
**ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**
**CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF MEDICINAL COMPOUNDS
AND BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES**

ISSN 2410-6593 (Print), ISSN 2686-7575 (Online)

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-5-36-45>



УДК 547.461.3: 577.112.343

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

**Катионные амфифилы на основе амидов малоновой кислоты
в качестве медиаторов трансфекции**

Н.А. Романова, 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

Цели. Задача данной работы заключалась в получении катионных амфифилов, являющихся амидами малоновой кислоты. Целевые амфифилы должны содержать насыщенную и ненасыщенную алкильные цепи в гидрофобном блоке, а также один или два положительных заряда в полярной головной части за счет этилендиамина и аминокислоты L-орнитина. Для таких катионных амфифилов должны быть определены физико-химические свойства и трансфекционная активность липосомальных композиций на их основе.

Методы. Исходным соединением в синтезе был диэтиловый эфир малоновой кислоты. С ним проводили реакцию C-алкилирования для присоединения первой гидрофобной цепи (с использованием октилбромида, додецилбромида и октадецилбромида). В качестве второй гидрофобной цепи использовали N-олеиламин, который присоединяли по карбоксильной группе малоновой кислоты путем образования амидной связи. Полярная головная группа была представлена этилендиамином, который присоединяли по оставшейся карбоксильной группе малоновой кислоты. Далее к этилендиамину присоединяли L-орнитин для получения катионных липидов с двумя положительными зарядами в головной группе. Структуры соединений характеризовали с помощью инфракрасной спектроскопии, спектроскопии ядерного магнитного резонанса и элементного анализа. Методом фотонно-корреляционной спектроскопии оценивали распределение частиц по размерам. С помощью люциферазного теста определяли эффективность трансфекции на клеточной линии HeLa.

Результаты. Разработана схема синтеза новых катионных амфифилов с несимметричным гидрофобным блоком. Полученные на их основе липосомальные частицы имеют размер около 120 нм и обладают достаточно высоким дзета-потенциалом (29–30 мВ).

Выводы. Размер полученных липосом позволяет им проникать в клетки, что делает возможным использование таких композиций для трансфекции. Высокий дзета-потенциал свидетельствует об их стабильности. Наши результаты показали, что эффективность трансфекции полученными липосомами в смеси с холестерином сопоставима с коммерческим препаратом. Катионные амфифилы на основе амидов малоновой кислоты являются перспективными для разработки трансфекционных липосомальных композиций на их основе.

Ключевые слова: катионные липиды, амиды малоновой кислоты, катионные липосомы, трансфекционная активность, направленная доставка, катионные амфифилы

Для цитирования: Романова Н.А., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. Катионные амфифилы на основе амидов малоновой кислоты в качестве медиаторов трансфекции. *Тонкие химические технологии.* 2020;15(5):36-45. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-5-36-45>

RESEARCH ARTICLE

Cationic amphiphiles based on malonic acid amides as transfection mediators

Nadezhda A. Romanova, 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

Objectives. The aim of this work is to synthesize cationic amphiphiles based on malonic acid amides. The target compounds should contain saturated and unsaturated alkyl chains in the hydrophobic portion, and one or two positive charges in the polar head as created by ethylenediamine and amino acid L-ornithine. For such cationic amphiphiles, we determined physicochemical properties and transfection efficiency of liposomes based on them.

Methods. The initial compound in the synthesis is diethylmalonate. We used C-alkylation to add the first hydrophobic chain (with octylbromide, dodecylbromide, or octadecylbromide). N-oleylamine was used as the second hydrophobic chain, which was attached at the carboxyl group of the malonic acid via amide bond formation. The polar head was represented by ethylenediamine, which was then attached at the second carboxyl group of the malonic acid. Further, L-ornithine was attached to ethylenediamine to produce cationic lipids with two positive charges in the head group. The structures of the compounds were characterized by infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance spectroscopy, and elemental analysis. Particle size distribution was evaluated by photon correlation spectroscopy. The luciferase test was used to determine transfection efficiency using HeLa cells.

Results. We have developed a synthesis scheme to produce new cationic amphiphiles with an asymmetric hydrophobic part. The obtained liposomal particles are approximately 120 nm in size and have a relatively high zeta potential of 29–30 mV.

Conclusions. The size of these liposomes allows them to penetrate into cells, which makes it possible to use these compositions for transfection. The high zeta potential shows that the particles are stable. Our results demonstrate that the transfection efficiency of our liposomes (mixed with cholesterol) is comparable to a commercial formulation. Cationic amphiphiles based on malonic acid amides have great potential for liposome development for transfection.

Keywords: cationic lipids, malonic acid amides, cationic liposomes, transfection efficiency, targeted delivery, cationic amphiphiles.

For citation: Romanova N.A., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. Cationic amphiphiles based on malonic acid amides as transfection mediators. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2020;15(5):36-45 (Russ., Eng.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-5-36-45>

ВВЕДЕНИЕ

Генная терапия является многообещающим подходом для лечения большого количества генетических заболеваний – за счет введения отсутствующих генов или замены дефектных генов здоровыми [1]. С начала разработки концепции генной терапии в медицине были предложены эффективные методы переноса нуклеиновых кислот в клетки [2]. Эти методы обеспечивают доставку полинуклеотидов в биологическую ткань или клетки – так называемую трансфекцию генов. Из-за деградации под действием нуклеаз «чистая» ДНК или РНК не может проникнуть через клеточную мембрану без использования физических методов, таких как инъекции или «генная пушка», поэтому необходимы носители, которые могли бы транспортировать ДНК через кровоток и эффективно высвобождать генетический материал вблизи клеточного ядра [3].

Системы доставки полинуклеотидов делятся на два основных класса: вирусные и невирусные векторы [4–5]. Несмотря на высокую эффективность трансфекции, вирусные системы имеют недостатки, так как могут вызывать иммунные ответы в большей или меньшей степени [6].

Системы–носители нуклеиновых кислот на основе катионных липидов являются перспективным фармацевтическим инструментом для реализации генных терапевтических стратегий [7]. В отличие от вирусных систем, эти комплексы не обладают иммуногенным потенциалом или ограничениями по размеру доставляемых генетических фрагментов [8]. Однако катионные липиды, а также другие невирусные векторы, такие как полимеры и пептиды, проявляют низкую эффективность трансфекции и выраженную токсичность [9].

На пути к созданию оптимальных трансфекционных систем постоянно синтезируют и исследуют новые липиды. Для увеличения скорости трансфекции изменяют структуру катионных липидов, меняют соотношение с незаряженными вспомогательными липидами, добавляют различные количества ДНК [10–12]. В связи с этим важно исследовать физико-химические свойства липидов, чтобы понять зависимость «структура–эффективность» для переноса генов [7]. Поэтому необходимы многочисленные исследования с мультидисциплинарными подходами [13].

Преимущество катионных липидов заключается в том, что они могут быть сконструированы в соответствии с «модульным принципом» – можно выполнять структурные изменения отдельно в головной группе, в линкере и в липофильной области [11, 14, 15]. Структура гидрофобного домена определяет температуру фазового перехода и текучесть

бислоя, что в дальнейшем оказывает влияние на стабильность липосом, защиту ДНК от нуклеаз, эндосомальный выход, высвобождение ДНК из липоплекса и проникновение в ядро [3, 16]. Олеиновые ненасыщенные цепи способствуют эндосомальному высвобождению благодаря повышению текучести мембраны трансфекционных комплексов [17]. Также на эффективность трансфекции катионных липидов влияет эффект асимметрии [3]. Кроме того, многовалентные липиды более активны по сравнению с одновалентными [11].

Перспективным классом катионных липидов являются диамиды малоновой кислоты [13]. Катионные липиды на основе малоновой кислоты были впервые описаны в литературе (в качестве носителей нуклеиновых кислот) около 10 лет назад. Диэтиловый эфир малоновой кислоты является центральным строительным блоком синтеза. Химические свойства малоновой кислоты позволяют присоединять алкильные цепи через ацильные функции в виде амидов или сложных эфиров [11]. Диамиды малоновой кислоты с двумя длинными гидрофобными алкильными цепями и полярной головной группой, используемые в качестве нового класса невирусных агентов, переносящих гены, показали высокую эффективность трансфекции и умеренную токсичность. Кроме того, амидные связи демонстрировали более высокую стабильность в отношении гидролиза, чем сложноэфирные связи. Показано, что увеличение катионной головной группы путем сочетания с двумя молекулами лизина, а не только одной, приводит к повышению эффективности трансфекции [10, 15]. Таким образом, характеристика биосовместимости эффективных липидных композиций и исследование терапевтических концепций для медицинского применения высокоэффективных катионных липидов, полученных из малоновой кислоты, являются актуальной задачей [11].

Целью данной работы является получение катионных амфифилов, являющихся амидами малоновой кислоты (схема), содержащих в своем составе насыщенную и ненасыщенную алкильные цепи в гидрофобном блоке, а также один или два положительных заряда в полярной головной области, созданных этилендиамином и L-орнитином, и изучение свойств и трансфекционной активности липосомальных композиций на их основе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Общие методики

Все химические вещества и реагенты использовались без предварительной очистки: диэтилмалонат, этилендиамин, октилбромид, додецилбромид, октадецилбромид (все – *Acros Organics*,

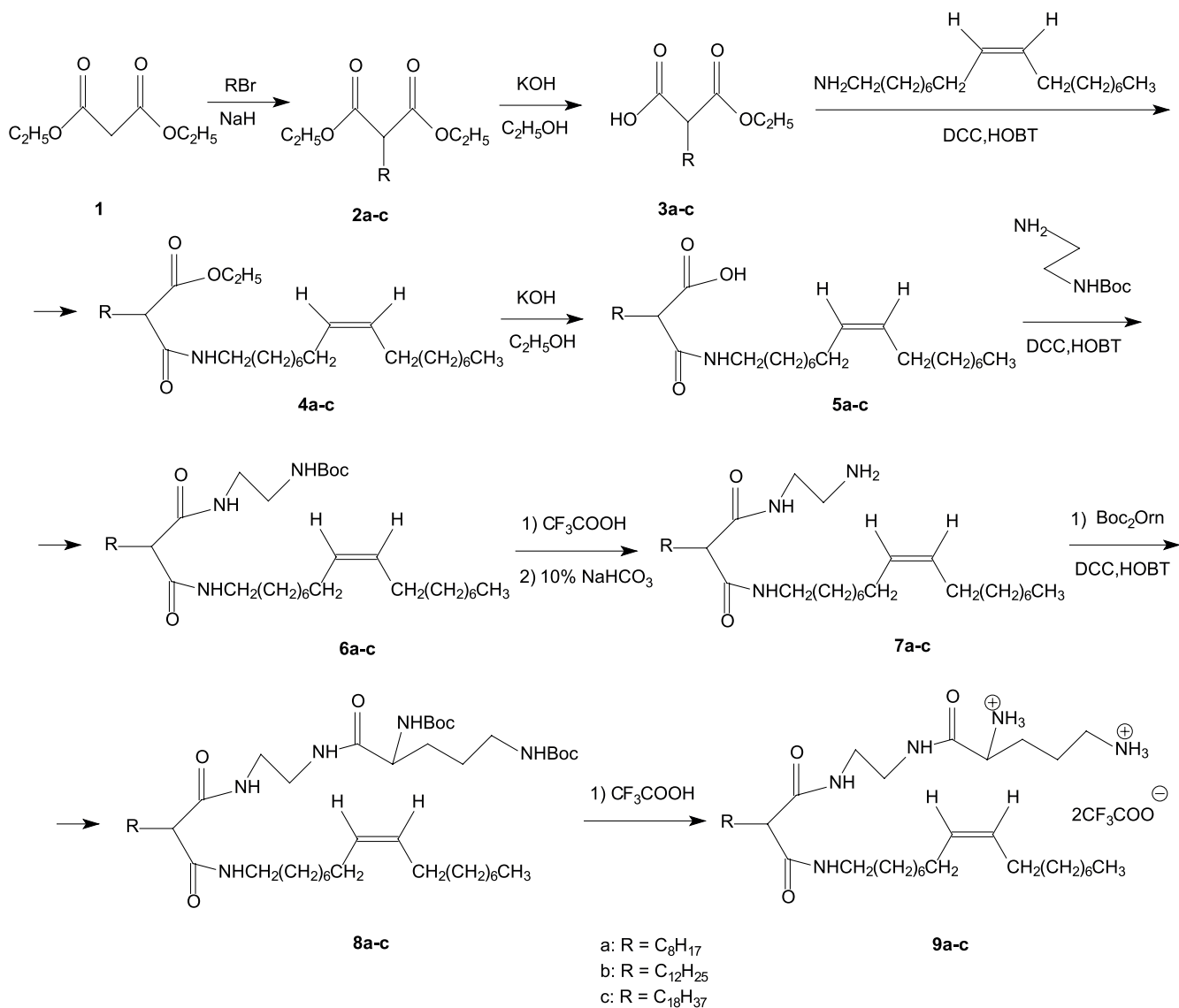


Схема. Амиды малоновой кислоты.

Scheme. Malonic acid amides.

Бельгия), *N*-олеиламин (*Sigma-Aldrich*, США), ди-*трет*-бутилдикарбонат (Boc₂O) (*Sigma-Aldrich*, США), L-орнитина моногидрохлорид (L-Orn*HCl) (*Acros Organics*, Бельгия), *N,N'*-дициклогексилкарбодимид (DCC) (*Sigma-Aldrich*, США), 1-гидроксибензотриазол (HOBT) (*Sigma-Aldrich*, США), калия гидроокись (*Химмед*, Россия), натрий сернокислый безводный (*Химмед*, Россия), трифторуксусная кислота (TFA) (*Biochem*, Россия).

Спектры ядерного магнитного резонанса ¹H ЯМР регистрировали в дейтерированном хлороформе на импульсном ЯМР спектрометре BrukerWM-400 (*Bruker*, Германия) с рабочей частотой 400 МГц. Внутренний стандарт – гексаметилдисилоксан. Инфракрасные спектры регистрировали на ИК-Фурье спектрометре EQUINOX 55 (*Bruker*, Германия). Элементный анализ проводили с помощью CHNS анализатора FLASH EA 1112 (*Thermo Finnigan Italia*

S.p.A, Италия). Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинках Сорбфил (*ИМИД*, Россия), колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле размером 0.040–0.063 мм (*Merck*, Германия). Для обнаружения пятен при ТСХ использовали нагревание над пламенем спиртовки. Для выявления веществ, содержащих аминогруппы, применяли 5%-ный раствор нингидрина с последующим нагреванием до 50 °С.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Моно-*N*-трет-бутоксикарбонилэтилендиамин (1). 8.01 г (133.5 ммоль) 1,2-этилендиамина растворяли в диоксане в инертной атмосфере аргона, и прикапывали раствор 3.78 г (17.34 ммоль) Boc₂O в диоксане в течение 3 ч. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Растворитель

отгоняли в вакууме, остаток растворяли в воде. Продукт выделяли экстракцией дихлорметаном (3 × 50 мл). Выход продукта составил 2.18 г (78.5%).

ИК-спектр (ν_{\max} , cm^{-1}): 3355 (NH), 2978, 2934 (CH_2), 1693 (C=O, «I амидная полоса»), 1526 (NH, «II амидная полоса»), 1392, 1367, 1278, 1253 (C–O), 1173 (C–N), 1045 (CH_2), 966 (CH_3).

Диэтиловый эфир октилмалоновой кислоты (2a). К раствору 3 г (18.75 ммоль) диэтилмалоната в безводном тетрагидрофуране порционно добавляли 0.49 г (20.42 ммоль) гидрида натрия и перемешивали 1 ч при комнатной температуре. После этого к протонированному диэтилмалонату добавляли по каплям раствор 3.29 г (17.05 ммоль) октилбромид в безводном тетрагидрофуране и перемешивали в течение 24 ч. Растворитель отгоняли на роторном испарителе. К реакционной массе добавляли ледяную воду, продукты экстрагировали этилацетатом, сушили сульфатом натрия, растворитель отгоняли на роторном испарителе. Получили 4.23 г (82.9%) продукта.

^1H ЯМР-спектр соединения **2a** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.86 (т, 3H, $-\text{CH}_3$), 1.27 (м, 18H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.89 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 3.35 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 4.18 (м, 4H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$).

Диэтиловый эфир додецилмалоновой кислоты (2b). Аналогично: из 3 г (18.75 ммоль) диэтилмалоната, 0.49 г (20.42 ммоль) гидрида натрия и 4.24 г (17.03 ммоль) додецилбромид. Выход продукта 5.16 г (83.9%).

^1H ЯМР-спектр соединения **2b** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.87 (т, 3H, $-\text{CH}_3$), 1.28 (м, 26H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.78 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 3.30 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 4.20 (м, 4H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$).

Диэтиловый эфир октадецилмалоновой кислоты (2c). Аналогично: из 2 г (12.50 ммоль) диэтилмалоната, 0.33 г (13.75 ммоль) гидрида натрия и 3.79 г (11.37 ммоль) октадецилбромид. Выход продукта 3.91 г (83.5%).

^1H ЯМР-спектр соединения **2c** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.90 (т, 3H, $-\text{CH}_3$), 1.27 (м, 38H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.84 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 3.37 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 4.21 (м, 4H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$).

Моноэтиловый эфир октилмалоновой кислоты (3a). К раствору 8.37 г (30.77 ммоль) соединения **2a** в этаноле добавляли по каплям раствор 2.07 г (36.96 ммоль) КОН в этаноле в течение 1 ч. Далее смесь перемешивали в течение 3 ч и оставляли на ночь без перемешивания. После этого отгоняли этанол до половины объема, раствор подкисляли эквивалентным количеством 0.1M соляной кислоты. Целевое соединение экстрагировали этилацетатом, сушили сульфатом натрия, растворитель отгоняли на роторном испарителе. Продукт выделяли флэш-хроматографией с элюцией гексаном, затем системой хлороформ : метанол (15 : 1). Получали 3.69 г (49.2%) продукта.

^1H ЯМР-спектр соединения **3a** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.86 (т, 3H, $-\text{CH}_3$), 1.28 (м, 15H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.89 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 3.37 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 4.19 (м, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$).

Моноэтиловый эфир додецилмалоновой кислоты (3b). Аналогично: из 7.83 г (23.87 ммоль) соединения **2b** и 1.6 г (28.57 ммоль) КОН. Выход продукта 2.9 г (33.6%).

^1H ЯМР-спектр соединения **3b** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.87 (т, 3H, $-\text{CH}_3$), 1.24 (м, 23H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.70 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 3.20 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 4.16 (м, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$).

Моноэтиловый эфир октадецилмалоновой кислоты (3c). Аналогично: из 7.02 г (17.04 ммоль) соединения **2c** и 1.15 г (20.54 ммоль) КОН. Выход продукта 2.6 г (39.8%).

^1H ЯМР-спектр соединения **3c** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.88 (т, 3H, $-\text{CH}_3$), 1.28 (м, 33H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.91 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2\text{CH}_2-$), 3.38 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 3.72 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 4.18 (м, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$).

Этиловый эфир 2-{{(9Z)-октадец-9-еноил-амино}карбонил}декановой кислоты (4a). К охлажденному до 0 °C раствору 217.9 мг (0.89 ммоль) соединения **3a** в безводном хлористом метиле при перемешивании добавляли 241 мг (1.79 ммоль) НОВТ и раствор 368 мг (1.79 ммоль) DCC. После этого к раствору добавляли 287 мг (1.07 ммоль) олеиламина в безводном дихлорметане. Смесь выдерживали 2 ч при охлаждении и оставляли на сутки при перемешивании при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывали. Растворитель отгоняли на роторном испарителе. Продукт выделяли колоночной хроматографией в системе тетрахлорметан : метанол (40 : 1). Получили 299 мг (68.0%) продукта.

^1H ЯМР-спектр соединения **4a** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.86 (т, 6H, 2 CH_3), 1.26 (м, 37H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.47 (м, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$), 1.84 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 1.97 (м, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), 3.23 (м, 3H, $-\text{CH}-$, $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 4.18 (м, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 5.35 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.55 (м, 1H, $-\text{NH}-$).

Этиловый эфир 2-{{(9Z)-октадец-9-еноил-амино}карбонил}тетрадекановой кислоты (4b). Аналогично: из 182 мг (0.61 ммоль) соединения **3b**, 164 мг (1.21 ммоль) 1-гидроксибензотриазола, 251 мг (1.22 ммоль) *N,N'*-дициклогексилкарбодиимида и 195 мг (0.73 ммоль) олеиламина. Выход продукта 226 мг (67.5%).

^1H ЯМР-спектр соединения **4b** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.87 (т, 6H, 2 CH_3), 1.26 (м, 45H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.48 (м, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$), 1.86 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 1.99 (м, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), 3.23 (м, 3H, $-\text{CH}-$, $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 4.18 (м, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 5.34 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.58 (м, 1H, $-\text{NH}-$).

Этиловый эфир 2-[(9Z)-октадец-9-еноиламино]карбонил}эйкозановой кислоты (4с). Аналогично: из 190 мг (0.49 ммоль) соединения **3с**, 134 мг (0.99 ммоль) НОВТ, 204 мг (0.99 ммоль) DCC и 159 мг (0.59 ммоль) олеиламина. Выход продукта 205 мг (65.5%).

^1H ЯМР-спектр соединения **4с** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.87 (т, 6H, 2CH_3), 1.27 (м, 57H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1.49 (м, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$), 1.83 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 2.00 (м, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), 3.23 (м, 3H, $-\text{CH}-$, $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 4.18 (м, 2H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 5.34 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.57 (м, 1H, $-\text{NH}-$).

2-[(9Z)-октадец-9-еноиламино]карбонил}декановая кислота (5а). К раствору 277 мг (0.56 ммоль) соединения **4а** в этаноле добавляли по каплям раствор 63 мг (1.13 ммоль) КОН в этаноле в течение 1 ч. Далее раствор перемешивали в течение 8 ч при кипячении. После этого отгоняли этанол до половины объема, реакционную массу подкисляли эквивалентным количеством 0.1M соляной кислоты. Соединение экстрагировали этилацетатом, сушили сульфатом натрия и отгоняли растворитель на ротаторном испарителе. Получали 245 мг (94.0%) продукта.

^1H ЯМР-спектр соединения **5а** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.87 (т, 6H, 2CH_3), 1.27 (м, 34H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.47 (м, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$), 1.94 (м, 6H, $-\text{CHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), 3.19 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 3.30 (м, 2H, $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 5.34 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.43 (м, 1H, $-\text{NH}-$).

2-[(9Z)-октадец-9-еноиламино]карбонил}тетрадекановая кислота (5б). Аналогично: из 200 мг (0.36 ммоль) соединения **4б** и 40 мг (0.71 ммоль) КОН. Выход продукта 153 мг (81.8%).

^1H ЯМР-спектр соединения **5б** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.90 (т, 6H, 2CH_3), 1.27 (м, 42H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.53 (м, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$), 1.95 (м, 6H, $-\text{CHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), 3.15 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 3.31 (м, 2H, $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 5.35 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.26 (м, 1H, $-\text{NH}-$).

2-[(9Z)-октадец-9-еноиламино]карбонил}эйкозановая кислота (5с). Аналогично: из 190 мг (0.30 ммоль) соединения **4с** и 34 мг (0.61 ммоль) КОН. Выход продукта 170 мг (93.6%).

^1H ЯМР-спектр соединения **5с** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.88 (т, 6H, 2CH_3), 1.27 (м, 54H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.53 (м, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$), 2.01 (м, 6H, $-\text{CHCH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), 3.16 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 3.30 (м, 2H, $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 5.35 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.33 (м, 1H, $-\text{NH}-$).

Диамид N-2-[(N-трет-бутоксикарбонил)амино]этил-2-октил-N'-[(9Z)-октадец-9-еноил]пропана (6а). К охлажденному до 0 °C раствору 255 мг (0.55 ммоль) соединения **5а** в безводном хлористом метилена добавляли при перемешивании 149 мг (1.1 ммоль) НОВТ и раствор 226 мг (1.1 ммоль) DCC. Затем добавляли к раствору 105 мг (0.66 ммоль) Вос-защищенного этилендиамина в безводном дихлорметане. Смесь выдерживали 2 ч при охлаждении и перемешивали

24 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывали. Растворитель отгоняли на ротаторном испарителе. Продукт выделяли колоночной хроматографией в системе тетрахлорметан : метанол (40 : 1). Получили 259 мг (77.8%) продукта.

^1H ЯМР-спектр соединения **6а** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.88 (т, 6H, 2CH_3), 1.23 (м, 34H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.45 (м, 11H, 3CH_3 , $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$), 1.65 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 1.95 (м, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), 2.95 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 3.25 (м, 4H, $-\text{OCNHCH}_2-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 3.43 (м, 2H, $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 5.01 (м, 1H, $-\text{NH}-$), 5.37 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.82 (м, 1H, $-\text{NH}-$), 7.28 (м, 1H, $-\text{NH}-$).

Диамид N-2-[(N-трет-бутоксикарбонил)амино]этил-2-додecil-N'-[(9Z)-октадец-9-еноил]пропана (6б). Аналогично: из 66 мг (0.13 ммоль) соединения **5б**, 35 мг (0.26 ммоль) НОВТ, 53 мг (0.26 ммоль) DCC и 26 мг (0.16 ммоль) Вос-защищенного этилендиамина. Выход продукта составил 55.1 мг (65.6%).

^1H ЯМР-спектр соединения **6б** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.87 (т, 6H, 2CH_3), 1.16 (м, 42H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.43 (с, 9H, 3CH_3), 1.63 (м, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$), 1.81 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 1.99 (м, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), 2.94 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 3.24 (м, 4H, $-\text{OCNHCH}_2-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 3.43 (м, 2H, $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 5.00 (м, 1H, $-\text{NH}-$), 5.34 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.81 (м, 1H, $-\text{NH}-$), 7.26 (м, 1H, $-\text{NH}-$).

Диамид N-2-[(N-трет-бутоксикарбонил)амино]этил-2-октадецил-N'-[(9Z)-октадец-9-еноил]пропана (6с). Аналогично: из 160 мг (0.26 ммоль) соединения **5с**, 71 мг (0.53 ммоль) НОВТ, 109 мг (0.53 ммоль) DCC и 51 мг (0.32 ммоль) Вос-защищенного этилендиамина. Выход продукта 179.8 мг (90.8%).

^1H ЯМР-спектр соединения **6с** (CDCl_3 , δ , м.д.): 0.87 (т, 6H, 2CH_3), 1.20 (м, 54H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.43 (с, 9H, 3CH_3), 1.60 (м, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$), 1.72 (м, 2H, $-\text{CHCH}_2-$), 1.95 (м, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$), 2.93 (т, 1H, $-\text{CH}-$), 3.23 (м, 4H, $-\text{OCNHCH}_2-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 3.42 (м, 2H, $-\text{CH}_2\text{NHCO}-$), 4.98 (м, 1H, $-\text{NH}-$), 5.32 (м, 2H, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6.76 (м, 1H, $-\text{NH}-$), 7.21 (м, 1H, $-\text{NH}-$).

Диамид N-(2-аминоэтил)-2-октил-N'-[(9Z)-октадец-9-еноил]пропана (7а). К 248 мг (0.41 ммоль) соединения **6а** добавляли 70 мг (6.14 ммоль) ТФА в 3 мл хлористого метилена. Перемешивали 3 ч при 0 °C. Затем реакционную массу промывали 10%-ным раствором гидрокарбоната натрия и водой. Органический остаток сушили сульфатом натрия, растворитель отгоняли в вакууме. Получили 201.8 мг (97.5%) продукта.

Диамид N-(2-аминоэтил)-2-додecil-N'-[(9Z)-октадец-9-еноил]пропана (7б). Аналогично: из 135 мг (0.20 ммоль) соединения **6б** и 35 мг (3.07 ммоль) ТФА. Выход продукта 110.4 мг (96.0%).

Диамид N-(2-аминоэтил)-2-октадецил-N'-[(9Z)-октадец-9-еноил]пропана (7с). Аналогично: из 169 мг (0.23 ммоль) соединения **6с** и 39 мг (3.42 ммоль) ТФА. Выход продукта 142.6 мг (97.0%).

Диамид *N'*-2-[(2,5-ди(*N*-трет-бутоксикарбонил)-амино-1-оксопентил)амино]этил-2-октил-*N*-[(9*Z*)-октадец-9-еноил]пропана (**8a**). К охлажденному до 0 °С раствору 250 мг (0.49 ммоль) соединения **7a** в безводном хлористом метиле при перемешивании добавляли 133 мг (0.99 ммоль) НОВТ и раствор 203 мг (0.99 ммоль) DCC. Затем к раствору добавляли 196 мг (0.59 ммоль) Вос-защищенного орнитина в безводном дихлорметане. Смесь выдерживали 2 ч при охлаждении и перемешивали 24 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывали. Растворитель отгоняли на роторном испарителе. Продукт выделяли колоночной хроматографией в системе тетрахлорметан : метанол (40 : 1). Получили 219 мг (54.1%) продукта.

¹H ЯМР-спектр соединения **8a** (CDCl₃, δ, м.д.): 0.85 (т, 6H, 2CH₃), 1.21 (м, 34H, -CH₂CH₃), 1.43 (с, 18H, 6CH₃), 1.54 (м, 2H, -NHCH₂CH₂-), 1.69 (м, 4H, -CHCH₂CH₂CH₂NHCO-), 1.93 (м, 6H, -CHCH₂-, -CH₂CH=CHCH₂-), 3.08 (м, 2H, -CH₂NHCO), 3.20 (м, 3H, -CH-, -CH₂NHCO-), 3.46 (м, 5H, -CH-, -OCNHCH₂-CH₂NHCO-), 4.10 (м, 1H, -NH-), 4.89 (м, 1H, -NH-), 5.23 (м, 1H, -NH-), 5.33 (м, 2H, -CH=CH-), 6.96 (м, 1H, -NH-), 7.37 (м, 1H, -NH-).

Диамид *N'*-2-[(2,5-ди(*N*-трет-бутоксикарбонил)-амино-1-оксопентил)амино]этил-2-додецил-*N*-[(9*Z*)-октадец-9-еноил]пропана (**8b**). Аналогично: из 141 мг (0.25 ммоль) соединения **7b**, 68 мг (0.5 ммоль) НОВТ, 103 мг (0.5 ммоль) DCC и 100 мг (0.3 ммоль) Вос-защищенного орнитина. Выход продукта 166 мг (75.5%).

¹H ЯМР-спектр соединения **8b** (CDCl₃, δ, м.д.): 0.87 (т, 6H, 2CH₃), 1.24 (м, 42H, -CH₂CH₃), 1.43 (с, 18H, 6CH₃), 1.54 (м, 2H, -NHCH₂CH₂-), 1.69 (м, 4H, -CHCH₂CH₂CH₂NHCO-), 1.92 (м, 6H, -CHCH₂-, -CH₂CH=CHCH₂-), 3.06 (м, 2H, -CH₂NHCO), 3.19 (м, 3H, -CH-, -CH₂NHCO-), 3.44 (м, 5H, -CH-, -OCNHCH₂-CH₂NHCO-), 4.10 (м, 1H, -NH-), 4.87 (м, 1H, -NH-), 5.20 (м, 1H, -NH-), 5.33 (м, 2H, -CH=CH-), 6.94 (м, 1H, -NH-), 7.36 (м, 1H, -NH-).

Диамид *N'*-2-[(2,5-ди(*N*-трет-бутоксикарбонил)-амино-1-оксопентил)амино]этил-2-октадецил-*N*-[(9*Z*)-октадец-9-еноил]пропана (**8c**). Аналогично: из 159 мг (0.25 ммоль) соединения **7c**, 66 мг (0.49 ммоль) НОВТ, 101 мг (0.49 ммоль) DCC и 97 мг (0.29 ммоль) Вос-защищенного орнитина. Выход продукта 158.8 мг (67.3%).

¹H ЯМР-спектр соединения **8c** (CDCl₃, δ, м.д.): 0.87 (т, 6H, 2CH₃), 1.20 (м, 54H, -CH₂CH₃), 1.46 (с, 18H, 6CH₃), 1.59 (м, 2H, -NHCH₂CH₂-), 1.70 (м, 4H, -CHCH₂CH₂CH₂NHCO-), 1.92 (м, 6H, -CHCH₂-, -CH₂CH=CHCH₂-), 3.07 (м, 2H, -CH₂NHCO), 3.26 (м, 3H, -CH-, -CH₂NHCO-), 3.45 (м, 5H, -CH-, -OCNHCH₂-CH₂NHCO-), 4.15 (м, 1H, -NH-), 4.88 (м, 1H, -NH-), 5.25 (м, 1H, -NH-), 5.33 (м, 2H, -CH=CH-), 6.94 (м, 1H, -NH-), 7.38 (м, 1H, -NH-).

Диамид *N'*-2-[(2,5-диамино-1-оксопентил)амино]-этил-2-октил-*N*-[(9*Z*)-октадец-9-еноил]пропана (**9a**). К 5 мл раствора 208 мг (0.25 ммоль) соединения **8a** в хлористом метиле добавляли 1.59 г (13.95 ммоль) TFA в 1 мл хлористого метилена. Перемешивали 3 ч при 0 °С. Растворитель и избыток кислоты отгоняли на вакуумном роторном испарителе. Получили 213 мг (99.1%) продукта. Найдено, %: С 56.19; Н 8.25; N 7.95. C₄₀H₇₃N₅O₇F₆. Вычислено, %: С 56.54; Н 8.60; N 8.25.

Диамид *N'*-2-[(2,5-диамино-1-оксопентил)амино]-этил-2-додецил-*N*-[(9*Z*)-октадец-9-еноил]пропана (**9b**). Аналогично: из 64 мг (0.07 ммоль) соединения **8b** и 915 мг (8.03 ммоль) TFA. Выход продукта 65 мг (98.5%). Найдено, %: С 57.89; Н 8.43; N 7.83. C₄₄H₈₁N₅O₇F₆. Вычислено, %: С 58.34; Н 8.95; N 7.74.

Диамид *N'*-2-[(2,5-диамино-1-оксопентил)амино]-этил-2-октадецил-*N*-[(9*Z*)-октадец-9-еноил]пропана (**9c**). Аналогично: из 58 мг (0.06 ммоль) соединения **8c** и 1.1 г (9.65 ммоль) TFA. Выход продукта 59 мг (98.3%). Найдено, %: С 60.32; Н 9.14; N 6.82. C₅₀H₉₃N₅O₇F₆. Вычислено, %: С 60.67; Н 9.40; N 7.08.

Приготовление липосомальных дисперсий

Получали липосомы двух видов: из чистого катионного липида и из смеси катионного липида с холестерином в соотношении 7 : 3. Каждый тип липидной композиции массой 4 мг растворяли в хлороформе. Растворитель отгоняли на вакуумном роторном испарителе до образования тонкой липидной пленки. Полученные пленки сушили в вакууме в течение 3 ч и затем гидратировали 2 мл дистиллированной воды при комнатной температуре. Гидратированные пленки встряхивали и обрабатывали в ультразвуковой бане (2 × 30 мин) при 40 °С. Распределение частиц по размерам оценивали с помощью фотонно-корреляционной спектроскопии, которая основана на принципах динамического светорассеяния, на анализаторе размеров частиц Photocor Compact-Z (Россия).

Трансфекция плазмидной ДНК

Накануне трансфекции клетки высаживали в планшет в количестве 7 × 10⁵ клеток на лунку в 300 мкл полной питательной среды DMEM и инкубировали 24 ч при 37 °С в CO₂ инкубаторе до достижения монослоя. Дисперсию трансфекционного агента общим объемом 80 мкл, состоящего из 1.177 мкл плазмиды pGL3 и 9 мкл липосомальной дисперсии, готовили в бессывороточной среде OPTIMEM (соотношение N : P = 16 : 1). В качестве положительного контроля использовали коммерческий трансфекционный агент Lipofectamine 2000 (Thermo Fisher Scientific, США). В качестве отрицательного контроля использовали «голую» плазмиду. Приготовленные смеси выдерживали 20 мин при комнатной температуре и наносили на

монослой клеток в лунках. Клетки инкубировали при 37 °С в CO₂ инкубаторе в течение 24 ч и затем определяли активность с помощью люциферазного теста.

Люциферазный тест

Тест проводили с использованием коммерческого набора Luciferase Assay System (*Promega Corporation*, США). Для этого удаляли ростовую среду из лунок, затем добавляли 70 мкл лизирующего буфера Glo Lysis Buffer, 1X (*Promega Corporation*, США). Клетки выдерживали 15 мин при 37 °С в CO₂ инкубаторе для достижения полного лизиса. Затем отбирали их со дна ячеек и переносили клеточную суспензию в пластмассовые пробирки (*Eppendorf*, Германия). Для осаждения клеточного дебриса полученный лизат центрифугировали 3 мин при 10 000 об/мин. Отбирали по 50 мкл супернатанта и добавляли люциферазный субстрат в соотношении 1 : 1. Эффективность трансфекции оценивали по уровню люминесценции на приборе GloMax 20/20 Luminometer (США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе были синтезированы амиды малоновой кислоты. Исходным соединением в синтезе являлся диэтиловый эфир малоновой кислоты. Подвижность водородов α-метиленового звена и их повышенная кислотность в данной молекуле позволяют достаточно легко проводить реакцию C-алкилирования, в результате которой происходит присоединение первой гидрофобной цепи. Для этого использовали бромиды C₈H₁₇Br, C₁₂H₂₅Br и C₁₈H₃₇Br, тем самым получали три соответствующих катионных липида, различающихся длиной гидрофобного блока.

Из литературы известно о влиянии эффекта асимметрии и присутствия в гидрофобном блоке остатков ненасыщенных высших жирных кислот на эффективность трансфекции [3]. Поэтому в качестве второй гидрофобной цепи использовали N-олеил-амин, который присоединяли по карбоксильной группе малоновой кислоты путем образования амидной связи. Полярная головная группа сначала была представлена этилендиамином, который присоединяли по оставшейся карбоксильной группе малоновой кислоты также путем формирования амидной связи. Далее к этилендиамину присоединяли природную аминокислоту L-орнитин для получения катионных липидов с двумя положительными зарядами в головной группе.

Исследовали физико-химические свойства полученных одно- и двухкомпонентных липосомальных дисперсий (катионный липид и смесь катионного липида с холестерином в соотношении 7 : 3), определя-

ли размеры частиц, дзета-потенциал и эффективность трансфекции. Размеры частиц практически не изменялись при добавлении к липиду холестерина и находились в пределах 100 нм, что необходимо для эффективной трансфекции (рис. 1). Величина дзета-потенциала композиций составила 29–30 мВ. Значения этого параметра на уровне 30 мВ означают стабильность полученных частиц – то есть их устойчивость по отношению к агрегации [18].

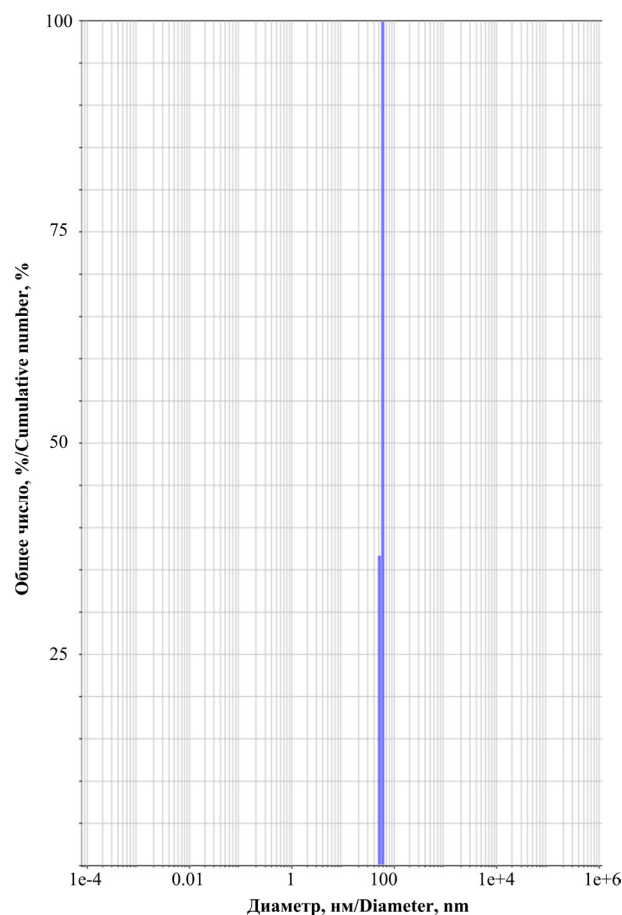


Рис. 1. Распределение частиц дисперсии на основе соединения **7b** по размерам.

Fig. 1. Size distribution of dispersion particles based on compound **7b**.

Изучение эффективности трансфекции полученных липосом осуществляли на линии клеток HeLa (клетки рака шейки матки), оценивая уровень свечения в клеточных супернатантах исследуемых образцов после доставки плазмиды pGL3, кодирующей ген люциферазы. В качестве положительного контроля использовали коммерчески доступный агент трансфекции Lipofectamine 2000, а в качестве отрицательного – «голую» плазмиду. Было установлено, что образец **7b**, в котором к катионному липиду был добавлен холестерин, показал хороший результат, практически достигнув уровня трансфекционной активности Lipofectamine 2000 (рис. 2).

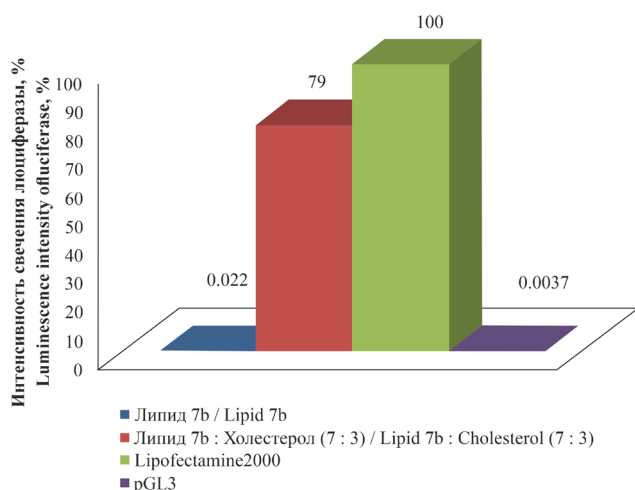


Рис. 2. Эффективность трансфекции полученных липосом.

Fig. 2. Transfection efficiency for obtained liposomes.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана схема синтеза и получены новые катионные амфифилы с несимметричным гидрофобным блоком; сформированы липосомальные дисперсии, изучены их физико-химические свойства и трансфекционная активность. Полученные результаты свидетельствуют о большом потенциале амидов

малоновой кислоты для создания нового класса катионных амфифилов, которые могут быть использованы в качестве агентов трансфекции.

Финансовая поддержка

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 19-04-00775).

Financial support

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project No. 19-04-00775.

Вклад авторов

Н.А. Романова – проведение исследований, сбор и предоставление материала, написание статьи;

У.А. Буданова – консультация при проведении отдельных этапов исследования, научное редактирование;

Ю.Л. Себякин – разработка концепции научной работы, обзор литературы.

Authors' contribution

N.A. Romanova – carrying out the study, collection and provision of the material, writing the article;

U.A. Budanova – consultation on conducting individual stages of the study, scientific editing;

Yu.L. Sebyakin – development of the research idea, literature analysis.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- O'Connor T.P., Crystal R.G. Genetic medicines: treatment strategies for hereditary disorders. *Nat. Rev. Genet.* 2006;7(4):261-276. <https://doi.org/10.1038/nrg1829>
- Maeder M.L., Gersbach C.A. Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy. *Mol. Ther.* 2016;24(3):430-446. <https://doi.org/10.1038/mt.2016.10>
- Tassler S., Pawlowska D., Janich C., Dobner B., Wölk C., Brezesinski G. Lysine-based amino-functionalized lipids for gene transfection: the influence of the chain composition on 2D properties. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2018;20(10):6936-6944. <https://doi.org/10.1039/c8cp00047f>
- Sheridan C. Gene therapy finds its niche. *Nat. Biotechnol.* 2011;29(2):121-128. <https://doi.org/10.1038/nbt.1769>
- Wagner E. Polymers for siRNA Delivery: Inspired by Viruses to be Targeted, Dynamic, and Precise. *Acc. Chem. Res.* 2012;45(7):1005-1013. <https://doi.org/10.1021/ar2002232>
- Crystal R.G. Transfer of Genes to Humans: Early Lessons and Obstacles to Success. *Science.* 1995;270(5235):404-410. <https://doi.org/10.1126/science.270.5235.404>

- Dittrich M., Brauer C., Funari S.S., Dobner B., Brezesinski G., Wölk C. Interactions of Cationic Lipids with DNA: A Structural Approach. *Langmuir.* 2018;34(49):14858-14868. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b01635>
- Sen J., Chaudhuri A. Design, Syntheses, and Transfection Biology of Novel Non-Cholesterol-Based Guanidinylated Cationic Lipids. *J. Med. Chem.* 2005;48(3):812-820. <https://doi.org/10.1021/jm049417w>
- Antipina M.N., Schulze I., Heinze M., Dobner B., Langner A., Brezesinski G. Physical-Chemical Properties and Transfection Activity of Cationic Lipid/DNA Complexes. *ChemPhysChem.* 2009;10(14):2471-2479. <https://doi.org/10.1002/cphc.200900069>
- Wölk C., Heinze M., Kreideweiss P., Dittrich M., Brezesinski G., Langner A., Dobner B. Synthesis and DNA transfection properties of new head group modified malonic acid diamides. *Int. J. Pharm.* 2011;409(1-2):46-56. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.02.022>
- Wölk C., Janich C., Bakowsky U., Langner A., Brezesinski G. Malonic acid based cationic lipids – The way to highly efficient DNA-carriers. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2017;248:20-34. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.08.003>

12. Jones C.H., Chen C.K., Ravikrishnan A., Rane S., Pfeifer B.A. Overcoming Nonviral Gene Delivery Barriers: Perspective and Future. *Mol. Pharm.* 2013;10(11):4082-4098.

<https://doi.org/10.1021/mp400467x>

13. Janich C., Taßler S., Meister A., Hause G., Schäfer J., Bakowsky U., Brezesinski G., Wölk C. Structures of malonic acid diamide/phospholipid composites and their lipoplexes. *Soft Matter*. 2016;12(27):5854-5866.

<https://doi.org/10.1039/C6SM00807K>

14. Ahmad A., Evans H.M., Ewert K., George C.X., Samuel C.E., Safinya C.R. New multivalent cationic lipids reveal bell curve for transfection efficiency versus membrane charge density: lipid-DNA complexes for gene delivery. *J. Gene Med.* 2005;7(6):739-748.

<https://doi.org/10.1002/jgm.717>

15. Серебренникова Г.А., Маслов М.А., Морозова Н.Г. Модульные транспортные системы на основе катионных и нейтральных амфифилов для генной терапии. *Тонкие химические технологии*. 2011;6(5):72-86.

[Serebrennikova G.A., Maslov M.A., Morozova N.G. Modular transport systems based on cationic and neutral amphiphiles for gene therapy. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2011;6(5):72-86 (in Russ.).]

16. 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;14(3):42-49.

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

[Denieva Z.G., Budanova U.A., Sebyakin Y.L. Synthesis of Cationic and Ionizable Amphiphiles Based on Heminal Aminodiols as Potential siRNA Delivery Systems. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2019;14(3):42-49 (in Russ.).]

17. Heinze M., Brezesinski G., Dobner B., Langner A. Novel Cationic Lipids Based on Malonic Acid Amides Backbone: Transfection Efficacy and Cell Toxicity Properties. *Bioconjug. Chem.* 2010;21(4):696-708.

<https://doi.org/10.1021/bc9004624>

18. Buck J., Grossen P., Cullis P.R., Huwyler J., Witzigmann D. Lipid-Based DNA Therapeutics: Hallmarks of Non-Viral Gene Delivery. *ACS Nano*. 2019;13(4):3754-3782.

<https://doi.org/10.1021/acsnano.8b07858>

Об авторах:

Романова Надежда Александровна, магистрант кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). <https://orcid.org/0000-0001-5073-2873>

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 им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: c-221@yandex.ru. Scopus Author ID 14622352500, ResearcherID E-1659-2014, <https://orcid.org/0000-0003-1702-9435>

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

About the authors:

Nadezhda A. Romanova, Master Student, N.A. Preobrazhensky Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medicinal and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). <https://orcid.org/0000-0001-5073-2873>

Ulyana A. Budanova, Cand. of Sci. (Chemistry), Assistant, N.A. Preobrazhensky Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medicinal and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: c-221@yandex.ru. Scopus Author ID 14622352500, ResearcherID E-1659-2014, <https://orcid.org/0000-0003-1702-9435>

Yury L. Sebyakin, Dr. of Sci. (Chemistry), Professor, N.A. Preobrazhensky Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medicinal 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>

Поступила: 18.02.2020; получена после доработки: 15.06.2020; принята к опубликованию: 07.08.2020.
The article was submitted: February 18, 2020; approved after reviewing: June 15, 2020; accepted for publication: August 07, 2020.