



УДК 547.426.2.057

ПОЛУЧЕНИЕ КАТИОННЫХ АМФИФИЛОВ НА ОСНОВЕ ДЕЗОКСИХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

© 2004 г. Т. В. Соколова[#], М. А. Маслов, Г. А. Серебrenникова

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,
119571, Москва, просп. Вернадского, 86

Поступила в редакцию 10.07.2003 г. Принята к печати 15.08.2003 г.

Осуществлен синтез катионных производных дезоксихолевой кислоты, в которых полярные головки представлены остатками *N*-(*N,N,N*-триметиламмонийэтил)карбаминовой, ϵ -аминокапроновой и ϵ -(*N*-пиридиин)капроновой кислоты, присоединенными к 3 α - и 12 α -гидроксилам стероида сложнoэфирными связями. Встраивание синтезированных соединений в липосомы позволяет использовать их для доставки генетического материала в клетки.

Ключевые слова: дезоксихолевая кислота; катионные амфифилы; трансфекция.

ВВЕДЕНИЕ

За последние годы возрос интерес к принципиально новым технологиям, позволяющим осуществлять адресную доставку новых блоков генетической информации в дефектные клетки для последующей экспрессии. В современной медицине известно несколько сот заболеваний, непосредственно связанных с нарушениями функционирования генов [1, 2]. Такие дефекты могут быть исправлены, если в клетки соответствующих органов и тканей направленно вводит генетический материал, который был бы специальным образом сконструирован и мог бы обеспечить синтез недостающего белка. Генная терапия, занимающаяся введением в организм ДНК, мРНК или олигонуклеотидов с лечебными целями, представляет собой одно из направлений современной медицины [3, 4].

Доставка генетического материала в клетку (трансфекция) – необходимый этап генной терапии. Для ее реализации используют различные молекулярные конструкции вирусного и невирусного происхождения. Одним из современных методов, обладающих высоким терапевтическим потенциалом, является метод липофекции, который основан на применении положительно заряженных липосом. Он перспективен в связи с биодеградируемостью липосом и минимальной вероятностью инициации иммунного ответа или воспалительной реакции [5–7]. Для решения прикладных задач наиболее перспективны метаболизируемые липиды с минимальной цитотоксичностью, поиск которых целесообразно проводить в ряду модифицированных природных липидов [8].

Среди используемых в настоящее время катионных липидов различных типов заметное место занимают соединения, гидрофобная часть которых представлена производными стероидного ряда. В ходе исследований было установлено, что структура стероида оказывает существенное влияние на эффективность трансфекции ДНК [9, 10].

Дальнейшее изучение положительно заряженных липидов, в частности производных холестерина и желчных кислот, может привести к созданию эффективных систем для введения в клетку различных биологически активных веществ: нуклеозидов, олиго- и полинуклеотидов, гормонов, белков и других природных и синтетических макромолекул с отрицательно заряженным фрагментом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Развивая исследования по синтезу катионных амфифилов на основе холестерина [3], мы описываем в этой статье получение новых представителей класса катионных липидов на основе дезоксихолевой кислоты (I). Использование в качестве гидрофобной части молекулы дезоксихолевой кислоты, являющейся полифункциональным соединением, позволяет получать катионные амфифилы, содержащие несколько положительно заряженных групп. Такой подход может оказать влияние на эффективность трансфекции, поскольку устойчивость комплексов липосома–ДНК (геносома) зависит от плотности положительного заряда на поверхности липосом [6, 7].

Мы синтезировали катионные производные дезоксихолевой кислоты с различными способами присоединения полярной группировки к стероидной части молекулы. В качестве исходных

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 434-85-44; эл. почта: httos.mitht@g23.relcom.ru).

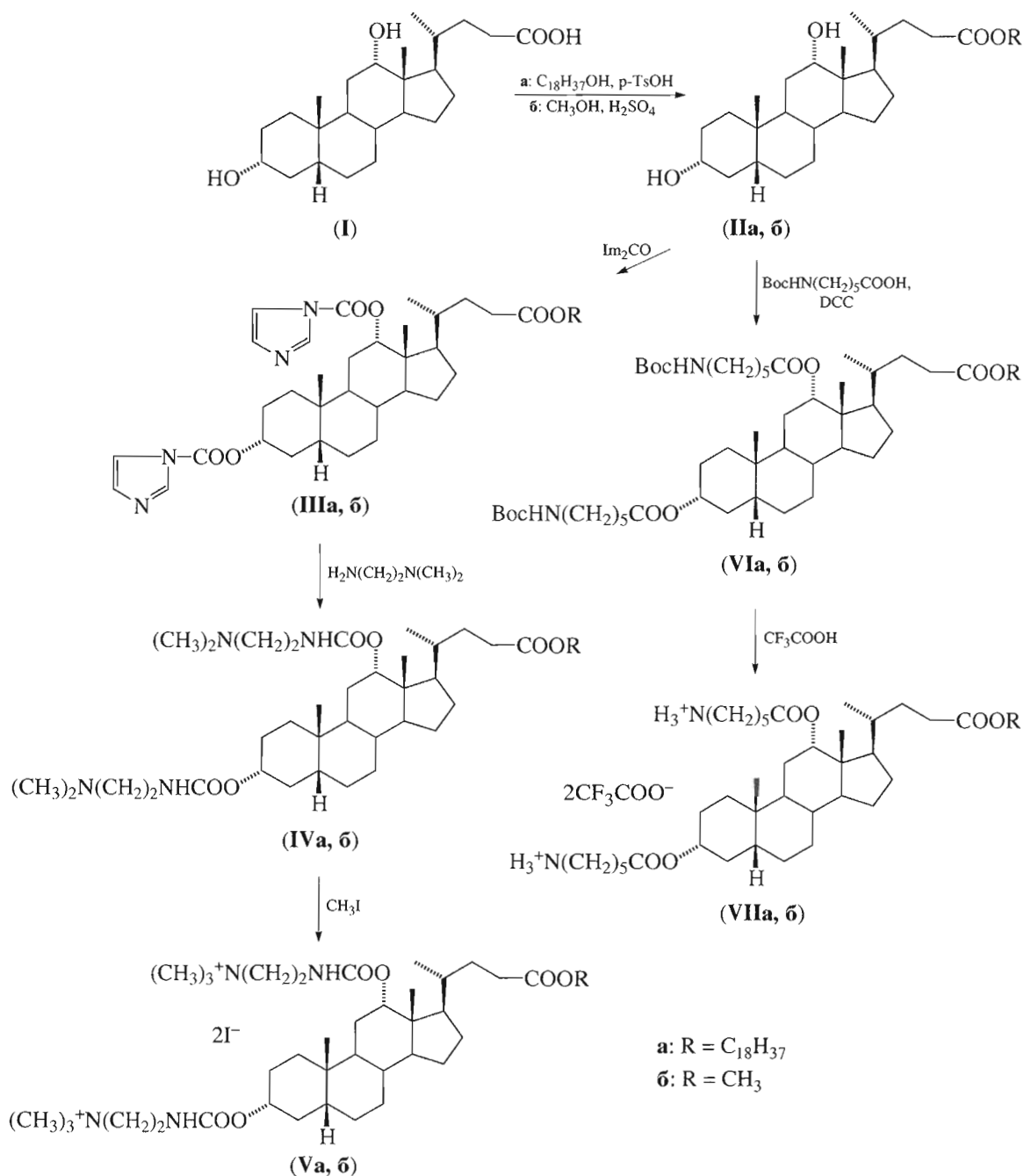


Схема 1.

соединений использовали октадецилдезоксихолат (**IIa**) и метилдезоксихолат (**IIб**), что обеспечивало защиту карбоксильной группы, необходимой для проведения последующих превращений, а также позволяло изменять общую гидрофобность молекулы, влияющую, по-видимому, на эффективность трансфекции.

С целью выявления взаимосвязи между структурой и биологической активностью мы синтезировали катионные липиды (**Va**) и (**Vб**) (схема 1), в

которых азотистое основание присоединяли к молекулам эфиров дезоксихолево́й кислоты более стабильной в биологических средах уретановой связью (схема 1). При взаимодействии октадецилдезоксихолат (**IIa**) и метилдезоксихолат (**IIб**) с 1,1'-карбонилдиимидазолом в хлористом метиле при катализе триэтиламино́м были получены октадециловый и метиловый эфиры 3α,12α-бис(1-имидазолилкарбонилокси)-5β-холан-24-овой кислоты (**IIIa**) и (**IIIб**) с выходами 93–97%. Затем эти

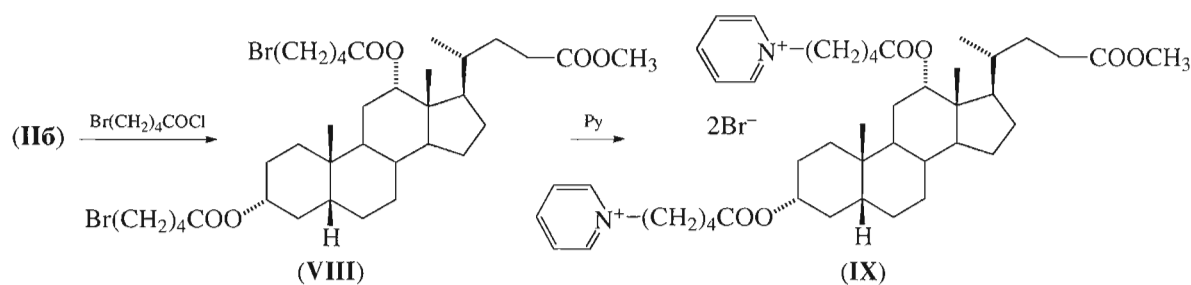


Схема 2.

соединения вводили в реакцию с *N,N*-диметилендиамином в хлористом метиле и получали третичные амины (IVa) и (IVб) с выходами 62 и 66% соответственно. Соединения (IVa), (IVб) подвергали взаимодействию с йодистым метилом и после хроматографической очистки выделяли дийодиды октадецил-3 α ,12 α -бис(*N,N,N*-триметиламмониетилкарбамоилокси)-5 β -холан-24-оата (Va) и метил-3 α ,12 α -бис(*N,N,N*-триметиламмониетилкарбамоилокси)-5 β -холан-24-оата (Vб) с выходами 70 и 88%.

Синтез катионных липидов (VIIa) и (VIIб), содержащих в полярной головке группу NH_3^+ , мы осуществляли путем DCC-катализируемого ацилирования исходных эфиров дезоксихолевой кислоты (IIa) и (IIб) *N*-Вос- ϵ -аминокапроновой кислотой в хлористом метиле. Выходы продуктов ацилирования (VIa) и (VIб) составили 58 и 64% соответственно. Последующее удаление Вос-защитной группы трифторуксусной кислотой в хлороформе приводило к бистрифторацетатам октадецил-3 α ,12 α -бис(ϵ -аммиокапроноилокси)-5 β -холан-24-оата (VIIa) и метил-3 α ,12 α -бис(ϵ -аммиокапроноилокси)-5 β -холан-24-оата (VIIб) с выходами 74 и 90%.

Наряду с соединениями, содержащими алифатические полярные головки, мы синтезировали катионный липид (IX) с пиридиновым остатком (схема 2). С этой целью в метилдезоксихолат (IIб) вводили спейсерную группу реакцией с хлорангидридом 5-бромвалериановой кислоты. Соединение (VIII), полученное с выходом 81%, нагревали в безводном пиридине, что приводило к катионному липиду (IX) с выходом 90%.

Индивидуальность и строение всех синтезированных соединений подтверждали их ^1H -ЯМР- и масс-спектрами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали следующие растворители и реагенты: DMSO, *N,N*-диметилендиамин, ϵ -аминокапроновую кислоту (Sigma, США), карбонилдиимидазол (Across, Бельгия), NaI (Merck, Германия) и триэтиламин (Вектон, Россия). Спектры

^1H -ЯМР регистрировали на импульсном Фурье-спектрометрах Bruker MSL-200 (200.13 МГц) и Bruker MSL-300 (300.13 МГц) в дейтерохлороформе, внутренний стандарт – тетраметилсилан; приведены химические сдвиги в миллионных долях и КССВ в герцах. Масс-спектры измеряли на времяпролетном масс-спектрометре Finnigan MAT 900XL-TRAP (San Jose, CA, США) при ионизации электрораспылением (ESI MS). Для ТСХ использовали Silufol UV-254 (Chemapol, Чехия); вещества обнаруживали на хроматограммах обработкой пластинок 10% раствором фосфорномолибденовой кислоты с последующим нагреванием. Системы растворителей для ТСХ: хлороформ–метанол, 10 : 1 (А), хлороформ–метанол, 7 : 1 (Б), хлороформ–метанол, 5 : 1 (В), хлороформ–метанол–вода, 65 : 25 : 4 (Г). Для колоночной хроматографии применяли силикагель L 40/100 мкм (Chemapol, Чехия).

Октадецилдезоксихолат (IIa). Дезоксихолевою кислоту (I) (0.70 г, 1.7 ммоль) сплавляли с 0.72 г (2.6 ммоль) октадеканолом в присутствии 0.37 г (2.1 ммоль) *n*-толуолсульфокислоты в течение 2 ч при 100°C. Остаток хроматографировали на колонке, элюируя хлороформом. Выход продукта (IIa) 0.76 г (70%), R_f 0.77 (А), спектр ^1H -ЯМР: 0.65 (3 H, с, CH_3 -18), 0.84 (3 H, т, J 6.8, $(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$), 0.87 (3 H, с, CH_3 -19), 0.90 (3 H, д, J 6.7, CH_3 -21), 1.05–1.89 (58 H, м, стероидные CH , CH_2 , $\text{COOCH}_2(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$), 2.25 (1 H, ддд, J 7.0, 9.3 и 15.1, H23a) и 2.38 (1 H, ддд, J 5.2, 9.8 и 15.1, H23b), 3.62 (1 H, м, H3), 3.98 (1 H, м, H12), 4.06 (2 H, т, J 6.9, COOCH_2).

Метилдезоксихолат (IIб). К 0.50 г (1.2 ммоль) дезоксихолату натрия в 6 мл метанола прибавляли 0.09 мл конц. H_2SO_4 . Реакционную смесь кипятили 3 ч, нейтрализовали метанольным раствором КОН до pH 6 и упаривали. Остаток растворяли в хлороформе, раствор промывали водой (2 \times 15 мл) и сушили Na_2SO_4 . Остаток хроматографировали на колонке, элюируя хлороформом. Выход соединения (IIб) 0.450 г (91%), R_f 0.68 (В), спектр ^1H -ЯМР: 0.65 (3 H, с, CH_3 -18), 0.86 (3 H, с, CH_3 -19), 0.90 (3 H, д, J 6.9, CH_3 -21), 0.99–1.89 (24 H, м, стероидные CH , CH_2), 2.22 (1 H, ддд, J 6.8, 9.0 и 15.4, H23a) и 2.35 (1 H, ддд, J 5.1, 9.8 и 15.4, H23b), 3.59 (1 H, м, H3), 3.63 (3 H, с, OCH_3), 3.92 (1 H, м, H12).

Октадецил-3 α ,12 α -бис(1-имидазолилкарбонил-оксид)-5 β -холан-24-оат (IIIa). Раствор 0.300 г (0.5 ммоль) октадецилового эфира дезоксихоловой кислоты (IIa), 0.300 г (1.8 ммоль) 1,1'-карбонилдимидазола и 0.19 мл триэтиламина в 2 мл хлористого метилена перемешивали 3 ч при 40°C и упаривали. Остаток растворяли в 15 мл хлороформа, промывали 3% HCl (2 \times 5 мл), водой, сушили Na₂SO₄ и хроматографировали на колонке, элюируя смесью хлороформ–метанол (30 : 1). Выход соединения (IIIa) 0.360 г (93%); *R_f* 0.81 (B); ¹H-ЯМР-спектр: 0.79 (3 H, с, CH₃-18), 0.84 (3H, д, *J* 6.7, CH₃-21), 0.87 (3 H, т, *J* 6.8, (CH₂)₁₆CH₃), 0.90 (3 H, с, CH₃-19), 1.15–2.00 (58 H, м, COOCH₂(CH₂)₁₆CH₃, стероидные CH, CH₂), 2.15 (1 H, ддд, *J* 7.3, 9.0 и 15.4, H23a), 2.27 (1 H, ддд, *J* 5.5, 9.8 и 15.4, H23b), 4.00 (2 H, т, *J* 6.9, COOCH₂), 4.85 (1 H, м, H3), 5.32 (1 H, м, H12), 7.05–7.12 (2 H, м, Im), 7.32–7.47 (2 H, м, Im), 8.05–8.19 (2 H, м, Im).

Метил-3 α ,12 α -бис(1-имидазолилкарбонил-оксид)-5 β -холан-24-оат (IIIб). Раствор 0.300 г (0.7 ммоль) метилдезоксихолата (IIб), 0.479 г (2.9 ммоль) 1,1'-карбонилдимидазола и 0.2 мл триэтиламина в 2 мл хлористого метилена перемешивали 5 ч при 40°C и упаривали. Остаток растворяли в 2 мл хлороформа, промывали 3% HCl (2 \times 5 мл), водой, сушили Na₂SO₄ и хроматографировали на колонке, элюируя смесью хлороформ–метанол (30 : 1). Выход эфира (IIIб) 0.428 г (97%); т. пл. 55–56°C; *R_f* 0.56 (A); ¹H-ЯМР-спектр: 0.80 (3 H, с, CH₃-18), 0.84 (3 H, д, *J* 6.7, CH₃-21), 0.95 (3 H, с, CH₃-19), 1.01–1.99 (26 H, м, стероидные CH, CH₂), 2.22 (1 H, ддд, *J* 6.9, 9.0 и 15.4, H23a), 2.35 (1 H, ддд, *J* 5.3, 9.8 и 15.4, H23b), 3.63 (3 H, с, OCH₃), 4.83 (1 H, м, H3), 5.35 (1 H, м, H12), 7.01–7.12 (2 H, м, Im), 7.32–7.46 (2 H, м, Im), 8.05–8.19 (2 H, м, Im).

Октадецил-3 α ,12 α -бис(*N,N*-диметиламиноэтилкарбамоилокси)-5 β -холан-24-оат (IVa). Раствор 0.4 г (0.5 ммоль) соединения (IIIa) и 0.2 мл *N,N*-диметилендиамин в 3 мл хлористого метилена перемешивали 4 ч при 15–20°C, разбавляли 15 мл хлористого метилена, промывали 5% KOH (2 \times 8 мл) и водой (2 \times 15 мл), сушили Na₂SO₄ и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке, последовательно элюируя смесями хлороформ–метанол 50 : 1, 25 : 1 и 10 : 1. Выход эфира (IVa) 0.267 г (62%); *R_f* 0.33 (Г); масс-спектр (*m/z*): 876.2 [*M* + H]⁺; ¹H-ЯМР-спектр: 0.68 (3 H, с, CH₃-18), 0.81–2.0 (67 H, м, CH₃-19, CH₃-21, COOCH₂(CH₂)₁₆CH₃, стероидные CH, CH₂), 2.07–2.38 (2 H, м, H23), 2.58 (12 H, с, 2N(CH₃)₂), 2.75–2.88 (4 H, м, 2CH₂N(CH₃)₂), 3.40–3.52 (4 H, м, 2NHCH₂), 4.05 (2 H, т, *J* 6.9, COOCH₂), 4.6 (1 H, м, H3), 4.95 (1 H, м, H12), 5.85 (1 H, м), 6.01 (1 H, м, 2NH).

Метил-3 α ,12 α -бис(*N,N*-диметиламиноэтилкарбамоилокси)-5 β -холан-24-оат (IVб). Раствор 0.400 г (0.67 ммоль) соединения (IIIб) и 0.23 мл (2.0 ммоль) *N,N*-диметилендиамин в 2.5 мл хлористого

метилена перемешивали 8 ч при 25°C, разбавляли 6 мл хлористого метилена, промывали 5% KOH (2 \times 8 мл), сушили Na₂SO₄ и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке, последовательно элюируя хлороформом и смесями хлороформ–метанол 30 : 1, 10 : 1 и 5 : 1. Выход эфира (IVб) 0.280 г (66%); *R_f* 0.28 (B); масс-спектр, *m/z*: 634.9 [*M* + H]⁺; ¹H-ЯМР-спектр: 0.65 (3 H, с, CH₃-18), 0.84 (3 H, д, *J* 6.7, CH₃-21), 0.88 (3 H, с, CH₃-19), 0.92–1.99 (26 H, м, стероидные CH, CH₂), 2.20 (6 H, с, N(CH₃)₂), 2.24 (6 H, с, N(CH₃)₂), 2.30–2.48 (6 H, м, 23-CH₂, 2CH₂N(CH₃)₂), 3.18–3.30 (4 H, м, 2NHCH₂), 3.64 (3 H, с, OCH₃), 4.55 (1 H, м, H3), 4.92 (1 H, м, H12), 5.05–5.20 (2 H, 2 м, NH).

Октадецил-3 α ,12 α -бис(*N,N,N*-триметиламиноэтилкарбамоилокси)-5 β -холан-24-оат, диодид (Va). К раствору 0.065 г (0.07 ммоль) третичного амина (IVa) в 2 мл DMSO прибавили 0.12 мл метилйодида. Реакционную смесь перемешивали 8 ч при 70°C, разбавляли 15 мл хлороформа, промывали водой (2 \times 15 мл), сушили Na₂SO₄ и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке, последовательно элюируя смесями хлороформ–метанол 10 : 1 и 5 : 1. Выход четвертичного йодида (Va) 0.060 г (70%); *R_f* 0.32 (Г); ¹H-ЯМР-спектр: 0.65 (3 H, с, CH₃-18), 0.68 (3 H, д, *J* 6.7, CH₃-21), 0.85 (3 H, т, *J* 6.8, (CH₂)₁₆CH₃), 0.89 (3 H, с, CH₃-19), 0.92–1.95 (56 H, м, COOCH₂(CH₂)₁₆CH₃, стероидные CH, CH₂), 2.14–2.42 (2 H, м, H23), 3.44 (18 H, с, 2N⁺(CH₃)₃), 3.65–3.89 (8 H, м, 2CH₂N(CH₃)₂, 2NHCH₂), 4.01 (2 H, т, *J* 6.9, COOCH₂), 4.54 (1 H, м, H3), 4.92 (1 H, м, H12), 6.09 (1 H, м, NH), 6.44 (1 H, м, NH).

Метил-3 α ,12 α -бис(*N,N,N*-триметиламиноэтилкарбамоилокси)-5 β -холан-24-оат, диодид (Vб). К раствору 0.035 г (0.05 ммоль) третичного амина (IVб) в 1 мл метилэтилкетона прибавляли 0.08 мл (0.5 ммоль) метилйодида, смесь перемешивали 4 ч при 60°C и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке, последовательно элюируя смесями хлороформ–метанол 10 : 1 и 5 : 1. Выход четвертичного йодида (Vб) 0.045 г (88%); *R_f* 0.23 (Г); масс-спектр, *m/z*: 649.8 [*M* – CH₃]⁺; ¹H-ЯМР-спектр: 0.69 (3 H, с, CH₃-18), 0.81 (3 H, д, *J* 6.7, CH₃-21), 0.88 (3 H, с, CH₃-19), 0.92–2.00 (24 H, м, стероидные CH, CH₂), 2.10–2.35 (2 H, м, H23), 3.48 (18 H, с, 2N⁺(CH₃)₃), 3.61 (3 H, с, OCH₃), 3.68–3.90 (8 H, м, 2NHCH₂CH₂N), 4.52 (1 H, м, H3), 4.92 (1 H, м, H12), 6.01 (1 H, м, NH), 6.70 (1 H, м, NH).

Октадецил-3 α ,12 α -бис(*N*-трет-бутилоксикарбониламинокапроилокси)-5 β -холан-24-оат (VIa). К раствору 0.143 г (0.6 ммоль) *N*-Вос-аминокапроновой кислоты, 0.250 г (1.2 ммоль) DCC и каталитического количества DMAP в 2 мл хлористого метилена прибавляли 0.100 г (0.2 ммоль) октадецилдезоксихолата (IIa). Реакционную смесь перемешивали 3 ч при 15–20°C и упаривали. Остаток обрабатывали эфиром, и осадок дициклогексил-

мочевины отфильтровывали. Фильтрат упаривали и хроматографировали на колонке, элюируя смесью хлористый метилен–метанол (60 : 1). Выход эфира (VIa) 0.134 г (58%); R_f 0.39 (A); масс-спектр, m/z : 1073.9 $[M]^+$; ^1H -ЯМР-спектр: 0.70 (3 Н, с, CH_3 -18), 0.78 (3 Н, д, J 6.7, CH_3 -21), 0.86 (3 Н, т, J 6.8, $(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$), 0.88 (3 Н, с, CH_3 -19), 1.01–2.0 (88 Н, м, $\text{COOCH}_2(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$, $2\text{C}(\text{CH}_3)_3$, стероидные CH , CH_2 , $2\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CO}$), 2.05–2.40 (6 Н, м, 2OOCCH_2 , H23), 3.05–3.15 (4 Н, м, $2\text{CH}_2\text{NH}$), 4.05 (2 Н, т, J 6.9, COOCH_2), 4.72 (1 Н, м, H3), 5.1 (1 Н, м, H12).

Метил-3 α ,12 α -бис(*N*-трет-бутилоксикарбониламинокапроилокси)-5 β -холан-24-оат (VIb). Раствор 0.250 г (0.6 ммоль) метилдезоксихолата (IIb), 0.355 г (1.5 ммоль) *N*-Вос-аминокапроновой кислоты, 0.475 г (2.3 ммоль) DCC и каталитического количества DMAP в 3 мл хлористого метилена перемешивали 23 ч при 25°C и упаривали. Остаток обрабатывали эфиром, и дициклогексилмочевину отфильтровывали. Фильтрат упаривали и хроматографировали на колонке, последовательно элюируя хлороформом и смесью хлороформ–метанол (30 : 1). Выход эфира (VIb) 0.312 г (64%); R_f 0.85 (B); масс-спектр, m/z : 874.8 $[M + K]^+$; ^1H -ЯМР-спектр: 0.70 (3 Н, с, CH_3 -18), 0.78 (3 Н, д, J 6.7, CH_3 -21), 0.88 (3 Н, с, CH_3 -19), 0.92–2.01 (56 Н, м, 26 с тероидных CH , CH_2 , $2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{COO}$, $2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.15–2.38 (6 Н, м, H23, 2OOCCH_2), 3.01–3.18 (4 Н, м, 2NHCH_2), 3.62 (3 Н, с, OCH_3), 4.63 (1 Н, м, H3), 5.08 (1 Н, м, H12).

Октадецил-3 α ,12 α -бис(ϵ -аммиокапроилокси)-5 β -холан-24-оат, бистрифторацетат (VIIa). Раствор 0.050 г соединения (VIa) и 0.08 мл трифторуксусной кислоты в 0.5 мл хлороформа перемешивали 2 ч при 40°C и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке, элюируя смесью хлороформ–метанол (30 : 1). Выход аминоэфира (VIIa) 0.035 г (90%); R_f 0.42 (Г); масс-спектр, m/z : 873.9 $[M - \text{CF}_3\text{COO}]^+$; ^1H -ЯМР-спектр: 0.71 (3 Н, с, CH_3 -18), 0.77 (3 Н, д, J 6.7, CH_3 -21), 0.86 (3 Н, т, J 6.8, $(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$), 0.88 (3 Н, с, CH_3 -19), 1.01–2.51 (70 Н, м, $\text{COOCH}_2(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_3$, стероидные CH , CH_2 , $2\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CO}$), 2.02–2.41 (6 Н, м, 2OOCCH_2 , H23), 2.81–3.00 (4 Н, м, $2\text{CH}_2\text{N}^+$), 4.05 (2 Н, т, J 6.9, COOCH_2), 4.72 (1 Н, м, H3), 5.1 (1 Н, м, H12), 7.85 (6 Н, уш. с, $2\text{N}^+\text{H}_3$).

Метил-3 α ,12 α -бис(ϵ -аммиокапроилокси)-5 β -холан-24-оат, бистрифторацетат (VIIb). Раствор 0.170 г (0.2 ммоль) соединения (VIb) и 0.2 мл (2.4 ммоль) трифторуксусной кислоты в 2 мл хлороформа перемешивали 2 ч при 50°C и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке, элюируя последовательно хлороформом и смесью хлороформ–метанол 30 : 1 и 10 : 1. Выход аминоэфира (VIIb) 0.124 г (74%); R_f 0.36 (B); масс-спектр, m/z : 636.1 $[M]^+$; ^1H -ЯМР-спектр: 0.68 (3 Н, с,

CH_3 -18), 0.76 (3 Н, д, J 6.7, CH_3 -21), 0.88 (3 Н, с, CH_3 -19), 0.92–2.02 (38 Н, м, 26 стероидные CH , CH_2 , $2\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{CO}$), 2.15–2.38 (6 Н, м, 2OOCCH_2 , H23), 2.70–2.79 (4 Н, м, $2\text{CH}_2\text{N}^+$), 3.62 (3 Н, с, OCH_3), 4.61 (1 Н, м, H3), 5.00 (1 Н, м, H12), 7.98 (6 Н, м, $2\text{N}^+\text{H}_3$).

Метил-3 α ,12 α -бис(5-бромпентаноилокси)-5 β -холан-24-оат (VIII). К раствору 0.220 г (0.5 ммоль) метилдезоксихолата (IIb) в 2 мл хлороформа при 0°C прибавляли при перемешивании 0.1 мл пиридина и 0.780 г (3.9 ммоль) хлорангидрида 5-бромвалериановой кислоты. Реакционную смесь выдерживали 1 ч при 25°C и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке, элюируя хлороформом. Выход эфира (VIII) 0.322 г (81%); R_f 0.86 (B); масс-спектр, m/z : 754.9 $[M + \text{Na}]$; ^1H -ЯМР-спектр: 0.73 (3 Н, с, CH_3 -18), 0.81 (3 Н, д, J 6.7, CH_3 -21), 0.91 (3 Н, с, CH_3 -19), 1.05–2.01 (32 Н, м, стероидные CH , CH_2 , $2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{Br}$), 2.18–2.45 (6 Н, м, 2OOCCH_2 , H23), 3.44 (4 Н, кв, J 6.4, $2\text{CH}_2\text{Br}$), 3.67 (3 Н, с, OCH_3), 4.75 (1 Н, м, H3), 5.10 (1 Н, м, H12).

Метил-3 α ,12 α -бис(5-(пиридинио)пентаноилокси)-5 β -холан-24-оат, дибромид (IX). Раствор 0.110 г (0.15 ммоль) соединения (VIII) в 2 мл пиридина нагревали 6 ч при 60°C и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке, элюируя последовательно смесями хлороформ–метанол 30 : 1 и 6 : 1. Выход дибромид (IX) 0.131 г (90%); R_f 0.37 (B); масс-спектр, m/z : 765.1 $[M + \text{Na}]^+$; ^1H -ЯМР-спектр: 0.69 (3 Н, с, CH_3 -18), 0.74 (3 Н, д, J 6.7, CH_3 -21), 0.87 (3 Н, с, CH_3 -19), 1.05–2.65 (38 Н, м, стероидные CH , CH_2 , $2\text{COOCH}_2(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{N}^+$, H23), 3.63 (3 Н, с, OCH_3), 4.75 (1 Н, м, H3), 4.98–5.12 (5 Н, м, $2\text{CH}_2\text{N}^+$, H12), 8.03–8.19 (4 Н, м), 8.40–8.55 (2 Н, м), 9.45–9.66 (4 Н, м, $2\text{C}_5\text{H}_5\text{N}^+$).

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, гранты № 01-03-33234, 00-15-866, 03-03-32482, а также при поддержке гранта “Научные исследования Высшей школы по приоритетным направлениям науки и техники”, подраздел “Лекарственные и биологически активные вещества” № 203.05.04.005 и гранта Президента РФ по поддержке ведущих научных школ России № НШ–2013.2003.3.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Balasubramaniam R., Bennet M., Aberle A., Malone J., Nantz M., Malone R. // Gene Therapy. 1996. V. 3. P. 163–172.
2. Зеленин А.В. // Вестник РАН. 2001. Т. 71. С. 387–404.
3. Константинова Т.В., Клыкков В.Н., Серебренникова Г.А. // Биоорган. химия. 2001. Т. 27. С. 453–456.

4. Маслов М.А., Сычева Е.В., Морозова Н.Г., Серебренникова Г.А. // Изв. АН. Серия хим. 2000. № 2. С. 385–400.
5. Fujiwara T., Hasegawa S., Hirashima N., Nakanishi M., Ohwada T. // Biochim. Biophys. Acta. 2000. V. 1468. P. 396–402.
6. Yoshimura T., Hasegawa S., Hirashima N., Nakanishi M., Ohwada T. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2001. V. 11. P. 2897–2901.
7. Ren T., Zhang G., Liu D., Liu F. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2000. V. 10. P. 891–894.
8. Okayama R. // FEBS Lett. 1997. V. 408. P. 232–234.
9. Fujiwara T., Hirashima N., Hasegawa S., Nakanishi M., Ohwada T. // Bioorg. Med. Chem. 2001. V. 9. P. 1013–1024.
10. Takakura Y., Nishikawa M., Yamashita F., Hashida M. // Eur. J. Pharm. Sci. 2001. V. 13. P. 71–76.

Synthesis of Cationic Amphiphiles on the Basis of Deoxycholic Acid

T. V. Sokolova[#], M. A. Maslov, and G. A. Serebrennikova

[#]Phone: +7 (095) 434-8544; e-mail: httos.mitht@g23.relcom.ru

Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology,

pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia

Cationic derivatives of deoxycholic acid with *N,N*-dimethylenediamine, ϵ -aminocaproic acid, and pyridine as polar heads were synthesized. The cationic groups were linked to 3 α - and 12 α -hydroxy groups of the steroid moiety through ester or urethane bonds. Liposomal formulations of the compounds synthesized may be used for gene delivery in cells. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2004, vol. 30, no. 5; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: cationic amphiphiles, deoxycholic acid, transfection