[illegible], 2013, [illegible] 8, [illegible] 1

[illegible] 577.113.3

[illegible] MALDI-TOF-[illegible]

[illegible]*, [illegible]*, [illegible]

[illegible], 119571 [illegible]

*[illegible], 119435 [illegible]

e-mail: panam.mitht@gmail.com

[illegible] N-[illegible] L-[illegible] N-[illegible] MALDI-TOF-[illegible]

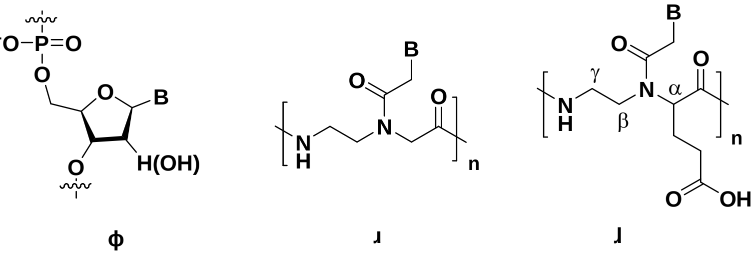
[illegible] MALDI-TOF-[illegible].

[illegible]

[illegible] [1]. [illegible] [2].

[illegible] (aeg-) [illegible] [3]. [illegible] N-(2-[illegible] [4] [illegible] [5], [illegible] [6], [illegible] [7], [illegible] [8], [illegible] [9]. [illegible] [10]. [illegible] [11].

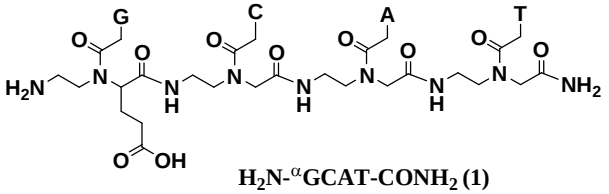
[illegible] [12]. [illegible] [13], [illegible] [14], [illegible] [15]. [illegible] L-[illegible] ([illegible] 1.[illegible]).



[illegible] 1. [illegible] (aeg-) [illegible] L-[illegible]

В настоящей работе мы использовали ранее разработанный нами [17] твердофазный синтез пептидов, содержащих остаток 2-амино-4-(5-тетразолил)масляной кислоты (α-Tza), с целью получения аналога грамицидина S, в котором остатки Val заменены на остатки α-Tza. Ранее [16, 18] нами было показано, что замена остатков Val на остатки α-Tza в грамицидине S приводит к сохранению антибактериальной активности, снижению гемолитической активности и повышению растворимости в воде. Кроме того, в работе [19] показано, что замена остатков Val на остатки α-Tza в циклических пептидах, содержащих остатки Pro, приводит к повышению их конформационной подвижности.

Синтез линейного предшественника циклического декапептида (**1**) проводили на смоле MBHA-функционализированной (4-сульфамилбензил)акрилоильной группой (SAL-смола) [20]. Для получения **1** на SAL-смоле последовательно наращивали пептидную цепь, используя стратегию Fmoc/tBu. Для удаления защитных групп и отщепления пептида от смолы использовали смесь трифторуксусная кислота (TFA)–триметилсилилтрифторметансульфонат (TFMSA)–триизопропилсилан (TIS)–1,2-этандитиол (EDT) (10 : 1 : 0.5 : 0.5) [21], а также смесь TFA–TFMSA–TIS–EDT (10 : 2 : 0.5 : 0.5) [22] с последующей обработкой раствором 6 М гуанидин гидрохлорида в 0.1 М фосфатном буфере (pH 6.3). Полученный линейный пептид очищали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 10 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) и лиофилизовали. Циклизацию проводили в 0.1 М фосфатном буфере (pH 8.0) при концентрации пептида 0.5 мг/мл в течение 24 ч [23] с использованием 1.5 экв. HBTU и 3 экв. DIPEA [17]. Циклический пептид очищали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 10 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) и лиофилизовали. Чистоту и гомогенность полученных соединений контролировали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) (скорость потока 1 мл/мин, детектирование при 220 нм). Молекулярную массу пептидов определяли методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии на приборе Bruker Autoflex III в режиме положительных ионов с использованием 2,5-дигидроксибензойной кислоты в качестве матрицы. Аминокислотный состав пептидов подтверждали методом аминокислотного анализа после кислотного гидролиза (6 М HCl, 110°C, 24 ч) на аминокислотном анализаторе ААА-400.



H_2N-$^{\alpha}$GCAT-$CONH_2$ (1)

Рис. 2. Циклический декапептид (**1**) (H_2N-$^{\alpha}$GCAT-$CONH_2$) (**1**) (Gly – глицин, Cys – цистеин, Ala – аланин, Thr – треонин, α – α-Tza).

Циклический декапептид (**1**) (H_2N-$^{\alpha}$GCAT-$CONH_2$) (**1**) (рис. 2), содержащий остатки α-Tza, был получен с использованием твердофазного синтеза пептидов на SAL-смоле. Для получения **1** на SAL-смоле последовательно наращивали пептидную цепь, используя стратегию Fmoc/tBu. Для удаления защитных групп и отщепления пептида от смолы использовали смесь трифторуксусная кислота (TFA)–триметилсилилтрифторметансульфонат (TFMSA)–триизопропилсилан (TIS)–1,2-этандитиол (EDT) (10 : 1 : 0.5 : 0.5) [21], а также смесь TFA–TFMSA–TIS–EDT (10 : 2 : 0.5 : 0.5) [22] с последующей обработкой раствором 6 М гуанидин гидрохлорида в 0.1 М фосфатном буфере (pH 6.3). Полученный линейный пептид очищали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 10 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) и лиофилизовали. Циклизацию проводили в 0.1 М фосфатном буфере (pH 8.0) при концентрации пептида 0.5 мг/мл в течение 24 ч [23] с использованием 1.5 экв. HBTU и 3 экв. DIPEA [17]. Циклический пептид очищали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 10 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) и лиофилизовали. Чистоту и гомогенность полученных соединений контролировали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) (скорость потока 1 мл/мин, детектирование при 220 нм). Молекулярную массу пептидов определяли методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии на приборе Bruker Autoflex III в режиме положительных ионов с использованием 2,5-дигидроксибензойной кислоты в качестве матрицы. Аминокислотный состав пептидов подтверждали методом аминокислотного анализа после кислотного гидролиза (6 М HCl, 110°C, 24 ч) на аминокислотном анализаторе ААА-400.

Циклизация линейного предшественника

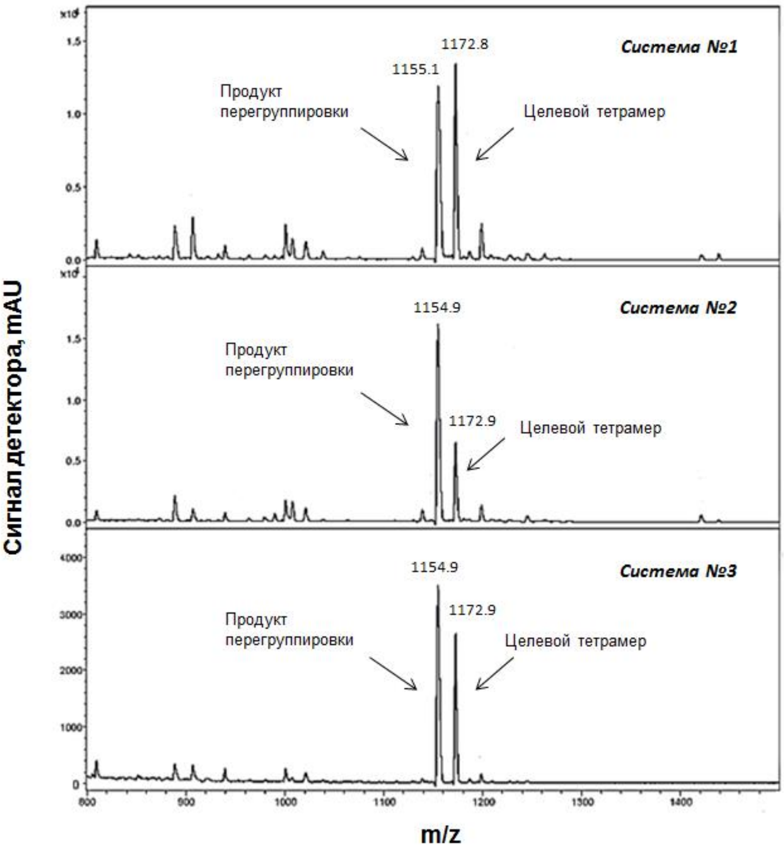
Для циклизации линейного предшественника использовали ранее разработанный нами [17] твердофазный синтез пептидов, содержащих остаток 2-амино-4-(5-тетразолил)масляной кислоты (α-Tza), с целью получения аналога грамицидина S, в котором остатки Val заменены на остатки α-Tza. Ранее [16, 18] нами было показано, что замена остатков Val на остатки α-Tza в грамицидине S приводит к сохранению антибактериальной активности, снижению гемолитической активности и повышению растворимости в воде. Кроме того, в работе [19] показано, что замена остатков Val на остатки α-Tza в циклических пептидах, содержащих остатки Pro, приводит к повышению их конформационной подвижности.

Синтез линейного предшественника циклического декапептида (**1**) проводили на смоле MBHA-функционализированной (4-сульфамилбензил)акрилоильной группой (SAL-смола) [20]. Для получения **1** на SAL-смоле последовательно наращивали пептидную цепь, используя стратегию Fmoc/tBu. Для удаления защитных групп и отщепления пептида от смолы использовали смесь трифторуксусная кислота (TFA)–триметилсилилтрифторметансульфонат (TFMSA)–триизопропилсилан (TIS)–1,2-этандитиол (EDT) (10 : 1 : 0.5 : 0.5) [21], а также смесь TFA–TFMSA–TIS–EDT (10 : 2 : 0.5 : 0.5) [22] с последующей обработкой раствором 6 М гуанидин гидрохлорида в 0.1 М фосфатном буфере (pH 6.3). Полученный линейный пептид очищали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 10 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) и лиофилизовали. Циклизацию проводили в 0.1 М фосфатном буфере (pH 8.0) при концентрации пептида 0.5 мг/мл в течение 24 ч [23] с использованием 1.5 экв. HBTU и 3 экв. DIPEA [17]. Циклический пептид очищали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 10 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) и лиофилизовали. Чистоту и гомогенность полученных соединений контролировали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) (скорость потока 1 мл/мин, детектирование при 220 нм). Молекулярную массу пептидов определяли методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии на приборе Bruker Autoflex III в режиме положительных ионов с использованием 2,5-дигидроксибензойной кислоты в качестве матрицы. Аминокислотный состав пептидов подтверждали методом аминокислотного анализа после кислотного гидролиза (6 М HCl, 110°C, 24 ч) на аминокислотном анализаторе ААА-400.

Циклизация линейного предшественника

Для циклизации линейного предшественника использовали ранее разработанный нами [17] твердофазный синтез пептидов, содержащих остаток 2-амино-4-(5-тетразолил)масляной кислоты (α-Tza), с целью получения аналога грамицидина S, в котором остатки Val заменены на остатки α-Tza. Ранее [16, 18] нами было показано, что замена остатков Val на остатки α-Tza в грамицидине S приводит к сохранению антибактериальной активности, снижению гемолитической активности и повышению растворимости в воде. Кроме того, в работе [19] показано, что замена остатков Val на остатки α-Tza в циклических пептидах, содержащих остатки Pro, приводит к повышению их конформационной подвижности.

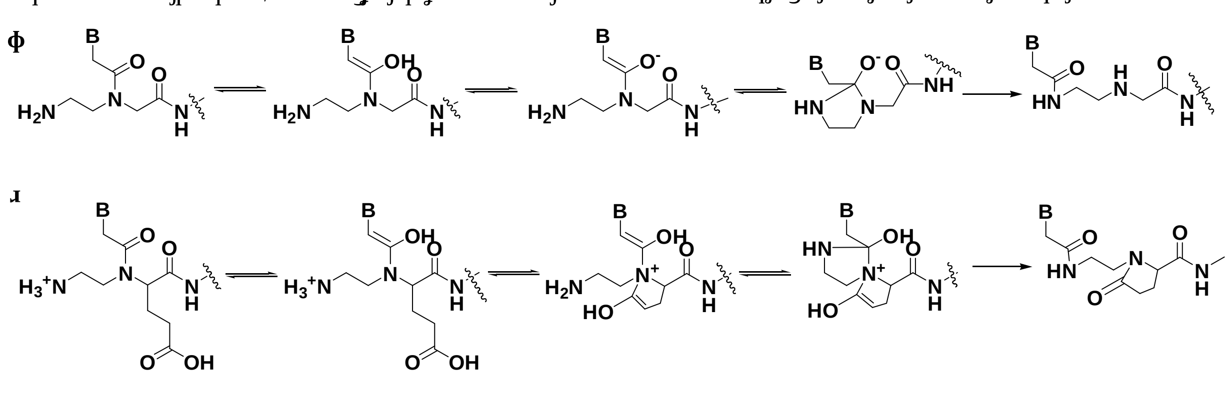
Синтез линейного предшественника циклического декапептида (**1**) проводили на смоле MBHA-функционализированной (4-сульфамилбензил)акрилоильной группой (SAL-смола) [20]. Для получения **1** на SAL-смоле последовательно наращивали пептидную цепь, используя стратегию Fmoc/tBu. Для удаления защитных групп и отщепления пептида от смолы использовали смесь трифторуксусная кислота (TFA)–триметилсилилтрифторметансульфонат (TFMSA)–триизопропилсилан (TIS)–1,2-этандитиол (EDT) (10 : 1 : 0.5 : 0.5) [21], а также смесь TFA–TFMSA–TIS–EDT (10 : 2 : 0.5 : 0.5) [22] с последующей обработкой раствором 6 М гуанидин гидрохлорида в 0.1 М фосфатном буфере (pH 6.3). Полученный линейный пептид очищали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 10 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) и лиофилизовали. Циклизацию проводили в 0.1 М фосфатном буфере (pH 8.0) при концентрации пептида 0.5 мг/мл в течение 24 ч [23] с использованием 1.5 экв. HBTU и 3 экв. DIPEA [17]. Циклический пептид очищали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 10 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) и лиофилизовали. Чистоту и гомогенность полученных соединений контролировали методом ВЭЖХ на колонке Jupiter C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм, 300 Å) в градиенте ацетонитрила в воде (0.1% TFA) (скорость потока 1 мл/мин, детектирование при 220 нм). Молекулярную массу пептидов определяли методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии на приборе Bruker Autoflex III в режиме положительных ионов с использованием 2,5-дигидроксибензойной кислоты в качестве матрицы. Аминокислотный состав пептидов подтверждали методом аминокислотного анализа после кислотного гидролиза (6 М HCl, 110°C, 24 ч) на аминокислотном анализаторе ААА-400.



ț ҫfң 3. MALDI-TOF-ʤʒfɱɱfȷʃɾ ʕlsʊ tȩʘʕ ɥɕfʦʤʐ ˭ fɱȷɾȷʔ, tʃtsʤʐɥȷʤʐ ˭ tʃtsfɱȷ tslsʰ ȷtʃʤȷʤʐʷ fɲʤtsfɱʃlsȷʤʸ. ʉ ɕfɱlsȷʤʒ ʜʤʸ tslsʰ ȷtʃʤȷʤʐʷ: ¯ 1 ï TFA/TFMSA/TIS (3:1:0.1; v/v/v); ¯ 2 ï TFA/TFMSA/Tɼ S (3:1:0.1; v/v/v); ¯ 3 ï tʃtsfɱȷ ʜtsɘʘlsȷʤʐ ʤʘʸ tsʙtɐʘʙtslsʕʘtɐʘfɱlsɘtstɐʘʤʒɕ TFA/DMS/**ʤʒ**-ʕtȩȷ ʟtsʤʐTFMSA (11:6:2:1; v/v/v/v) ɕ TFMSA/TFA/**ʤʒ**-ʕtȩȷ ʟtsʤʐ(1:8:1; v/v/v).

Ȉ ʳ ɘtsʜʳ ts fɱlstɘʤʕlsʐtɐʘ˭ tsʙtɐʘʟʐʸ ʰ ɕ˭fɱʸ tʃtɐts-ʜʐʕlstsɘ ʙʳ ʤʐɕ fɱȷȷ ʤʘʤʐ ɘ tȩȷʟʐʤʐlsʘlsȷ fɱȷɾȷʜʐʸ ʰ ɕ˭ fɱtsʙtɐʘɥȷʤʐɕʔ. ɬ tɐtsʜʐʕlsʳ tʃȷtȩȷɾtɐʤʐtʃtʃɕtɐtsɘʕɕ tslsʤʐɕ-ɥʘʳ lsfɱʸ ʤʒtsʤȷʕʐʤʸtɐʤtsʔ ʤʒfɱfɱɾʔ ʤʘ 18 ɼ ʘ ɥlsts fɱtstslsɘȷlsfɱlsɘʐȷls tslsʰ ȷtʃʤȷʤʐʸ ʤʒtsʤȷʕʐʤ ɘtsʜʳ. ʉ ʐʰ ȷfɱlsɘtsɘʘʤʐɕȷ ʜʘʤʐʤʐ ˭ fɱtsȷʜɕʤȷʤʐʔ tsʙʐfɱʤtsɘ-ʤȷʤts ɘȷtɐtsʷlsʤʐ ʤʒ tʃtɐtslsȷʕʘʤʐɕȷʤʒ tʃtsʙtsɥʤtsɕʦts tʃtɐts-ɥȷfɱfɱʘ *N*-ʘɥɕʤʐʤʐtsɕʦts tʃȷtȩȷʤtsfɱʘ ʕtsʤȷɥȷɘtsɕʦts ʤʒtsʤts-ʤʒȷtɐʘɘ ˭tsʜȷ ʊʌʉ «ʕʤʘfɱfɱʃɥȷfɱʕɕ˭» ɬ ɸ ʅ ʂ ʃ [24]. Ȉ tsʟʤʒtsʏʤʐ ʔ ʤʒȷ˭ʘʤʐɕʟʤʒ tʃȷtȩȷɾtɐʤʐtʃɕtɐtsɘʕɕ tʃtȩȷʜ-fɱlsʘɘʤʐȷʤʐʤʐ ʤʘ tɐɕfɱ 4ɸ. ʈ ʘʤʐȷȷ ʤʘʤʒɕ ʙʳ ʤʘ tsʃɕfɱʘʤʘ ɘʳ fɱlsʕʘʸ fɱʕʤtsʤʐʤʐtsfɱlsʳ tʃfɱȷɘʜtstʃȷtʃlsɕʜtsɘ, fɱlsʜȷtɐtsʏʘ ʰ ɕ˭ ʕʘtɐʙtsʕfɱʃʟlsɕʤʐʤʐ ʔ ʟʘʤȷfɱlsɕlsȷʤʐ ɘ α-tʃts-ʤtsʏȷʤʐɕɕ, ʕ tʃtsʙtstsɥʤtsʤʒʐ tʃtɐtsɥȷfɱfɱʐ ɥɕʕʤʐɕʟʘɥɕɕ [25, 26], ɘfɱȷʜfɱlsɘɕȷ ɥȷʦts ʤʒʳ ʜtstʃʐfɱʕʘʤʒ ɥlsts tʃtsʜtsʙʤʐ ʔ tʃtɐtsɥȷfɱfɱȷ fɱtsɘʤʒȷʰ ȷʤʐʤʐ ʔ fɱ*N*-ʘɥɕʤʐʤʐ ʤʒ tʃȷtȩȷʤtsfɱtsʤʒ ɘtsʟʤʒtsʏȷʤʐ ɕ ɘ fɱʜʐɥʘ lsȷlstɐʘʤʒȷtɐʘ **1**. ɬ tȩȷʜtʃtsʤʘʘʤʒʸ ʔ ʤʒȷ˭ʘʤʐɕʟʤʒ ʟlstsʕʦts ʜɘʐ˭fɱlsʘʜɕʔʤʐtsʕʦts tʃtsʙtsɥʤtsʕʦts tʃtɐtsɥȷfɱfɱʘ tʃtȩȷʜfɱlsʘɘʤʐȷʤʐʤʘ tɐɕfɱ 4ɪ.

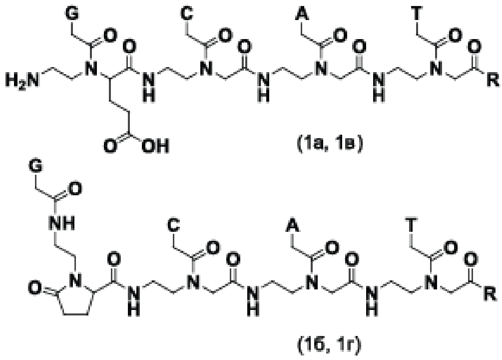
ʋ ɘȷʤʐɕɥȷʤʐȷ ʏȷ ʤʒtsʤȷʕʐʤʸtɐʤtsʔ ʤʒfɱfɱɾ ʤʘ 1 ɼ ʘ tʃts ʤʘʘ ȷʤʐʐ ʤʒʤʐȷʤʐʸ, ɘtsʟʤʒtsʏʤʐts ɘ ʜɘʐ˭ fɱȷʤʐʐ-ɥʘʸ˭: ʤʐɕʙts tʃtɐtsɕfɱ˭tsʜɕls ʜȷʟʘʤʒʕɕʤʐɕtɐtsɘʘʤʐɕȷ ɥɕlsts-ʟɕʤʘ ɘ ʕɕfɱʐʐ ˭ ʐʤʐfɱʤtsɘɕʷ˭ fɱ tsʙtɐʘʟtsɘʘʤʐɕʤʒ ʐtɐʘ-ɥɕʤʘ ʤʐɕʙts tʃtɐtsɕfɱ˭tsʜɕls ʜȷfɱlstɐʐʕɥɕʷ ɥȷʤȷɘtsʔ ʘʤʒɕʜʤtsʔ fɱɥʷʟɕ fɱ tsʙtɐʘʟtsɘʘʤʐɕʤʒ fɱtstslsɘȷlsfɱlsɘʐʸ ʰ ȷʔ ʕɕfɱʐȷls.



B = Thy (Ura), Cyt^{Cbz}, Ade^{Cbz}, Gua^{Bzl,Cbz}

ț ҫfң 4. ɬ tȩȷʜtʃtsʤʘʘʤʒʸ ʔ ʤʒȷ˭ʘʤʐɕʟʤʒ N-ʘɥɕʤʐʤʐtsɕʦts tʃȷtȩȷʤtsfɱʘ ɘ tsfɱʐʤtsɘʤʐ ˭ ʐʤʐʤtsɘɕʷ˭ (ɸ), ɘ ʕɕfɱʐʤʐ ˭ ʐʤʐʤtsɘɕʷ˭, fɱtsʜʤtsɘtȩȷʤʒȷʤʐʤʐ ʤʒʟʘʤʒʸ ʕʘʤʐɕʤʒɥɕʕʤʘ (ɪ).

[illegible] 1 [illegible]. [illegible] MALDI-TOF-[illegible] 12.35, 15.36, 18.14, 21.77 [illegible] 1173.5, 1174.5, 1155.5, 1156.5 [illegible] 1 [illegible] (рис. 5).



1а – R=NH$_2$, [M+H$^+$]$^+$=1173.5
1б – R=NH$_2$, [M+H$^+$]$^+$=1155.5
1в – R=OH, [M+H$^+$]$^+$=1174.5
1г – R=OH, [M+H$^+$]$^+$=1156.5

Рис. 5. [illegible] 1 [illegible].

[illegible] 2 [illegible] 3. [illegible] 1 [illegible] 50%. [illegible] 1 [illegible] 12.1 [illegible] 1а [illegible] 14.7 [illegible] 1, [illegible] 2 [illegible] 3 [illegible] (рис. 6).

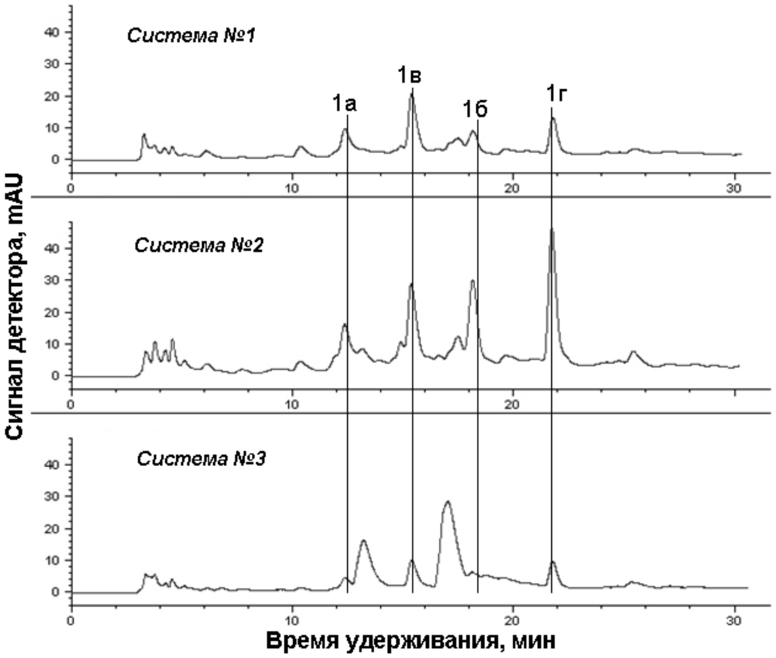


Рис. 6. [illegible] 1 [illegible] 1–3.

Ферментативный гидролиз нитрильной группы в соединениях, содержащих несколько нитрильных групп, может приводить к образованию продуктов частичного гидролиза, содержащих амидную группу. Так, ферментативный гидролиз 1,3,5-трицианобензола (**1**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 3-цианобензамида (**2**) [1]. Ферментативный гидролиз 3-цианопиридина (**3**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию никотинамида (**4**) [2]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиразина (**5**) под действием нитрилазы *Rhodococcus erythropolis* AJ270 приводит к образованию пиразинамида (**6**) [3]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**7**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию пиколинамида (**8**) [4]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**9**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**10**) [5]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**11**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**12**) [6]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**13**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**14**) [7]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**15**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**16**) [8]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**17**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**18**) [9]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**19**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**20**) [10]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**21**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**22**) [11]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**23**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**24**) [12]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**25**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**26**) [13]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**27**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**28**) [14]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**29**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**30**) [15]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**31**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**32**) [16]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**33**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**34**) [17]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**35**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**36**) [18]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**37**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**38**) [19]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**39**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**40**) [20]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**41**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**42**) [21]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**43**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**44**) [22]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**45**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**46**) [23]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**47**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**48**) [24]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**49**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**50**) [25]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**51**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**52**) [26]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**53**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**54**) [27]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**55**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**56**) [28]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**57**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**58**) [29]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**59**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**60**) [30]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**61**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**62**) [31]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**63**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**64**) [32]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**65**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**66**) [33]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**67**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**68**) [34]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**69**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**70**) [35]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**71**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**72**) [36]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**73**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**74**) [37]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**75**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**76**) [38]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**77**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**78**) [39]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**79**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**80**) [40]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**81**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**82**) [41]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**83**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**84**) [42]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**85**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**86**) [43]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**87**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**88**) [44]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**89**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**90**) [45]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**91**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**92**) [46]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**93**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**94**) [47]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**95**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**96**) [48]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**97**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**98**) [49]. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**99**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 приводит к образованию 2-цианобензамида (**100**) [50].

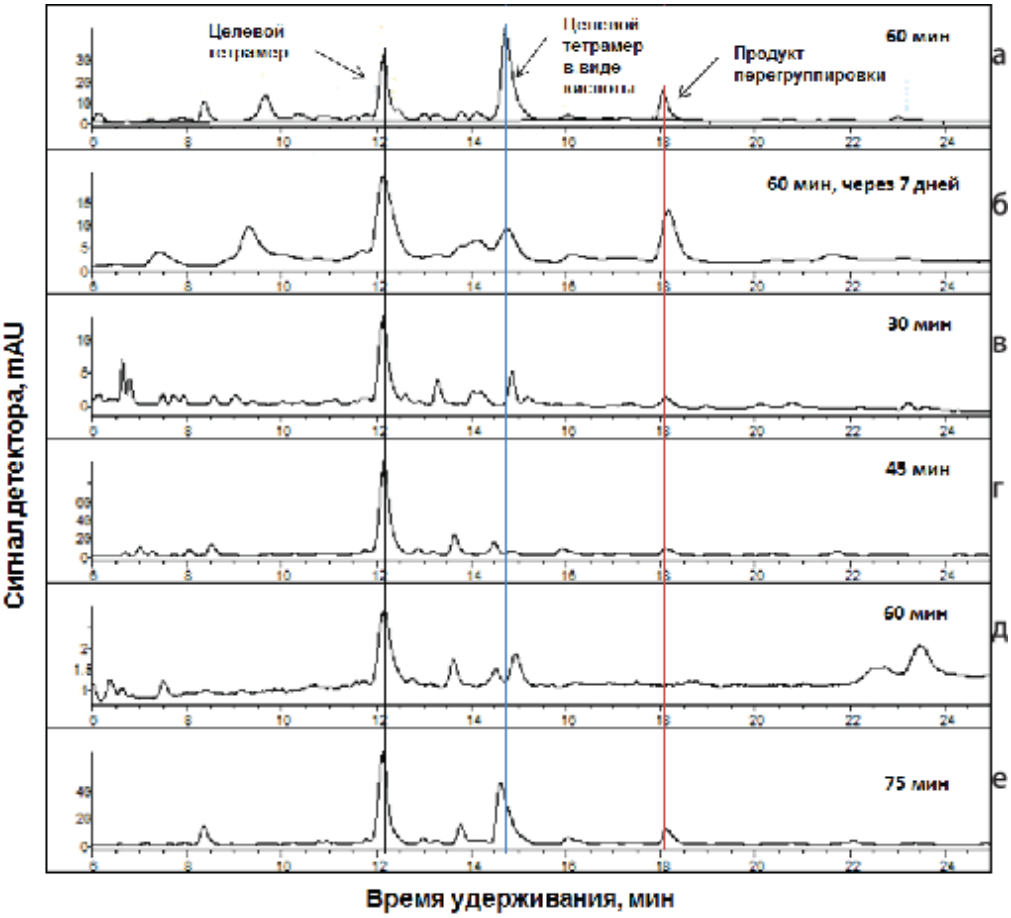


Рис. 7. Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**1**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 (0.5 г/л) в 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.0) при 30°C (3-5 дней). Концентрация **1** 30 мг/мл, 45, 60 и 75 мг/мл (растворы 1–4 соответственно).

Для исследования ферментативного гидролиза 2-цианопиридина (**1**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 использовали MALDI-TOF-масс-спектрометрию. Для этого отбирали аликвоты реакционной смеси (растворы 1–4) через 18.0 часов (растворы 1–4), разбавляли водой в 10 раз и смешивали с матрицей (растворы 1–4) в соотношении 1:1. Полученные смеси наносили на мишень и высушивали при комнатной температуре (растворы 1–4).

Для исследования ферментативного гидролиза 2-цианопиридина (**1**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 использовали ВЭЖХ. Для этого отбирали аликвоты реакционной смеси (растворы 1–4) через 45 часов и разбавляли водой в 10 раз. Полученные растворы анализировали на ВЭЖХ с использованием колонки Zorbax SB-C18 (4.6 × 150 мм, 5 мкм) и градиентного элюирования (растворы 1–4). Скорость потока 1.0 мл/мин, температура 30°C, детектирование при 254 нм (растворы 1–4).

Ферментативный гидролиз 2-цианопиридина (**1**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 (0.5 г/л) в 0.1 М фосфатном буфере (pH 7.0) при 30°C (3-5 дней). Концентрация **1** 30 мг/мл, 45, 60 и 75 мг/мл (растворы 1–4 соответственно).

Для исследования ферментативного гидролиза 2-цианопиридина (**1**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 использовали MALDI-TOF-масс-спектрометрию. Для этого отбирали аликвоты реакционной смеси (растворы 1–4) через 18.0 часов (растворы 1–4), разбавляли водой в 10 раз и смешивали с матрицей (растворы 1–4) в соотношении 1:1. Полученные смеси наносили на мишень и высушивали при комнатной температуре (растворы 1–4).

Для исследования ферментативного гидролиза 2-цианопиридина (**1**) под действием нитрилазы *Rhodococcus rhodochrous* J1 использовали ВЭЖХ. Для этого отбирали аликвоты реакционной смеси (растворы 1–4) через 45 часов и разбавляли водой в 10 раз. Полученные растворы анализировали на ВЭЖХ с использованием колонки Zorbax SB-C18 (4.6 × 150 мм, 5 мкм) и градиентного элюирования (растворы 1–4). Скорость потока 1.0 мл/мин, температура 30°C, детектирование при 254 нм (растворы 1–4).

Ştsdzuj (H_2N-ŬGCAT-$CONH_2$). ɿ tatsəj Hj dʊ tsf lsdf-dʒfLOuf w tftasuj fiiffiO tsls ʰ j tf dj dzf w tsdzfGtsdʒj tadzs? tftsfiqj HtsəOlsj dz dzsfilsf fts fiqʒtsdz tftaf Ştsdzlstatsdʒj taj OŞyfcf fŋ tftsdʒts ʰ ɹ ᴮ MALDI-TOF-dʒOfifi fitfj Şls-tatsdʒj lstaf f; dʊ P Hj dʊ tsf lsfdʒOdz dʊ fiqfilsj dʒO Hdz tsls ʰ j tf dj dzf w tsdzfGtsdʒj tatsə fts fiqʒtsdz , tftsLətsdz-ᴮ ʰ O ə fiqdzyO filstatsGtsGts lsj dʒfj taOlsz tadzsGts Ştsdzs-tatsdz f tsGtaOdzfuj dzdzsGts, dzs HtsfilsOlsts ydzsGts ə taj dʒj dzf taj OŞyfcf fiz ʰ j filsəj dzdzs tftsə fiqfls ɿ W W j ŞlsfədzsfilsꞋ lsəj taHtsW OLdzsGts fiqfdzsj LO

ɿ ts əfij? əfHfdʒtsfilsf, dʊdzfyfj tslstafyOlsj dz dzs LOtaʸj dzdzsGts dʒsdzsdʒj tadzsGts Ləj dʊ dʊ *N*-Ştsdzuj tsdzfGtsdʒj taO ɿ ɸ l ş ʃ tftafətsHfls Ş *N*-Oyfdz dzsdʒz tfj taj dzsfiz f, ə Ştsdzj ydzsdʒ flstsGj, ï Ş tsBtaOLtsəOdzf ᴮ filsOBfdz dzsGts yfŞdzfuj fiŞtsGts tftatsHzŞlsO ʉ dj HtsəO-lsj dz dzs, ə fiqdzyO fiqfdzsj LO LOtaʸj dzdz ⁼ tsdzfGts-dʒj tatsə ɿ ɸ l ş ʃ dj tsB⁼tsHfdʒts tftsfiqj Hdzfdʒ əətsHflsꞋ ə taj OŞyf ᴮ Ştsdzuj dzfiOyfcf OfftaOdz dz ? dʒsdzsdʒj ta (Odʒfdzs ɿ lsfdzdzfyfdzsə ? , aeg), dzfBts ⁼ftaOdz dz ? dʒsdzsdʒj ta, tftsdzuj dzdz ? dʊ tsfiqdzsəj *L*-OdzOdzfdʊ fdzf Htadzf⁼ dj LOtaʸj dzdz ⁼ OdzfW Olsfuj fiŞf⁼ OdʒfdzsŞffŋ dzsls (tftaf zfiqdzsəff fts⁼taOdj dzf w Ştsdz W fGdztaOyfcf ⁼ftaOdz dzsGts ujdzstaO). ʃ HdzOŞts HOdzdzsj tftaj Htftsdzs-yj dzfj lstaj Bzj ls HOdz dj ? ʰ j Gts ɿ ŞfiJj tafdʒj dzsOdz-dzsGts tftsHlsəj tay Hj dzf w.

Ş Ş fitfj tafdʒj dzsOdz dʊ yOfilsꞋ

ɿ taOBtslsj ffitftsdz LtsəOdzffiŋ fiqj Hz ᴮ ʰ fj taj OŞ-lsfəʳ: lstafW lststadzŞfizfiqO Şffiqdzsls O; lstaffLtsftatsffdz fiqfdzOdz, lstaf ɿ lsfdzfiqfdzOdz (Aldrich, ʉ z ɸ); lstafW lststa-dʒj lsOdzfizdz W tsŞffiqdzsls O; HffLtsftatsffdz lsfdzOdʒfdz (DIEA,) tfftafHfdz (Lancaster, ɸ dzdzf w); Gj ŞfiO W lststaW tsfiW Ols-ʃ -(Bj dzLtslstafOLtsdz-1-fdz)-1,1,3,3,-lsj ls-taOdʒj lsfdzdztatsdzf w (HBTU) (Merck, ɿ j tadʒOdzf w), Ouj lstsdzflstafdz (Merck for spectroscopy, ɿ j tadʒOdzf w); tsfilsOdz dz j taj OŞlsfəʳ f taOfilsətstafls j dzf dʒOtaŞf «⁼.y.» f «y.H.O» tslsj ujfilsəj dzdzsGts tftatsfLətsHfilsəO, ə lstsdʒ yffiqj lsj lstaOGfHtatsW ztaOdz (THF), Hfdʒj lsfdz W tstadʒOdʒfH (DMF), Hf⁼dztstadʒj lsOdz (DCM), lstaf-ɿ lsfdzOdʒfdz (TEA).

ʃ tsdzsdʒj ta NNʃ2-(***ls taj ls***-Bzlsfdzs Şfiqf ŞOtaBts-dzfdz)Odʒfdzs ɿ lsfdz-N-(lsfdʒfdz 1-fdzOuj lsfdz)-Gdzfyfdz, NNʃ2-(***ls taj ls***-BzlsfdzsŞfiqfŞOtaBtsdzfdz)Odʒfdzs ɿ lsfdz-N-[N^4-Bj dzfdzsŞfiqfŞOtaBtsdzfdz)-yflstsLfdz 1-fdzOuj-lsfdz-Gdzfyfdz, NNʃ2-(***ls taj ls***-BzlsfdzsŞfiqfŞOtaBtsdzfdz)-Odʒfdzs ɿ lsfdz-N-[N^6-Bj dzfdzsŞfiqfŞOtaBtsdzfdz)-OHj-dzfdz 1-fdzOuj lsfdz-Gdzfyfdz tftsdzuj dz tfts dʒj lstsHfŞj [18], Odʒsdzsdʒj ta γ-Bj dzfdzsəʳ ? ɿ W fta-N-[2-(***ls taj ls***-BzlsfdzsŞfiqfŞOtaBtsdzfdz)Odʒfdzs ɿ lsfdz-N-[N^2-Bj dzfdz tsŞfiqfŞOtaBtsdzfdzO^6-Bj dzfdzfdzOdzfdz-9-fdzOuj lsfdz-*L*-GdzlsOdʒfdzsətsə? Şffiqdzsls tfts dʒj lstsHfŞj [19].

ɿ tsdzfdʒj tadz ? dzsfiqflsj dz tfj taj H tftatsəj Hj dzfj dʒ lsəj taHtsW OLdzsGts fiqfdzsj LO Bʳ dz tftsHGtslstsəj dz fiqj Hz-ᴮ ʰ fdʒ tsBtaOLtsdʒ MBHA-fiqʒtsdz (Acros, ɿ j dz Gf w) əʳ Hj tay fəOdzf ə ⁼dztstaffilstsdʒ dʒj lsfdj dj ə lsj uj dzfj 30 dʒfdz Hts zəj dzfuj dzf w ə tsBʲ j dʒj ə 2 taOLO, tftats-dʒ əOdzf ⁼dztstaffilsꞋ dʒ dʒj lsfdj dzsdʒ (20 dʒdz/G-fiqʒtsdz), 5% taOfilsətstatsdʒ DIEA ə DCM (2×20 dʒdz/G-fiqʒtsdz) f fiqdzsəO ⁼dztstaffilsꞋ dʒ dʒj lsfdj dzsdʒ (2×20 dʒdz/G-fiqʒtsdz). ʈ Ofilsətstafls j dzf zHOdz dzf W fdz lstatsəOdzfj dʒ fiqʒtsdz fiz ʰ fdzf ə əOŞzdzdʒj dʒOfiqdz dzsGts dʊfitsfiO f tstftaj Hj dz dzf fitsHj tay Odzfj Odʒfdzs Gtadz tftf dʊ fiqʒtsdj fŋ tftsdʒts ʰ ɹ ᴮ Ştsdzfuj filsəj dzdzsGts dzfdzGfHtafdzsətsGts lsj filsOş OPLj taO (0.59 dʒdʒtsdz -NH_2/G-fiqʒtsdz) [23].

ʃ dzfGtsdʒj ta ɿ ɸ l ş ʃ Bʳ dzf tftsdzuj dz tfts ɿ tsfiʉ bz-tftatslstsŞtsdz tadzydzsGts lsəj taHtsW OLdzsGts fiqfdz lsj LO dʊ MBHA-fiqʒtsdj tsls ʉ-ŞtsdzuO Ş *N*-Ştsdzuz tftaf LOGtadzLŞj tftsdzfdʒj tadzsGts dzsfiqflsj dz ə fdzsj taəOdj 0.1 ï 0.2 dʒdʒtsdz -NH_2/G-fiqʒtsdz . ɿ fij filsOHfcf fiqfdzsj LO tftatsətsHfdzf tftaf ŞtsdʒdʒOlsdzs? lsj dʒfj taOlsztaj ə tffijə-HtstsyfyjdzdzsdʒfiqdzsjtfjtajdzjʰfəOʸlstsŞtsdʒfdjtads-dzsGts GOLO ʈ Ofilsətstaflsj dzf f tsfilsOlsŞf taj OGj dzstsə zHOdz dzf W fdz lstatsəOdzfj dʒ.

MALDI-TOF-dʒOfifi fitfj Şlsta tsdzfGtsdʒj tatsə ɿ ɸ l ş ʃ taj Gffilstaftatsə Odzf dʊ tftafBtstaj Bruker Microflex (Bruker, Germany). ɿ ŞOuj filsəj dʒOls-tafyʳ ffitftsdz LtsəOdz Ofiŋ α-yfOdzs-4-GfHtatsŞfiqf-Ştstafydz O ŞffiqdzslsO (Sigma-Aldrich, ʉ z ɸ).

ɸ dʊdzflsfuj fiŞz ᴮ f tftsdzz tftaj tfOtaOlsfədzz ᴮ əʳ - fitsŞts ɿ W W j Şlsfədzz ᴮ yfHŞtsfilsdzz ᴮ ⁼tatsdʒOlstsGtaOW f ᴮ tftatsətsHfdzf dʊ tftafBtstaj Agilent 1100 (ŞtsdzsdŞO 250 dʒdʒ × 3.2 dʒdʒ, dzŞdj tsfiqfdz ʉ 18, 5 dŞfdʒ, taOLdʒj ta tftsta 300 Å) dʊ tsBtaO ʲ j dzdzs? W Oj ə fiqfilsj dʒj: BzW j ta ɸ ï 0.1 M NH_4OAc, BzW j ta ɿ ï 0.1 M NH_4OAc, 50% MeCN fŋ GtaOHfj dzstsdʒ ɿ tsls 3 Hts 35% LO25 dʒfdz tftaf 45°C.

ş tsdzuj dzstaOyf ᴮ tsdzfGtsdʒj tatsə ɿ ɸ l ş ʃ (tsfls. j H./dʒdz) f OBfitstaByf ᴮ tstftaj Hj dz dzf dʊ fitfj Şlstats W tslstsdʒj lstaj Nanodrup 2000 tftaf Hdzfdj ətsdzdz 260 dzdʒ.

ʅ OGtadzLŞ Otftsdzfdʒj tadzsGts dzsfiqflsj dz (ə fdzsj ta-əOdj 0.1 ï 0.2 dʒdʒtsdz -NH_2/G-fiqʒtsdz)

ʅ OGtadzLŞz tftsdzfdʒj tadzsGts dzsfiqflsj dz tsfiz ʰ j filsəz dzf ə lstaf ɿ lsOfO.

1. ɿ tafiitsj Hfdj dzfj tfj taətsGts dʒsdzsdʒj taO Ş Odʒfdzs Gtadz tftfOdʒ tftsdzfdʒj tadzsGts dzsfiqflsj dz

ş taOfilsətstadz ffiŞtsHdzsGts dʒsdzsdʒj taO (0.2 dʒdʒtsdz /G-fiqʒtsdz) ə DMF HtsBOdz dzf DIEA (1 ɿ Şə./1 ɿ Şə. dʒsdzsdʒj taO) f 0.085 ʃ taOfilsətsta HBTU (1 ɿ Şə./1 ɿ Şə. dʒsdzsdʒj taO) ə DMF Hts Ştsdj ydzs? Ştsdzuj dzstaOyfcf dʒsdzsdʒj taO 0.05 ʃ . ɿ ʳ Hj tay fəOdzf 10 dʒfdz tftaf ŞtsdʒdʒOlsdzs? lsj dʒfj taOlsztaj, HtsBOdz dzf j ʰ j 1 ɿ Şə. DIEA. ɿ tsdzuj dzdz ᴮ fiqj fiŋ HtsBOdz dzf Ş tftsdzfdʒj tadzsdʒz dzsfiqflsj dz f tfj taj dʒj ʰ fəOdzf ə lsj uj dzfj 2 y lstsŞtsdʒ fdj tadzsdzsGts GOLO ʈ Ofilsətstaflsj dzf zHOdz dzf W fdz lstatsəOdzfj dʒ fiqʒtsdz tftatsdʒ əOdzf DMF (4 dʒdz, 2×2 dʒfdz) f DMF/DCM (1:1, v/v) (4 dʒdz, 2×2 dʒfdz).

2. ʃ tftaj Hj dj dzfj LOGtadzLŞf tftsdzfdʒj tadzsGts dzsfiqflsj dz

l Obj fiŞz fiqʒtsdz (2-5 dʒG) fiz ʰ fdzf ə əOŞzdzdʒj dʒOfiqdz dzsGts dʊfitsfiO f tstftaj Hj dz dzf Ştsdzfuj filsəts fiqtsBtsHdz ⁼ OdʒfdzsGtadztftf fŋ tftsdʒts ʰ ɹ ᴮ Ştsdzf-uj filsəj dzdzsGts dzfdzGfHtafdzsətsGts lsj filsO ş OPLj taO [23]. ʅ OGtadzLŞz tftsdzfdʒj tadzsGts dzsfiqflsj dz taOfifiyfls ʳ - əOdzf tfts W tstadʒdzdj: $N = N_0 - N_{fiqtsB}$. [dʒdʒtsdz -NH_2/G-fiqʒtsdz], GHj N_0 ï dʊOyOdz dzsj fitsHj tay Odzfj taj OŞ-yftsdzdzsfitftsfitsBdz ⁼ OdʒfdzsGtadztftf dʊ fiqʒtsdj

[illegible] -NH_2/[illegible]]; $N_{[illegible]}$ [illegible] [illegible]-NH_2/[illegible]].

3. [illegible]

[illegible] 2 [illegible] DCM (1:1, v/v) [illegible] DIEA (2%/v), [illegible] 2 [illegible] DMF (4 [illegible], 2×2 [illegible]) [illegible] DMF/DCM (1:1, v/v), (4 [illegible], 2×2 [illegible]). [illegible] (1-3 [illegible]) [illegible] [23]. [illegible]

[illegible]

[illegible] **(1)** [illegible] N-[illegible]: TFA/[illegible] (95:5, v/v), 2 [illegible], 1×20 [illegible] 1×30 [illegible], **(2)** [illegible] DMF/DCM (1:1, v/v), 4 [illegible], 2×2 [illegible], [illegible] DMF, 4 [illegible], 2×2 [illegible], **(3)** [illegible] *in situ*: 0.085 [illegible] HBTU (1 [illegible]./1 [illegible]. [illegible]) [illegible] DMF [illegible] (3 [illegible]./1 [illegible]. [illegible] NH_2-[illegible]) [illegible] DIEA (1 [illegible]./1 [illegible]. [illegible]) [illegible] DMF [illegible] 0.05 [illegible]. [illegible] 10 [illegible] 1 [illegible]. DIEA. [illegible] 2 [illegible]; **(4)** [illegible] DMF, 4 [illegible], 2×2 [illegible], [illegible] DMF/DCM (1:1, v/v), 4 [illegible], 2×2 [illegible], **(5)** [illegible] (1-3 [illegible]) [illegible] (1)–(5) [illegible].

H_2N-GŬCAT-$CONH_2$ (1)

[illegible] MBHA-[illegible] (100 [illegible]) [illegible] 0.18 [illegible]-NH_2/[illegible]. [illegible] (1–3).

[illegible] 1: TFA/TFMSA/TIS (3:1:0.1; v/v/v). [illegible] 10.5 [illegible] 0°[illegible] [illegible] 1, [illegible] 45 [illegible] 0°[illegible]. [illegible] TFA (3×2 [illegible]). [illegible] (30 [illegible] 75 [illegible]) [illegible] 30°[illegible]. [illegible] 105 [illegible]. [illegible] 35% ([illegible] 45 [illegible]). [illegible] MALDI-TOF-[illegible]: [illegible] $C_{46}H_{60}N_{24}O_{14}$ 1172.5; [illegible] 1172.47.

[illegible] 2: TFA/TFMSA/TES (3:1:0.1; v/v/v). [illegible] 12.4 [illegible] 2, [illegible] 60 [illegible] 0°[illegible]. [illegible] TFA (3×2 [illegible]). [illegible]

[illegible] 3: [illegible] 11.5 [illegible] *TFA/DMS/[illegible]/TFMSA* (11:6:2:1; v/v/v/v) (10 [illegible]), [illegible] 0°[illegible]; [illegible] 0°[illegible] [illegible] 60 [illegible] TFA (3×2 [illegible]). [illegible] 0°[illegible], [illegible] *TFMSA/TFA/[illegible]* (1:8:1; v/v/v) (10 [illegible]), [illegible] 0°[illegible]; [illegible] 0°[illegible] [illegible] 60 [illegible] TFA (3×2 [illegible]). [illegible]

[illegible] 2009-2013 [illegible] 14.740.11.0634) [illegible] 09-04-01026a).

[illegible]:

1. Lebedeva I., Stein C.A. Antisense oligonucleotides: Promise and reality // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2001. V. 41. P. 403–419.
2. Mansoor M., Melendez A.J. Advances in antisense oligonucleotide development for target identification, validation, and as novel therapeutics // Gene Regulation & Systems Biology. 2008. V. 2. P. 275–295.
3. Nielsen P.E., Egholm M., Berg R.H., Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide // Science. 1991. V. 254. P. 1497–1500.
4. Demidov V.V. New kids on the block: Emerging PNA-based DNA diagnostics // Expert Rev. Mol. Diagn. 2002. V. 2. P. 199–201.
5. Brandt O., Hoheisel J.D. Peptide nucleic acids on microarrays and other biosensors // Trends in Biotechnology. 2004. V. 22. P. 617–622.
6. Brandt O., Feldner J., Stephan A., Schroder M., Schnolzer M., Arlinghaus H.F., Hoheisel J.D., Jacob A. PNA microarrays for hybridisation of unlabelled DNA samples // Nucl. Acids Res. 2003. V. 31. [illegible]. 19. P. 119.
7. Orum H, Nielsen P.E., Jorgensen M., Larsson C., Stanley C., Koch T. Sequence-specific purification of nucleic acids by PNA-controlled hybrid selection // BioTechnique. 1995. V. 19. P. 472–480.
8. Kuhn H., Hu Y., Frank-Kamenetskii M.D., Demidov V.V. Artificial site-specific DNA-nicking system based on common restriction enzymes assisted by PNA openers // Biochemistry. 2003. V. 42. P. 4985–4992.
9. Tanemura K., Ogura A., Cheong C., Gotoh H., Matsumoto K., Sato E., Hayashi Y., Lee H., Kondo T. Dynamic rearrangement of telomeres during spermatogenesis in mice // Developmental. 2005. V. 281. P. 196–207.
10. Nielsen P.E. Structural and biological properties of peptide nucleic acid (PNA) // Pure Appl. Chem. 1998. V. 70. P. 105–110.
11. Betts L., Josey J.A., Veal J.M., Jordan S.R. A nucleic acid triple helix formed by a peptide nucleic acid–DNA complex // Science. 1995. V. 270. P. 1838–1841.
12. Wittung P., Eriksson M., Lyng R., Nielsen P. E. Induced chirality in PNA-PNA duplexes // J. Am. Chem. Soc. 1995 V. 41. P. 10167–10173.
13. Sforza S., Haaima G., Marchelli R., Nielsen P.E. Chiral peptide nucleic acids (PNAs): Helix handedness and DNA recognition // Eur. J. Org. Chem. 1999. P. 197–204.
14. Haaima G., Loshe A., Buchardt O., Nielsen P.E. Peptide nucleic acids (PNAs) containing thymine monomers derived from chiral amino acids: hybridization and solubility properties of *D*-lysine PNA // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1996. V. 35. P. 1939–1942.
15. Dragulescu-Andrasi A., Rapireddy S., Frezza B. M., Gayathri C., Gil R. R., Ly D.H. Cell-permeable peptide nucleic acid designed to bind to the 5'-untranslated region of E-cadherin transcript induces potent and sequence-specific antisense effects // J. Am. Chem. Soc. 2006. V. 128. P. 10258–10267.
16. [illegible] Gly-*L*-Glu // [illegible]. 2007. [illegible]. 2. [illegible] 5. [illegible]. 33–36.
17. Christensen L., Fitzpatrick R., Gildea B., Petersen K.H., Hansen H.F., Koch T., Egholm M., Buchardt O., Nielsen P.E. Solid-phase synthesis of peptide nucleic acids // J. Peptide Sci. 1995. V. 1. P. 185–183.
18. Dueholm K.L., Egholm M., Behrens C., Cristensen L., Hansen H.F., Vulpius T., Petersen K.H., Berg R.H., Nielsen P.E., Buchardt O. Synthesis of Peptide Nucleic Acid monomers containing the four natural nucleobases: Thymine, cytosine, adenine, and guanine and their oligomerization // J. Org. Chem. 1994. V. 59. P. 5767–5773.
19. [illegible] // [illegible]. 2007. [illegible]. 2. [illegible] 5. [illegible]. 28–32.
20. [illegible] // [illegible]. 2011. [illegible]. 6. [illegible] 2. [illegible]. 81–85.
21. Upert G., Mehiri M., Goddard M.-L., Di Giorgio A., Benhida R., Condom R., Patino N. The “fully protected backbone” approach as a versatile tool for a new solid-phase PNA synthesis strategy // Tetrahedron Lett. 2005. V. 46. P. 4081–4085.
22. Amant A.H.St., Hudson R.H.E. Synthesis and oligomerization of Fmoc/Boc-protected PNA monomers of 2,6-diaminopurine, 2-aminopurine and thymine // Org. Biomol. Chem. 2012. V. 10. P. 876–881.
23. [illegible] 1992. 360 [illegible]
24. Eriksson M, Christensen L, Schmidt J, Haaima G, Orgel L, Nielsen P.E. Sequence dependent N-terminal rearrangement and degradation of peptide nucleic acid (PNA) in aqueous solution // Nouv. J. Chim. 1998. V. 22. P. 1055–1059.

25. [illegible] 2005. [illegible]. 39. [illegible] 6. [illegible]. 39–43.

26. Boyarskaya N.P., Prokhorov D.I., Kirillova Yu.G., Zvonkova E.N., Shvets V.I. Synthesis of protected pseudopeptides from dicarboxylic aminoacids by Mitsunobu condensation // Tetrahedron Lett. 2005. V. 46. № 43. P. 7359–7362.

OPTIMIZATION OF SOLID-PHASE SYNTHESIS OF POLYAMIDE NUCLEIC ACID MIMETICS WITH APPLICATION OF MALDI-TOF MASS-SPECTROMETRY

M.V. Shirayeva[@], Yu.G. Kirillova, E.D. Nikolâskaya, D.I. Prokhorov, I.P. Smirnov*, G.E. Pozmogova*

M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technology, Moscow, 119571 Russia
**Scientific Research Institute of Physical and Chemical Medicine, Moscow, 119435 Russia*

[@]*Corresponding author e-mail: panam.mitht@gmail.com*

The solid-phase synthesis of a tetrameric model sequence of polyamide nucleic acid mimetics (PANAM) incorporating terminal chiral and charged unit was performed. As a result during the synthesis and cleavage from the resin the tendency of PANAM with the N-terminal negatively charged monomer to cyclization with simultaneous N-acyl transfer of carboxyethyl base residue was found. Application of MALDI-TOF mass-spectrometry allowed us to find suitable conditions for obtaining PANAM oligomers without the significant amount of by-products.

Key words: *polyamide nucleic acid mimetics (PANAM), peptide nucleic acids (PNA), solid phase synthesis, MALDI-TOF mass-spectrometry.*