Цель. Сконструировать и синтезировать новый потенциальный дипептидный миметик 4-й петли NT-3 гексаметилендиамид бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина), а также синтезировать его энантиомер для изучения их биологической активности и выявления её стереоспецифичности.

Материалы и методы. Соединения получали классическими методами пептидного синтеза в растворе с использованием Boc-стратегии защитных групп и метода активированных пентафторфениловых эфиров. Строение и диастереомерную чистоту целевых пептидов и промежуточных соединений устанавливали методами одномерной ^1H , ^{13}C и двумерной ЯМР-спектроскопии. Хроматографическую гомогенность определяли с помощью ТСХ и ОФ ВЭЖХ. Целевые дипептиды были охарактеризованы удельным углом оптического вращения $[\alpha]_D$.

Результаты. Предложена семистадийная схема синтеза L,L- и D,D-энантиомеров гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-304LL, ГТС-304DD). Целевые дипептиды по этой схеме получены с общим выходом 37–38 % и хроматографической чистотой 97–99 %.

Выводы. Получены новые замещённые аспарагин-содержащие дипептиды, потенциальные миметики нейротрофина-3. Соединения охарактеризованы для дальнейшего изучения их биологической активности.

Ключевые слова: нейротрофин-3; миметик; дипептид; ГТС-304LL; ГТС-304DD; пептидный синтез

Для цитирования:

Сазонова Н. М., Филиппова М. Ю., Мельникова М. В., Ребеко А. Г., Кузнецов Д. Н., Поварнина П. Ю., Гудашева Т. А. Конструирование и синтез нового димерного дипептидного миметика 4-й петли нейротрофина-3 гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) и его D,D-стереоизомера. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2026;(2):45–58. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-45-58>. EDN: FUYWTI

Поступила: 15.05.2026. **В доработанном виде:** 15.06.2026. **Принята к печати:** 25.06.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Designing and synthesis of a new dimeric dipeptide mimetic of the 4th loop of neurotrophin-3 bis-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine) hexamethylenediamide and its D,D-stereoisomer

Nellya M. Sazonova, Maria Yu. Filippova, Marina V. Melnikova, Alexey G. Rebeko, Dmitry N. Kuznetsov, Polina Yu. Povarnina, Tatiana A. Gudasheva
Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Neurotrophin-3 (NT-3), like other proteins of the neurotrophin family, plays an important role in maintaining the homeostasis of the nervous system, and disorders of its signaling are associated with a wide range of neurological and psychiatric diseases. It is possible to overcome the limitations of the clinical use of NT-3 (low bioavailability, risk of side effects) by creating pharmacologically suitable low molecular weight mimetics.

Purpose. To design and synthesize a new potential dipeptide mimetic of the 4th loop of NT-3 hexamethylenediamide bis-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine), and to synthesize its enantiomer, in order to study their biological activity and identify its specificity.

Materials and methods. The compounds were obtained by classical peptide synthesis methods in solution using the Boc strategy of protective groups and the method of activated pentafluorophenyl esters. The structure and diastereomeric purity of the target peptides and intermediates were established using one-dimensional ^1H , ^{13}C and two-dimensional NMR spectroscopy. Chromatographic homogeneity was determined using TLC and RP HPLC. The target dipeptides were characterized by the specific optical rotation angle $[\alpha]_D$.

Results. A seven-step synthesis scheme for the L,L- and D,D-enantiomers of hexamethylenediamide bis-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine) (GTS-304LL, GTS-304DD) was proposed. The target dipeptides were obtained using this scheme with an overall yield of 37–38 % and a chromatographic purity of 97–99 %.

Conclusions. New substituted asparagine-containing dipeptides, potential neurotrophin-3 mimetics, were obtained. The compounds were characterized for further study of their biological activity.

Keywords: neurotrophin-3; mimetic; dipeptide; GTS-304LL; GTS-304DD; peptide synthesis

For citations:

Sazonova NM, Filippova MYu, Melnikova MV, Rebeko AG, Kuznetsov DN, Povarnina PYu, Gudasheva TA. Designing and synthesis of a new dimeric dipeptide mimetic of the 4th loop of neurotrophin-3 bis-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine) hexamethylenediamide and its D,D-stereoisomer. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2026;(2):45–58. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2026-2-45-58>. EDN: FUYWTI

Received: 15.05.2026. **Revision received:** 15.06.2026. **Accepted:** 25.06.2026. **Published:** 30.06.2026.

Введение / Introduction

Белки семейства нейротрофинов, которые у млекопитающих включают фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF), мозговой нейротрофический фактор (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), нейротрофин-3 (NT-3) и нейротрофин-4 (NT-4), играют центральную роль в развитии нервной системы и поддержании её гомеостаза [1]. Для большинства неврологических и психических заболеваний выявлена ассоциация с нарушениями нейротрофинового сигналинга [2–4]. В связи с этим нейротрофины привлекают большой интерес как потенциальные терапевтические средства. Однако клиническое применение полноразмерных нейротрофинов осложняется их низкой биодоступностью, а также риском развития побочных эффектов таких как гипералгезия [5]. Для преодоления этих ограничений рядом научных групп разрабатываются низкомолекулярные миметики нейротрофинов [6–8]. По сравнению с NGF и BDNF, для которых в литературе описаны десятки миметиков, единичные из которых находятся на разных стадиях доклинических и клинических исследований, миметикам NT-3 посвящено сравнительно небольшое количество работ, при этом отсутствуют данные об их эффектах *in vivo*.

На основе β -поворотных участков NT-3 группой учёных под руководством Кевина Бургесса и Х. Ури Сарагови (Burgess K and Saragovi UH) был создан ряд

макроциклических моно- и бивалентных миметиков, которые содержали дипептидные фрагменты полноразмерного нейротрофина (рис. 1) [9–11]. Для соединения 1Aa (рис. 1) были выявлены нейропротекторная и нейрорегенеративная активности на модели нейросенсорной тугоухости *in vitro* [11], характерные для полноразмерного NT-3 [12].

Научной группой под руководством Энрико Рицарелли (Enrico Rizzarelli) был создан пептид, содержащий 13 аминокислотных остатков (1–13) N-концевого участка NT-3, который в экспериментах *in vitro* на клетках нейробластомы человека стимулировал дифференцировку нейронов и рост нейритов, и эти эффекты были опосредованы активацией Trk рецепторов [13].

Ранее в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» был предложен и разработан оригинальный подход к созданию низкомолекулярных димерных дипептидных миметиков нейротрофинов, основанный на воспроизведении пространственной структуры β -изгибов их петель, предположительно играющих ключевую роль во взаимодействии с рецептором [8, 14]. При этом сохраняли наиболее экспонированный центральный дипептидный фрагмент β -изгиба, предшествующий ему аминокислотный остаток заменяли на соответствующий биоизомер, и для воспроизведения димерной структуры нейротрофина N-ацилдипептид димеризовали с использованием олигометилendiаминового спейсера. Стабилизация нужной конформации может обеспечиваться внутримолекулярной водородной связью между карбонилем N-ацильного радикала и амидной связью C-концевого аминокислотного остатка. На основе этого принципа был создан ряд миметиков NGF и BDNF, обладающих выраженной нейропротекторной активностью *in vitro* и *in vivo*, и другими видами биологической активности, характерными для полноразмерного белка (антидепрессантоподобная, анксиолитическая, мнотропная, антидиабетическая и др.) [8, 15]. В 2022 г. нами был получен димерный дипептидный миметик 4-й петли NT-3, гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-аспарагинил-L-аспарагина (ГТС-301), который, подобно полноразмерному белку, активировал TrkC и TrkB рецепторы, проявлял нейропротекторную активность в экспериментах *in vitro* в наномолярных-пикомолярных концентрациях и антидепрессантоподобной активностью в дозах 10–40 мг/кг, внутривенно [16].

Целью настоящего исследования было получение нового потенциального дипептидного миметика 4-й петли NT-3, а также его энантиомера для сравнительного изучения их биологической активности.

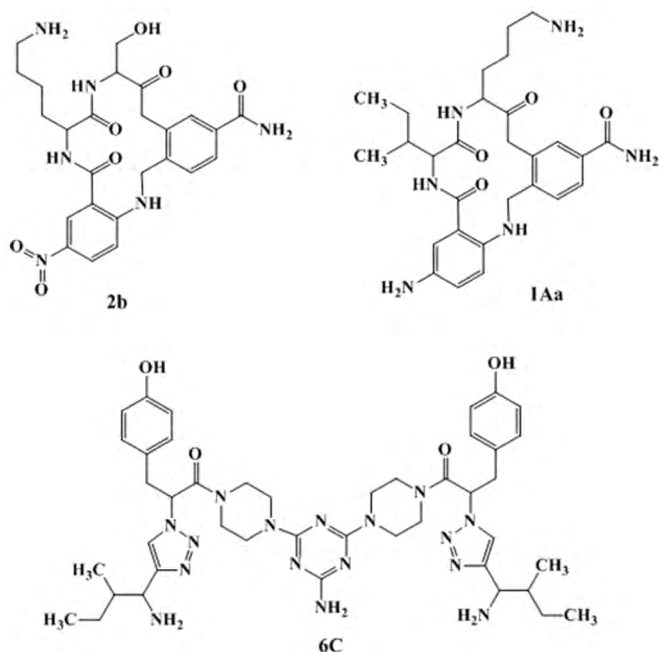


Рис. 1. Моновалентные (2b [9], 1Aa [10]) и бивалентный (6C [11]) миметики NT-3

Fig. 1. Monovalent (2b [9], 1Aa [10]) and bivalent (6C [11]) NT-3 mimetics

Материалы и методы / Materials and methods

Список сокращений

Asn — аспарагинил; Вос — *трет*-бутилоксикарбонил; CDCl₃ — дейтерированный хлороформ; DMSO-d₆ — дейтерированный диметилсульфоксид; Glt — моноглутарил; OPfp — пентафторфенил; Pd/C — катализатор: наночастицы палладия на поверхности активированного угля; ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография; ДИПЭА — диизопропиламин; ДМФА — диметилформамид; ДЦГК — дициклогексилкарбодиимид; ДЦГМ — дициклогексилмочевина; т.пл. — температура плавления; ТФУ — трифторуксусная кислота; ЯМР — ядерный магнитный резонанс.

Исходные вещества и вспомогательные реагенты

В работе использовали коммерческие исходные вещества и вспомогательные реагенты: L-аспарагин моногидрат (ООО «Диаэм», производство КНР); D-аспарагин моногидрат, пентафторфенол и трифторуксусная кислота (AlfaAesar, США); дициклогексилкарбодиимид (ДЦГК) (Sigma-Aldrich, Германия); ди-*трет*-бутилпирикарбонат (ООО «Кемикал лайн», Россия).

Растворители: этилацетат, диметилформамид, диэтиловый эфир, дихлорметан, гексан, метанол были получены от ООО ТД «Химмед» (Россия). Диметилформамид очищали перегонкой в вакууме над нингидрином. Диэтиловый эфир выдерживали над NaOH, затем фильтровали через бумажный фильтр. Дихлорметан пропускали через колонку с Al₂O₃. Этилацетат и спирты использовали без дополнительной очистки.

Аналитические методы

Температуру плавления определяли на приборе Optimelt MPA100 (Stanford Research Systems, Великобритания) в открытых капиллярах без корректировки. Удельное оптическое вращение регистрировали на автоматическом поляриметре ADP 440 Polarimeter (Bellingham+Stanley Ltd., Великобритания). Строе и диастереомерную чистоту целевых пептидов и промежуточных соединений устанавливали методами ЯМР-спектроскопии одномерной ¹H-, ¹³C- и двумерной (COSY — гомоядерная корреляция, HSQC — гетероядерная одноквантовая корреляция, HMBC — гетероядерная многосвязная корреляция). Спектры ¹H- и ¹³C-ЯМР регистрировали в шкале δ, м. д. на спектрометре Bruker Fourier 300 HD (Bruker Corporation, Leipzig, Germany, 300 и 75 МГц для ядер ¹H- и ¹³C соответственно) в растворах ДМСО-d₆ и CDCl₃, внутренний стандарт тетраметилсилан (0 м.д.). Константа спин-спинового взаимодействия J, Гц. Для обозначения резонансных сигналов использовали следующие сокращения: с — синглет, д — дублет, т — триплет, м — мультиплет.

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) выполняли на стеклянных силикагелевых пластинах DC Kieselgel 60 G/F₂₅₄ (Merck, Германия) в системах растворителей, представленных в табл. 1. Аминосодержащие соединения обнаруживали нингидрином, соединения с амидными группами — с помощью хлор-толидиновой пробы.

Таблица 1

Системы растворителей, использованных в качестве элюентов для ТСХ

Table 1

Solvent systems used as eluents for TLC

Шифр	Состав системы	Объемное соотношение
А	Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота–Вода	15:10:2:3
Б	Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота–Вода	8:10:2:3
В	Бутанол–Уксусная кислота–Вода	3:1:1
Г	Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота	8:1:0,1
Д	Этилацетат	—
Е	Гексан–Этилацетат	1:5
Ж	Гексан–Этилацетат	1:1
З	Хлороформ–Метанол	9:1

Аналитическую ОФ ВЭЖХ проводили на жидкостном хроматографе Infinity II 1260 (Agilent Technologies, США) с градиентным насосом и спектрофотометрическим детектором с диодной матрицей; программное обеспечение — Agilent OpenLAB CDS ChemStation. Хроматографическая колонка BDS Hypersil C18 250×4,6 мм, 5 мкм (Thermo Scientific, США). Анализ выполняли в условиях линейного градиента с применением двух подвижных фаз (ПФ): смесь 0,02М фосфатного буферного раствора с pH 7,6 и метанола в объемном соотношении 95:5 (ПФ А) и смесь 0,02М фосфатного буферного раствора с pH 7,6, метанола и ацетонитрила в объемном соотношении 60:100:40 (ПФ Б). Режим градиента: ПФ А/ПФ Б от 100/0 до 85/15 за 15 минут, затем от 85/15 до 30/70 за 10 минут, выдержка 30/70 в течение 10 минут, затем от 30/70 до 100/0 за 2 минуты, выдержка 100/0 в течение 8 минут. Скорость потока ПФ 1 мл/мин; температура термостата колонки 20 °С; аналитическая длина волны детектирования 210 нм, объем вводимой пробы 20 мкл.

Синтез гексаметилендиамида бис-(N-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина), ГТС-304LL

N-*трет*-бутилоксикарбонил-L-аспарагина, Вос-L-Asn-OH (1L). К раствору 56,8 г (0,378 моль) моногидрата H-Asn-OH в 378 мл 1М NaOH при перемешивании последовательно приливали раствор 18,9 г (0,225 моль) NaHCO₃ в 189 мл воды и 378 мл

изопропилового спирта. Далее при комнатной температуре к реакционной массе порционно по ~20–30 мл прибавляли 113 мл 98 % ($p = 0,95$; 0,491 моль, 30 % изб.) ди-*трет*-бутилпирокарбоната в течение 30 мин и перемешивали 24 ч. Реакционную массу упаривали на роторном испарителе при температуре 35–40 °C до объёма ~ 600–500 мл (удаляли т. о. изопропанол и *трет*-бутанол) и к остатку приливали 300 мл воды. Непрореагировавший ди-*трет*-бутилпирокарбонат экстрагировали гексаном 3×200 мл. Водно-щелочной раствор охлаждали до –2 °C и подкисляли 10 % р-ром HCl до pH 3–3,5 так, чтобы температура не поднималась выше 0 °C. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали 150 мл холодной воды, хорошо отжимали и затем промывали гексаном 2×100 мл. Сушили на фильтре в вакууме водоструйного насоса в течение 1,5 ч, затем на воздухе в фарфоровой чаше в течение 12 ч. Получали 82,8 г (94 %) продукта **1L** в виде белого порошка. R_f 0,51 (A), R_f 0,84 (B), R_f 0,71 (B), R_f 0,17 (Г); Т.пл. 176–176,4 °C с разлож.; $[\alpha]_D^{21} -9,56^\circ$ (с 2; ДМФА), $[\alpha]_D^{21,5} -11,2^\circ$ (с 1; ДМФА). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆), δ , м.д.: 1,38 (с, 9H, –OC(CH₃)₃ Boc), 2,37–2,53 (м, 2H, C ^{β} H₂ Asn), 4,14 (м, минорн. конформер 1H, C ^{α} H Asn), 4,22 (м, 1H, C ^{α} H Asn), 6,60 (д, 1H, минорный конформер ³J = 7,74 Гц, NH Asn), 6,88 (д, 1H, мажорный конформер, ³J = 8,5 Гц, NH Asn), 6,91 and 7,32 (два с, 2H, –C(O)NH₂ Asn), 12,52 (с, 1H, COOH).

Лит. [17]: Т.пл. 176 °C (decomp); $[\alpha]_D^{20} -7,2^\circ$ (с 2, ДМФА). Лит. [18]: Т.пл. 177–179 °C (Этанол); $[\alpha]_D^{20} -7,8^\circ$ (с 1, ДМФА).

Пентафторфениловый эфир *N*-трет-бутил-оксикарбонил-L-аспарагина, Boc-L-Asn-OPfp (2L). К суспензии 40,00 г (0,172 ммоль) Boc-L-Asn-OH в 700 мл этилацетата (ЭА) в четырёхгорлой круглодонной колбе ёмкостью 2 л, снабжённой механической мешалкой, воздушным холодильником и термометром при комнатной температуре и перемешивании приливали раствор 37,71 г 98 % (36,95 г 100 %, 0,2 моль, 20 % изб.) пентафторфенола в 90 мл ЭА, далее при температуре 10 °C последовательно порциями приливали раствор 43,13 г 99 % (42,7 100 %, 0,207 моль, 20,2 % изб.) ДЦГК в 100 мл ЭА, остатки ДЦГК смывали 40 мл ЭА. Реакционную массу в виде суспензии перемешивали 22 ч при 9–10 °C, далее прибавляли 3,31 г щавелевой кислоты (на избыток ДЦГК), выдерживали при перемешивании 1 ч. ДЦГМ отфильтровывали, промывали 200 мл ЭА (+10 °C), фильтрат упаривали на роторном испарителе при температуре 30–35 °C (12 мм рт. ст.). К подвижному остатку приливали 350 мл петролейного эфира (фракция 40–60 °C) и оставляли в холодильнике (+4 °C) на 12 ч. Осадок отфильтровывали, промывали петролевым эфиром (150 мл), высушивали на фильтре в вакууме водоструйного насоса. Получали 61,8 г (90 %) **2L** в виде белого кристаллического продукта. R_f осн. пятна 0,73 (Д), R_f осн. пятна 0,66 (Е), R_f осн.

пятна 0,71 (З). Т.пл. 120–122,7 °C (из петролейного эфира); $[\alpha]_D^{23} -17,9^\circ$ (с 1; Этилацетат). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃), δ , м.д.: 1,47 (с, 9H, –OC(CH₃)₃ Boc), 2,90 (дд, 1H, ²J = 16,5 Гц, ³J = 4,1 Гц, C ^{β} H₂ Asn), 3,15 (дд, 1H, ²J = 16,5 Гц, ³J = 4,7 Гц, C ^{β} H₂ Asn), 4,90 (м, 1H, C ^{α} H Asn), 5,90 (д, 1H, ³J 8,7 Гц, NH Asn), 5,75 и 6,03 (два уш.с, 2H, –C(O)NH₂ Asn).

Лит. [19]: Т.пл. 124–126 °C (диэтиловый эфир/гексан); $[\alpha]_D^{25} -16,7^\circ$ (с 1, Этилацетат).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-трет-бутил-оксикарбонил-L-аспарагина), (Boc-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (3L). К раствору 20,56 г (0,0516 моль) Boc-L-Asn-OPfp в 500 мл ацетонитрила при перемешивании прибавляли 2,55 г 98 % (0,0215 моль) гексаметилендиамина, остатки смывали 150 мл ацетонитрила. Реакционную смесь перемешивали в течение 7 ч при комнатной температуре (ТСХ — контроль). Для полного прохождения реакции прибавляли ещё 1,5 г (0,0037 моль) Boc-L-Asn-OPfp и перемешивали в течение 5 ч. Гелеобразный осадок отфильтровывали, промывали 2×100 мл ацетонитрила, 100 мл этилацетата, 2×80 мл диэтилового эфира, хорошо отжимали. Сушили на фильтре в вакууме водоструйного насоса, переносили в фарфоровую чашу и досушивали на воздухе. Получали хроматографически гомогенный продукт **3L** с выходом 11,4 г (97 %) в виде белого кристаллического порошка. R_f 0,91 (Б), R_f 0,75 (В); Т.пл. 206–211,2 °C с разлож.; $[\alpha]_D^{21} -2,04^\circ$ (с 1; ДМСО). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆), δ , м.д.: 1,20 (м, 4H, 2 C³H₂ спейсер), 1,37 (м, 22H, 2 C²H₂ спейсер, 2 –OC(CH₃)₃), 2,36 (м, 4H, 2 C ^{β} H₂ Asn), 3,02 (м, 4H, 2 C¹H₂ спейсер), 4,16 (м, 2H, C ^{α} H Asn), 6,82 (д, 2H, ³J = 8,1 Гц, NH Asn), 6,87 и 7,26 (два с, 4H, 2 –C(O)NH₂ Asn), 7,67 (т, 2H, ³J = 5,3 Гц, –NH(CH₂)₆NH–).

Дитрифторацетат гексаметилендиамида бис-(L-аспарагина), (CF₃COOH*H-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (4L). Раствор 5 г (9,18 ммоль) (Boc-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в смеси 25 мл хлористого метилена и 25 мл 100 % ТФУ перемешивали при комнатной температуре 2,5 ч, реакционную массу упаривали, переупаривали с хлористым метиленом (2×25 мл), остаток затирали под сухим диэтиловым эфиром с декантацией (2×25 мл), далее оставляли под диэтиловым эфиром (25 мл) на 4 ч. Осадок отфильтровывали на насадке для гигроскопичных веществ, дополнительно промывали 25 мл диэтилового эфира и высушивали в вакууме диафрагменного насоса (9 мм рт. ст.). Получали хроматографически гомогенный продукт **4L** в виде белого кристаллического вещества с количественным выходом 5,02 г (95 %). R_f 0,36 (Б), R_f 0,17 (В); Т.пл. 160,2–178,5 °C с разлож.; $[\alpha]_D^{25} +4,66^\circ$ (с 1; Метанол). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆), δ , м.д.: 1,26 (м, 4H, 2 C³H₂ спейсер), 1,40 (м, 4H, 2 C²H₂ спейсер), 2,62 (м, 4H, 2 C ^{β} H₂ Asn), 3,09 (м, 4H, 2 C¹H₂ спейсер), 3,98 (м, 2H, 2 C ^{α} H Asn), 7,23 и 7,66 (два с, 4H, 2 –C(O)NH₂ Asn), 8,09 (уш с, 6H, 2 N⁺H₃ Asn), 8,33 (т, 2H, ³J = 5,5 Гц, –NH(CH₂)₆NH–).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-трет-бутилоксикарбонил-L-аспарагинил-L-аспарагина), (Вос-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (5LL). К 4,54 г (1,14 ммоль) Вос-L-Asn-OPfr в 200 мл ацетонитрила приливали порционно при перемешивании раствор 2,342 г (4,1 ммоль) (CF₃COOH*H-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в 35 мл диметилформамида с 1,57 мл (9,02 ммоль) ДИПЭА. Реакционную смесь перемешивали 12 ч при комнатной температуре. Для полного прохождения реакции добавляли 0,5 г Вос-L-Asn-OPfr и перемешивали в течение 2 ч (ТСХ-контроль). Гелевый осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом (2×35 мл), диэтиловым эфиром (3×20 мл), сушили на фильтре в вакууме водоструйного насоса, одновременно растирая его. Далее белый кристаллический осадок переносили в фарфоровую чашу и сушили на воздухе в течение ночи при комнатной температуре. Получали 2,75 г (87 %) хроматографически гомогенного 5LL в виде белого кристаллического порошка. R_f 0,89 (Б), R_f 0,36 (В); Т.пл. 200–227 °С с разлож.; [α]_D²⁴ –13,4° (с 1; ДМСО). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,19 (м, 4Н, 2 C³H₂ спейсер), 1,38 (м, 22Н, 2 C²H₂ спейсер, 2 –OC(CH₃)₃ Вос), 2,39–2,55 (м, 8Н, 4 C^βH₂ ¹Asn и ²Asn), 3,00 (м, 4 Н, 2 C¹H₂ спейсер), 4,17 (м, 2Н, C^αH ²Asn), 4,41 (м, 2Н, C^αH ¹Asn), 6,88 и 7,33, 6,96 и 7,38 (четыре с, 8Н, 4 –C(O)NH₂ ¹Asn и ²Asn), 7,00 (д, 2Н, ³J = 7,3 Гц, 2 NH ²Asn), 7,61 (т, 2Н, ³J = 4,8 Гц, –NH(CH₂)₆NH–), 8,11 (д, 2Н, ³J = 7,9 Гц, 2 NH ¹Asn).

Дитрифторацетат гексаметилендиамида бис-(L-аспарагинил-L-аспарагина), (CF₃COOH*H-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (6LL). Раствор 4,4 г (5,7 ммоль) (Вос-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в смеси 20 мл хлористого метилена и 20 мл ТФУ, перемешивали 2,5 ч, затем реакционную массу упаривали в вакууме водоструйного насоса, переупаривали (2×20 мл) с хлористым метиленом, остаток затирали под сухим диэтиловым эфиром с декантацией (2×20 мл) и оставляли под диэтиловым эфиром (20 мл) на 4 ч, далее осадок отфильтровывали на насадке для гигроскопичных веществ и высушивали в вакууме диафрагменного насоса (9 мм рт. ст.). Получали 4,15 г (91 %) 6LL в виде хроматографически гомогенного белого кристаллического осадка. R_f 0,25 (А), R_f 0,08 (В); т.пл. 197–211 °С (с разложением); [α]_D²⁴ – 5,0° (с 1; ДМСО), [α]_D²⁴ – 7,5° (с 0,66; Метанол : Вода (2:1)). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,20 (м, 4Н, –NH(CH₂)₂–(CH₂)₂–(CH₂)₂–NH–), 1,36 (м, 4Н, –NH-CH₂–CH₂–(CH₂)₂–CH₂–CH₂–NH–), 2,41 и 2,52 (два дд, 4Н, ²J = 15,7 Гц, ³J = 8,0 Гц и ³J = 5,3 Гц, 2 C^βH₂, ²Asn), 2,63 и 2,74 (два дд, 4Н, ²J = 17 Гц, ³J = 7,5 Гц и ³J = 5,0 Гц, 2 C^βH₂, ¹Asn), 3,01 (м, 4 Н, –NH-CH₂–(CH₂)₄–CH₂–NH–), 4,05 (уш. с, 2Н, 2 –N⁺H₃–C^αH ²Asn), 4,53 (м, 2Н, 2 –NH–C^αH ¹Asn), 6,91 и 7,37; 7,29 и 7,75 (четыре с, 8Н, 4 –C(O)–NH₂ бок, ¹Asn и ²Asn), 7,84 (т, 2Н, ³J = 5,6 Гц, –NH(CH₂)₆NH–), 8,15 (уш.с, 6Н, 2N⁺H₃, ²Asn), 8,61 (д, 2Н, ³J = 7,7 Гц, 2 NH–C^αH ¹Asn).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина), (HOOC-(CH₂)₃-CO-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (ГТС-304LL) (7LL). К раствору 1,6 г (1,99 ммоль) (CF₃COOH*H-L-Asn-L-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в 100 мл диметилформамида приливали 0,811 мл (4,66 ммоль) ДИПЭА, затем при перемешивании присыпали 0,558 г (4,66 моль) глутарового ангидрида. Реакционную смесь перемешивали в течение 7 ч при комнатной температуре, контролируя значение pH (7,5–8) с помощью ДИПЭА. Оставляли на ночь без перемешивания. По окончании реакции (ТСХ контроль) к густой гелеобразной реакционной массе приливали 50 мл ацетонитрила и перемешивали до однородной массы в течение 5 мин, после чего гелеобразный осадок отфильтровывали, последовательно промывали 1×50 мл ацетонитрила, 1×10 мл этилацетата, 1×10 мл ацетона. Получали 0,966 г (62 %) технического продукта 7LL в виде белого порошка. После очистки из смеси 75 мл воды и 50 мл метанола и высушивания в вакуум-эксикаторе над CaCl₂ при 15 мм рт. ст. получали 0,49 г (51 %) хроматографически гомогенного белого кристаллического осадка. Хроматографическая чистота соединения ГТС-304LL (метод внутр. нормализации) 98,93 %, время удерживания основного пика 9,802 мин. R_f 0,32 (А), R_f 0,76 (Б), R_f 0,28 (В); Т.пл. 197,8–223,7 °С с разлож.; [α]_D²² – 17,9° (с 1; ДМСО). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,20 (с, 4Н, 2 C³H₂ спейсер), 1,36 (м, 4Н, 2 C²H₂ спейсер), 1,70 (м, 4Н, 2 C^βH₂ Glt), 2,13–2,23 (м, 8Н, 2 C^αH₂ и 2 C^γH₂ Glt), 2,37–2,60 (м, 8Н, 2 C^βH₂ ¹Asn и 2 C^βH₂ ²Asn), 3,00 (м, 4 Н, 2 C¹H₂ спейсер), 4,42 (м, 4Н, 4 C^αH ¹Asn и ²Asn), 6,86 и 7,30 (два с, 4Н, 2 –C(O)NH₂ ¹Asn), 6,96 и 7,43 (два с, 4Н, 2 –C(O)NH₂ ²Asn), 7,69 (т, 2Н, ³J = 5,5 Гц, –NH(CH₂)₆NH–), 8,13 и 8,17 (два м, 4Н, 2 NH ²Asn, 2 NH ¹Asn), 11,99 (уш с, 2 Н, 2 COOH Glt). Спектр ¹³C -ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 174,72 (2C, 2 CO, COOH Glt), 172,55 (2C, 2 CONH₂ ²Asn), 172,37 (4C, 2 CONH Glt и 2 CONH₂ ²Asn), 171,20 (2C, 2 CONH ¹Asn), 170,92 (2C, 2 CONH ²Asn), 50,43 (4C, 4C^α ¹Asn и ²Asn), 39,16 (2C, 2 C¹ спейсер), 37,53 (2C, 2 C^β ²Asn), 37,09 (2C, 2 C^β ¹Asn), 34,67 (2C, 2 C³ Glt), 33,55 (2C, 2 C¹ Glt), 29,35 (2C, 2 C² спейсер), 26,41 (2C, 2 C³ спейсер), 21,04 (2C, 2 C¹ Glt).

Синтез гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-D-аспарагинил-D-аспарагина), ГТС-304DD

***N*-трет-бутилоксикарбонил-D-аспарагин, Вос-D-Asn-OH (1D).** К раствору 17,04 г (0,1135 моль) моногидрата H-D-Asn-OH в 113 мл 1М NaOH при перемешивании последовательно приливали раствор 5,67 г (0,068 моль) NaHCO₃ в 56,75 мл воды и 113,5 мл изопропилового спирта. Далее при комнатной температуре к реакционной массе порционно прибавляли 35 мл 98 % (0,148 моль, 30 % изб.) ди-трет-бутилпирокарбоната в течение 40 мин и переме-

шивали 20 ч. Реакционную массу упаривали на ротаторном испарителе при температуре 35–40 °C до 1/3 объёма и к остатку приливали 200 мл воды. Непрореагировавший ди-*трет*-бутилпироксикарбонат экстрагировали гексаном (2×100 мл). Водно-щелочной раствор охлаждали до 0 °C и подкисляли 10 % HCl до pH=3–3,5 так, чтобы температура не поднималась выше 0 °C. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали 100 мл холодной воды (+10 °C), изопропиловым спиртом 100 мл (0 °C), гексаном (50 мл), высушивали в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl₂. Получали 22,79 г (87 %) **1D** в виде белого кристаллического порошка. *R_f* 0,51 (A), *R_f* 0,84 (B), *R_f* 0,71 (B); Т.пл. 172,4–173,1 °C; [α]_D²² + 7,5° (с 1; ДМФА), [α]_D²² + 7,0° (с 2; ДМФА). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,37 (с, 9H, -OC(CH₃)₃ Вос), 2,42 и 2,52 (два дд, 2H, ²J = 15,27 Гц, ³J = 5,59 Гц и ³J = 7,36 Гц, C^βH₂ Asn), 4,23 (м, 1H, C^αH Asn), 6,87 (д, 1H, ³J = 8,5 Гц, NH Asn), 6,91 и 7,32 (два с, 2H, -C(O)NH₂ Asn), 12,51 (с, 1H, COOH).

Пентафторфениловый эфир *N*-трет-бутил-оксикарбонил-D-аспарагина, Вос-D-Asn-OPfp (2D). К суспензии 20,0 г (0,0861 моль) Вос-D-Asn-OH в 400 мл этилацетата при комнатной температуре и перемешивании приливали раствор 19,41 г 98 % (19,02 г 100 %, 0,1033 моль, 20 % изб.) пентафторфенола в 75 мл этилацетата. Раствор охлаждали до 10 °C и порционно приливали раствор 21,5 г 99 % (21,33 г 100 %, 0,1033 моль, 20 % изб.) ДЦГК в 100 мл этилацетата, остатки смывали 50 мл этилацетата. Реакционную массу в виде суспензии перемешивали 22 ч при +9–+10 °C, далее прибавляли 1,26 г щавелевой кислоты (на избыток ДЦГК), выдерживали при перемешивании 1 ч. ДЦГМ отфильтровывали, фильтрат упаривали на ротаторном испарителе при температуре 30–35 °C (12 мм рт. ст.). К остатку приливали 75 мл петролейного эфира и оставляли в холодильнике (+4 °C) на 12 ч. Осадок отфильтровывали и промывали петролевым эфиром (150 мл), сушили на фильтре в вакууме водоструйного насоса, одновременно растирая его на фильтре. Получали 31,23 г (91%) **2D** в виде белого кристаллического продукта. *R_f* 0,63 (Г), *R_f* 0,74 (Д), *R_f* 0,67 (Е); Т.пл. 116,5–119,4 °C; [α]_D²³ + 17,7° (с 1; Этилацетат). Спектр ¹H-ЯМР (CDCl₃), δ, м.д.: 1,47 (с, 9H, -OC(CH₃)₃ Вос), 2,91 (дд, 1H, ²J = 16,5 Гц, ³J = 4,0 Гц, C^βH₂ Asn), 3,15 (дд, 1H, ²J = 16,5 Гц, ³J = 4,7 Гц, C^βH₂ Asn), 4,91 (м, 1H, C^αH Asn), 5,89 (д, 1H, ³J = 8,6 Гц, NH Asn), 5,74 и 5,95 (два уш с, 2H, -C(O)NH₂ Asn).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-трет-бутил-оксикарбонил-D-аспарагина), (Вос-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (3D). К раствору 8,78 г (22 ммоль) Вос-D-Asn-OPfp в 235 мл ацетонитрила, при перемешивании приливали раствор 1,1 г 98 % (1,078 г 100 %, 9,27 ммоль) гексаметилендиамина в 30 мл ацетонитрила. Реакционную массу перемешивали

18 ч при комнатной температуре, осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом (2×25 мл), диэтиловым эфиром (3×20 мл). Осадок сушили в вакууме водоструйного насоса одновременно растирая его на фильтре. Далее белый кристаллический осадок переносили в фарфоровую чашу и сушили на воздухе в течение ночи при комнатной температуре. Получали 5 г (выход количественный) хроматографически гомогенного **3D** в виде белого кристаллического порошка. *R_f* 0,95 (Б), *R_f* 0,75 (В), *R_f* 0,28 (Г); Т.пл. 210–219 °C с разлож.; [α]_D^{27,2} + 0,51° (с 1; ДМСО). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,21 (м, 4H, 2 C³H₂ спейсер), 1,37 (м, 22H, 2 C²H₂ спейсер, 2 –OC(CH₃)₃), 2,36 (м, 4H, 2 C^βH₂ Asn), 3,02 (м, 4H, 2 C¹H₂ спейсер), 4,16 (м, 2H, C^αH Asn), 6,81 (д, 2H, ³J = 8,2 Гц, NH Asn) 6,86 и 7,24 (два с, 4H, 2 –C(O)NH₂ Asn), 7,65 (т, 2H, ³J = 4,7 Гц, –NH(CH₂)₆NH–).

Дитрифторацетат гексаметилендиамида бис-(D-аспарагина), (CF₃COOH*H-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (4D). Раствор 1,50 г (2,75 ммоль) (Вос-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в 30 мл смеси хлористого метилена и ТФУ (1:1) перемешивали при комнатной температуре 2,5 ч, затем упаривали, переупаривали с хлористым метиленом (2×15 мл), остаток затирали под сухим диэтиловым эфиром с декантацией (2×20 мл) и оставляли под диэтиловым эфиром (20 мл) на 2 ч для формирования осадка. Осадок отфильтровывали и высушивали в вакууме (9 мм рт. ст.) диафрагменного насоса. Получали 1,43 г (91 %) хроматографически гомогенного **4D** в виде белого кристаллического порошка. *R_f* 0,33 (Б), *R_f* 0,17 (В); Т.пл. 171,1–180,2 °C с разлож.; [α]_D^{24,3} – 3,66° (с 1; Метанол), [α]_D^{22,7} – 1,4° (с 1; ДМСО). Спектр ¹H-ЯМР (DMSO-d₆), δ, м.д.: 1,26 (м, 4H, 2 C³H₂ спейсер), 1,40 (м, 4H, 2 C²H₂ спейсер), 2,58 и 2,66 (два дд, 4H ²J = 17,0 Гц, ³J = 5,22 и ³J = 7,82 Гц, 2 C^βH₂ Asn), 2,99–3,19 (м, 4 H, 2 C¹H₂ спейсер), 3,98 (уш с, 2H, 2 C^αH Asn), 7,24 и 7,66 (два с, 4H, 2 –C(O)NH₂ Asn), 8,09 (уш с, 6H, 2 N⁺H₃ Asn), 8,34 (т, 2H, ³J = 5,5 Гц, –NH(CH₂)₆NH–).

Гексаметилендиамид бис-(*N*-трет-бутил-оксикарбонил-D-аспарагинил-D-аспарагина), (Вос-D-Asn-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ (5DD). К раствору 1,24 г (2,17 ммоль) (CF₃COOH*H-D-Asn-NH-)₂(CH₂)₆ в 20 мл диметилформаида приливали 0,84 мл (4,80 ммоль) ДИПЭА и при перемешивании присыпали 1,90 г (4,77 ммоль) Вос-D-Asn-OPfp. Реакционную массу перемешивали 4 ч при комнатной температуре, оставляли на ночь без перемешивания. Диметилформаид упаривали (53 °C), переупаривали с водой (3×20 мл), к остатку приливали 50 мл дистиллированной воды (45 °C) и оставляли до формирования осадка. Осадок отфильтровывали, промывали водой, ацетоном (20 мл), гексаном (20 мл), высушивали в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl₂. Получали 1,54 г (92 %) хроматографически гомогенного **5DD** в виде белого порошка. *R_f* 0,75 (А), *R_f* 0,87 (Б), *R_f* 0,47 (В); Т.пл. 223,5–227,4 °C с разлож.; [α]_D¹⁹ + 13,2° (с 1;

ДМСО). Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 1,19 (м, 4H, 2 C^3H_2 спейсер), 1,38 (м, 22H, 2 C^2H_2 спейсер, 2 $-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ Вос), 2,35–2,55 (м, 8H, 4 C^βH_2 ^1Asn и ^2Asn), 3,00 (м, 4 H, 2 C^1H_2 спейсер), 4,14–4,20 и 4,38–4,44 (два м, 4H, 2 C^αH ^1Asn и ^2Asn), 6,89 и 7,34, 6,97 и 7,40 (четыре с, 8H, 4 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn и ^2Asn), 7,62 (т, 2H, $^3J = 5,5$ Гц, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}-$), 7,02 и 8,13 (два д, 4H, $^3J = 7,3$ и $^3J = 7,9$ Гц, 4 NH ^1Asn и ^2Asn).

Дитрифторацетат гексаметилендиамида бис-(D-аспарагинил-D-аспарагина), ($\text{CF}_3\text{COOH} \cdot \text{H-D-Asn-D-Asn-NH-}$) $_2(\text{CH}_2)_6$ (6DD). Раствор 0,675 г (0,873 ммоль) ($\text{Вос-D-Asn-D-Asn-NH-}$) $_2(\text{CH}_2)_6$ в 16 мл смеси хлористого метилена и ТФУ (1:1) перемешивали 2,5 ч, затем реакционную массу упаривали, переупаривали с хлористым метиленом (2×15 мл), остаток затирали под сухим диэтиловым эфиром с декантацией (2×15 мл) и оставляли под диэтиловым эфиром (25 мл) на 2 ч для формирования осадка. Осадок отфильтровывали и высушивали в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl_2 . Получали 0,692 г (выход количественный) хроматографически гомогенного **6DD** в виде белого порошка. R_f 0,08 (А), R_f 0,13 (Б); Т.пл. 195–207 °С (с разложением); $[\alpha]_D^{20} + 21,1^\circ$ (с 0,58; Вода); $[\alpha]_D^{20} + 13,3^\circ$ (с 0,92; Вода), $[\alpha]_D^{20} + 16,76^\circ$ (с 0,73; Вода). Спектр ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 1,20 (м, 4H, 2 C^3H_2 спейсер), 1,35 (м, 4H, 2 C^2H_2 спейсер), 2,41 и 2,52 (два дд, 4H, $^2J = 15,7$ Гц, $^3J = 8,0$ Гц и $^3J = 5,3$ Гц, 2 C^βH_2 ^2Asn), 2,62 и 2,77 (два дд, 4H, $^2J = 17$ Гц, $^3J = 7,5$ Гц и $^3J = 5,0$ Гц, 2 C^βH_2 ^1Asn), 3,02 (м, 4 H, 2 C^1H_2 спейсер), 4,05 (м, 2H, 2 C^αH ^2Asn), 4,54 (м, 2H, 2 C^αH ^1Asn), 6,91 и 7,37; 7,29 и 7,75 (четыре с, 8H, 4 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn и ^2Asn), 7,84 (т, 2H, $^3J = 5,6$ Гц, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}-$), 8,15 (уш с, 6H, 2 N^+H_3 ^2Asn), 8,62 (д, 2H, $^3J = 7,7$ Гц, 2 NH ^1Asn).

Гексаметилендиамид бис-(N-моноглутарил-D-аспарагинил-D-аспарагина), ($\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-\text{CO-D-Asn-D-Asn-NH-}$) $_2(\text{CH}_2)_6$ (ГТС-304DD) (7DD). К раствору 0,692 г (0,864 ммоль) ($\text{CF}_3\text{COOH} \cdot \text{H-D-Asn-D-Asn-NH-}$) $_2(\text{CH}_2)_6$ в 30 мл диметилформамида приливали 0,361 мл (2,074 ммоль) ДИПЭА, затем при перемешивании прибавляли 0,237 г (2,074 ммоль) глутарового ангидрида. Реакционную массу перемешивали при комнатной температуре 4 ч, далее оставляли на ночь без перемешивания. К реакционной массе приливали 30 мл ацетонитрила и оставляли на 2 ч при перемешивании, сформировавшийся осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом 3×15 мл, этилацетатом 3×15 мл, дистиллированной водой (35 °С) 3×10 мл, снова ацетонитрилом 10 мл, диэтиловым эфиром 2×15 мл. Высушивали в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl_2 . Получали 0,428 г (62 %) хроматографически гомогенного **7DD** в виде белого порошка. Хроматографическая чистота соединения ГТС-304DD (метод внутр. нормализации) 96,67 %, время удерживания основного пика 9,852 мин. R_f 0,35 (А); R_f 0,76 (Б); R_f 0,28 (В); Т.пл. 207,7–227,4 °С с разлож.; $[\alpha]_D^{23,5} + 23,48^\circ$ (с 1; ДМСО). Спектр

^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 1,19 (с, 4H, 2 C^3H_2 спейсер), 1,36 (м, 4H, 2 C^2H_2 спейсер), 1,70 (м, 4H, 2 C^βH_2 Glt), 2,13–2,22 (м, 8H, 2 $\text{C}^\alpha\text{H}_2$ и 2 $\text{C}^\gamma\text{H}_2$ Glt), 2,37–2,59 (м, 16H, 4 C^βH_2 ^1Asn и ^2Asn), 3,00 (м, 4 H, 2 C^1H_2 спейсер), 4,38–4,49 (м, 4H, 4 C^αH ^1Asn и ^2Asn), 6,87 и 7,32; 6,98 и 7,44 (четыре с, 8H, 4 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn и ^2Asn), 7,69 (т, 2H, $^3J = 5,3$ Гц, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}-$), 8,14 (д, 2H, $^3J = 7,9$ Гц, 2 NH ^2Asn), 8,18 (д, 2H, $^3J = 7,0$ Гц, 2 NH ^1Asn), 12,01 (уш с, 2 H, 2 COOH Glt). Спектр ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м.д.: 174,79 (2C, 2 COOH Glt), 172,57 (2C, 2 CONH_2 ^2Asn), 172,34 (4C, 2 CONH Glt и 2 CONH_2 ^2Asn), 171,21 (2C, 2 CONH ^1Asn), 170,92 (2C, 2 CONH ^2Asn), 50,44 (4C, 4 C^α ^1Asn и ^2Asn), 39,20 (2C, 2 C^1 спейсер), 37,51 (2C, 2 C^β ^2Asn), 37,07 (2C, 2 C^β ^1Asn), 34,64 (2C, 2 C^3 Glt), 33,62 (2C, 2 C^1 Glt), 29,32 (2C, 2 C^2 спейсер), 26,40 (2C, 2 C^3 спейсер), 21,03 (2C, 2 C^1 Glt).

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Конструирование миметика

Дизайн миметика был основан на кристаллической структуре нейротрофина-3, представленной в кристаллической форме (PDB ID: 1NT3) [20]. Как и другие нейротрофины, NT-3 является симметричным гомодимером; каждый мономер содержит восемь β -тяжей, формирующих четыре антипараллельных β -листа. Эти тяжи соединены четырьмя петлями, обозначаемыми номерами 1-я (остатки 29–33), 2-я (42–47), 3-я (58–75) и 4-я (91–97).

Для дизайна миметика был выбран наиболее экспонированный и предположительно вовлечённый во взаимодействие с рецептором участок нейротрофина — β -изгиб четвёртой петли NT-3 с последовательностью $-\text{Glu}^{92}-\text{Asn}^{93}-\text{Asn}^{94}-\text{Lys}^{95}-$. При конструировании миметика сохранили его центральный дипептидный фрагмент $-\text{Asn}^{93}-\text{Asn}^{94}-$, а предшествующий $-\text{Glu}^{92}-$ ($-\text{NH}-\text{CH}(-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH})-\text{CO}-$) был заменён на его биоизостер — остаток моноглутаровой кислоты ($\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-\text{CO}-$). Димеризация сконструированного N-ацилдипептида N-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина осуществлялась по C-концу с помощью гексаметилендиаминового спейсера. Таким образом был получен (рис. 2) димерный дипептидный миметик 4-ой петли NT-3 — гексаметилендиамид бис-(N-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина), получивший рабочий шифр ГТС-304.

Синтез ГТС-304LL и ГТС-304DD

Пептид ГТС-304LL и его энантиомер ГТС-304DD синтезировали методами классического пептидного синтеза в растворе, исходя из коммерчески доступных энантиомерно чистых H-L-Asn-OH и H-D-Asn-OH. Пептидную цепь наращивали с C-конца с использованием Вос-стратегии защитных групп и метода активированных пентафторфеноловых

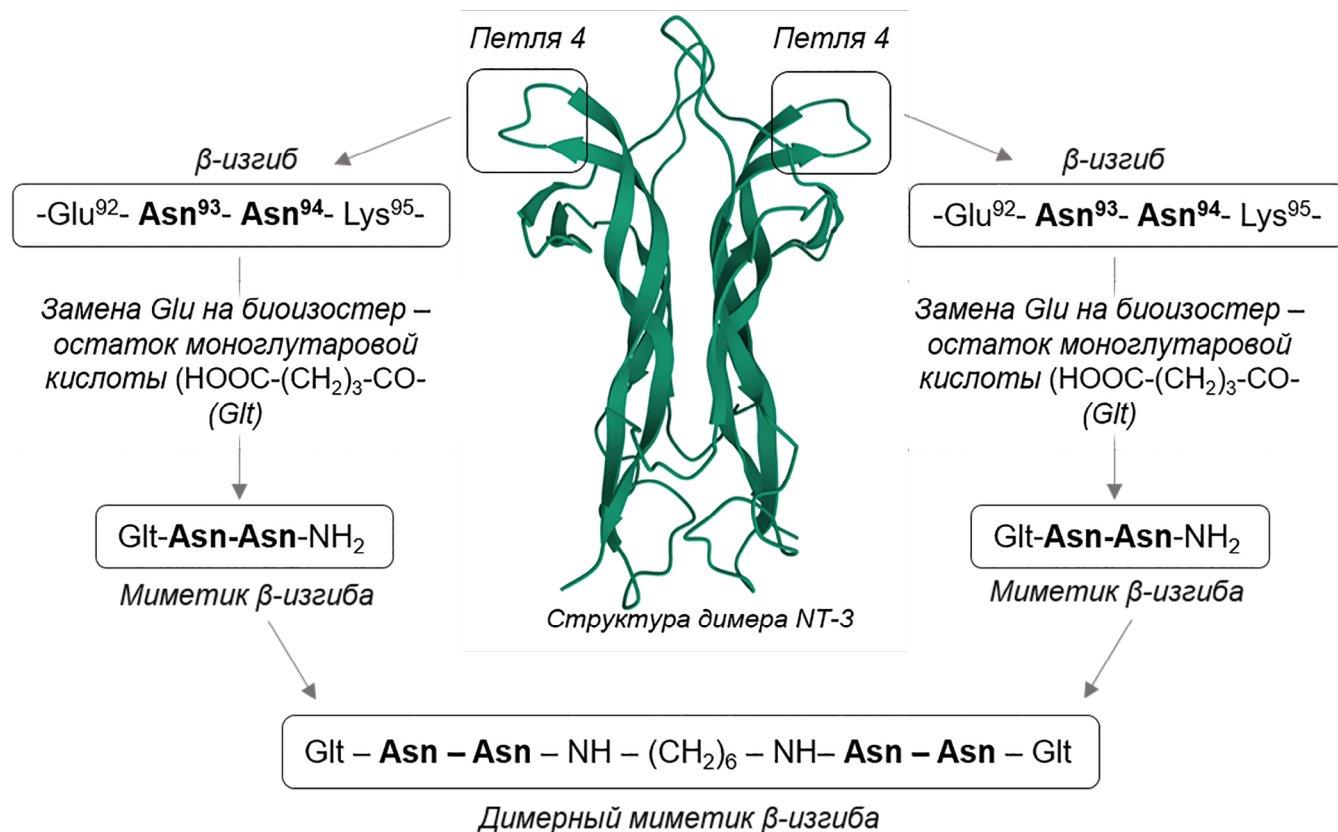


Рис. 2. Конструирование димерного дипептидного миметика 4-й петли NT-3 — гексаметилендиамида бис-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-304LL).

Fig. 2. Designing of a dimeric dipeptide mimetic of the NT-3 loop 4— *bis*-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyl-L-asparagine) hexamethylenediamide (GTS-304LL).

эфиров по общей схеме, представленной на рис. 3. Строение промежуточных и конечных соединений подтверждено методами одномерной ^1H , ^{13}C и двумерной (COSY — гомоядерная корреляция, HSQC — гетероядерная одноквантовая корреляция) ЯМР-спектроскопии. Отнесение сигналов карбонильных атомов углерода амидных групп проводили с помощью HMBC (гетероядерной многосвязной корреляции).

Вос-защищённые-аспарагины (1L и 1D) получали из моногидратов L- и D-аспарагина ($\text{H}_2\text{O} \cdot \text{H} \cdot \text{Asn} \cdot \text{OH}$) при комнатной температуре по методу Позднева В.Ф. [21] с выходом целевых продуктов 94 % и 87 % соответственно. Активированные пентафторфениловые эфиры Вос-аспарагинов (2L и 2D) синтезировали с использованием пентафторфенола в присутствии ДЦГК в этилацетате при температуре 9–10 °C с выходом 90 % и 91 % соответственно. Конденсация активированных эфиров (2L и 2D) с гексаметилендиамин в ацетонитриле при комнатной температуре приводила к образованию бис-пептидов (3L и 3D) с количественным выходом, которые далее подвергали ацидолизу в смеси трифторуксусной кислоты и хлористого метилена (1:1), получая дитрифторацетаты (4L и 4D). Подтвержде-

нием удаления Вос-группы в ^1H ЯМР-спектре служило исчезновение синглета Вос-группы в области 1,36 м.д. и появление уширенного синглета NH_3^+ в области 8,09 м.д. с интегральной интенсивностью равной трём протонам.

Растворы соответствующих дитрифторацетатов (4L и 4D) в присутствии диизопропилэтиламина (ДИПЭА) в диметилформамиде порционно прибавляли к растворам активированных эфиров аспарагина (2L и 2D) в ацетонитриле, получая таким образом бис-дипептиды 5LL и 5DD с выходом 87 % и 92 %. Дальнейший кислотный ацидолиз соединений (5LL и 5DD) с последующим ацилированием глутаровым ангидридом в диметилформамиде в присутствии ДИПЭА приводил к целевым дипептидным миметикам ГТС-304LL и ГТС-304DD с выходом 62 %, и общим выходом семистадийного синтеза 38 % и 37 % соответственно в расчёте на незащищённый аспарагин.

Хроматографическая чистота, по данным ОФ ВЭЖХ, соединения ГТС-304LL (метод внутр. нормализации) составила 98,93 %, время удерживания основного пика 9,802 мин, а соединения ГТС-304DD (метод внутр. нормализации) — 96,67 %, время удерживания основного пика 9,852 мин.

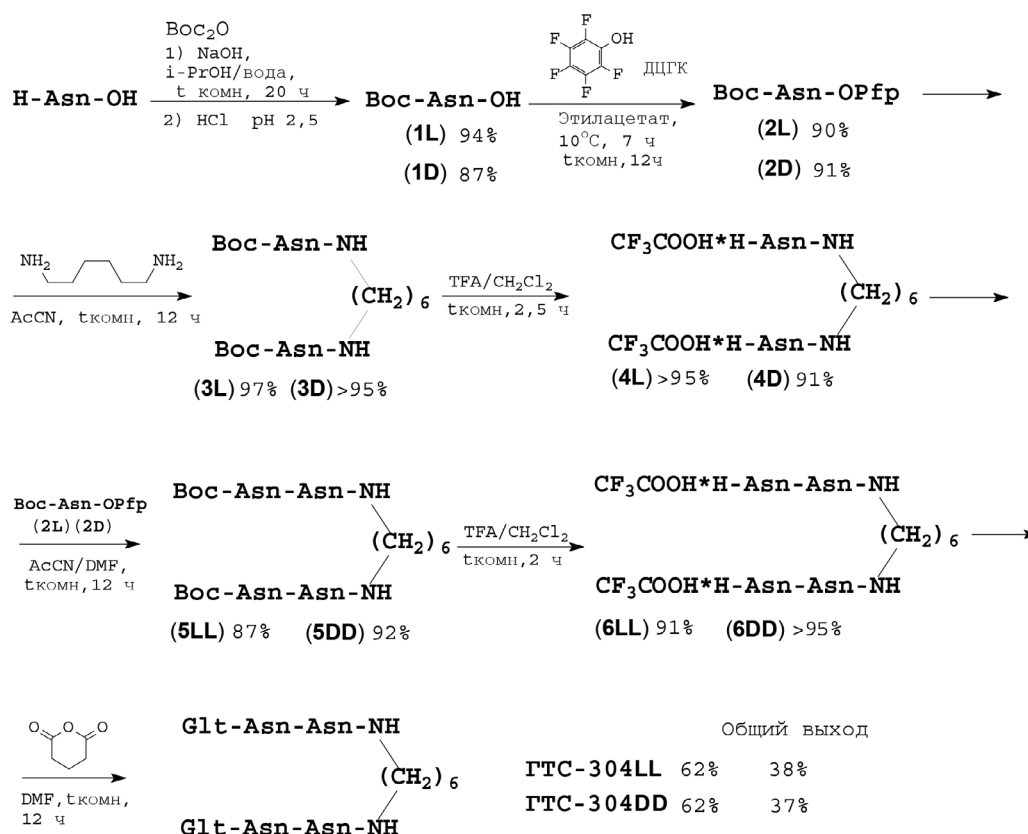


Рис. 3. Схема синтеза L,L- и D,D-энантимеров гексаметилендиамида *bis*-(*N*-моноглутарил-аспарагинил-аспарагина)

Fig. 3. Scheme of synthesis of L,L- and D,D-enantiomers of *bis*-(*N*-monoglutaryl-asparaginyll-asparagine) hexamethylenediamide

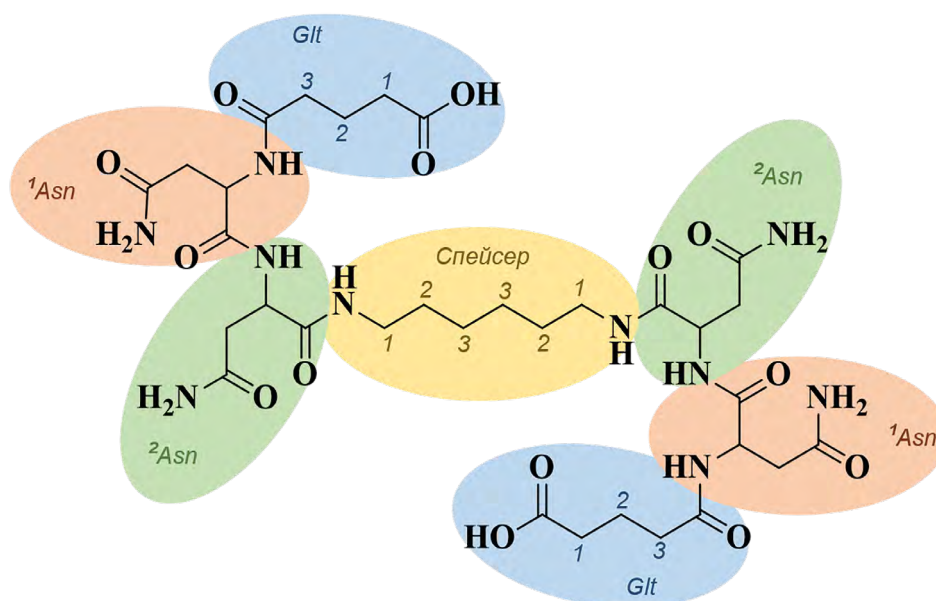


Рис. 4. Структура миметика 4-й петли NT-3 — гексаметилендиамида *bis*-(*N*-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-304)

Fig. 4. Structure of the NT-3 loop 4 mimetic — *bis*-(*N*-monoglutaryl-L-asparaginyll-L-asparagine) hexamethylenediamide (GTS-304)

Таблица 2

Данные спектров ^1H -ЯМР для GTC-304LL и GTC-304DD

Table 2

^1H -NMR spectral data for GTS-304LL and GTS-304DD

Группы	Количество протонов	Химические сдвиги, δ , м.д.	
		GTC-304LL	GTC-304DD
2 C^3H_2 спейсер	4H	1,20 с	1,19 с
2 C^2H_2 спейсер	4H	1,36 м	1,36 м
2 C^2H_2 Glt**	4H	1,70 м	1,70 м
2 C^1H_2 Glt и 2 C^3H_2 Glt	8H	2,13-2,23 м	2,13-2,22 м
2 C^βH_2 ^1Asn и 2 C^βH_2 ^2Asn	8H	2,37-2,60 м	2,37-2,59 м
2 C^1H_2 спейсер	4H	3,00 м	3,00 м
4 C^αH ^1Asn и ^2Asn	4H	4,42 м	4,38-4,49 м
2 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn	4H	6,86 с и 7,30 с	6,87 с и 7,32 с
2 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^2Asn	4H	6,96 с и 7,43 с	6,98 с и 7,44 с
$\text{NH}(\text{CH}_2)_6\text{NH}-$	2H	7,69 т	7,69 т
2 NH^α ^2Asn , 2 NH^α ^1Asn	4H	8,13 м и 8,17 м	8,14 м и 8,18 м
COOH Glt	2H	11,99 уш.с	12,01 уш.с
Всего протонов	52H		

Примечания: * — растворитель — $\text{DMSO}-d_6$; ** — Glt — остаток моноглутаровой кислоты.
Notes: * — solvent — $\text{DMSO}-d_6$; ** — Glt — monoglutaric acid residue.

В связи с симметрией молекулы, количество сигналов в спектрах вдвое меньше количества протонов и углеродов в соединении. Химические сдвиги сигналов в спектрах ^1H , ^{13}C для LL- и DD-энантиомеров идентичны (табл. 2 и 3). Об энантиомерной чистоте синтезированных стереоизомеров судили по значению удельного угла оптического вращения ($[\alpha]_D$) (табл. 4).

В спектре ^1H -ЯМР сигналы протонов расположены в характерной для них области химических сдвигов. Сигналы протонов C^αH ^1Asn и C^αH ^2Asn (4,42 м.д.) практически совпадают по химическому сдвигу, что наблюдается также для сигналов от групп C^βH_2 (м 2,37–2,60 м.д.) и NH^α (м 8,13–8,17 м.д.). Поэтому наличие обоих аминокислотных остатков в структуре подтверждается удвоенной интегральной интенсивностью сигналов этих групп, а также присутствием 2 пар сигналов амидных протонов $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^1Asn (4H) и $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ ^2Asn (4H) в области слабого поля.

Спектр ^{13}C подтверждает наличие всех атомов углерода в структуре. Обнаруживаются 4 сигнала от 5 карбонильных атомов амидных групп, 1 атом углерода карбоксильной группы. Сигналы углеродов от 2 метиновых (2C^α — ^1Asn и ^2Asn) и 8 сигналов метиленовых групп (2C^β — ^1Asn и ^2Asn ; C^1 , C^2 , C^3 — остатка моноглутарила и C^1 , C^2 , C^3 — спейсера) были отнесены с помощью DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) — эксперимента, который позволяет различить сигналы четвертичных, метиновых, метиленовых и метильных

Таблица 3

Данные спектров ^{13}C -ЯМР для GTC-304LL и GTC-304DD

Table 3

^{13}C -NMR spectral data for GTS-304LL and GTS-304DD

Группы	Количество атомов углерода	Химические сдвиги*, δ , м.д.	
		GTC-304LL	GTC-304DD
C^2 Glt**	2C	21,04	21,03
C^3 спейсер	2C	26,41	26,40
C^2 спейсер	2C	29,35	29,32
C^1 Glt	2C	33,55	33,62
C^3 Glt	2C	34,67	34,64
C^β ^2Asn	2C	37,09	37,07
C^β ^1Asn	2C	37,53	37,51
C^1 спейсер	2C	39,16	39,20
C^α ^2Asn	2C	50,43	50,44
C^α ^1Asn	2C		
CONH ^2Asn	2C	170,92	170,92
CONH ^1Asn	2C	171,20	171,21
CONH_2 ^2Asn	2C	172,37	172,34
CONH_2 ^1Asn	2C		
CONH Glt	2C	172,55	172,57
COOH Glt	2C	174,72	174,79
Всего атомов углерода	32C		

Примечания: * — растворитель — $\text{DMSO}-d_6$; ** — Glt — остаток моноглутаровой кислоты.
Notes: * — solvent — $\text{DMSO}-d_6$; ** — Glt — monoglutaric acid residue.

Таблица 4

Физико-химические характеристики ГТС-304LL и ГТС-304DD

Table 4

Physicochemical characteristics of GTS-304LL and GTS-304DD

Соединение		Температура плавления, °C	Удельный угол оптического вращения, $[\alpha]_D$	Хроматографическая подвижность (Rf) в системах ТСХ			Чистота (метод ВЭЖХ), %
Структура	Шифр			Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота–Вода (15:10:2:3)	Хлороформ–Метанол–Уксусная кислота–Вода (8:10:2:3)	Бутанол–Уксусная кислота–Вода (3:1:1)	
(Glt-L-Asn-L-Asn-NH-) ₂ (CH ₂) ₆	ГТС-304LL	210,7-242,6 [#]	$[\alpha]_D^{18} -22,0^\circ$ (c = 1, DMSO)	0,35	0,76	0,28	98,93
(Glt-D-Asn-D-Asn-NH-) ₂ (CH ₂) ₆	ГТС-304DD	207,7-227,4 [#]	$[\alpha]_D^{24} +23,5^\circ$ (c = 1, DMSO)	0,35	0,76	0,28	96,67

Примечания: [#] — плавление соединения с разложением; Glt — остаток моноглутаровой кислоты.
Notes: [#] — melting of the compound with decomposition; Glt — monoglutaric acid residue.

атомов углерода в спектре ¹³C, а также на основании анализа двумерного гетероядерного спектра ¹H - ¹³C (HSQC-Heteronuclear Single Quantum Coherence). Структурная формула синтезированного соединения ГТС-304 представлена на рис. 4.

Ограничения исследования / Study limitations

Биологическая активность полученных соединений в настоящей работе не изучалась.

Заключение / Conclusion

Новый потенциальный димерный дипептидный миметик 4-й петли NT-3 гексаметилендиамид бис-(N-моноглутарил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-304LL) и его D,D-энантиомер были получены классическими методами пептидного синтеза в растворе с использованием Вос-стратегии защитных групп и активированных пентафторфениловых эфиров для образования пептидной связи с общим выходом 37–38 % и хроматографической чистотой (ВЭЖХ) 97–99 %.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

ADDITIONAL INFORMATION

Конфликт интересов

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Conflict of interests

The authors of this article have confirmed that they have no conflicts of interest to disclose.

Участие авторов

Сазонова Н. М. — синтез соединений, выполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов, написание текста; Филиппова М. Ю. — синтез соединений, выполнение экспериментальной работы, написание текста; Мельникова М. В. — синтез соединений, выполнение экспериментальной работы; Ребеко А. Г. — анализ и интерпретация результатов ЯМР; Кузнецов Д. Н. — анализ и интерпретация результатов ВЭЖХ; Поварнина П. Ю. — обсуждение результатов, написание текста; Гудашева Т. А. — постановка задачи, координация работы исследователей, редактирование текста.

Authors' participation

Sazonova NM — synthesis of compounds, performing experimental work, analysis and interpretation of results, writing of the text; Filippova MYu — synthesis of compounds, performing experimental work, writing of the text; Melnikova MV — synthesis of compounds, performing experimental work; Rebeke AG — analysis and interpretation of NMR results; Kuznetsov DN — analysis and interpretation of HPLC results; Povarnina PYu — discussion of results, writing of the text; Gudasheva TA — task setting, coordination of researchers' work, and text editing.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FGFG-2025-0008).

Funding

This work was conducted under the government contract of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (FGFG-2025-0008).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Сазонова Нелля Михайловна — к. х. н., в. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: sazonova_nm@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7608-7419>

РИНЦ SPIN-код: 8835-7887

Филиппова Мария Юрьевна — ведущий инженер лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: filippova_myu@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-0929-2358>

Мельникова Марина Валерьевна — м. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: melnikova_mv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0009-1144-1200>

Ребеко Алексей Геннадьевич — н. с. лаборатории тонкого органического синтеза отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: rebeko_ag@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-1868-8667>

РИНЦ SPIN-код: 1049-3528

Nellya M. Sazonova — PhD, Cand. Sci. (Chemical), leading research scientist of laboratory of peptide bioregulators of the medicinal chemistry department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: sazonova_nm@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7608-7419>

RSCI SPIN code: 8835-7887

Maria Yu. Filippova — Lead Engineer of Laboratory of Peptide Bioregulators of Medicinal Chemistry Department, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: filippova_myu@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0005-0929-2358>

Marina V. Melnikova — Junior Researcher of Laboratory of Peptide Bioregulators of Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: melnikova_mv@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0009-1144-1200>

Alexey G. Rebeko — Research Scientist of the Fine Organic Synthesis Laboratory of the Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: rebeko_ag@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0003-1868-8667>

RSCI SPIN code: 1049-3528

Кузнецов Дмитрий Николаевич — к. х. н., с. н. с. лаборатории стандартизации и контроля качества лекарственных средств отдела качества и технологии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: kuznecov_dn@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0056-4303>
РИНЦ SPIN-код: 6154-6935

Поварнина Полина Юрьевна — к. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологии психических заболеваний отдела нейропсихофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: povarnina-pyu@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3278-8915>
РИНЦ SPIN-код: 5498-6724

Гудашева Татьяна Александровна — д. б. н., профессор, член-корреспондент РАН, гл. н. с., заведующий лабораторией пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: gudasheva_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>
РИНЦ SPIN-код: 4970-0006

Dmitry N. Kuznetsov — PhD, Cand. Sci. (Chemical), Senior Research Scientist of the Laboratory of Standardization and Quality Control of Medicines of the Department of Quality and Technology of Medicines Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: kuznecov_dn@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0056-4303>
RSCI SPIN code: 6154-6935

Polina Yu. Povarnina — PhD, Cand. Sci. (Biol.), Leading Research Scientist of the Laboratory of Pharmacology of Mental Diseases of Department of Neuropsychopharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: povarnina-pyu@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3278-8915>
RSCI SPIN code: 5498-6724

Tatiana A. Gudasheva — PhD, Dr. Sci. (Biology), Professor, RAS Corresponding Member, Chief Researcher, Head of the Laboratory of Peptide Bioregulators of the Medicinal Chemistry Department Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: gudasheva_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>
RSCI SPIN code: 4970-0006

Список литературы / References

1. Skaper SD. Neurotrophic Factors: An Overview. *Methods Mol Biol.* 2018;1727:1-17. doi: 10.1007/978-1-4939-7571-6_1.
2. Castrén E. Neurotrophins and psychiatric disorders. *Handb Exp Pharmacol.* 2014;220:461-79. doi: 10.1007/978-3-642-45106-5_17.
3. Фурса Г.А., Андреева С.С., Шишкина В.С. и др. Применение нейротрофических факторов как перспективная стратегия терапии нейродегенеративных заболеваний (обзор). *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2024;(2)71-83. [Fursa GA, Andretsova SS, Shishkina VS, et al. The use of neurotrophic factors as a promising strategy for the treatment of neurodegenerative diseases (review). *Bull Exp Biol Med.* 2024;177(4):517-527. (In Russ.).] doi: 10.47056/1814-3490-2024-2-71-83. EDN: OVCSWN
4. Panvino F, Paparella R, Tarani F, et al. Neurotrophins in Neurodevelopmental Disorders: A Narrative Review of the Literature. *Int J Mol Sci.* 2025 Aug 28;26(17):8335. doi: 10.3390/ijms26178335. EDN: MZVYBF
5. Obata K, Noguchi K. MAPK activation in nociceptive neurons and pain hypersensitivity. *Life Sci.* 2004 Apr 9;74(21):2643-53. doi: 10.1016/j.lfs.2004.01.007.
6. Forsell P, Parrado Fernández C, Nilsson B, et al. Positive Allosteric Modulators of Trk Receptors for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Pharmaceuticals (Basel).* 2024 Jul 28;17(8):997. doi: 10.3390/ph17080997. EDN: KEHXTU

7. Thompson TS, Sefiani A, Burgess K. Small-Molecule Trk Agonists: Where Do We Go from Here? *J Med Chem.* 2025 Aug 14;68(15):15233-15259. doi: 10.1021/acs.jmedchem.4c02365. EDN: GCGKEU
8. Gudasheva TA, Povarnina PY, Tarasiuk AV, Seredenin SB. Low-molecular mimetics of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor: Design and pharmacological properties. *Med Res Rev.* 2021 Sep;41(5):2746-2774. doi: 10.1002/med.21721. EDN: IMKWFA
9. Pattarawarapan M, Zaccaro MC, Saragovi UH, Burgess K. New templates for syntheses of ring-fused, C(10) beta-turn peptidomimetics leading to the first reported small-molecule mimic of neurotrophin-3. *J Med Chem.* 2002 Sep 26;45(20):4387-90. doi: 10.1021/jm0255421
10. Zaccaro MC, Lee HB, Pattarawarapan M, et al. Selective small molecule peptidomimetic ligands of TrkC and TrkA receptors afford discrete or complete neurotrophic activities. *Chem Biol.* 2005 Sep;12(9):1015-28. doi: 10.1016/j.chembiol.2005.06.015.
11. Chen D, Brahimi F, Angell Y, et al. Bivalent peptidomimetic ligands of TrkC are biased agonists and selectively induce neurogenesis or potentiate neurotrophin-3 trophic signals. *ACS Chem Biol.* 2009 Sep 18;4(9):769-81. doi: 10.1021/cb9001415.
12. Wan G, Gómez-Casati ME, Gigliello AR, et al. Neurotrophin-3 regulates ribbon synapse density in the cochlea and induces synapse regeneration after acoustic trauma. *ELife.* 2014 Oct 20;3:e03564. doi: 10.7554/eLife.03564.
13. Naletova I, Grasso GI, Satriano C, et al. Copper complexes of synthetic peptides mimicking neurotrophin-3 enhance neurite outgrowth and CREB

phosphorylation. *Metallomics*. 2019 Sep 1;11(9):1567-1578. doi: 10.1039/c9mt00045c.

14. Gudasheva TA, Ostrovskaya RU, Seredenin SB. Novel Technologies for Dipeptide Drugs Design and their Implantation. *Curr Pharm Des*. 2018;24(26):3020-3027. doi: 10.2174/1381612824666181008105641. EDN: ZZYZKH

15. Gudasheva T, Povarnina P, Dorofeev V. Dimeric dipeptide mimetics of neurotrophins as molecular tools and potential neuroprotective drugs. *Explor Drug Sci*. 2025;3:1008100. doi: 10.37349/eds.2025.1008100.

16. Гудашева Т.А., Сазонова Н.М., Тарасюк А.В. и др. Первый дипептидный миметик нейротрофина-3: дизайн и фармакологические свойства. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. 2022;505:303-309. [Gudasheva TA, Sazonova NM, Tarasiuk AV, et al. The first dipeptide mimetic of neurotrophin-3: design and pharmacological properties. *Dokl Biochem Biophys*. 2022;505:303-309. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S2686738922040059. EDN: HYVEYB

17. Keller O, Keller WE, Van Look G, Wersin G. tert-Butoxycarbonylation of Amino Acids and their Derivatives: N-tert-Butoxycarbonyl-L-phenylalanine. *Organic Syntheses*. 2003;160. doi: 10.1002/0471264180.os063.19.

18. Munegumi T, Akao K, Kawatu Y, et al. Heating reactions of N-T-Butyloxycarbonyl-Asparagine and related compounds. *Asian Journal of Chemistry*. 2014;26(19):6541-6548. doi: 10.14233/ajchem.2014.16493.

19. Kisfaludy L, Löw M, Nyéki O, et al. Die Verwendung von Pentafluorphenylestern bei Peptidsynthesen. *Justus Liebig S Annalen Der Chemie*. 1973;1973(9):1421-1429. doi: 10.1002/jlac.197319730902.

20. Butte MJ, Hwang PK, Mobley WC, Fletterick RJ. Crystal structure of neurotrophin-3 homodimer shows distinct regions are used to bind its receptors. *Biochemistry*. 1998 Dec 1;37(48):16846-52. doi: 10.1021/bi981254o.

21. Позднев В.Ф. Применение Ди-трет-бутилпирокарбоната для получения N-трет-бутилоксикарбонильных производных аминокислот. *Химия природных соединений*. 1974;6:764-767. [Pozdnev VF. Primenenie Di-tret-butilpirokarbonata dlya polucheniya N-tret-butiloksikarbonil'nyh proizvodnyh aminokislot. *Himiya prirodnyh soedinenij*. 1974;6:764-767. (In Russ.)].