

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2019-14-3-42-49>
УДК 577.115.083:577.112.345

Синтез катионных и ионизируемых амфифилов на основе геминального аминодиола как потенциальных транспортных систем миРНК

З.Г. Дениева[@], У.А. Буданова, Ю.Л. Себякин

МИРЭА – Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова), Москва 119571, Россия

[@]Автор для переписки, e-mail: c-221@yandex.ru

Научные исследования, основанные на использовании механизмов интерференции РНК, входят сегодня в число базовых методов молекулярной биологии. Препараты на основе малых интерферирующих РНК (миРНК) разрабатываются для лечения рака, инфекционных заболеваний и других патологий, которые ассоциированы с нарушениями в функциях специфических генов. Одной из главных проблем разработки лекарственных препаратов на основе миРНК является их эффективная и безопасная доставка в клетки-мишени. Современные стратегии доставки основаны на использовании химических соединений или биологических носителей, например, вирусов. Липидные наночастицы (липосомальные средства) являются наиболее передовой платформой среди невирусных векторов для доставки в клетки генетического материала. В данной работе предложена схема и осуществлен синтез новых катионных амфифилов как основы средств доставки миРНК в клетки-мишени. Синтезированные амфифилы относятся к двум типам катионных липидов: с постоянно заряженной аминогруппой в виде соли и с так называемым ионизируемым полярным блоком. Ионизируемые амфифилы являются новым поколением катионных липидов, которые проявляют пониженную токсичность и иммуногенность и подвергаются ионизации только в кислой среде эндосом в ходе внутриклеточного транспорта в цитозоле, что приводит к высвобождению инкапсулированной полезной нагрузки. Структура целевых соединений основана на производных диэтанолamina, которые являются спейсером между гидрофобным блоком и полярным фрагментом. В гидрофобном блоке присутствуют остатки пальмитиновой кислоты, а в полярном – производные этилендиамина и 3-диэтиламинопропиламина. Разработанная схема синтеза отличается простотой и универсальностью предложенного подхода, который позволяет применять ее при получении серии образцов в препаративных количествах, необходимых для проведения последующих физико-химических и биохимических исследований.

Ключевые слова: катионные липиды, ионизируемые аминолипиды, миРНК, липосомы, транспортные средства, диэтаноламин.

Synthesis of Cationic and Ionizable Amphiphiles Based on Heminal Aminodiol as Potential siRNA Delivery Systems

Zaret G. Denieva[@], Ulyana A. Budanova, Yury L. Sebyakin

MIREA – Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow 119571, Russia

[@]Corresponding author e-mail: c-221@yandex.ru



Research methods based on the use of RNA interference mechanisms are now included among the basic methods of molecular biology. Drugs based on siRNA are being developed for the treatment of cancer, infectious diseases and other pathologies that are associated with impaired functions of specific genes. One of the main problems of siRNA-based drug development is their efficient and safe delivery to target cells. Modern delivery strategies are based on the use of chemical compounds or biological carriers, such as viruses. Lipid nanoparticles (liposomal agents) are the most advanced platform among non-viral vectors for the delivery of gene materials into cells. In this paper, a scheme has been proposed and the synthesis of new cationic amphiphiles has been carried out as the basis for the means of delivering siRNA to target cells. Synthesized amphiphiles belong to two types of cationic lipids: with a permanently charged amino group in the form of a salt and with an ionizable polar block. Ionized amphiphiles are a new generation of cationic lipids that exhibit reduced toxicity and immunogenicity. They undergo ionization only in the acidic environment of endosomes during intracellular transport in the cytosol, which leads to the release of the encapsulated cargo. The structure of the target compounds is based on diethanolamine derivatives, which is a spacer between the hydrophobic block and the polar fragment. The hydrophobic block contains palmitoyl residues, and the polar one – ethylenediamine and 3-diethylaminopropylamine derivatives. The developed synthetic scheme is distinguished by the simplicity and versatility of the proposed approach, which allows it to be used in the preparation of a series of samples in preparative quantities necessary for the subsequent physico-chemical and biochemical studies.

Keywords: cationic lipids, ionizable aminolipids, siRNA, liposome, delivery systems, diethanolamine.

Введение

Интерференция РНК – естественный механизм регуляции экспрессии генов в клетке с участием фермента *Dicer* и молекул малых интерферирующих РНК (миРНК). С момента открытия миРНК до сегодняшнего дня инициировано уже более 30 клинических испытаний лекарственных препаратов на их основе для лечения 14 различных заболеваний.

Молекула миРНК представляет собой двухцепочечный олигонуклеотид, состоящий из 19–25 пар оснований. Он связывается с РНК-индуцированным комплексом выключения гена (RISC) в цитоплазме клеток и приводит к расщеплению последовательности мРНК для подавления экспрессии специфических генов [1]. Такое селективное ингибирование активности генов имеет большой потенциал для лечения различных заболеваний, включая вирусные инфекции, рак, аутоиммунные заболевания и др. Предполагается, что терапия на основе миРНК позволит реализовать персонализированную медицину посредством секвенирования транскриптома пациента. Однако, несмотря на многообещающие успехи лекарственных препаратов на основе нуклеиновых кислот, имеются проблемы с их таргетной доставкой в клетки-мишени, связанные с физико-химическими свойствами, включая относительно большую молекулярную массу, заряд аниона и гидрофильную природу.

Липидные наночастицы (липосомальные средства) являются наиболее передовой платформой среди невирусных векторов для доставки в клетки генетического материала [2]. Катионные липиды, формирую-

щие липосомы, способствуют эффективному инкапсулированию молекул миРНК, ее цитоплазматической доставке и последующему эндосомальному выходу [3]. Преимущества таких систем по сравнению с носителями на основе вирусов заключаются в низкой иммуногенности, более высокой емкости инкапсулирования и простоте технического исполнения.

Эффективность трансфекции связана со способностью катионных липидов образовывать комплексы с отрицательно заряженной нуклеиновой кислотой, морфология которых определяет клеточное поглощение и выход из эндосом. Структура катионных амфифилов является важной детерминантой генного транспорта. Состав головной группы обычно представлен солями первичных, вторичных, третичных аминов или четвертичных аммониевых групп [4]. Состав гидрофобного блока также влияет на эти процессы: наличие алифатических цепей или производных холестерина, а также длина цепи и степень ненасыщенности могут иметь большое значение для терапевтических свойств системы в целом [5].

В качестве линкера между гидрофобной и гидрофильной областями используются амидная, сложноэфирная и простая эфирная связи. Хотя простая эфирная связь стабильна и дает более высокую эффективность трансфекции, амфифилы с такой связью обладают высокой цитотоксичностью. Напротив, амфифилы с менее стабильными сложноэфирными связями являются биоразлагаемыми и, следовательно, проявляют пониженную цитотоксичность [6].

К недостаткам некоторых медиаторов трансфекции следует отнести гемолитическую активность, связанную с их высоким суммарным положитель-

ным зарядом [7, 8], и возможную иммуногенность комплексов липид–нуклеиновая кислота, называемых липоплексами, после длительного системного введения [9].

По этим причинам в последние годы внимание исследователей было направлено на рациональный дизайн используемых в трансфекции амфифилов, которые известны как ионизируемые амфифилы нового поколения. Эти липидоподобные структуры (липидоиды) заряжаются при кислотных значениях pH и могут образовывать комплексы с небольшими молекулами РНК для образования стабильных наночастиц. При физиологических значениях pH суммарный заряд образующихся частиц является преимущественно нейтральным или слегка положительным, что препятствует неспецифическим взаимодействиям с белками сыворотки крови, таким образом, не вызывая сильного иммунного ответа. Такие липидоиды обычно содержат в полярном блоке третичную аминогруппу, протонируются в кислотной среде ранних эндосом, приводя к дестабилизации липоплексов и высвобождению инкапсулированной нуклеиновой кислоты.

Понимание механизма липид-опосредованной доставки генетического материала (липофекции) имеет первостепенное значение для его эффективного применения, а также для рациональной разработки и синтеза новых перспективных катионных амфифилов. Общий положительный заряд липоплексов способствует высокой эффективности связывания с клеткой через электростатические взаимодействия с отрицательно заряженной клеточной мембраной. Основным путем поступления липоплексов в клетку является эндоцитоз [10]. Важным параметром этого процесса является размер частиц, который в значительной степени влияет на эффективность проникновения частиц в клетку [11]. Одним из ключевых физических свойств, определяющим практически все свойства липидных дисперсий, является состояние липидной фазы [12]. Морфология липоплексов может быть различной в зависимости от структуры катионных амфифилов и физико-химических условий продвижения комплексов в цитозоле.

В дополнение к ионизируемым амфифилам в липосомы включают фузогенные липиды (DOPE – диолеилфосфатидилэтаноламин, холестерин) и пэггированные липиды для оптимизации процесса образования неламеллярных структур и облегчения проникновения комплексов в клетки-мишени [13].

DODAP (1,2-диолеил-3-диметиламмоний-пропан) был первым ионизируемым препаратом, использованным в составе липосом: эффективность инкапсулирования олигодезоксирибонуклеиновой кислоты достигала 70% в одно- и мультиламеллярных везикулах в кислых условиях [14]. Его структура стала осно-

вой для разработки других ионизируемых образцов, способных ингибировать экспрессию генов [15].

Биологически разлагаемые ионизируемые амфифилы нового поколения, содержащие сложноэфирные связи, позволяют повысить профиль безопасности, улучшают биосовместимость, а также поддерживают высокую эффективность трансфекции при введении в составе комбинированных транспортных систем [16, 17].

Целью данной работы являлась разработка схемы получения и синтез новых катионных и ионизируемых липидоидов на основе диэтаноламина, различающихся структурой полярного блока, для последующего определения зависимости структура – эффективность трансфекции как перспективного направления фундаментальных исследований.

Результаты и их обсуждение

В данной работе разработана схема и осуществлен синтез новых катионных и ионизирующих амфифилов на основе диэтаноламина (схема 1), получены липосомальные дисперсии и изучены их физико-химические свойства.

В гидрофобном блоке новых липидоидов **9** и **11** использованы остатки пальмитиновой кислоты, а в качестве полярного блока – 1,2-этилендиамин и 3-диэтиламинопропиламин, соответственно.

Вос-защищенный диэтаноламин **2** был получен обработкой диэтаноламина ди-*трет*-бутилпирокарбонатом в среде изопропанола в присутствии карбоната калия. Соединение **3** получали реакцией соединения **2** с избытком пальмитиновой кислоты при нагревании до 130 °С в присутствии *n*-толуолсульфокислоты в качестве катализатора [18, 19].

Удаление защитной группы осуществляли действием трифторуксусной кислоты в безводном хлористом метиле с последующей обработкой 10%-ным раствором гидрокарбоната натрия с получением продукта **4**.

Далее проводили реакцию с янтарным ангидридом в присутствии триэтиламина. Продукт **5** выделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле. Структуру полученного соединения подтверждали данными ¹H-ЯМР-спектроскопии.

Для создания положительного заряда в структуре целевых амфифилов было предложено использовать 1,2-диаминоэтан (**6**) и 3-диэтиламинопропиламин (**10**) как наиболее доступные реагенты. Для получения моно-Вос-производного этилендиамина применяли описанную реакцию диамина с ди-*трет*-бутилпирокарбонатом с небольшой модификацией – в частности, использовании диоксана в качестве растворителя и строгом соблюдении временного режима [20]. Выход целевого продукта **7** в этом случае составил 81.5%.

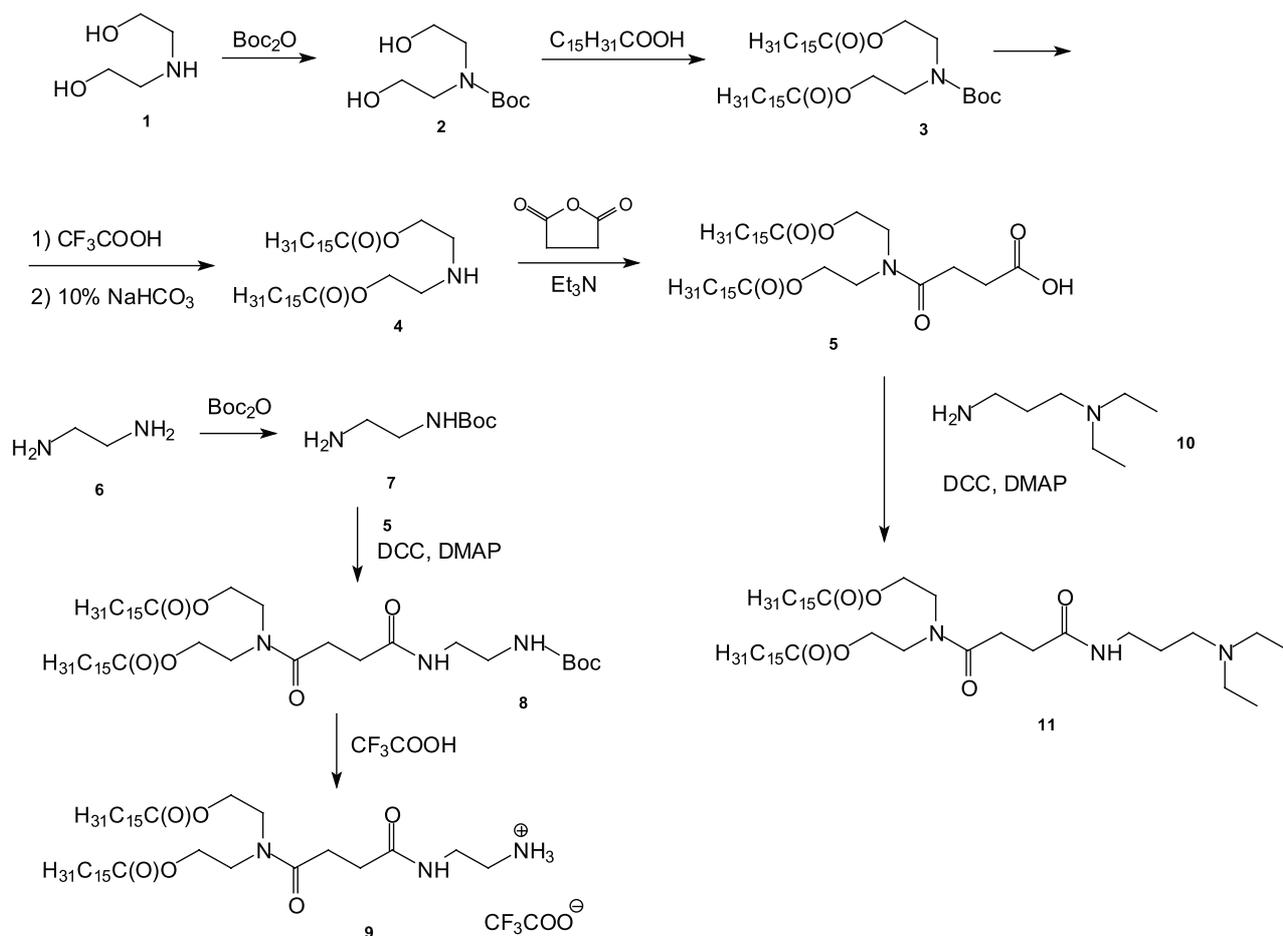


Схема 1. Синтез катионного (9) и ионизируемого (11) липидоидов.

Для получения соединений **8** и **11** проводили реакции конъюгации продуктов **7** и **10** с гидрофобным блоком **5**, соответственно. Свободные карбоксильные группы активировали с помощью 1,3-дициклогексилкарбодиимида (DCC) в присутствии 4-диметиламинопиридина (DMAP) в среде хлористого метилена при $0\text{ }^\circ\text{C}$ с последующим присоединением соответствующей аминокomпоненты при перемешивании в течение 24 ч. Удаление защитной группы с соединения **8** с получением целевого продукта **9** проводили действием трифторуксусной кислоты в безводном хлористом метилена. Структуры конечных продуктов подтверждали данными ^1H -ЯМР спектроскопии.

Для создания липосомальных дисперсий использовали метод гидратации тонкой пленки. Гидратацию осуществляли дистиллированной водой при перемешивании в течение 30 мин. Полученную дисперсию подвергали ультразвуковой обработке в течение 30 мин при $30\text{ }^\circ\text{C}$.

Для дисперсий методом динамического лазерного рассеивания (DLS) были определены размеры частиц. Гидродинамические диаметры соединений **9** и

11 составили 97 и 113 нм, соответственно (рисунок). Такие значения диаметров частиц позволяют транспортным системам проникать в мелкие кровеносные сосуды, наряду с возможностью инкапсулирования терапевтических средств, что является перспективным для дальнейших исследований.

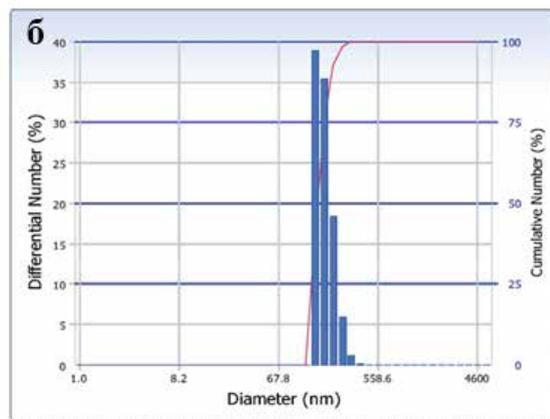
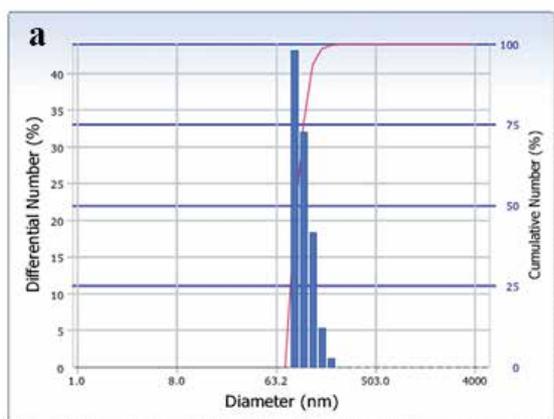
Выводы

Разработана схема и осуществлен синтез новых катионных и ионизируемых амфифилов на основе диаминов;

сформированы липосомальные дисперсии и определены гидродинамические диаметры частиц.

Экспериментальная часть

Спектры ^1H -ЯМР снимали в дейтерированном хлороформе на импульсном ЯМР-спектрометре «BrukerWM-400» с рабочей частотой 400 МГц. Внутренний стандарт – гексаметилдисилоксан. ИК-спектры регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре EQUINOX 55 («Bruker»). Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Сорб-



Гидродинамические диаметры липосомальных частиц на основе соединений **9** (а) и **11** (б).

фил (Краснодар), препаративную тонкослойную хроматографию – на силикагеле SigmaAldrich TLC standardgrade (Германия), колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле Merck 0.040–0.063 мм (Германия). Обнаружение пятен веществ при ТСХ происходило при нагревании над пламенем спиртовки. Вещества, содержащие аминогруппы, обнаруживали 5%-ным раствором нингидрина с последующим нагреванием до 50 °С.

***N*-трет-Бутоксикарбонилдиэтаноламин (2).** К раствору 5 г (47.6 ммоль) диэтанолamina (**1**) в 12.5 мл изопропанола прибавляли раствор 13.1 г (95.1 ммоль) карбоната калия в 25 мл дистиллированной воды и раствор 15.6 г (71.3 ммоль) ди-трет-бутил-пирокарбоната в 45 мл изопропанола. Реакционную смесь перемешивали в течение 8 ч при 40 °С с поддержанием pH 9. Растворитель удаляли под вакуумом. Продукт реакции выделяли экстракцией хлороформом (2×75 мл), сушили сульфатом натрия. Растворитель удаляли на роторном испарителе. Выход продукта **2** составил 9.2 г (93.7%). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 1.48 (9H, с, -CH₃); 3.31 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-); 3.86 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-).

***N*-трет-Бутоксикарбонил-*O,O'*-дигексадеканонилдиэтаноламин (3).** Смесь 3 г (14.6 ммоль) *N*-трет-бутоксикарбонилдиэтанолamina (**2**), 10 г (43.9 ммоль) пальмитиновой кислоты и 4.2 г (21.9 ммоль) *n*-толуолсульфокислоты выдерживали на масляной бане при 130 °С в течение 3 ч. Ход реакции контролировали по ТСХ. После завершения процесса реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, перекристаллизовывали из ацетона. Осадок растворяли в 70 мл хлороформа, промывали 5%-ным раствором гидрокарбоната натрия (2×70 мл), затем водой до pH 7, сушили сульфатом натрия. Растворитель удаляли на роторном испарителе. Выход продукта **3** составил 8.4 г (92%). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 0.80 (6H, т, -CH₃); 1.22 (48H, м, -CH₂-CH₂); 1.36 (9H, с, -C-CH₃); 1.54 (4H, т, -CO-O-CH₂-CH₂-); 2.22 (4H, т,

-CO-O-CH₂-CH₂-); 3.41 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-); 4.10 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-).

***O,O'*-Дигексадеканонилдиэтаноламин (4).** 2 г (3.2 ммоль) соединения **3** растворяли в 40 мл безводного хлористого метилена и прибавляли смесь 20 мл трифторуксусной кислоты в 20 мл безводного хлористого метилена при перемешивании. Через 1 ч реакционную массу упаривали на роторном испарителе, остаток растворяли в 40 мл хлороформа и промывали 10%-ным водным раствором гидрокарбоната натрия (3×40 мл) и водой до pH 7, сушили сульфатом натрия, упаривали. Выход продукта **4** составил 1.2 г (70.6%). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 0.89 (6H, т, -CH₃); 1.24 (48H, м, -CH₂-CH₂); 1.62 (4H, т, -CO-O-CH₂-CH₂-); 2.34 (4H, т, -CO-O-CH₂-CH₂-); 2.97 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-); 4.21 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-); 4.51 (1H, с, -NH-).

***N*-Сукциноил-*O,O'*-дигексадеканонилдиэтаноламин (5).** К раствору 1.1 г (2.2 ммоль) соединения **4** в 25 мл хлористого метилена прибавляли 0.4 г (4.3 ммоль) ангидрида янтарной кислоты и 0.4 г (4.3 ммоль) триэтиламина. Смесь перемешивали в течение 12 ч при комнатной температуре. За ходом реакции наблюдали с помощью ТСХ. Реакционную массу растворяли в 40 мл хлористого метилена, промывали 10%-ным водным раствором HCl (2×40 мл) и водой до pH 7, сушили сульфатом натрия, упаривали на роторном испарителе. Продукт **5** выделяли с помощью колоночной хроматографии в системе толуол–этилацетат, 1:3 (v/v). Выход соединения (**5**): 1.2 г (85%). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 0.90 (6H, т, -CH₃); 1.28 (48H, м, -CH₂-CH₂); 1.61 (4H, т, -CO-O-CH₂-CH₂-); 2.33 (4H, т, -CO-O-CH₂-CH₂-); 2.73 (4H, м, -CH₂-CH₂-COOH); 3.65 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-); 4.23 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-).

1-*N*-трет-Бутоксикарбонил-1,2-этилендиамин (7). К раствору 5 г (89 ммоль) 1,2-этилендиамина (**6**) в 60 мл диоксана в инертной атмосфере аргона прибавляли по каплям раствор 2.48 (11 ммоль)

ди-*трет*-бутилпиروкарбоната в 30 мл диоксана в течение 1 ч. Смесь перемешивали в течение 24 ч при комнатной температуре. Затем упаривали под вакуумом, остаток растирали с водой. Продукт выделяли экстракцией хлористым метиленом (3×50 мл), промывали водой, сушили сульфатом натрия, растворитель удаляли на роторном испарителе. Выход соединения (7): 1.43 г (81.5%). ИК-спектр (ν_{\max} , см⁻¹): 3355 (NH), 2978, 2934 (C-H), 1693 (C=O, «I амидная полоса»), 1526 (N-H, «II амидная полоса»), 1392, 1367, 1278, 1253 (C-O), 1173 (C-N), 1045, 966 (C-H).

1-*N*-трет-Бутоксикарбонил-2-*N*-сукциноил-1,2-этилендиаминил-*O,O'*-дигексадеканойлдизэтанолламин (8). К охлажденному до 0 °С раствору 0.30 г (0.48 ммоль) соединения 5 в 15 мл безводного хлористого метилена при перемешивании добавляли каталитическое количество 4-диметиламинопиридина (DMAP), раствор 0.39 г (1.92 ммоль) *N,N'*-дициклогексилкарбодиимида (DCC) в 25 мл хлористого метилена и 0.12 г (0.72 ммоль) продукта 7 в 5 мл хлористого метилена. Смесь выдерживали при интенсивном перемешивании в течение 24 ч. Контроль над реакцией осуществляли по ТСХ. Выпавший осадок дициклогексилмочевинны отфильтровывали. Продукт выделяли колоночной хроматографией в системе толуол–этилацетат, 5:1 (v/v). Выход соединения (8): 0.18 г (47.9%). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 0.88 (6H, т, -CH₃); 1.62 (48H, м, -CH₂-CH₃); 1.67 (9H, с, -C-CH₃); 1.81 (4H, т, -CO-O-CH₂-CH₂-); 2.32 (4H, т, -CO-O-CH₂-CH₂-); 2.83 (4H, м, -CH₂-CH₂-COOH); 2.80 (2H, т, -NH-CH₂-CH₂-NH₂); 3.41 (2H, т, -NH-CH₂-CH₂-NH₂); 4.46 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-); 4.73 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-).

Трифторацетат 2-*N*-сукциноил-1,2-этилендиаминил-*O,O'*-дигексадеканойлдизэтанолламина (9). К охлажденному до 0 °С раствору 25 мг соединения 8 в 2 мл безводного хлористого метилена приливали раствор 40 мкл трифторуксусной кислоты в 40 мкл хлористого метилена и перемешивали в течение 2 ч. Растворитель удаляли вод вакуумом. Получали 24 мг

(94%) трифторуксусной соли 9.

1-*N*-Сукциноил-3-диэтиламинопропил-аминил-*O,O'*-дигексадеканойлдизэтанолламин (11). К раствору 0.3 г (0.48 ммоль) соединения 5 в 15 мл хлористого метилена при перемешивании добавляли каталитическое количество DMAP, раствор 0.29 г (1.44 ммоль) DCC в 15 мл безводного хлористого метилена и 113.5 мкл (0.72 ммоль) соединения 10 в 2 мл хлористого метилена. Смесь перемешивали в течение 3 ч при 0 °С, затем 12 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок дициклогексилмочевинны отфильтровывали. Растворитель удаляли на роторном испарителе. Продукт выделяли колоночной хроматографией в системе толуол–этилацетат, 2:1 (v/v). Выход продукта (11): 0.22 г (61.8%). ¹H-ЯМР-спектр (CDCl₃, δ, м.д.): 0.85-0.90 (12H, т, -CH₃); 1.42-1.51 (52H, м, -CH₂-CH₃); 1.79 (4H, т, -CO-O-CH₂-CH₂-); 2.56 (4H, т, -CO-O-CH₂-CH₂-); 2.63 (4H, м, -CH₂-CH₂-COOH); 2.80 (2H, т, -NH-CH₂-CH₂-CH₂-NH); 3.41 (2H, т, -NH-CH₂-CH₂-CH₂-NH); 4.34 (2H, т, -NH-CH₂-CH₂-CH₂-NH); 4.86 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-); 5.03 (4H, т, -NH-CH₂-CH₂-).

Приготовление липосомальных дисперсий. Навеску, достаточную для создания концентрации 2 мг/мл, растворяли в 1 мл хлороформа, раствор концентрировали на роторном испарителе при температуре 30 °С и 30 об./мин до образования тонкой пленки, сушили в вакууме в течение 2 ч. Пленку гидратировали дистиллированной водой в течение 30 мин при перемешивании, а затем обрабатывали в ультразвуковой ванне УВЗ-1,3 с рабочей частотой 35 кГц в течение 30 мин при температуре 30 °С.

Определение гидродинамического диаметра частиц проводили на анализаторе размера частиц типа DelsaTMNanoC, BeckmanCoulter методом динамического лазерного светорассеивания.

Благодарности:

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-04-01141).

Список литературы:

1. Дейчман А.М., Зиновьев С.В., Барышников А.Ю. Экспрессия генов и малые РНК в онкологии // Российский биотерапевтический журнал. 2009. Т. 8. № 3. С. 107–118.
2. Farhood H., Gao X., Son K., Yang Y. Y. Cationic liposomes for direct gene transfer in therapy of cancer and other diseases // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994. V. 716. P. 23–34. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb21701.x>
3. Vaishnav A. K., Gollob J., Gamba-Vitalo C., Hutabarat R. A status report on RNAi therapeutics // *Silence*. 2010. V. 1. P. 14. <https://doi.org/10.1186/1758-907X-1-14>
4. Floch V., Loisel S., Guenin E., Herve A.C. Cation substitution in cationic phosphonolipids: A new concept to improve transfection activity and decrease cellular toxicity // *J. Med. Chem.* 2000. V. 43. P. 4617–4628. <https://doi.org/10.1021/10101a011>

References:

1. Deichman A.M., Zinoviev S.V., Baryshnikov A.Yu. The gene expression and small RNAs in oncology. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* [Russian Journal of Biotherapy]. 2009; 8(3):107-118. (in Russ.)
2. Farhood H., Gao X., Son K., Yang Y.Y. Cationic liposomes for direct gene transfer in therapy of cancer and other diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1994; 716:23–34. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb21701.x>
3. Vaishnav A.K., Gollob J., Gamba-Vitalo C., Hutabarat R. A status report on RNAi therapeutics. *Silence*. 2010; 1:14. <https://doi.org/10.1186/1758-907X-1-14>
4. Floch V., Loisel S., Guenin E., Herve A.C. Cation substitution in cationic phosphonolipids: A new concept to improve transfection activity and decrease cellular toxicity. *J. Med. Chem.* 2000; 43:4617–4628. <https://doi.org/10.1021/10101a011>

org/10.1021/jm000006z

5. Heyes J.A., Niculescu-Duvaz D., Cooper R.G., Springer C.J. Synthesis of novel cationic lipids: Effect of structural modification on the efficiency of gene transfer // *J. Med. Chem.* 2002. V. 45. P. 99–114. <https://doi.org/10.1021/jm010918g>

6. Lin P.J., Tam Y.Y., Hafez I., Sandhu A., Chen S., Ciufolini M.A., Nabi I.R., Cullis P.R. Influence of cationic lipid composition on uptake and intracellular processing of lipid nanoparticle formulations of siRNA // *Nanomedicine.* 2013. V. 9. P. 233–246. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2012.05.019>

7. Landesman-Milo D., Peer D. Toxicity profiling of several common RNAi-based nanomedicines: A comparative study // *Drug Deliv. Transl. Res.* 2014. V. 4. P. 96–103. <https://doi.org/10.1007/s13346-013-0158-7>

8. Peer D. Immunotoxicity derived from manipulating leukocytes with lipid-based nanoparticles // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012. V. 64. P. 1738–1748. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.06.013>

9. Zhang J.-S., Li, F., Huang L. Implications of pharmacokinetic behavior of lipoplex for its inflammatory toxicity // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2005. V. 57. P. 689–698. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.12.004>

10. Jones C.H., Chen C.K., Ravikrishnan A., Rane S., Pfeifer B.A. Overcoming nonviral gene delivery barriers: Perspective and future // *Mol. Pharmaceut.* 2013. V. 10. P. 4082–4098. <https://doi.org/10.1021/mp400467x>

11. Mui B., Ahkong Q.F., Chow L., Hope M.J. Membrane perturbation and the mechanism of lipid-mediated transfer of DNA into cells // *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* 2000. V. 1467. P. 281–292. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00226-1](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00226-1)

12. Adami R.C., Seth S., Harvie P., Johns R., Fam R. An amino acid-based amphoteric liposomal delivery system for systemic administration of siRNA // *Mol. Ther.* 2011. V. 19. P. 1141–1151. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.56>

13. Hafez I. M., Maurer N., Cullis P. R. On the mechanism whereby cationic lipids promote intracellular delivery of polynucleic acids // *Gene Ther.* 2001. V. 8. P. 1188–1196. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301506>

14. Semple S. C., Klimuk S. K., Harasym, T. O. Efficient encapsulation of antisense oligonucleotides in lipid vesicles using ionizable aminolipids: formation of novel small multilamellar vesicle structures // *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* 2001. V. 1510. P. 152–166. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00343-6](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00343-6)

15. Heyes J., Palmer L., Bremner K., MacLachlan I. Cationic lipid saturation influences intracellular delivery of encapsulated nucleic acids // *J. Contr. Release.* 2005. V. 107. P. 276–287. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.06.014>

16. Ramaswamy S., Tonnu N., Tachikawa K., Limphong P., Vega J. B. Systemic delivery of factor IX messenger RNA for protein replacement therapy // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2017. V. 114. P. 1941–1950. <https://doi.org/10.1073/pnas.1619653114>

17. Yanagi T., Tachikawa K., Wilkie-Grantham R., Hishiki A. Lipid nanoparticle-mediated siRNA transfer against PCTAIRE1/PCTK1/ CDK16 inhibits in vivo cancer growth // *Mol. Ther. –Nucl. Acids.* 2016. V. 5. P. e327. <https://doi.org/10.1038/mtna.2016.40>

18. Шуина Е.Д., Щелик И.С., Себякин Ю.Л. Синтез и свойства неогликолипидов на основе 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диола // *Тонкие химические технологии.*

J. Med. Chem. 2000; 43:4617–4628. <https://doi.org/10.1021/jm000006z>

5. Heyes J. A., Niculescu-Duvaz D., Cooper R.G., Springer C.J. Synthesis of novel cationic lipids: Effect of structural modification on the efficiency of gene transfer. *J. Med. Chem.* 2002; 45:99–114. <https://doi.org/10.1021/jm010918g>

6. Lin P.J., Tam Y.Y., Hafez I., Sandhu A., Chen S., Ciufolini M.A., Nabi I.R., Cullis P.R. Influence of cationic lipid composition on uptake and intracellular processing of lipid nanoparticle formulations of siRNA. *Nanomedicine.* 2013; 9:233–246. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2012.05.019>

7. Landesman-Milo D., Peer D. Toxicity Profiling of several common RNAi-based nanomedicines: A comparative study. *Drug Delivery Transl. Res.* 2014; 4:96–103. <https://doi.org/10.1007/s13346-013-0158-7>

8. Peer D. Immunotoxicity derived from manipulating leukocytes with lipid-based nanoparticles. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2012; 64:1738–1748. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.06.013>

9. Zhang J.-S., Li, F., Huang L. Implications of pharmacokinetic behavior of lipoplex for its inflammatory toxicity. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2005; 57:689–698. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2004.12.004>

10. Jones C.H., Chen C.K., Ravikrishnan A., Rane S., Pfeifer B.A. Overcoming nonviral gene delivery barriers: Perspective and future. *Mol. Pharmaceutics.* 2013; 10:4082–4098. <https://doi.org/10.1021/mp400467x>

11. Mui B., Ahkong Q.F., Chow L., Hope M.J. Membrane perturbation and the mechanism of lipid-mediated transfer of DNA into cells. *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* 2000; 1467:281–292. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00226-1](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00226-1)

12. Adami R.C., Seth S., Harvie P., Johns R., Fam R. An Amino acid-based amphoteric liposomal delivery system for systemic administration of siRNA. *Mol. Ther.* 2011; 19:1141–1151. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.56>

13. Hafez I.M., Maurer N., Cullis P.R. On the mechanism whereby cationic lipids promote intracellular delivery of polynucleic acids. *Gene Ther.* 2001; 8:1188–1196. <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301506>

14. Semple S.C., Klimuk S.K., Harasym T.O. Efficient encapsulation of antisense oligonucleotides in lipid vesicles using ionizable aminolipids: Formation of novel small multilamellar vesicle structures. *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* 2001; 1510:152–166. [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(00\)00343-6](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(00)00343-6)

15. Heyes J., Palmer L., Bremner K., MacLachlan I. Cationic lipid saturation influences intracellular delivery of encapsulated nucleic acids. *J. Controlled Release.* 2005; 107:276–287. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.06.014>

16. Ramaswamy S., Tonnu N., Tachikawa K., Limphong P., Vega J.B. Systemic delivery of factor IX messenger RNA for Protein replacement therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2017; 114:1941–1950. <https://doi.org/10.1073/pnas.1619653114>

17. Yanagi T., Tachikawa K., Wilkie-Grantham R., Hishiki A. Lipid nanoparticle-mediated siRNA transfer against PCTAIRE1/PCTK1/ CDK16 inhibits in vivo cancer growth. *Mol. Ther. –Nucleic Acids.* 2016; 5:e327. <https://doi.org/10.1038/mtna.2016.40>

18. Shuina E.D., Shchelik I.S., Sebyakin Yu.L. Synthesis and properties of neoglycolipids based on 2-amino-2-hydroxymethylpropane-1,3-diol. *Tonkie khimicheskie tekhnologii = Fine Chemical Technologies.* 2017; 12(4):65–74. (in Russ.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2017-12-4-65-74>

2017. Т. 12. № 4. С. 65–74. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2017-12-4-65-74>

19. Sarychev G.A., Mironova M.S., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. Design, synthesis and morphology of the organosiloxane hybrid particles based on L-aspartic acid derivatives // *Mend. Comm.* 2017. V. 27. P. 155–156. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2017.03.016>

20. Krapcho A.P., Kuell C.S. Mono-protected diamines. N-tert-Butoxycarbonyl α,ω -alkanediamines from α,ω -alkanediamines // *Synth. Commun.* 1990. V. 20. P. 2559–2564. <https://doi.org/10.1080/00397919008053205>

19. Sarychev G.A., Mironova M.S., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. Design, synthesis and morphology of the organosiloxane hybrid particles based on l-aspartic acid derivatives. *Mend. Comm.* 2017; 27:155-156. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2017.03.016>

20. Krapcho A.P., Kuell C.S. Mono-Protected diamines. N-tert-Butoxycarbonyl α,ω -alkanediamines from α,ω -alkanediamines. *Synth. Commun.* 1990; 20:2559-2564. <https://doi.org/10.1080/00397919008053205>

Об авторах:

Дениева Зарет Гезимахмаевна, магистр кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (Россия, 119571, Москва, пр. Вернадского, д. 86). Scopus Author ID 57203550055, ResearcherID T-5756-2019, <https://orcid.org/0000-0001-5388-9323>

Буданова Ульяна Александровна, кандидат химических наук, ассистент кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (Россия, 119571, Москва, пр. Вернадского, 86). Scopus Author ID 14622352500, ResearcherID E-1659-2014, <https://orcid.org/0000-0003-1702-9435>

Себякин Юрий Львович, доктор химических наук, профессор, профессор кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (Россия, 119571, Москва, пр. Вернадского, 86). Scopus Author ID 6701455145, ResearcherID T-2835-2019, <https://orcid.org/0000-0002-7027-378X>

About the authors:

Zaret G. Denieva, Master of the N.A. Preobrazhensky Chair of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medical and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). Scopus Author ID 57203550055, ResearcherID T-5756-2019, <https://orcid.org/0000-0001-5388-9323>

Ulyana A. Budanova, Ph.D. (Chemistry), Assistant of Professor of the N.A. Preobrazhensky Chair of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medical and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). Scopus Author ID 14622352500, ResearcherID E-1659-2014, <https://orcid.org/0000-0003-1702-9435>

Yury L. Sebyakin, D.Sc. (Chemistry), Professor, Professor of the N.A. Preobrazhensky Chair of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medical and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). Scopus Author ID 6701455145, ResearcherID T-2835-2019, <https://orcid.org/0000-0002-7027-378X>

Для цитирования: Дениева З.Г., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. Синтез катионных и ионизируемых амфифилов на основе геминального аминодиола как потенциальных транспортных систем миРНК // Тонкие химические технологии. 2019. Т. 14. № 3. С. 42–49. DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-3-42-49

For citation: Denieva Z.G., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. Synthesis of cationic and ionizable amphiphiles based on heminal aminodiols as potential siRNA delivery systems. *Tonkie Khim. Tekhnol. = Fine Chemical Technologies.* 2019; 14(3):42-49. (in Russ.). DOI: 10.32362/2410-6593-2019-14-3-42-49