



## РЕГИОСПЕЦИФИЧНЫЙ МЕТОД СИНТЕЗА ЗАЩИЩЕННОГО ПРОИЗВОДНОГО $\beta$ -РАЗВЕТВЛЕННОГО ДИПЕПТИДА АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ<sup>1</sup>

© 2023 г. В. Н. Азев\*, #, Л. К. Байдакова\*, А. Н. Чулин\*, А. Б. Тузиков\*\*, П. Г. Кислицин\*\*\*, М. В. Молчанов\*\*\*\*, А. И. Мирошников\*\*

\*Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, 142290 Пущино, просп. Науки, 6

\*\*ФГБУН “Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова” РАН, Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Макляя, 16/10

\*\*\*ЦВТ “Химрар”, Россия, 141401 Химки, ул. Рабочая, 2а, корп. 1

\*\*\*\*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Россия, 142290 Пущино, ул. Институтская, 3

Поступила в редакцию 01.12.2022 г.

После доработки 27.12.2022 г.

Принята к публикации 28.12.2022 г.

Разработан новый эффективный метод синтеза  $N_{\alpha}$ -защищенной  $\beta$ -L-аспартил-L-аспарагиновой кислоты и ее производных. Отличительные особенности метода – использование легкодоступных исходных веществ (Cbz-аспарагина и диметилового эфира аспарагиновой кислоты), подавление образования аспартимида в финальной стадии синтеза за счет электростатического эффекта и применение нового реагента ( $\text{NaNO}_2$ /водная трифторуксусная кислота) для превращения защищенного производного аспарагина в соответствующую аспарагиновую кислоту. Метод позволяет получить производные аспарагиновой кислоты, которые находят применение в исследованиях мультивалентных взаимодействий углеводов с различными макромолекулами и могут использоваться для синтеза дендримерных карбоксилатных конструкций, изучаемых в качестве микробицидов.

**Ключевые слова:** нитрозилирование аспарагина, ортогональная защитная группа, подавление образования аспартимида

DOI: 10.31857/S0132342323040279, EDN: ODAVUU

### ВВЕДЕНИЕ

Для изучения мультивалентных взаимодействий углеводов, находящихся на поверхности клеток или в растворе, с углевод-связывающими белками лектинами используются различные гликоконъюгаты, в том числе гликокластеры [1]. Защищенные по аминокгруппе производные дипептида,  $\beta$ -L-аспартил-L-аспарагиновой кислоты, нашли применение в синтезе гликокластеров, содержащих три одинаковых углевода – антигена системы групп крови АВ0, а также их липидных производных, кластерных неогликолипидов

[2, 3]. В этих исследованиях, в частности, необходимо использование значительных количеств  $N_{\alpha}$ -карбонилбензилокси- $\beta$ -L-аспартил-L-аспарагиновой кислоты (**I**), однако в литературе отсутствует описание препаративного метода получения этого соединения.

Один из известных подходов к синтезу разветвленных дипептидов на основе аспарагиновой кислоты основан на региоселективном взаимодействии защищенного ангидрида аспарагиновой кислоты (такого как, например, соединение (**II**)) с аминами. Однако обсуждаемый подход не может считаться общим ввиду непредсказуемой региоселективности [4–6], и, более того, в литературе описано образование смеси изомеров (**I**) и (**IV**) (схема 1) при взаимодействии соединения (**II**) с аспаргатом (**III**) [7].

Цель данного исследования – разработка нового региоселективного метода синтеза  $N_{\alpha}$ -бензилоксикарбонил- $\beta$ -L-аспартил-L-аспарагиновой кислоты (**I**).

<sup>1</sup> Статья посвящается памяти академика РАН Вадима Тихоновича Иванова.

Сокращения: 9-BBN – 9-борабицикло[3.3.1]нонан; ESI – ионизация распылением в электрическом поле; HRMS – масс-спектр высокого разрешения; Nbz – 4-нитробензил; Рас – фенацил(2-фенил-2-оксоэтил); Pfr – пентафторфенил; ТФУ – трифторуксусная кислота.

# Автор для связи: (тел: +7 (496) 773-54-42; эл. почта: viatcheslav.azev@bibch.ru).

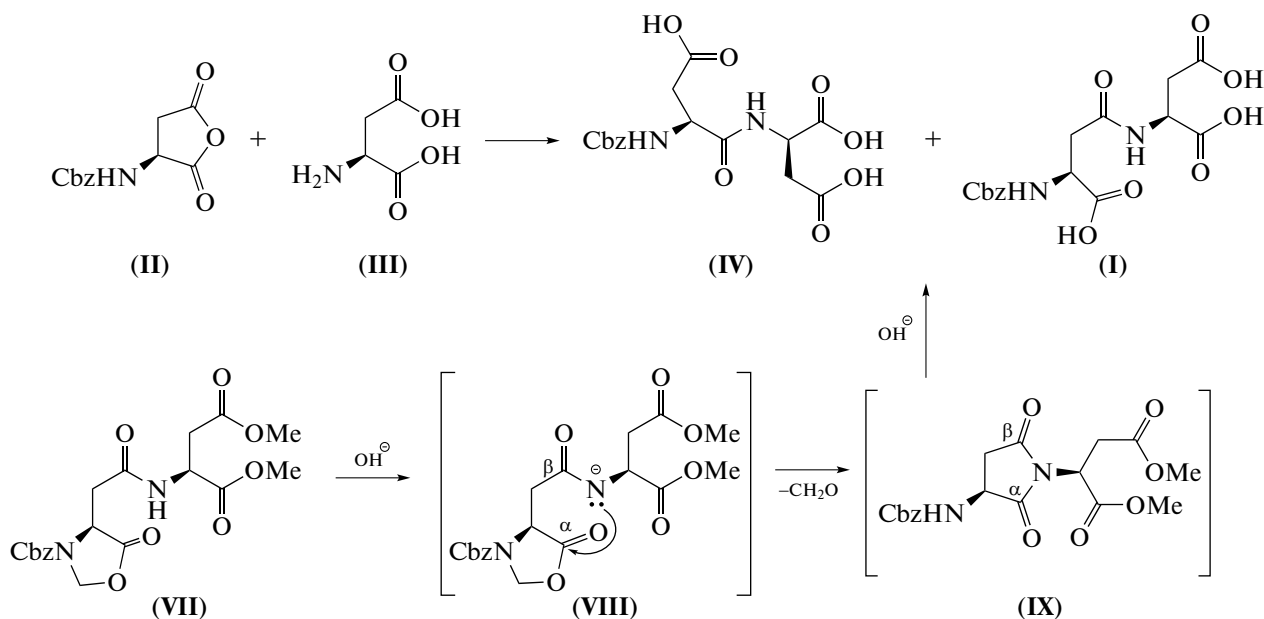


Схема 1. Неселективные синтезы *N*<sub>α</sub>-карбонилбензилокси-β-L-аспартил-L-аспарагиновой кислоты (I).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Легкодоступный гидрохлорид диметиласпартата (V) был выбран в качестве одного из исходных веществ (метилловые эфиры ортогональны к защитной группе Cbz).

Описано лишь одно общее и относительно простое в реализации решение проблемы дифференцировки карбоксильных групп во втором легкодоступном исходном веществе – *N*<sub>α</sub>-карбонилбензилоксиаспарагиновой кислоте (VI). Региоспецифичное введение защитной группы на α-карбоксил возможно с использованием хелатного эффекта нуклеофильных центров на атоме кислорода и на атоме азота соответствующих α-карбоксильной и α-аминогрупп по отношению к электрофилам, таким как формальдегид [8], Cu<sup>2+</sup> [9], бораны [10] и гексафторацетон [11]. Следует, однако, отметить, что при этом только лишь аддукты производного аспарагиновой кислоты с формальдегидом [12] и с 9-BBN [13] применялись для синтеза β-разветвленных пептидов.

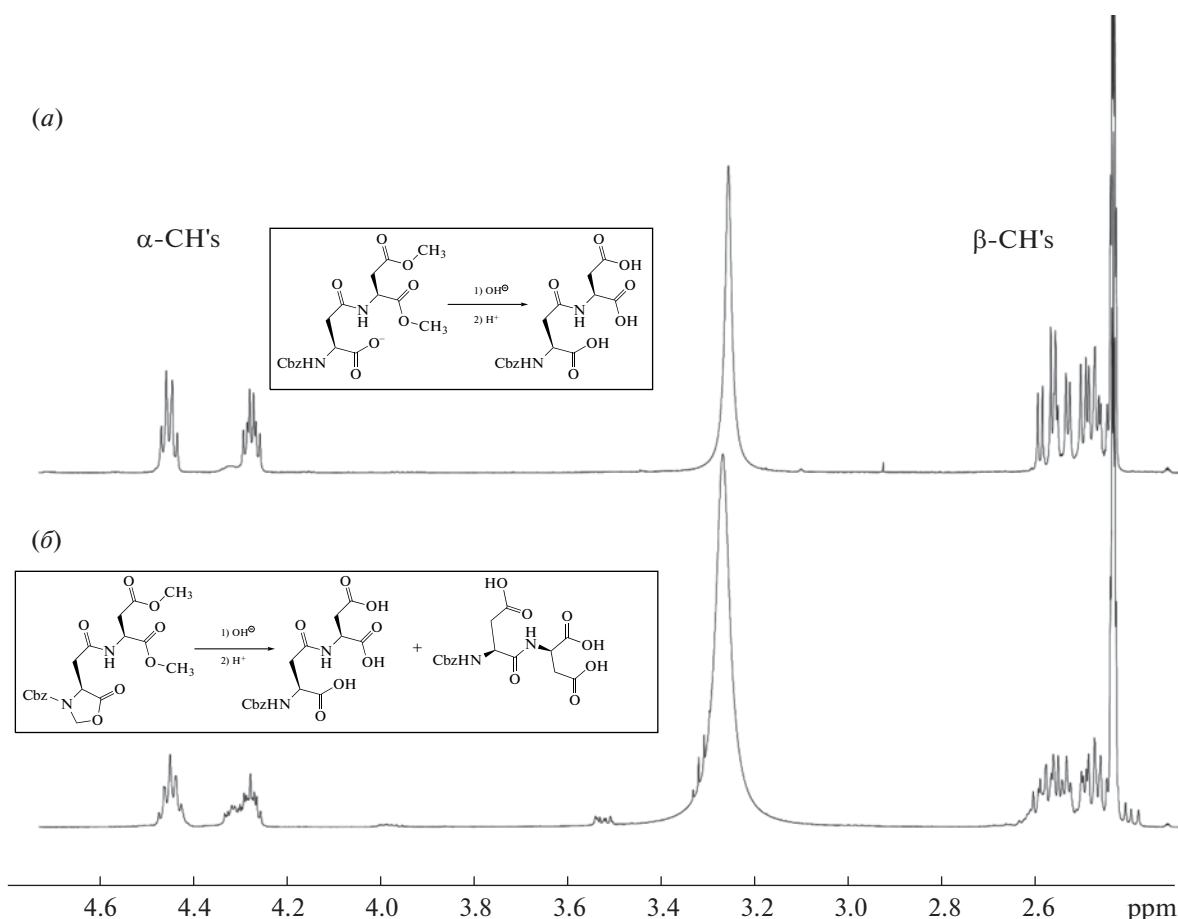
Мы выбрали способ синтеза целевого соединения (I) с использованием в качестве ключевого интермедиата аддукта *N*<sub>α</sub>-карбонилбензилоксиаспарагиновой кислоты с формальдегидом – α-защищенного оксазолидин-5-она (VII) (схема 1). Такой подход, по нашему мнению, имеет преимущества по сравнению с синтезом аддукта на основе 9-BBN. Дипептид (VII) был получен с высоким

выходом из легкодоступных соединений (V) и (VI). Однако в результате гидролиза метиленового мостика и эфирных группировок была получена смесь целевого соединения (I) и, возможно, его изомера, соединения (IV).

На рис. 1 представлено сравнение сигналов α- и β-атомов водорода в остатках аспарагиновых кислот в <sup>1</sup>H-ЯМР-спектрах чистого соединения (I) и смеси продуктов реакции гидролиза соединения (VII). Положение сигналов и их форма свидетельствовали об изомерной природе примеси. Данные масс-спектрометрического анализа подтвердили это предположение.

Из литературы известно, что α-эфиры аспарагина очень восприимчивы к внутримолекулярной нуклеофильной атаке *N*-анионами (такими как в соединении (VIII)) [14, 15], приводящей к образованию циклических продуктов.

Внутримолекулярное раскрытие метиленового мостика с образованием аспартимида в присутствии других оснований также известно из литературы [16], поэтому образование двух продуктов при гидролизе соединения (VII) можно описать последовательностью превращений, показанной на схеме 1. В результате депротонирования амидного протона и последующей внутримолекулярной нуклеофильной атаки на карбонильную группу оксазолидин-5-она в соединении (VIII) (схема 1) образуется аспартимид (IX), который раскрывается при взаимодействии с гидроксид-



**Рис. 1.** Сравнение области  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектров образца чистого соединения (**I**), который был получен новым методом, описанным в настоящей работе (*a*), и образца соединения (**I**), полученного по аналогии с опубликованным методом Mehrotra et al. [12] и содержащего примесь (*b*).

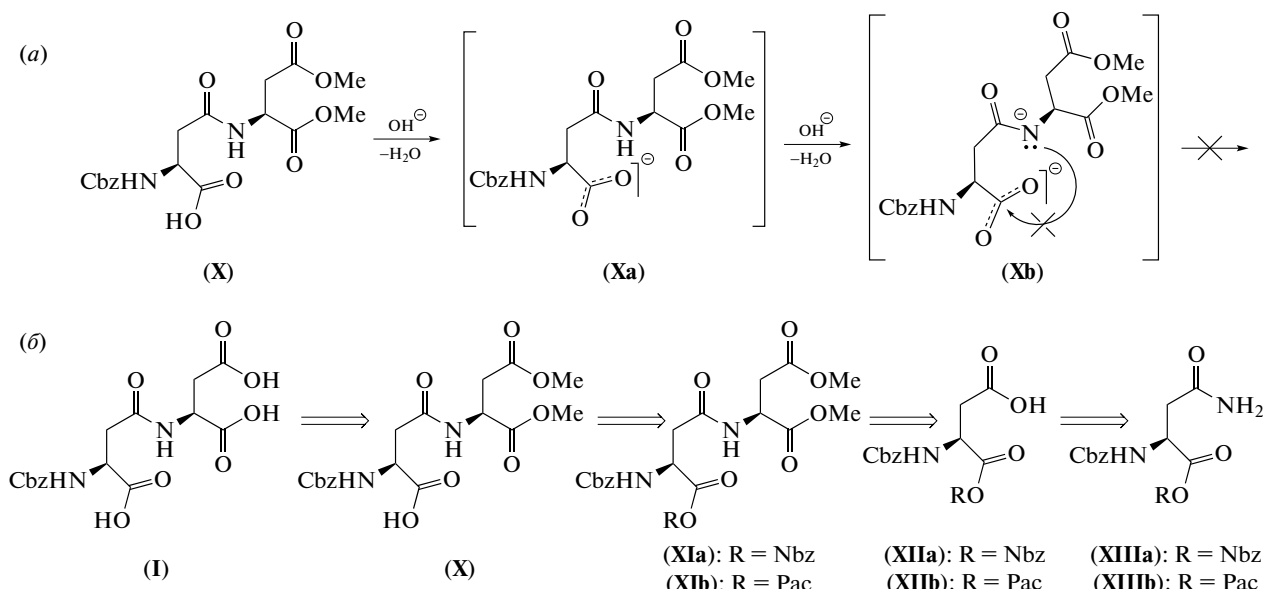
анионом по любой из имеющихся карбонильных групп с образованием двух изомеров – (**I**) и (**IV**).

Следует еще раз подчеркнуть, что хотя строгие экспериментальные доказательства обсуждаемых превращений отсутствуют, из литературных данных известно, что образование аспартимида оказывается порой неизбежным для производных аспарагиновой кислоты (или аспарагина), однако скорость образования такого интермедиата зависит от конкретной пептидной последовательности [14], и только очень редко его образования, по-видимому, можно избежать [12].

Образование аспартимида следовало радикально подавить, что возможно, если гидролизу подвергнуть субстрат с отрицательным зарядом на  $\alpha$ -карбоксильной группе (схема 2*a*). Таким образом, возникла задача разработать региоселективный метод получения  $S_{\alpha}$ -защищенного производного аспарагиновой кислоты с защитной группой, ортогональной к Cbz и к метиловым сложноэфирным группам. Таким требованиям, в

первую очередь, удовлетворяет *трет*-бутильная защитная группа, однако соответствующее производное Cbz-Asp-OBu' труднодоступно [17]. Простым же в реализации решением представлялось использование защитных групп, которые удаляются восстановлением [18]. В литературе описан довольно простой метод получения соединения (**XIIa**) – из 4-нитробензильного эфира Cbz-аспарагина (**XIIIa**) с использованием нитрозилсерной кислоты ( $\text{HO}_3\text{SONO}$ ) [19]. В свою очередь, синтез эфиров аспарагина довольно тривиален [20, 21].

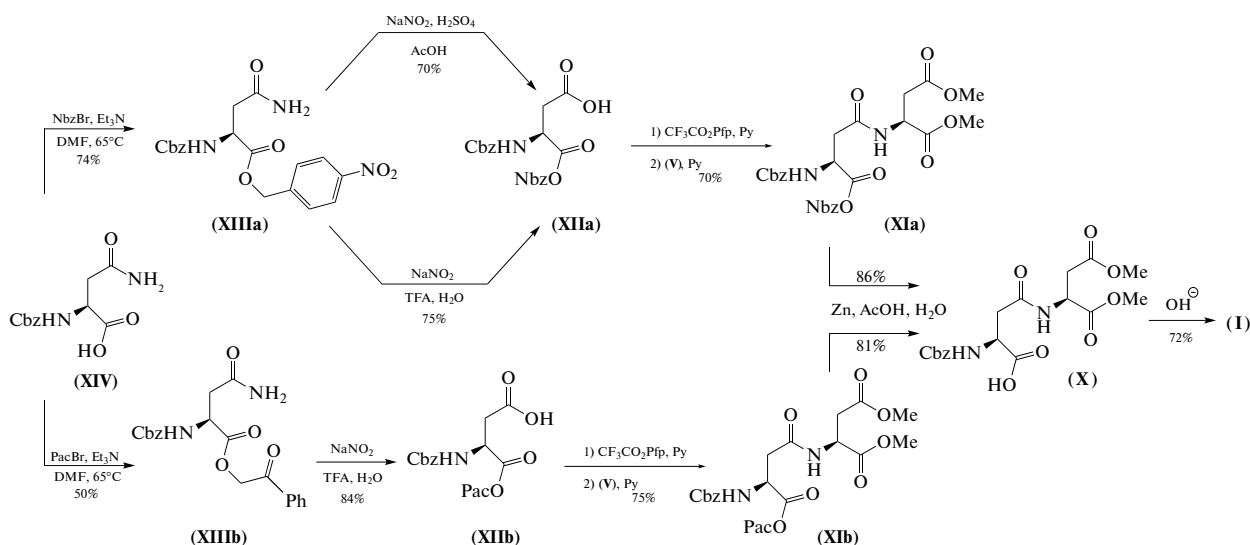
На схеме 2*b* представлен ретросинтетический анализ соединения (**I**). Одной из особенностей запланированной работы было изучение эффективности использования (с точки зрения суммарного химического выхода соединения (**X**)) различных по химическому строению и свойствам *S*-концевых защитных групп – 4-нитробензильной и фенацильной.



**Схема 2.** Новый подход к синтезу соединения (I). (a) – Вследствие отталкивания депротонированной амидной группы боковой цепи и карбоксилат-аниона протекание циклизации в аспартимид невозможно; (b) – ретросинтетический анализ соединения (I).

На схеме 3 представлены результаты реализации запланированных превращений. Соединение (XIIIa) было получено с высоким выходом (74%), сравнимым с опубликованными данными (70%) [20]. Выход соединения (XIIIb) оказался ниже (50%). Нитрозилсерная кислота не была коммерчески доступна, по-

этому проводили эксперименты, в которых ее синтезировали *in situ* и применяли для проведения нитрозилирования по аналогии с использованием такого раствора в реакции диазотирования слабоосновных аминов [22, 23]. В этих экспериментах были получены низкие выходы (16–18%) соединения (XIIa).



**Схема 3.** Синтез соединения (I).

При использовании обратного порядка смешения реагентов [24] и уксусной кислоты в качестве соразтворителя выход соединения (XIIa) был гораздо выше (70%), однако условия обработки реакционной смеси оказались неприемлемыми для масштабирования.

По аналогии с реакцией, в которой амид нитрозилировали оксидом азота(IV) в среде водной трифторуксусной кислоты (ТФУ) [25], мы опробовали еще один метод синтеза соединения (XIIa) – нитрит натрия добавляли к раствору производного аспарагина в водной ТФУ. В результате опти-

мизации условий реакции мы показали, что избыток твердого NaNO<sub>2</sub> следует добавлять к раствору соединения (XIIIa) в смеси ТФУ–вода (85 : 15, v/v) небольшими порциями. После добавления 7 экв. NaNO<sub>2</sub> соединение (XIIIa) было выделено с выходом 75%. При этом продолжительность реакции не должна превышать 70–80 мин с целью предотвращения гидролиза сложноэфирной группы. Далее в найденных условиях в реакцию вводили другое производное аспарагина с феноцильной сложноэфирной группой, продукт реакции – кислота (XIIIb) – выделена также с высоким выходом, однако при использовании 10 экв. NaNO<sub>2</sub>.

Оба синтезированных производных аспарагиновой кислоты вводили в реакцию с соединением (V), дипептиды (XIa, b) были получены с высокими выходами, превышающими 70%. Защитные группы в соединениях (XIa, b) были селективно удалены с использованием Zn/AcOH [26, 27], дипептид (X) был получен с выходами 86 и 81% соответственно. Гидролиз соединения (X) привел к получению целевого разветвленного дипептида (I), образования аспартимида при этом не наблюдалось (рис. 1a).

Таким образом, был разработан эффективный, масштабируемый и региоспецифичный метод синтеза защищенного β-разветвленного дипептида на основе аспарагиновой кислоты. Мы также предложили для превращения производных аспарагина в соответствующие кислоты использовать новый реагент – нитрит натрия в водной ТФУ. Следует отметить значительную стабильность сложноэфирных групп к условиям этой реакции. Другой отличительной чертой разработанного метода оказалось эффективное подавление образования аспартимида в щелочных условиях. Аналогичный подход использовался в дизайне защитной группы боковой цепи аспарагиновой кислоты, имеющей бетаиновую природу [28]. В этом случае модификация боковой цепи

аспарагиновой кислоты заключалась в обращении ее полярности (из электрофильной группы СО в нуклеофильный енолят), что привело к подавлению циклизации в аспартимид.

Еще одна отличительная черта разработанного метода – использование амидной группы аспарагина в качестве защитной группы боковой цепи аспарагиновой кислоты. Насколько нам известно, такой прием лишь изредка применялся в синтезе пептидов, разветвленных в боковой цепи [29, 30], но никто не изучал это свойство аспарагина для подавления образования аспартимида.

Обе изученные защитные группы продемонстрировали одинаковую эффективность, однако, ввиду того что производное аспарагина с 4-нитробензиольной защитной группой было получено с более высоким выходом, синтетическая цепочка на ее основе была отмасштабирована для получения соединения (I) в количестве нескольких грамм.

Соединение (X) может быть использовано в синтезе других разветвленных производных аспарагиновой кислоты. Карбоксильную группу в соединении (X) активировали и вводили в реакцию с соединением (V), при этом было получено соединение (XV) с не оптимизированным выходом 41% (схема 4). Именно этот трипептид можно получить несколько более эффективно (55–57%; см. работу Niggemann et al. [31] и “Эксперим. часть”), используя другое исходное вещество – N<sub>α</sub>-Cbz-аспарагиновую кислоту. Однако первый способ более гибок, поскольку позволяет синтезировать трипептид из различных дикабоновых кислот. Такие трипептиды (например, соединение (XVI)) находят применение в исследованиях мультивалентных взаимодействий углеводов с различными макромолекулами [1–3], а кроме того, могут использоваться для синтеза дендримерных карбоксилатных конструкций, изучаемых в качестве микробицидов [32].

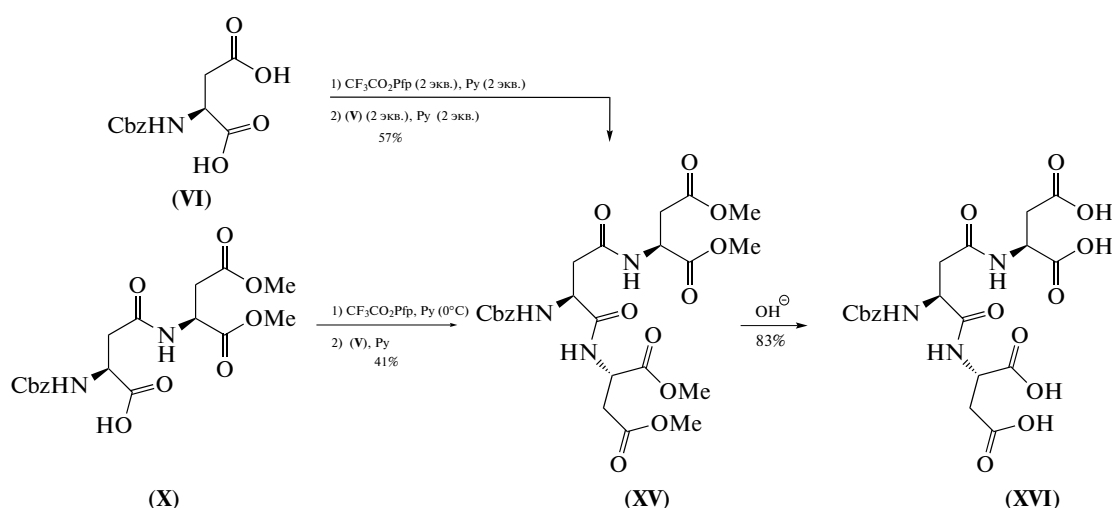


Схема 4. Получение разветвленного трипептида из ключевого промежуточного продукта (X).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали неорганические реактивы и растворители (РеаХим или Химмед, Россия); 4-нитробензилбромид, фенацилбромид (Fluka, Швейцария); трифторуксусную кислоту, пентафторфенилтрифторацетат (P&M Invest, Россия), аминокислоты и их стандартные производные (Reanal, Венгрия или IRIS Biotech GmbH, Германия). При необходимости реактивы подвергали очистке по известным методикам [33]. Гидрохлорид диметил L-аспартата [34] и (4R)-3-бензилоксикарбонил-5-оксооксазолидин-4-уксусную кислоту [12] синтезировали по описанным методикам. Спектры ЯМР регистрировали на приборе Bruker AVANCE III (Bruker BioSpin, Германия;  $^1\text{H}$  при 600 МГц,  $^{13}\text{C}$  при 125 МГц) относительно остаточных протонов растворителя DMSO- $d_6$ . Химические сдвиги приведены в миллионных долях, а КССВ – в герцах. Масс-спектры высокого разрешения регистрировали на приборе Orbitrap Elite Hybrid Ion Trap-Orbitrap (Thermo Fisher Scientific, Германия). ТСХ проводили на пластинках F254 Silica gel G plates (part 1.05554.0001; Merck, Германия). Детекцию соединений на пластинках проводили с использованием следующих реагентов: 1) раствора нингидрина (нингидрин 0.5 г, бутанол-1 250 мл, уксусная кислота 50 мл, сим-коллидин 10 мл) с последующим нагревом; 2) паров иода; 3) УФ-облучения; 4) насыщенного раствора фосфорномолибденовой кислоты в этаноле (~6 г, 60 мл) с последующим нагревом.

**$N_\alpha$ -Бензилоксикарбонил-L-аспарагина 4-нитробензиловый эфир (XIIIa).**  $N_\alpha$ -Бензилоксикарбонил-L-аспарагин (XIV) (4.5 г, 16.9 ммоль), триэтиламин (2.4 мл, 15.6 ммоль) и 4-нитробензилбромид (5.49 г, 25.4 ммоль) последовательно растворяли в DMF (65 мл) при перемешивании. Реакционную смесь нагревали при 65°C в течение 4 ч, затем выдерживали при 20–25°C в течение 16 ч. Реакционную смесь медленно выливали в холодный (0°C) 10%-ный водный раствор  $\text{KHSO}_3$  (150 мл) при перемешивании. Осадок отфильтровывали, промывали водой (3 × 15 мл) и метанолом (3 × 50 мл), затем перекристаллизовывали из этанола и сушили в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Выход соединения (XIIIa) составил 5.01 г (74%),  $R_f = 0.55$  (90 : 8 : 2 v/v/v  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ ), т. пл. 162–164°C, лит. т. пл. 164–166°C [20].

**$N_\alpha$ -Бензилоксикарбонил-L-аспарагина фенацильный эфир (XIIIb).** Синтезирован аналогично соединению (XIIIa) из Cbz-Asn-OH (4.12 г, 15.5 ммоль), фенацилбромида (4.63 г, 23 ммоль) и триэтиламина (2.2 мл, 15.6 ммоль). Выход соединения (XIIIb) составил 2.96 г (50%),  $R_f = 0.39$  (90 : 8 : 2 v/v/v  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$ ). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 2.58 (дд,  $J$  9.01, 15.83, 1H, H $\beta$ ), 2.72 (дд,  $J$  4.29,

15.82, 1H, H $\beta$ ), 4.63 (ддд,  $J$  4.26, 8.71, 9.15, 1H, H $\alpha$ ), 5.03 (д,  $J$  12.87, 1H,  $\text{PhCH}_2$ ), 5.06 (д,  $J$  12.87, 1H,  $\text{PhCH}_2$ ), 5.49 (д,  $J$  16.93, 1H,  $\text{CH}_2\text{COPh}$ ), 5.59 (д,  $J$  16.93, 1H,  $\text{CH}_2\text{COPh}$ ), 6.98 (ш.с., 1H, NH), 7.25–7.38 (м, 5H,  $\text{PhCH}_2$ ), 7.41 (ш.с., 1H, NH), 7.57 (т,  $J$  8.02, 2H,  $\text{CH}_2\text{COPh}$ ), 7.70 (тт,  $J$  1.20, 7.44, 1H,  $\text{CH}_2\text{COPh}$ ), 7.75 (д,  $J$  8.13, 1H, NH), 7.97 (дд,  $J$  1.17, 7.19, 2H,  $\text{CH}_2\text{COPh}$ ). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 192.45, 171.60, 170.52, 155.79, 136.84, 133.97, 133.78, 128.89, 128.32, 127.76, 127.68, 66.85, 65.50, 50.50, 36.64; HRMS (ESI)  $m/z$ : найдено  $M$ , 385.1392; вычислено для  $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6^+ [M + \text{H}]^+$  385.1394.

**$N_\alpha$ -Бензилоксикарбонил-L-аспарагиновой кислоты  $\alpha$ -4-нитробензиловый эфир (XIIIa).** Метод а. Серную кислоту (94%, 0.934 мл) охлаждали на ледяной бане, после чего добавляли нитрит натрия (182.3 мг, 2.6 ммоль) четырьмя одинаковыми порциями. Полученную бесцветную суспензию перемешивали 10 мин, после чего к ней по каплям добавляли раствор соединения (XIIIa) (0.4 г, 1 ммоль) в ледяной уксусной кислоте (1.9 мл). Реакционную смесь перемешивали 1 ч при 0°C, затем 30 мин при 20–25°C и выливали в смесь воды со льдом (300 мл). Осадок отфильтровывали, промывали водой (5 × 15 мл) и сушили в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Выход соединения (XIIIa) составил 0.07 г (17.5%),  $R_f = 0.23$  (92 : 8 v/v  $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ ), т. пл. 125–126°C, лит. т. пл. 127–128°C [19].

Метод б. Соединение (XIIIa) (0.2 г, 0.5 ммоль) растворяли в ледяной уксусной кислоте (4.5 мл). Раствор охлаждали на водяной бане (10°C) и добавляли концентрированную серную кислоту (0.5 мл). Внешнее охлаждение убирали и добавляли нитрит натрия (0.241 г, 3.5 ммоль, 7 экв.) при перемешивании семью одинаковыми порциями в течение 1 ч. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч и выливали в смесь воды со льдом (200 мл). Осадок отфильтровывали, промывали водой (5 × 15 мл) и сушили в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Выход соединения (XIIIa) составил 0.145 г (70%).

Метод в. Соединение (XIIIa) (3.21 г, 8 ммоль) растворяли в 85%-ной водной ТФУ (90 мл) при комнатной температуре. К полученному раствору добавляли нитрит натрия (3.87 г, 56 ммоль, 7 экв.) при перемешивании семью одинаковыми порциями в течение 1 ч. Реакционную смесь перемешивали до прекращения выделения оксидов азота и упаривали в вакууме масляного насоса, снабженного двумя ловушками, охлаждаемыми жидким азотом, соединенными последовательно. Остаток после упаривания растворяли в смеси EtOAc (100 мл) и воды (100 мл), водный слой отделяли, органический слой промывали водой (3 × 30 мл) и насыщенным раствором NaCl (3 × 20 мл). Органическую фазу сушили над  $\text{MgSO}_4$  и упаривали. Остаток после упаривания растворяли в EtOAc (10 мл), к полученному раствору добавляли пет-

ролейный эфир (30/50) до слабого помутнения и оставляли до завершения кристаллизации. Суспензию фильтровали, осадок на фильтре промывали петролейным эфиром (30/50, 2 × 20 мл) и сушили в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Выход соединения (XIa) составил 2.41 г (75%).

**N<sub>α</sub>-Бензилоксикарбонил-L-аспарагиновой кислоты α-фенациловый эфир (XIb).** Синтезирован аналогично соединению (XIa) (метод *в*) из Cbz-Asp-OPAc (1.35 г, 3.5 ммоль), 85%-ной водной ТФУ (42 мл) и NaNO<sub>2</sub> (2.42 г, 35 ммоль, 10 экв.). Продукт очищали перекристаллизацией из смеси диэтилового эфира с петролейным эфиром (30/50). Выход соединения (XIb) составил 1.13 г (84%), R<sub>f</sub> = 0.46 (90 : 8 : 2 v/v/v CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 2.69 (дд, J 9.07, 16.82, 1H, Hβ), 2.90 (дд, J 4.53, 16.77, 1H, Hβ), 4.61 (ддд, J 4.49, 8.73, 9.24, 1H, Hα), 5.05 (с, 2H, PhCH<sub>2</sub>), 5.50 (д, J 16.91, 1H, CH<sub>2</sub>COPh), 5.61 (д, J 16.91, 1H, CH<sub>2</sub>COPh), 7.25–7.40 (м, 5H, PhCH<sub>2</sub>), 7.57 (м, 2H, CH<sub>2</sub>COPh), 7.70 (тт, J 1.20, 7.41, 1H, CH<sub>2</sub>COPh), 7.88 (д, J 8.21, 1H, NH), 7.57 (дд, J 0.97, 8.15, 2H, CH<sub>2</sub>COPh), 12.53 (ш.с., 1H, CO<sub>2</sub>H). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 192.38, 171.20, 171.00, 155.83, 136.80, 134.00, 133.74, 128.90, 128.33, 127.79, 127.68, 67.01, 65.58, 50.48, 35.88; HRMS (ESI) m/z: найдено M, 384.1084; вычислено для C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>7</sub><sup>-</sup> [M - H]<sup>-</sup> 384.1089.

**N<sub>α</sub>-Бензилоксикарбонил-α-4-нитробензил-L-аспартил-L-аспарагиновой кислоты диметиловый эфир (XIa).** Соединение (XIa) (7.7 г, 19.2 ммоль) растворяли в сухом DMF (22 мл) и добавляли при перемешивании пиридин (1.71 мл, 21 ммоль), а затем пентафторфенилтрифторацетат (3.83 мл, 22 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 1 ч, полноту протекания реакции контролировали по ТСХ (90 : 8 : 2 v/v/v CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH). К реакционной смеси добавляли соединение (V) (5.7 г, 28.8 ммоль, 1.5 экв.) и пиридин (2.33 мл, 28.8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 18 ч и упаривали в вакууме. Остаток растворяли в смеси EtOAc (400 мл) и воды (200 мл). Водный слой отделяли, а органический слой промывали последовательно 5%-ным водным NaHCO<sub>3</sub> (3 × 200 мл), водой (200 мл), 0.1 М водной HCl (3 × 200 мл), водой (3 × 100 мл), насыщенным раствором NaCl (3 × 100 мл). Органический слой сушили (MgSO<sub>4</sub>) и упаривали. Остаток растворяли в EtOAc (50 мл), к полученному раствору добавляли петролейный эфир (30/50) до слабого помутнения и оставляли до завершения кристаллизации. Суспензию фильтровали, осадок на фильтре промывали петролейным эфиром (30/50, 2 × 15 мл) и сушили в вакууме. Выход соединения (XIa) составил 7.3 г (70%), R<sub>f</sub> = 0.45 (2 : 1 v/v EtOAc/n-гептан). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 2.59 (дд, J 7.42, 15.53, 1H, Hβ), 2.66 (дд, J 6.95, 16.54, 1H,

Hβ), 2.71 (дд, J 6.05, 15.56, 1H, Hβ), 2.76 (дд, J 6.13, 16.48, 1H, Hβ), 3.58 (с, 3H, OMe), 3.59 (с, 3H, OMe), 4.54 (дд, J 7.55, 13.99, 1H, Hα), 4.63 (дд, J 6.78, 14.05, 1H, Hα), 5.03 (д, J 12.73, 1H, PhCH<sub>2</sub>), 5.06 (д, J 12.73, 1H, PhCH<sub>2</sub>), 5.25 (д, J 13.92, 1H, NbzCH<sub>2</sub>), 5.28 (д, J 13.92, 1H, NbzCH<sub>2</sub>), 7.22–7.40 (м, 5H, PhCH<sub>2</sub>), 7.61 (д, J 8.74, 2H, NbzCH<sub>2</sub>), 7.69 (ш.д., J 8.10, 1H, NH), 8.20 (д, J 8.75, 2H, NbzCH<sub>2</sub>), 8.53 (д, J 7.89, 1H, NH). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 171.06, 170.92, 170.29, 168.81, 155.80, 147.03, 143.69, 136.78, 128.29, 128.22, 127.80, 127.66, 123.42, 65.58, 64.86, 52.12, 51.62, 50.65, 48.52, 36.54, 35.59; HRMS (ESI) m/z: найдено M, 568.1533; вычислено для C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>11</sub><sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup> 568.1538.

**N<sub>α</sub>-Бензилоксикарбонил-α-фенацил-L-аспартил-L-аспарагиновой кислоты диметиловый эфир (XIb).** Соединение (XIb) (0.385 г, 1 ммоль) растворяли в сухом DMF (1 мл) в атмосфере аргона. К полученному раствору добавляли пиридин (0.09 мл, 1.1 ммоль) и пентафторфенилтрифторацетат (0.172 мл, 1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 1 ч, полноту протекания реакции контролировали по ТСХ (90 : 8 : 2 v/v/v CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH). К полученному раствору добавляли соединение (V) (0.297 г, 1.5 ммоль) и пиридин (0.122 мл, 1.5 ммоль). Реакционную смесь выдерживали в атмосфере аргона в течение 18 ч и упаривали в вакууме. Остаток растворяли в смеси EtOAc (20 мл) и воды (10 мл). Водный слой отделяли, а органический промывали последовательно 5%-ным водным NaHCO<sub>3</sub> (3 × 10 мл), водой (10 мл), 0.1 М водной HCl (3 × 10 мл), водой (3 × 10 мл), насыщенным раствором NaCl (3 × 10 мл). Органический слой сушили (MgSO<sub>4</sub>) и упаривали. Остаток растворяли в EtOAc (5 мл), к полученному раствору добавляли петролейный эфир (30/50) до слабого помутнения и до завершения кристаллизации. Суспензию фильтровали, осадок на фильтре промывали петролейным эфиром (30/50, 2 × 15 мл) и сушили в вакууме. Выход соединения (XIb) составил 0.39 г (75%), R<sub>f</sub> = 0.47 (2 : 1 v/v EtOAc/n-гептан). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 2.67 (дд, J 8.51, 15.33, 1H, Hβ), 2.70 (дд, J 7.16, 16.56, 1H, Hβ), 2.75–2.83 (м, 2H, Hβ), 3.59 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.61 (с, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.61–4.71 (м, 2H, Hα), 5.04 (с, 2H, PhCH<sub>2</sub>), 5.49 (д, J 16.88, 1H, CH<sub>2</sub>COPh), 5.59 (д, J 16.88, 1H, CH<sub>2</sub>COPh), 7.28–7.39 (м, 5H, PhCH<sub>2</sub>), 7.57 (м, 2H, CH<sub>2</sub>COPh), 7.68–7.73 (м, 2H, CH<sub>2</sub>COPh, NH), 7.96 (дд, J 1.25, 7.19, 2H, CH<sub>2</sub>COPh), 8.52 (д, J 7.89, 1H, NH). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 192.41, 171.29, 171.01, 170.32, 168.68, 155.75, 136.81, 134.00, 133.75, 128.91, 128.31, 127.79, 127.76, 127.67, 66.90, 65.54, 52.15, 52.13, 51.64, 51.62, 50.40, 48.58, 36.62, 35.60; HRMS (ESI) m/z: найдено M, 551.1631; вычислено для C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>10</sub><sup>+</sup> [M + Na]<sup>+</sup> 551.1636.

**Диметил *N*-[(4*S*)-3-бензилоксикарбонил-5-оксооксазолидин-4-ил-ацетил]-(2*S*)-аспаргат (VII).** Синтезирован аналогично соединению (XIb) из (4*R*)-3-бензилоксикарбонил-5-оксооксазолидин-4-уксусной кислоты (0.279 г, 1 ммоль). Выход соединения (VII) составил 0.349 мг (83%),  $R_f = 0.63$  (2 : 1 *v/v* EtOAc/*n*-гептан). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: (*E*- и *Z*-ротамеры наблюдаются при 298 К – это свойство подобных гетероциклических соединений [35]): 2.7–3.2 (м, 4H, H $\beta$ ), 3.55–3.67 (м, 6H, OMe), 4.55–5.05 (м, H $\alpha$ , NCH $_2$ O), 5.12 (с, 2H, PhCH $_2$ ), 6.09 (ш.с., 1H, NH), 7.26–7.44 (м, 5H, PhCH $_2$ ); HRMS (ESI)  $m/z$ : найдено  $M$ , 445.1213; вычислено для  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{NaO}_9^+ [M + \text{Na}]^+$  445.1218.

**$N_\alpha$ -Бензилоксикарбонил- $\beta$ -L-аспартил-L-аспарагиновой кислоты диметиловый эфир (X).** Дипептид (XIa) (7.3 г, 13.4 ммоль) растворяли в 80%-ной водной уксусной кислоте (200 мл). Добавляли цинковую пыль (15.73 г, 268 ммоль, 20 экв.) в три порции. Реакционную смесь перемешивали 3 ч и фильтровали. Остаток на фильтре промывали 80%-ной водной уксусной кислотой (4  $\times$  20 мл). Объединенные растворы упаривали досуха в вакууме (остаточное давление 0.1 мм рт. ст.). Остаток после упаривания растворяли в смеси EtOAc (200 мл) и 1 М водной H $_2$ SO $_4$  (200 мл). Водную фазу отделяли, а органический слой промывали последовательно водой (3  $\times$  100 мл) и насыщенным раствором NaCl (3  $\times$  100 мл). Органический слой сушили (MgSO $_4$ ) и упаривали. Остаток растворяли в EtOAc (7 мл), к полученному раствору добавляли петролейный эфир (30/50) до слабого помутнения и оставляли до завершения кристаллизации. Суспензию фильтровали, осадок на фильтре промывали петролейным эфиром (30/50, 2  $\times$  30 мл) и сушили в вакууме. Выход соединения (X) составил 4.52 г (86%),  $R_f = 0.26$  (90 : 8 : 2 *v/v/v* CHCl $_3$ /MeOH/AcOH). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 2.51 (м, 1H, H $\beta$ ), 2.61 (дд,  $J$  5.25, 15.38, 1H, H $\beta$ ), 2.67 (дд,  $J$  6.94, 16.51, 1H, H $\beta$ ), 2.77 (дд,  $J$  6.19, 16.51, 1H, H $\beta$ ), 3.59 (с, 3H, OMe), 3.61 (с, 3H, OMe), 4.34 (ддд,  $J$  5.26, 8.16, 8.36, 1H, H $\alpha$ ), 4.62 (дд,  $J$  6.71, 14.13, 1H, H $\alpha$ ), 5.02 (с, 2H, PhCH $_2$ ), 7.27–7.38 (с, 5H, PhCH $_2$ ), 7.40 (д,  $J$  8.3, 1H, NH), 8.43 (д,  $J$  7.86, 1H, NH), 12.67 (ш.с., 1H, CO $_2$ H). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 175.97, 171.13, 170.38, 170.01, 155.63, 137.12, 128.26, 127.64, 127.57, 65.12, 52.07, 51.73, 51.59, 48.43, 38.06, 35.67; HRMS (ESI)  $m/z$ : найдено  $M$ , 411.1401; вычислено для  $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_9^+ [M + \text{H}]^+$  411.1398.

Соединение (X) было получено по методике, описанной выше, из соединения (XIb) (0.39 г, 0.75 ммоль). Выход соединения (X) составил 0.25 г (81%).

**Попытка получения соединения (I) реакцией гидролиза соединения (VII).** Соединение (VII) (0.349 г, 0.83 ммоль) растворяли в 80%-ном вод-

ном этаноле (17 мл) при перемешивании. К полученному раствору добавляли 1 М водного NaOH (2.5 мл), а спустя 30 мин – вторую порцию 1 М водного NaOH (0.5 мл). Реакционную смесь перемешивали 1 ч, после чего упаривали. Остаток растворяли в воде (5 мл), полученный раствор подкисляли холодным (4 $^\circ\text{C}$ ) 2 М водным раствором NaHSO $_4$  до pH 3. Мутный водный раствор экстрагировали EtOAc (4  $\times$  5 мл). Объединенные органические фазы промывали водой (3  $\times$  3 мл) и насыщенным раствором NaCl (3  $\times$  3 мл). Органический слой сушили (MgSO $_4$ ) в течение 16–18 ч и упаривали. Получили 0.2 г твердого вещества. По данным  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопии, в полученном образце содержался целевой продукт (I) с примесью вероятного изомера (IV); HRMS (ESI)  $m/z$ : найдено  $M$ , 381.0944; вычислено для  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_9^- [M - \text{H}]^-$  381.0940.

**$N_\alpha$ -Бензилоксикарбонил- $\beta$ -L-аспартил-L-аспарагиновая кислота (I).** Соединение (X) (4.52 г, 11.5 ммоль) растворяли в 80%-ном водном этаноле (200 мл) при перемешивании. К полученному раствору по каплям добавляли 1 М водного NaOH (34.5 мл), спустя 30 мин добавляли вторую порцию 1 М водного NaOH (5.8 мл), реакционную смесь перемешивали 1 ч. Реакционную смесь упаривали, остаток растворяли в воде (30 мл) и подкисляли холодным (4 $^\circ\text{C}$ ) 2 М водным раствором NaHSO $_4$  до pH 3. Помутневший водный раствор экстрагировали EtOAc (4  $\times$  40 мл). Объединенные экстракты промывали водой (3  $\times$  20 мл) и насыщенным раствором NaCl (3  $\times$  20 мл). Органический слой сушили (MgSO $_4$ ) и упаривали. Выход соединения (I) составил 3.1 г (72%),  $R_f = 0.37$  (4 : 3 : 2 *v/v/v* IPA/EtOAc/вода). Спектр  $^1\text{H}$ -ЯМР: 2.51–2.69 (м, 4H, H $\beta$ ), 4.34 (ддд,  $J$  5.15, 8.1, 8.75, 1H, H $\alpha$ ), 4.51 (дд,  $J$  6.33, 14.4, 1H, H $\alpha$ ), 5.01 (д,  $J$  12.47, 1H, PhCH $_2$ ), 5.04 (д,  $J$  12.57, 1H, PhCH $_2$ ), 7.2–7.48 (м, Hz, 6H, PhCH $_2$ , NH), 8.23 (д,  $J$  7.93, 1H, NH). Спектр  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 172.91, 172.25, 171.55, 168.99, 155.75, 136.92, 128.30, 127.74, 127.61, 65.41, 50.48, 48.60, 36.64, 36.08; HRMS (ESI)  $m/z$ : найдено  $M$ , 381.0942; вычислено для  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_9^- [M - \text{H}]^-$  381.0940.

**$N_\alpha$ -Бензилоксикарбонил- $\alpha,\beta$ -бис-(L-диметоксисаспартил)-L-аспарагиновая кислота (XV).** Метод 1. Кислоту (VI) (267 мг, 1 ммоль) растворяли в DCM (5 мл), при перемешивании добавляли пиридин (0.192 мл, 2.4 ммоль), а затем пентафторфенилтрифторацетат (0.4 мл, 2.4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 2 ч, полноту протекания реакции контролировали по ТСХ (90 : 8 : 2 *v/v/v* CHCl $_3$ /MeOH/AcOH). Реакционную смесь разбавляли DCM (20 мл) и промывали 0.1 М водным NaHCO $_3$  (30 мл), 0.1 М водной HCl (20 мл) и водой (20 мл). Органический слой сушили MgSO $_4$



при перемешивании 1 ч, фильтровали и упаривали. К остатку добавляли раствор соединения (V) (413 мг, 2.1 ммоль) в DMF (4 мл), а затем NMM (0.5 мл, 4.4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 18 ч. На следующий день в реакционную смесь добавили еще 20 мг (0.1 ммоль) соединения (V) и NMM (15 мкл), перемешивали еще 2 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (70 мл), промывали 5%-ным водным KHCО<sub>3</sub> (30 мл), 0.1 М водной HCl (30 мл) и водой (30 мл). Органический раствор сушили над MgSO<sub>4</sub> и упаривали. К остатку добавляли петролейный эфир (30/50, 10 мл), выдерживали при перемешивании до окончания кристаллизации вещества, отфильтровывали и сушили в вакууме. Выход соединения (XV) составил 0.32 г (57%), т. пл. 174–177°C, лит. т. пл. 161°C [31], R<sub>f</sub> = 0.57 (4 : 2 : 1 v/v/v n-гексан/CHCl<sub>3</sub>/2-пропанол). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 2.4 (дд, J 15.3, 9.4, 1H, Hβ), 2.54 (дд, J 15.3, 4.4, 1H, Hβ), 2.67 (дд, J 16.2, 6.3, 1H, Hβ), 2.71 (ддд, J 16.6, 6.8, 1H, Hβ), 2.75 (дд, J 16.5, 6.3, 1H, Hβ), 2.78 (дд, J 16.5, 6.2, 1H, Hβ), 3.61, 3.609, 3.603 и 3.586 (4 с, 12H, 4 OCH<sub>3</sub>), 4.37 (ддд, J 4.5, 8.9, 8.9, 1H, Hα Z-D), 4.64 (м, 2H, 2 Hα), 5.02 (с, 2H, PhCH<sub>2</sub>), 6.95 (м, 0.12H, *цис*-NH-Z), 7.35 (м, 5.88H, PhCH<sub>2</sub> и *транс*-NH-Z), 8.30–8.50 (м, 2H, 2 NH). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР: 171.09, 171.01, 170.93, 170.37, 170.31, 169.07, 155.58, 136.83, 128.27, 128.75, 127.63, 65.46, 52.14, 52.08, 51.60, 51.31, 48.53, 48.45, 35.64, 35.41.

Метод 2. Соединение (X) (0.205 г, 0.5 ммоль) растворяли в сухом DMF (0.5 мл) в атмосфере аргона. Раствор охлаждали до 0°C, добавляли пиридин (0.045 мл, 0.55 ммоль) и пентафторфенилтрифторацетат (0.086 мл, 1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали 2 ч, полноту реакции контролировали по ТСХ (90 : 8 : 2 v/v/v CHCl<sub>3</sub>/MeOH/AcOH). Охлаждение убирали и в реакционную смесь вносили соединение (V) (0.149 г, 0.75 ммоль), пиридин (0.061 мл, 0.75 ммоль), перемешивали в атмосфере аргона в течение 18 ч, после чего упаривали в вакууме. Остаток растворяли в смеси EtOAc (70 мл) и воды (10 мл). Водный слой отделяли, а органический слой промывали последовательно 5%-ным водным NaHCO<sub>3</sub> (3 × 10 мл), водой (10 мл), 0.1 М водной HCl (3 × 10 мл), водой (3 × 10 мл), насыщенным раствором NaCl (3 × 10 мл). Органический слой сушили (MgSO<sub>4</sub>) и упаривали. Остаток перекристаллизовывали из метанола. Выход соединения (XV) составил 0.323 г (41%).

**N<sub>α</sub>-Бензилоксикарбонил-α,β-бис-(L-аспартил)-L-аспарагиновая кислота (XVI).** Тетраметиловый эфир (XV) (108 мг, 0.195 ммоль) суспендировали в смеси 1.4 мл воды и 1.4 мл пропанола-2. К перемешиваемой суспензии добавляли 1 М водного NaOH (0.828 мл, 0.828 ммоль) в четырех одинаковых порциях. Реакционную смесь выдерживали в течение 18 ч при 20–25°C. Раствор разбавляли во-

дой (20 мл) и упаривали до объема 2 мл при температуре не выше 30°C. Остаток наносили на ионообменную смолу Dowex 50X4 (200–400 mesh, Ru<sup>+</sup>-форма) в колонке (8 мл) и элюировали водой. Фракции, содержащие соединение (XVI), объединяли и упаривали. Остаток дважды лиофилизировали из воды. Выход тетракислоты (XVI) с содержанием пиридина 0.8 моль/моль составил 81 мг (83%), R<sub>f</sub> = 0.32 (4 : 3 : 2 v/v/v 2-пропанол/MeCN/H<sub>2</sub>O). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 2.44 (дд, J 9.7, 15.3, 1H, Hβ), 2.61 (м, 5H, 5 Hβ), 4.39 (дд, J 4.1, 8.9, 8.9, 1H, Hα Z-D), 4.53 (п, J 6.7, 2H, 2 Hα), 5.01 (с, 2H, PhCH<sub>2</sub>), 7.27–7.40 (м, 6H, PhCH<sub>2</sub> и NH-Z), 8.14 (д, J 8.1, 1H, NH), 8.16 (д, J 8.1, 1H, NH), 12.54 (ш.с., 4H, C(O)OH). Спектр <sup>13</sup>C-ЯМР (D<sub>2</sub>O): 174.93, 174.80, 174.74, 174.68, 172.43, 171.43, 157.41, 136.23, 128.44, 127.83, 127.73, 67.27, 51.99, 49.85, 37.18, 36.23, 36.09; HRMS (ESI) m/z: найдено M, 496.1201; вычислено для C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub> [M – H]<sup>–</sup> 496.1209.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан эффективный, масштабируемый и региоспецифичный метод синтеза защищенного β-разветвленного дипептида на основе аспарагиновой кислоты. Отличительные черты разработанного метода – эффективное подавление образования аспартимида в щелочных условиях за счет электростатического эффекта и использование амидной группы аспарагина в качестве защитной группы боковой цепи аспарагиновой кислоты. Для селективного превращения производных аспарагина в соответствующие кислоты предложен новый реагент – нитрит натрия в водной трифторуксусной кислоте.

Разработанный метод позволяет эффективно синтезировать ди- и трипептиды, которые находят применение в исследованиях мультивалентных взаимодействий углеводов с различными макромолекулами и могут использоваться для синтеза дендримерных карбоксилатных конструкций, изучаемых в качестве микробицидов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность к.ф.-м.н. А.К. Сурину (Институт белка РАН) за помощь в регистрации масс-спектров высокого разрешения.

## ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 2019 0101-2019-0014).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Müller Ch., Despras G., Lindhorst T.K. // Chem. Soc. Rev. 2016. V. 45. P. 3275–3302. <https://doi.org/10.1039/C6CS00165C>
- Korchagina E.Y., Henry S.M. // Biochemistry (Moscow). 2015. V. 80. P. 857–871. <https://doi.org/10.1134/S0006297915070068>
- Петракова Д.О., Савченко М.С., Попова И.С., Тузи-ков А.Б., Парамонов А.С., Чижов А.О., Бовин Н.В., Рыжов И.М. // Биоорг. химия. 2023. Т. 49. № 4. С. 422–433. <https://doi.org/10.31857/S013234232304036X>
- Le Quesne W.J., Young G.T. // J. Chem. Soc. 1952. P. 24–28. <https://doi.org/10.1039/JR9520000024>
- Lee R.T., Lin P., Lee Yu.C. // Biochemistry. 1984. V. 23. P. 4255–4261. <https://doi.org/10.1021/bi00313a037>
- Lee R.T., Lee Yu.C. // Bioconjug. Chem. 1997. V. 8. P. 762–765. <https://doi.org/10.1021/bc9700796>
- Benoit N.L., Chen F.M.F., Steinauer R., Chouinard M. // Int. J. Peptide Protein Res. 1986. V. 27. P. 28–33. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1986.tb02762.x>
- Itoh M.I. // Chem. Pharm. Bull. 1969. V. 17. P. 1679–1686. <https://doi.org/10.1248/cpb.17.1679>
- Ledger R., Stewart F.H.C. // Aust. J. Chem. 1965. V. 18. P. 1477–1484. <https://doi.org/10.1071/CH9651477>
- Nefkens G.H.L., Zwanenburg B. // Tetrahedron. 1983. V. 39. P. 2995–2998. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)92162-3](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)92162-3)
- Pumpor K., Windeisen E., Spengler J., Albericio F., Burger K. // Monatsh. Chem. 2004. V. 135. P. 1427–1443. <https://doi.org/10.1007/s00706-004-0183-9>
- Mehrotra A.P., Webster K.L., Gani D. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1997. P. 2495–2512. <https://doi.org/10.1039/A702407J>
- Sánchez A., Calderón E., Vazquez A. // Synthesis. 2013. V. 45. P. 1364–1372. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1316848>
- Subirós-Funosas R., El-Faham A., Albericio F. // Tetrahedron. 2011. V. 45. P. 8595–8606. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.08.046>
- Roeske R. // J. Org. Chem. 1963. V. 28. P. 1251–1253. <https://doi.org/10.1021/jo01040a022>
- Abell A.D., Edwards R.A., Oldham M.D. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1997. P. 1655–1662. <https://doi.org/10.1039/A608165G>
- Gregory H., Morley J.S., Smith J.M., Smithers M.J. // J. Chem. Soc. 1968. P. 715–725. <https://doi.org/10.1039/J39680000715>
- Isidro-Llobet A., Álvarez M., Albericio F. // Chem Rev. 2009. V. 109. P. 2455–2504. <https://doi.org/10.1021/cr800323s>
- Nefkens G.H.L., Nivard R.J.F. // Recl. Trav. Chim. Pays-Bas. 1965. V. 84. P. 1315–1318. <https://doi.org/10.1002/recl.19650841013>
- Sondheimer E., Semeraro R.J. // J. Org. Chem. 1961. V. 26. P. 1847–1849. <https://doi.org/10.1021/jo01065a038>
- Cosmatos A., Johnson S., Breier B., Katsoyannis P.G. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1975. P. 2157–2163. <https://doi.org/10.1039/P19750002157>
- Schoutissen H.A.J. // J. Am. Chem. Soc. 1933. V. 55. P. 4531–4534. <https://doi.org/10.1021/ja01338a032>
- Hodgson H.H., Mahadevan A.P., Ward E.R. // Org. Synth. 1948. V. 28. P. 52–54. <https://doi.org/10.1002/0471264180.os028.21>
- Moss R.A., Bracken K., Emge T.J. // J. Org. Chem. 1995. V. 60. P. 7739–7746. <https://doi.org/10.1021/jo00129a012>
- Anzeveno P.B., Creemer L.J., Daniel J.K., King C.H.R., Liu P.S. // J. Org. Chem. 1989. V. 54. P. 2539–2542. <https://doi.org/10.1021/jo00272a015>
- Hendrickson J.B., Kandall C. // Tetrahedron Lett. 1970. V. 11. P. 343–344. [https://doi.org/10.1016/0040-4039\(70\)80079-X](https://doi.org/10.1016/0040-4039(70)80079-X)
- Suzuki K., Endo N.T. // Chem. Pharm. Bull. 1978. V. 26. P. 2269–2274. <https://doi.org/10.1248/cpb.26.2269>
- Neumann K., Farnung J., Baldauf S., Bode J.W. // Nature Commun. 2020. V. 11. P. 982. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14755-6>
- Adang A.E., Duindam A.J., Brussee J., Mulder G.J., Van Der Gen A. // Biochem. J. 1988. V. 255. P. 715. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1135284/>
- Gleich A., Schmidtcher F.P., Scheuplein S.W., Kusche A., Brückner R., Harms K. // Chem. Ber. 1990. V. 123. P. 907–915. <https://doi.org/10.1002/cber.19901230442>
- Niggemann M., Ritter H. // Acta Polym. 1996. V. 47. P. 351–356. <https://doi.org/10.1002/actp.1996.010470806>
- Akbari A., Bigham A., Rahimkhoei V., Sharifi S., Jabbari A. // Polymers. 2022. V. 14. P. 1634. <https://doi.org/10.3390/polym14091634>
- Armarego W.L.F., Chai C. // Purification of Laboratory Chemicals, 6th ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 2012.
- Gmeiner P., Feldman P.L., Chu-Moyer M.Y., Rapoport H. // J. Org. Chem. 1990. V. 55. P. 3068–3074. <https://doi.org/10.1021/jo00297a023>
- Benassi R., Folli U., Schenetti L., Taddei F. // Adv. Het. Chem. 1987. V. 41. P. 75–186. [https://doi.org/10.1016/S0065-2725\(08\)60161-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2725(08)60161-0)

**Regiospecific Preparation of a Suitably Protected  $\beta$ -Branched Aspartic Acid Dipeptide**

V. N. Azev<sup>\*, #</sup>, L. K. Baidakova<sup>\*</sup>, A. N. Chulin<sup>\*</sup>, A. B. Tuzikov<sup>\*\*</sup>, P. G. Kislitsyn<sup>\*\*\*</sup>,  
M. V. Molchanov<sup>\*\*\*\*</sup>, and A. I. Miroshnikov<sup>\*\*</sup>

<sup>#</sup> Phone: +7 (496) 773-54-42; e-mail: viatcheslav.azev@bibch.ru

<sup>\*</sup>Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Bioorganic Chemistry Institute, RAS, prosp. Nauki 6, Pushchino, 142290 Russia

<sup>\*\*</sup>Shemyakin-Ovchinnikov Bioorganic Chemistry Institute, RAS, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

<sup>\*\*\*</sup>CHEMRAR Group, ul. Rabochaya 2a-1, Khimki, 141401 Russia

<sup>\*\*\*\*</sup>Institute for Theoretical and Experimental Biophysics, RAS, ul. Institutskaya 3, Pushchino, 142290 Russia

A new efficient synthetic approach for the preparation of  $N_{\alpha}$ -protected  $\beta$ -L-aspartyl-L-aspartic acid dipeptide was elaborated. The distinctive features of the developed approach include utilization of readily available starting materials (Cbz-asparagine and dimethyl aspartate), aspartimide formation suppression employing electrostatic effect in a final deprotection step and an employment of a novel reagent ( $\text{NaNO}_2$ /aqueous trifluoroacetic acid) for transformation of protected asparagine derivative into the corresponding aspartic acid. The developed method allows preparation of aspartic acid derivatives that find application in carbohydrate polivalent interaction studies as well as in preparation of microbicidal dendrimeric constructs.

*Keywords:* aspartimide formation suppression, asparagine side-chain nitrosylation, orthogonal protecting group