

Положительно заряженные липиды: структура, методы синтеза, применение

И.Д.Константинова, Г.А.Серебренникова

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В.Ломоносова
117571 Москва, просп. Вернадского, 86, факс (095)430–7983

Представлены данные по структуре, методам синтеза и применению положительно заряженных липидов. Показана перспективность их использования в качестве противоопухолевых и противовирусных агентов, а также в качестве антагонистов фактора активации тромбоцитов и медиаторов трансфекции.
Библиография — 80 ссылок.

Оглавление

I. Введение	581
II. Строение и синтез положительно заряженных липидов	581
III. Применение положительно заряженных липидов	588

I. Введение

В последние годы значительно возрос интерес к новому типу модифицированных глицеролипидов, содержащих в своем составе положительно заряженную группу (катионные липиды). Внимание к этому классу соединений обусловлено возможностью их широкого использования при доставке генетического материала и других макромолекул в клетки животного происхождения и протопласты растений, а также при создании искусственных мембран, обладающих средством к отрицательно заряженной поверхности клеток. Известно также их противоопухолевое действие, по-видимому, связанное с ингибированием протеинкиназы C и диацилглицеролкиназы. Многие представители катионных липидов эффективно ингибируют репликацию вируса ВИЧ-1. Кроме того, среди них обнаружены перспективные антагонисты липидного биорегулятора, фактора активации тромбоцитов (ФАТ). Все это открывает возможности создания на основе положительно заряженных липидов химиотерапевтических препаратов нового типа.

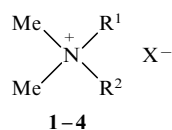
II. Строение и синтез положительно заряженных липидов

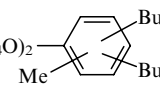
Среди положительно заряженных липидов особое внимание уделяется производным глицерина. Катионные глицеролипиды разнообразны по структуре, но общим для них является наличие положительно заряженной головки, внутримолеку-

лярно нескомпенсированной отрицательно заряженной группой, и одного или нескольких длинноцепных заместителей в гидрофобной части молекулы. Установлено, что длина цепи заместителей при атомах C(1) и C(2) глицерина, тип катионной головки, а также наличие спейсерной группы, удаляющей ее от глицеринового фрагмента, оказывают существенное влияние на биологическую активность, проявляемую тем или иным соединением.

1. Тетраалкиламмониевые производные

Четвертичные аммониевые детергенты **1–4** в составе липосом находят применение в трансфекции генетического материала в клетки животного происхождения.^{1–3}



Соединение	Название	R ¹	R ²	X
1	ДЭБДА	CH ₂ C ₆ H ₅	(C ₂ H ₄ O) ₂ — 	OH
2	ДТАБ	Me	(CH ₂) ₁₁ Me	Br
3	ТТАБ	Me	(CH ₂) ₁₃ Me	Br
4	ЦТАБ	Me	(CH ₂) ₁₅ Me	Br

Эти катионные липиды довольно широко распространены и недороги. Их можно синтезировать путем несложных химических превращений, включать в липосомы различного состава в целях стабилизации бислоя.

Тетраалкиламмониевые производные **5** и **6**, включающие в качестве структурного фрагмента углеводы (так называемые болаамфилилы), рассматриваются как перспективные амфилилы для отрицательно заряженных полиэлектроли-

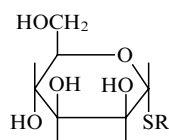
И.Д.Константинова. Кандидат химических наук, младший научный сотрудник кафедры химии и технологии тонких органических соединений МГАТХТ. Телефон: (095)437–1925.

Г.А.Серебренникова. Доктор химических наук, профессор той же кафедры.

Область научных интересов авторов: биоорганическая химия, химия природных и синтетических липидов и их конъюгатов, биотехнология.

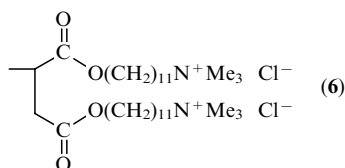
Дата поступления 12 июля 1995 г.

тов, таких как нуклеиновые кислоты. Наличие электронейтрального углеводного фрагмента на одном конце длинноцепного остатка и электроположительной группировки на другом обеспечивает их амфифильные свойства.⁴



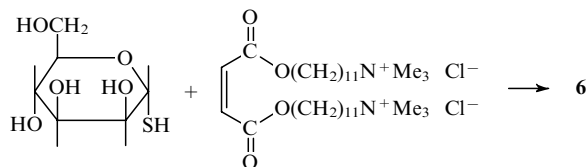
5a–d, 6

R = (CH₂)₁₁C(O)O(CH₂)₂N⁺Me₃ Cl[−] (5a),
(CH₂)₁₁C(O)NH(CH₂)₂N⁺Me₃ Cl[−] (5b),
(CH₂)₁₁C(O)O(CH₂)₁₁N⁺Me₃ Cl[−] (5c),
(CH₂)₉C(O)O(CH₂)₁₁C(O)NH(CH₂)₂N⁺Me₃ I[−] (5d),

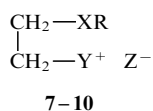


Маннозные болаамфифилы **5** были синтезированы алкилированием тио- α -D-маннопиранозы соответствующими ω -иод(или бром)- α -триметилакиламмониевыми производными.

Болаамфифил **6**, содержащий две углеводородные цепи, получен присоединением тиоманнозы к соответствующему диэфиру малеиновой кислоты.



С целью изучения влияния на нормальные и неопластические клетки был получен^{5–7} ряд четвертичных аммониевых производных типа **7–10**.



7–10

Соединение	R	X	Y	Z
7	(CH ₂) _n Me, n = 14, 16	OC(O)	N(Me) ₂ (CH ₂) ₂ OH	Br
8	H, Ph, (CH ₂) _n Me, n = 11, 13, 15, 17	O	N(Me) ₂ (CH ₂) _n OH, n = 2–4	I

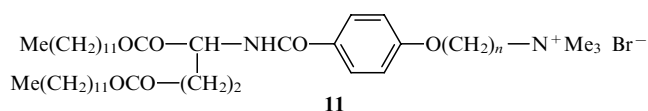
Соединение	R	X	Y	Z
9	(CH ₂) ₁₅ Me	S	N(Me) ₂ (CH ₂) ₂ OH, NC ₅ H ₅	Br
10	(CH ₂) ₆ Me	OC(O)	NMe ₃	I

Синтез этих соединений основан на кватернизации третичных аминов или ароматических гетероциклических оснований β -галогенэтаноламином с последующим алкилированием или ацилированием свободной гидроксильной группы.

2. Синтетические амфифилы — производные аминокислот

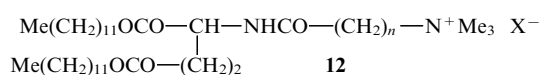
Достаточно эффективными в трансфекции ДНК в эукариотические клетки оказались липофильные производные аминокислот, пептидов и полиаминов.

Недавно были синтезированы новые катионные амфифилы **11** и **12** на основе глутаминовой кислоты.⁸



11

n = 2, 4, 6, 8

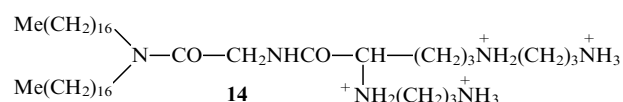


12

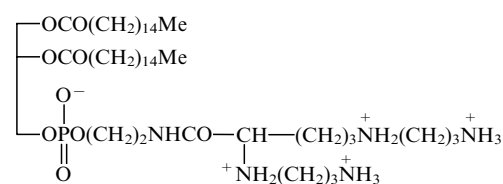
n = 1, X = Cl; n = 5, X = Br

По схеме 1 взаимодействием поли-L-лизина и N-глутарилфосфатидилэтаноламина в присутствии N-гидроксисукцинимиды и дициклогексилкарбодиимиды (ДССД) был получен липополи-L-лизин **13** (ЛПЛЛ).⁹

Соединение **13** обычно включает две молекулы фосфолипида на молекулу поли-L-лизина.

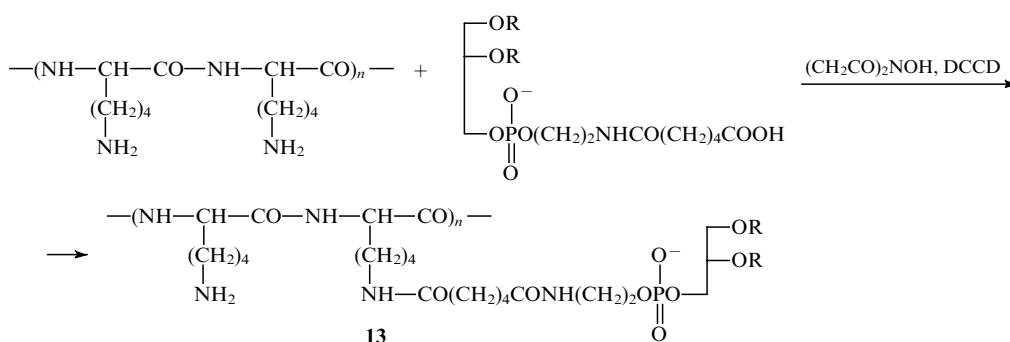


14



15

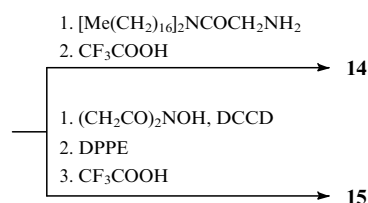
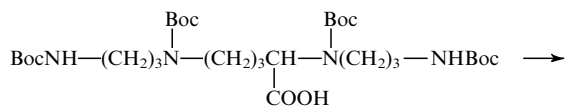
Схема 1



13

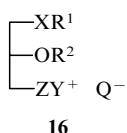
Эффективными медиаторами ДНК-трансфекции оказались липофильные полиамины — липоспермины **14**, **15**.¹⁰

Синтез липосперминов **14**, **15** осуществляли взаимодействием защищенного L-5-карбоксиспермина соответственно с липофильным *N,N*-дигептадециламидом глицина или дипальмитоилфосфатидилэтаноламином (DPPE).



3. Катионные липиды — производные глицерина

Наиболее распространенный тип катионных липидов может быть представлен общей формулой **16**.^{11–15}



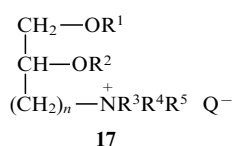
X = O, S, OCONH; R¹ = алкил, алкенил, ацил-(C₁₀–C₂₀); алкилы с ароматическими и гетероциклическими остатками и т.д.; R² = длинно- (C₁₀–C₂₀) или короткоцепные (C₁–C₈) алкильные и ацильные заместители; Z = спейсерные группировки различных типов, возможно их отсутствие; Y⁺ = аммониевые, сульфониевые группы или гетероциклические головки с включенными в них положительно заряженными атомами азота или серы; Q = противоионы Hal, AcO, TsO и т.д.

В зависимости от характера заместителей R¹ и R² гидрофобной части молекулы катионные липиды данного типа подразделяются на несколько видов, что определяет методы их синтеза и область использования:

- а) положительно заряженные липиды с длинноцепными алкильными заместителями (R¹ = R² = Alk(C₁₀–C₂₀));
- б) липиды с длинно- и короткоцепными алкильными заместителями (R¹ = Alk(C₁₀–C₂₀), R² = Alk(C₁–C₈));
- в) катионные глицеролипиды с длинноцепными ацильными заместителями;
- г) липиды смешанного типа, содержащие алкильные, ацильные, ацилкарбамоильные и другие типы длинно- и короткоцепных заместителей в различных сочетаниях.

а. Катионные липиды с длинноцепными алкильными заместителями

Соединения общей формулы **17** применяются для трансфекции различных биологически активных веществ (нуклеозидов, полинуклеотидов, пептидов, гормонов и т.д.), имеющих



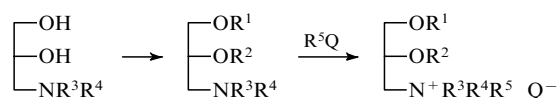
R¹ = R² = алкенил-, Alk (C₁₀–C₂₀); R³ = R⁴ = R⁵ = Me, Et;

n = 1–4 (предпочтительнее n = 1); Q = Hal

в своем составе отрицательно заряженный участок, в клетки животного происхождения и протопласты растений.^{11–15}

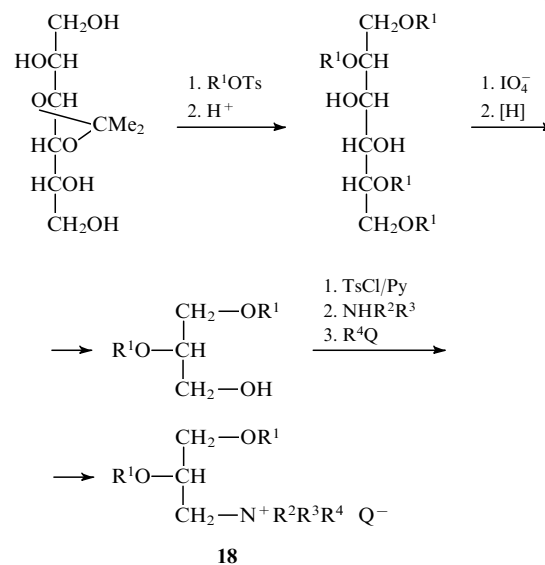
Данные липиды обычно включают в состав липосом, приготовленных из фосфатидилхолина (ФХ) или фосфатидилэтаноламина (ФЭ) в молярном отношении катионный липид:фосфолипид 1:1. Это соотношение может изменяться в зависимости от типа трансфектируемого вещества и клеток-мишеней.^{11, 12, 14}

Схема синтеза липидов **17** достаточно проста и включает стадии алкилирования аминокислотной системы с последующей кватернизацией аминогруппы.^{11, 12}



Обычно по этой схеме получают рацемические смеси, причем R¹ = R², а R³, R⁴, R⁵ — различны или одинаковы, но не включены в ароматические системы. Оптически активные

Схема 2



соединения этого типа (*S*-изомеры) синтезируют по схеме 2, исходя из 3,4-изопропилиден-D-маннита.¹⁴

Получение оптически активных соединений с различными алкильными остатками R¹ и R² проводят, исходя из 2,5-дибензил-D-маннита.

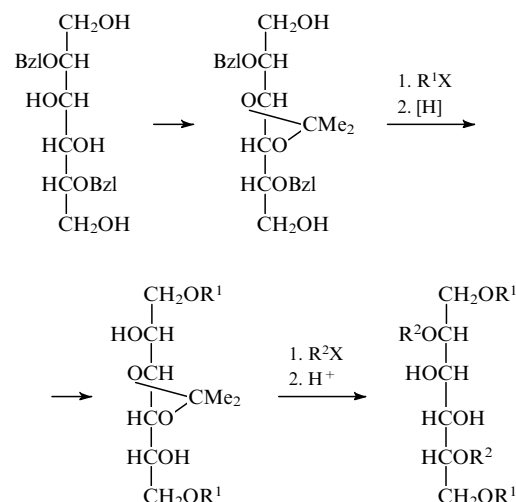
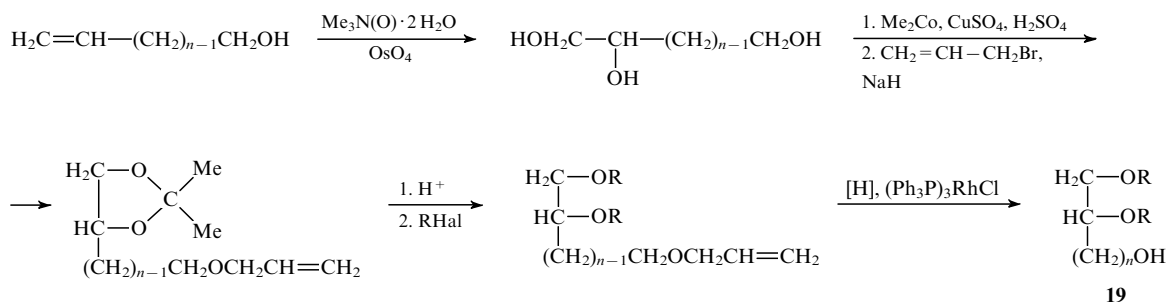


Схема 3

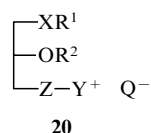


Далее синтез положительно заряженных глицеролипидов алкильного типа с различными заместителями в гидрофобной части молекулы осуществляют аналогично схеме 2.

Для получения соединений, содержащих спейсерную группировку из 2–8 метиленовых групп, сначала синтезируют производное **19** (схема 3), переход от которого к катионным липидам осуществляют описанными выше методами.

6. Положительно заряженные липиды с длинно- и короткоцепными заместителями алкильного типа

Данная группа липидов наиболее интенсивно изучается в силу того, что ее представители проявляют ингибирующее действие на рост неопластических клеток, а также являются эффективными антагонистами липидного биорегулятора фактора активации тромбоцитов. Некоторые соединения способны подавлять развитие вируса ВИЧ-1. В общем виде структуру таких глицеролипидов можно представить следующим образом:



X = O, S; R¹ = алкенил-, алкил-(C₁₀–C₂₀),

разветвленный алкил, алкил с ароматическими заместителями,

нафтиларил, арил; R² = алкил-(C₁–C₄), циклический

алкил, гетероциклы (пиридиновый, триазилиновый, пиазиновый

и т.д.), H, CH₂CF₃; Z — связь, O(CH₂)_n (n = 1–7);

(OCH₂CH₂)_n (n = 1–3), S(CH₂)_n (n = 1, 2), спейсерная

группа алкильного, ариалкильного типа и т.д.;

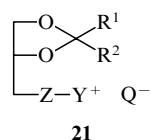
Y = NR¹R²R³, где R¹ = R² = R³ = Me, Et,

R¹ = R² = Me, R³ = (CH₂)₂OH, (CH₂)₃OH,

R¹, R² и R³ могут быть объединены в гетероциклы;

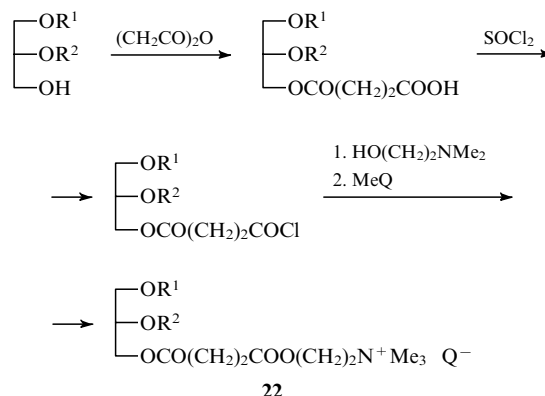
Q = Hal, MsO, TsO и др.

Радикалы R¹ и R² могут быть объединены в ацетальное кольцо с длинноцепным алкилом (например, R¹ = C₁₇H₃₅, R² = H).^{16, 17}



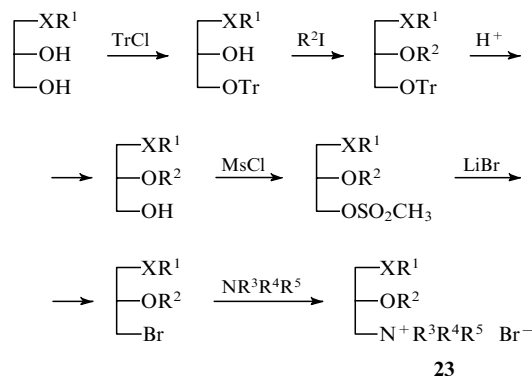
Получение катионных глицеролипидов **22**, содержащих спейсерную группу сукцинильного типа, осуществляют по

Схема 4



схеме 4.^{18, 19}

Синтез соединений **23**, содержащих катионную группу, присоединенную непосредственно к глицериновому фрагменту, включает предварительное получение дизамещенных глицеринов с использованием тритильной защитной группы.¹⁶



Для получения соединений, содержащих спейсерную группу, в зависимости от ее строения применяют различные подходы.

Если четвертичная аммониевая группа удалена от глицеринового фрагмента на несколько метиленовых групп, то

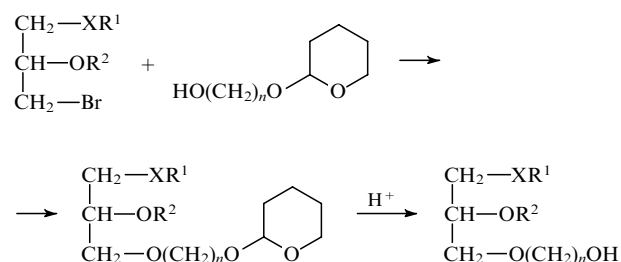
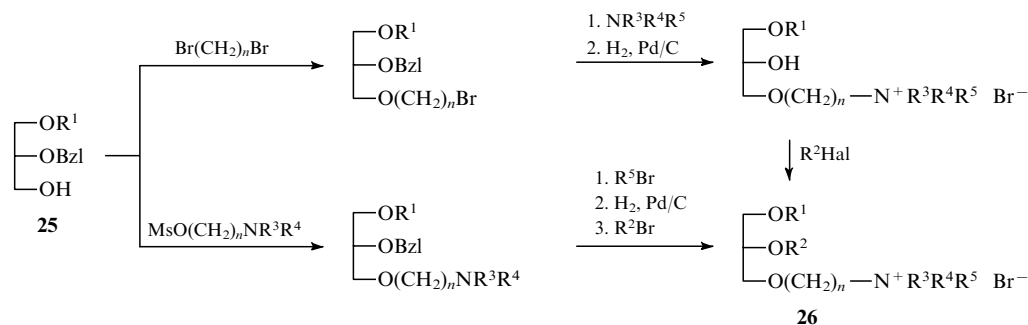


Схема 5

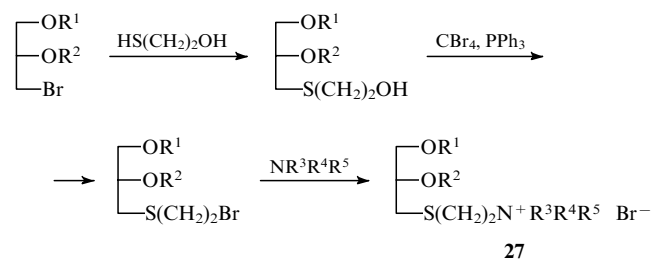


синтезируют соединение **24**, которое переводят затем в катионные липиды традиционными методами¹⁶.

В качестве спейсерной группы используют также 3-(2-гидроксиэтоксильные) и 3-[2-(2-гидроксиэтоксильные)этоксильные остатки, которые вводят в молекулу действием этиленгликоля или диэтиленгликоля на соответствующее тозилное производное моно- или диалкилглицеринов.²⁰

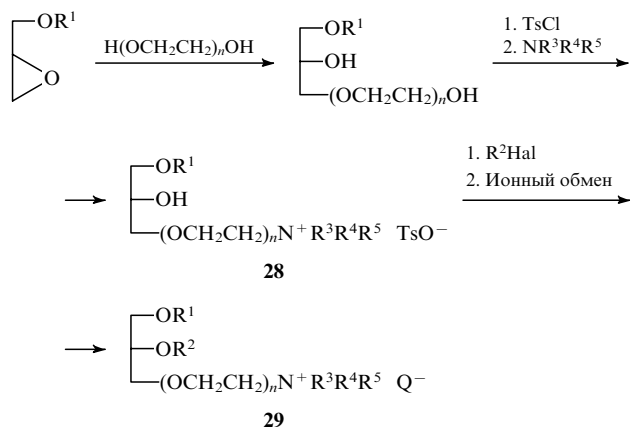
Ряд катионных липидов **26** со спейсерной группой получен на основе 1-*O*-алкил-2-*O*-бензил-*rac*-глицеринов (**25**) (схема 5).^{21,22}

В работах^{6,23} сообщают о синтезе положительно заряженных липидов **27**, имеющих тиоэтильную спейсерную группу.

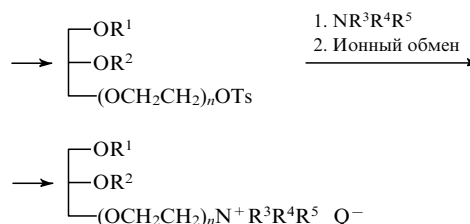
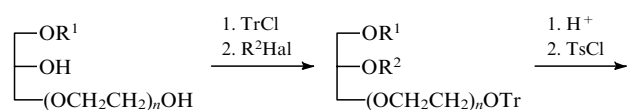


Соединения типа **28**, **29**, содержащие в качестве заместителей

Схема 6

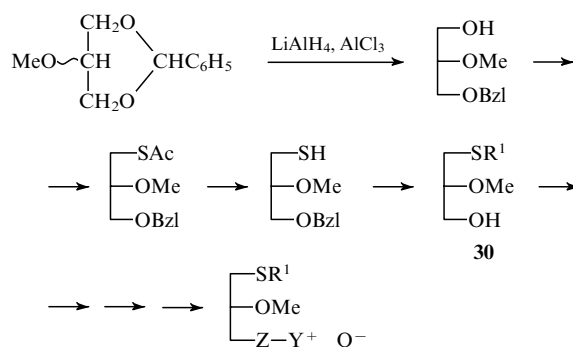


гетероцикл, а в качестве спейсерной группы — группу $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n$, синтезируют по схеме 6.²⁴



Возможна модификация данной схемы с применением тритильной защитной группы.

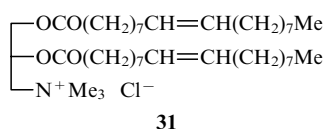
Метод восстановительного расщепления циклических ацеталей использован при получении дизамещенного производного тиоглицерина **30**, переводимого в катионные липиды традиционными методами.²⁵



Наряду с липидами, содержащими в качестве полярной головки алкиламмониевые группы, получены соединения, включающие различные гетероциклы.^{22,26,27}

в. Катионные липиды с ацильными длинноцепными заместителями

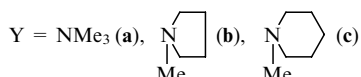
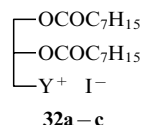
Одним из наиболее распространенных глицеролипидов этого ряда является 2,3-диолеоилоксипропилтриметиламмоний хлорид (**31**, ДОТАП).



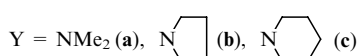
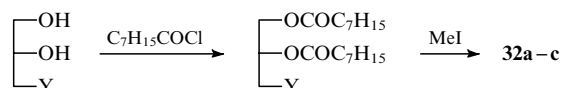
Данный липид используют для изучения процессов слияния липосом, несущих противоположные заряды, смешивания включенных в них биологически активных веществ и возможного транспорта их через липосомальный бислой.

Синтезируют ДОТАП ацилированием 3-бромпропан-1,2-диола, с последующей кватернизацией полученного соединения триметиламином.²⁸

В работе⁷ описано получение положительно заряженных липидов **32a–c**, содержащих различные катионные группы и остатки высших жирных кислот.



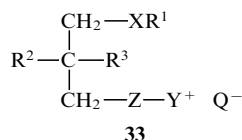
Общая схема синтеза соединений **32** может быть представлена следующим образом:



Соединения **32a–c** являются ингибиторами мембранно-связанной протеинкиназы C в той же степени, что и катионные липиды алкильного типа, имеющие короткоцепной заместитель при атоме C(2) глицеринового фрагмента.⁷

г. Катионные липиды смешанного типа

Среди положительно заряженных глицеролипидов смешанного ацилалкильного, алкил- или алкилкарбамоильного типа был выявлен ряд эффективных антагонистов фактора активации тромбоцитов, а также соединений с противоопухолевой активностью. Это стимулировало изучение структурно-функциональных зависимостей в данном классе липидов и привело к получению обширной группы соединений общей формулы **33**.



X = O, S, OCONH, SCONH;

R¹ = Alk(C₈–C₂₀), (CH₂)₃OC₁₈H₃₇, (CH₂)₁₀NHCONHMe,

CH₂–C₆P₄–Ph и т.д.;

R² = OMe, OEt, OCOMe, OCOC₇H₁₅, OCH₂COMe, CH₂CN,

NHCOOMe, OCOOMe, NHCONHMe,

гетероциклы типа пиррола, триазола и т.д.;

R³ = H, Me;

Z = O(CH₂)_n, (OCH₂CH₂)_n, OCO(CH₂)_n, (CH₂)_n,

CH₂SO₂(CH₂)_n, NHCO(CH₂)_n, NHSO₂(CH₂)_n,

N(COMe)SO₂(CH₂)_n, OCONR(CH₂)_n

(R = H, Me, COMe, COEt, COOMe, n = 1–6);

Y = NMe₃, NMe₂CH₂CH₂OH, различные гетероциклы с

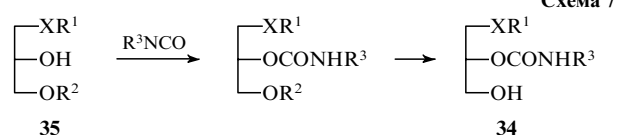
включенным в них четвертичным атомом азота и др.;

Q = Hal, MsO, TsO и др.

Синтез соединений алкилалкильного типа осуществляется по общей стратегии, разработанной для получения диалкильных липидов с различными заместителями в глицериновом скелете с использованием тех же избирательных защитных групп (Bzl, Tr, Ts, бензилиденовой) и методов алкилирования, ацилирования, тиаалкилирования.

Синтез соединений, содержащих алкилкарбамоильные и алкоксикарбониламиногруппы имеет свою специфику. Обычно он заключается в получении соответствующих дизамещенных производных глицерина с последующим введением катионной головки традиционными методами.

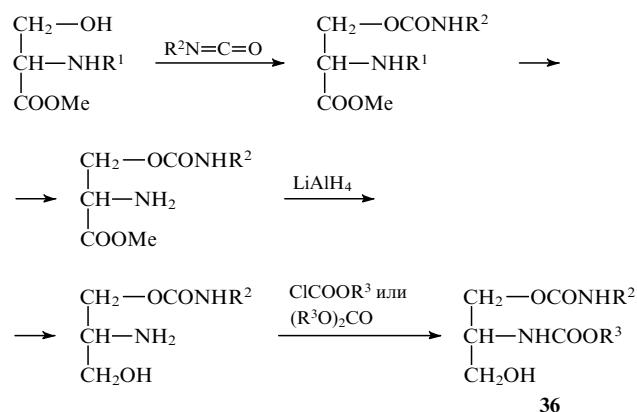
Общая стратегия синтеза исходных соединений **34** для получения катионных липидов с алкилкарбамоильным остатком при атоме C(2) может быть представлена схемой 7.²⁵



R² — защитная группа; R³ = Alk(C₁–C₃)

Введение алкилкарбамоильной группы достигалось взаимодействием соединения **35** с алкилизотиоцианатом в присутствии кислотного катализатора (AlCl₃) и основания (пирдин, триэтиламин).

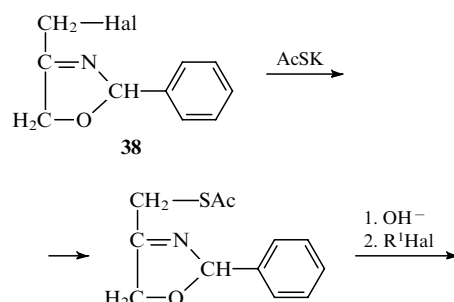
Синтез соединений **36**, содержащих алкилкарбамоил- и алкоксикарбониламиногруппы при атомах C(1) и C(2) соответственно, осуществляется следующим образом:²⁵

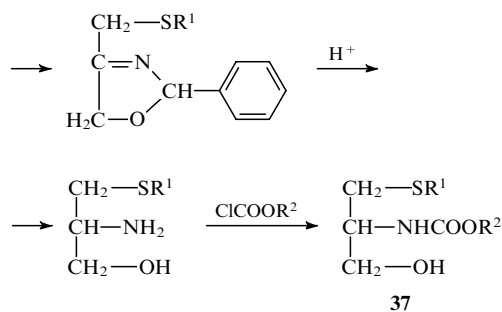


R¹ — защитная группа;

R² = Alk(C₁₂–C₂₀); R³ = Alk(C₁–C₄)

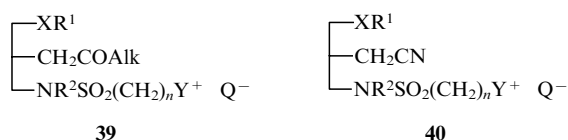
Синтез соединения **37**, включающего тиаалкильную и алкоксикарбониламиногруппу соответственно при атомах C(1) и C(2), проводили, исходя из фенилоксазолинового производного **38** по схеме 8.²⁵





$\text{R}^2 = \text{Alk}(\text{C}_1\text{—C}_4)$

В работах ^{20–22, 29} приведено подробное описание синтезов катионных липидов **39** и **40** с алканолметильными и цианометильными заместителями при атоме C(2) глицеринового фрагмента.



$\text{R}^2 = \text{H}, \text{Me}, \text{COMe}, \text{COEt}, \text{COOMe}; n = 1\text{—}6;$

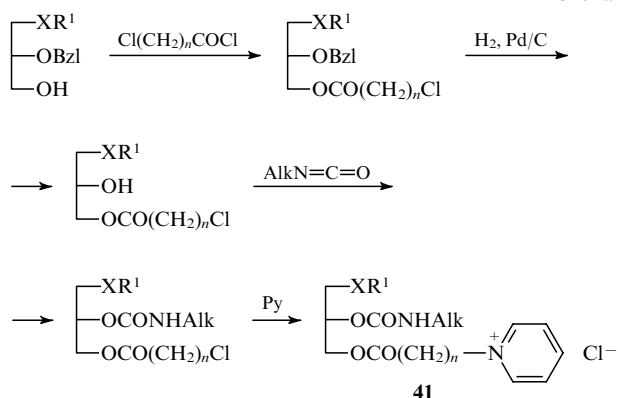
$\text{Y} = \text{NMe}_3, \text{NMe}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH},$ различные гетероциклы с

включенным в них четвертичным атомом азота и др.;

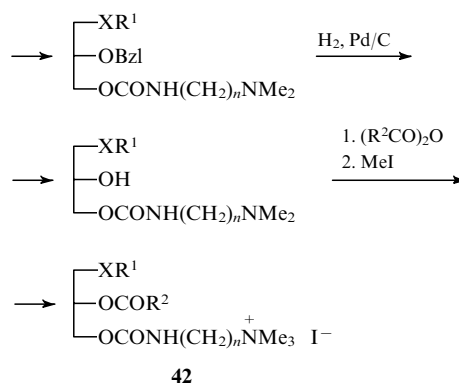
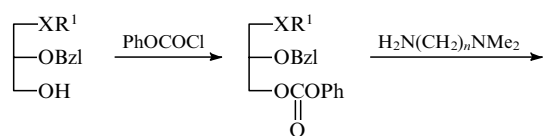
$\text{Q} = \text{Hal}, \text{MsO}, \text{TsO}$ и др.

Общий подход к получению липидов 1-алкил-2-карбамоильной структуры, содержащих катионную головку, присоединенную через спейсерную группу ацильного типа **41**, представлен на схеме 9.^{22, 30} Катионную головку со спейсером ацильного типа можно получить по реакции ацилирования диалкилглицерида диметиламиноалкановой кислотой подходящего типа с последующей кватернизацией иодистым метилом диметиламиногруппы.^{31, 32}

Схема 9



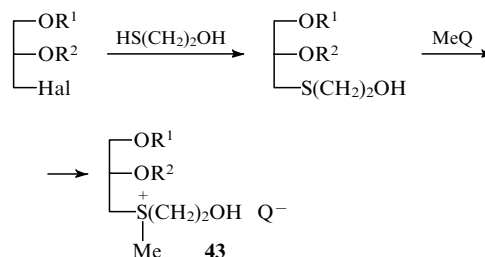
Положительно заряженные липиды **42** — антагонисты ФАТ карбамоильной структуры — получены следующим методом:²⁹



е. Положительно заряженные липиды алкильного типа с сульфониевой катионной головкой

Липиды типа **43** представляют интерес для изучения механизма ингибирования мембраносвязанной протеинкиназы С (ПКЦ), роста неопластических клеток и репликации вируса ВИЧ-1.^{6, 23} Синтез их осуществляется в соответствии со схемой 10.

Схема 10

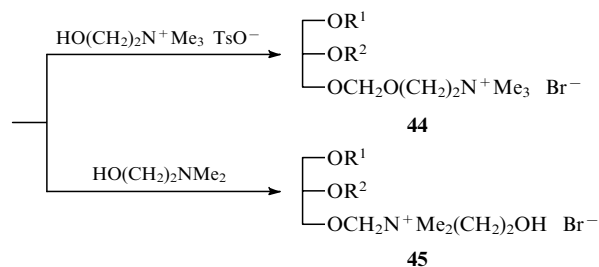
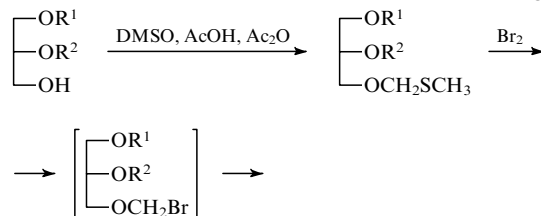


$\text{R}^1 = \text{C}_{16}\text{H}_{33}, \text{C}_{18}\text{H}_{37}; \text{R}^2 = \text{Me}, \text{Et}; \text{Q} = \text{I}, \text{TsO}$

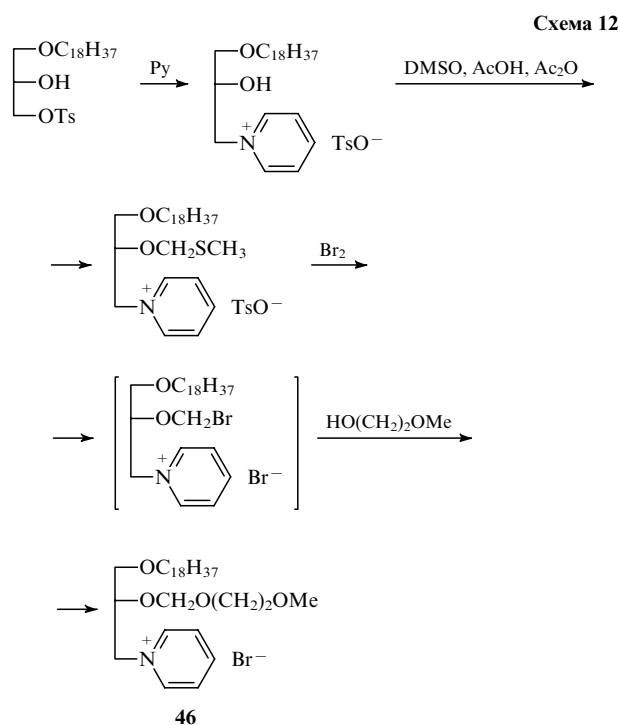
ж. Положительно заряженные липиды, синтезированные с применением реакции алкилтиоалкилирования

Авторами работы³³ впервые в химии липидов продемонстрирована возможность использования модифицированной перегруппировки Пуммерера (реакции алкилтиоалкилирования)³⁴ в химии липидов путем введения группы MeSCH_2 по первичной (схема 11) или вторичной гидроксильной группе (схема 12) дизамещенных глицеринов **44–46**. Последующий перевод этой высокорекреационноспособной группы

Схема 11



$\text{R}^1 = \text{C}_{18}\text{H}_{37}; \text{R}^2 = \text{Me}, \text{Et}; \text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{C}_{16}\text{H}_{33}$

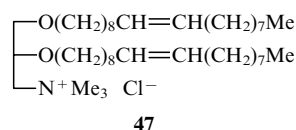


(несимметричные *O,S*-ацетали) в α -бромэфиры, способные легко взаимодействовать с нуклеофильными реагентами, открывает перспективы получения различных модифицированных липидов, в том числе и положительно заряженных.

III. Применение положительно заряженных липидов

1. Катионные липиды в липосомологии

Положительно заряженные липиды образуют в водной среде или в буферном растворе липосомы индивидуально или в смеси с другими природными фосфолипидами. Например, активный препарат, известный под названием «Липофектин», включает в себя катионный липид ДОТМА (47) и ФЭ в молярном отношении от 1:1 до 3:7, в зависимости от типа культуры клеток, применяемых в трансфекции.^{11, 12, 14, 35}



Аналогичным образом получают катионные липосомы из четвертичных аммониевых производных 1–4 (ДЭБДА, ДТАБ, ТТАБ и ЦТАБ), оказывающих стабилизирующее воздействие на бислои, образованные ФЭ.^{1, 36, 37} Причем ДТАБ стабилизирует бислои лучше, чем аналоги ТТАБ и ЦТАБ, которых требуется в 2 раза больше для получения аналогичного эффекта.

В последние годы широко изучается механизм взаимодействия катионных липосом с липосомами, включающими отрицательно заряженные или цвиттер-ионные фосфолипиды.^{36–39} Выяснение деталей этого процесса может дать объяснение взаимодействию положительно заряженных липосом с клеточной мембраной в процессе трансфекции. Показано, что популяции таких липосом могут взаимодействовать друг с другом различными путями, зависящими от липидного состава мембранной поверхности и от ионной силы среды.

Установлено, что липосомы, содержащие ДОТМА и ФЭ, взаимодействуют с отрицательно заряженными липидами мембраны и сливаются с клеточной поверхностью. Различные анионы также могут вызвать слияние катионных липосом. Так, для липосом состава ДОТМА/ФЭ (1:1) влияние анионов на степень слияния уменьшается в ряду: цитрат > этилендиаминтетраацетат > фосфат. Интересно, что эти липосомы были полностью устойчивы к слиянию в присутствии полианионов. Липосомы типа ДОТМА/ФЭ и ДОТМА/ФХ могут сливаться при высокой концентрации цитрата. Аналогичный эффект вызывает отрицательно заряженный фосфатидилсерин (ФС) даже в отсутствие полианионов. По-видимому, взаимодействие отрицательно заряженных групп ФС с четвертичными аммониевыми группами ДОТМА или ДОТАП (31) оказывается достаточным для слияния мембран, содержащих эти липиды, и цвиттер-ионный фосфолипидный компонент этих мембран является дополнительным и определяющим фактором мембранной проводимости.¹⁵

Необходимо отметить, что на слияние липосом в присутствии анионов существенное влияние оказывает размер липосом. Так, например, липосомы диаметром 300 нм, в состав которых входит дидодециламмонийбромид, сливаются в присутствии дипиколиновой или *n*-толуолсульфокислоты. Если же диаметр липосом < 200 нм, то слияния не происходит, а наблюдается лишь агрегация.¹⁵

В результате слияния образуется комплекс липосом с анионом, чему предшествует дегидратация поверхности липосом. В дальнейшем планируется провести исследования по количественному определению связывающей способности разнообразных анионов с катионными липидами в составе липосом и по определению возможной дегидратации липосом в присутствии анионов.²⁸

Было показано, что смешанные липосомы ДОТМА/ФХ/ФЭ полностью устойчивы к слиянию в присутствии полианионов. Но при их смешивании с липосомами, содержащими на поверхности отрицательные заряды, образование агрегатов при физиологической или меньшей ионной силе проходило уже легко. Соотношение ФХ/ФЭ в липосомах оказывает большое влияние на степень их агрегации даже в условиях, когда за ней не следует коалесценция (т.е. перемешивание липидов бислоя и/или водных составов). Причем степень агрегации тем выше, чем больше соотношение ФХ/ФЭ. Эти наблюдения могут быть полезны для изучения взаимодействия между липосомами с различным липидным составом, а также для обеспечения исследователей системами, в которых взаимодействие между липосомами не зависит от связи ионов с липидной поверхностью. Тенденция липосом ассоциироваться друг с другом легко контролируется изменением ионного состава среды.^{15, 28}

Механизм взаимодействия ДОТМА/ФЭ-везикул с плазматической мембраной культуральных клеток не выяснен. Возможно, что связывание ДОТМА с отрицательно заряженной сialовой кислотой в составе ганглиозидов приводит к дестабилизации плазматической мембраны и слиянию липосом с клетками. Необходимо отметить, что катионные липосомы, содержащие катионные амфифилы с простой и сложной эфирной связью, одинаково легко взаимодействуют с клеточной мембраной. Кроме того, липосомы, содержащие флуоресцентные метки легко разрушаются после заключения их в клетки CV-1.^{28, 40} Одним из наиболее интересных свойств положительно заряженных липосом, богатых ФЭ, является их способность взаимодействовать с мембранами, содержащими поверхностные белки. Липосомы, образованные ДОТМА/ФЭ, легко адсорбируются эритроцитарными клетками в среде с физиологической ионной силой.²⁸

Немаловажным свойством препарата «Липофектин» является его токсичность для клеток *in vitro* при увеличении концентрации катионного липида сверх определенного уровня. Токсичность препаратов различна для разных типов

клеток и зависит от продолжительности экспозиции и плотности клеточной культуры. Поэтому нужно оптимизировать параметры трансфекции для каждой клеточной линии.

Еще большую токсичность по отношению к трансфектируемым клеткам проявляют четвертичные аммониевые производные 1–4. Поэтому из всех этих соединений чаще всего используют наименее токсичный ЦТАБ, который является более дешевым и доступным заменителем ДОТМА и ДОТАП. Подобные наблюдения были сделаны и для другого катионного липида ДЭБДА, применяемого в исследованиях протопластов растений.¹

2. Положительно заряженные липиды — медиаторы трансфекции

В последнее время быстро развивается одна из наиболее интересных областей медицины — генетическая терапия, — необходимая для исправления генетических дефектов клеток и лечения генетических болезней. Для исправления генетических дефектов нормальные экзогенные гены вводят в клетку-мишень, где они или продукты их жизнедеятельности действуют наряду с дефектными молекулами или заменяют их и, следовательно, помогают клетке нормально функционировать.

Одна из главных задач генетической терапии — поиск методов, которые подходят для специфического и эффективного введения генетического материала. Выяснено, что в исключительных условиях эукариотические клетки могут принимать молекулы ДНК, часть из которых локализуется в ядре. Однако из-за большого размера и заряда самопроизвольное проникновение ДНК в клетку и ее дальнейшая экспрессия в ядро — трансфекция — затруднены. По этой причине применяли различные методы, позволяющие облегчить протекание этого процесса, т.е. вызвать клеточное слияние в специально подобранных условиях, или использовали медиаторы ДНК генной трансфекции. К эффективным методам трансфекции генетического материала можно отнести использование фосфата кальция, липосом, векторов ретровирусов, электропорации и микроинъекции. В некоторых случаях хорошие результаты дает применение таких поликатионов, как полилизин, ДЕАЕ-декстран и полиорнитин. Однако все эти методы характеризуются низкой эффективностью, нестабильной интродукцией генов и плохой воспроизводимостью. Кроме того, применяемые в них соединения зачастую являются токсичными для клеток-мишеней.^{11, 12}

Наиболее современные методы ДНК-трансфекции используют в качестве медиаторов положительно заряженные липосомы. Особый интерес вызывает применение липосом, способных проводить генетический материал в клетки посредством слияния с клеточной мембраной. Катионные липиды различной структуры (1–4, 11–17, 47) вместе с ФЭ и ФХ формируют положительно заряженные липосомы, спонтанно образующие комплексы с полинуклеотидами. Эти комплексы адсорбируются клеточной поверхностью, сливаются с плазматической мембраной и проводят генетический материал в цитоплазму. Поэтому дальнейшее изучение положительно заряженных липосом может привести к созданию удобных и 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 участком молекулы.¹⁴

Настоящий прорыв в трансфекции произвел препарат «Липофектин». Он удобен в использовании и эффективен.^{11–14, 41, 42} Комплекс ДНК–«Липофектин» (ДОТМА/ФЭ) имеет сеть положительных зарядов, облегчающую его взаимодействие с отрицательными зарядами гликолипидов и гликопротеинов на поверхности клеточной мембраны.¹¹

Иногда для ДНК-трансфекции используют и четвертичные аммониевые производные 1–4. Хотя трансфекционная активность липосом, содержащих эти соединения, отчасти ниже активности липофектина, тем не менее они могут применяться как недорогие доступные заменители.^{1, 13, 15, 40, 43}

Кроме ДНК-трансфекции липофектин применяют для эффективного введения РНК в клетки животного происхождения, а также в протопласты ряда растений. Используя этот метод, удается вводить до 70% РНК.² С помощью комплексов РНК–липидов изучают стабильность мРНК при введении их в ткани клеток и эмбрионы. Это может привести к развитию технологии, применяющей РНК в качестве лекарственного препарата.¹³

Липофектин является простым и удобным препаратом для получения различных специфических тканевых клеток или клеточных линий, инфицированных целыми вирусами или только векторами вирусов в отсутствие гомологичных вирусных рецепторов.⁴²

Недавно появились сообщения о возможности трансфекции вектора экспрессии люциферазы кДНК в клетки мозга эмбриона *Xenopus* и мыши, что делает возможным липофекцию (процесс трансфекции с использованием «Липофектина») различных функциональных генов в клетки центральной нервной системы эмбрионов.^{42, 44}

В качестве идеальных амфифилов для полианионов применяют также болаамфилилы 5, 6. Положительно заряженный конец молекулы болаамфила может связывать отрицательно заряженный полианион в водных растворах, даже если он плохо в них растворим. Однако вследствие того, что эти соединения не обладают параллельно расположенными алифатическими цепями, они не могут образовать стабильный бислой. Поэтому они чаще используются в качестве модели для изучения взаимодействия липосом и клеточных мембран с полиэлектролитами.⁴

Катионные липосомы, приготовленные озвучиванием водных дисперсий липидов или с применением солибилизирующих детергентов, используют для включения пероксидазы хрена в эритроциты человека *in vitro*. Стабильность модифицированных эритроцитов исследовалась с точки зрения фотогемолиза.³⁵

Авторами работы¹⁰ была разработана высокоэффективная методика трансфекции, основанная на ионном связывании плазмид с липополиаминами 14, 15. Этот способ был применен для трансфекции липополиаминов в эндокринные клетки промежуточной доли гипофиза. При такой трансфекции не происходили изменения мембранозависимых рецепторов и не нарушалась физиологическая регуляция биосинтеза гормонов. Катионные липополиамины 14 и 15 не обладают токсическим воздействием на клетки и могут быть использованы для трансфекции хромоафинных клеток и нейронов центральной нервной системы. Интересно, что методика не затрагивает нормального клеточного роста или электрохимических характеристик периферийных нейронов. С помощью липополиаминов также было осуществлено введение ДНК в эпидермальные кератиноциты человека.⁴⁵

К числу наиболее эффективных медиаторов ДНК-трансфекции относятся так называемые липополизидины 13.⁹ В качестве исходного для синтеза этого препарата применяют поли-L-лизин в силу его биодegradируемости при попадании в клетку, в отличие от поли-D-лизина. Такой препарат используется в индивидуальном состоянии, так как его липосомальная форма (с ФХ или ФЭ) проявляет только 50% активности в ДНК-трансфекции по отношению к индивидуальной форме. Препараты липополизидина являются на сегодняшний день одними из самых активных и относительно недорогих медиаторов ДНК-трансфекции клеток типа L929 мыши и HeLa клеток человека, а также Vero клеток обезьяны.

Представленные данные свидетельствуют о возможности применения липофекции в условиях *in vivo*. В настоящее время оптимальной признана методика, использующая в качестве катионного липида ДОТМА или его аналоги серии диолеилалкильных производных, содержащих гидроксиалкильную цепочку в четвертичной аммониевой головке. Эти соединения входят в состав липосом в смеси с диолеилфосфатидилэтаноламином (50 мол. %).^{46–48}

Недавно разработан аэрозольный метод введения плазмид экспрессии хлорамфениколацетилтрансферазы, позволяющий получить высокий легочноспецифический уровень ее продуцирования в организме мышей *in vivo*.⁴⁹

Получены обнадеживающие результаты липофекции плазмид, кодирующих синтез гормона роста человека, посредством введения препарата внутривенно в организм мышей.⁵⁰

Показано, что прямое внутривенное введение комплексов ДНК – катионные липосомы в организм взрослых животных эффективно трансфектирует все типы тканей (эндотелиальные клетки сосудов, паренхимальные клетки легких, селезенки, лимфатических узлов и костного мозга). Экспрессия введенных генов сохранялась на стабильном уровне в течение 9 недель после трансфекции. В настоящее время эти результаты рассматриваются с точки зрения изучения процессов старения на молекулярном уровне.⁵¹

Кроме того, исследование тканей органов и анализ сердечных функций мышей и свиней после применения липофекции *in vivo* не выявили никаких патологий при использовании даже заведомо избыточных доз комплекса ДНК – липосомы.⁵²

Необходимо отметить, что метод трансфекции, использующий в качестве медиаторов катионные липосомы, может оказаться перспективным в ферментно- и гормонозаместительной терапии при лечении разнообразных форм заболеваний, таких как сахарный диабет, дефекты роста и различных заболеваний крови (β -талассемия, нехватка аденозиндезаминазы, серповидноклеточная анемия и др.).^{14, 49, 50, 53}

3. Использование катионных липидов в качестве ингибиторов мембраносвязанной протеинкиназы C и диацилглицеролкиназы

В связи с изучением влияния липидов типа 1-*O*-октадецил-2-*O*-метил-*rac*-глицеро-3-фосфохолина (ET-18-OMe) на метастазирование и рост разнообразных неопластических клеточных линий большой интерес представляют новые четвертичные аммониевые производные глицеролипидов **20**. Эти соединения оказались эффективными ингибиторами мембраносвязанной протеинкиназы C (ПКЦ), регулирующей содержание фосфолипидов и ионов Ca^{2+} в клетке. Изучение механизма действия этой киназы, активируемой фосфатидилсеринном, эфирами форбола и диацилглицеринами, показало, что экзогенные алкилацилглицерины и диалкильные производные способны ингибировать эту киназу, присутствующую в клетках HL-60. Аналогичная активность соединений типа **23** и **32** наблюдалась и в отношении диацилглицеролкиназы (ДАК).⁷ В целях изучения молекулярного взаимодействия этих ферментов с их природными активаторами, ингибиторами и субстратами был синтезирован ряд диалкильных и диацильных четвертичных аммониевых производных различной структуры (соединения **10**, **21**, **23**, **32** и т.д.).

Исследование активности ПКЦ в присутствии названных соединений при использовании в качестве активаторов смеси *rac*-1,2-диолеилглицерина – ФС – Ca^{2+} показало, что для проявления ингибирующей активности необходимо наличие в его составе относительно длинноцепного алкильного или ацильного заместителя при атоме C(1) глицеринового фрагмента, короткоцепного алкильного или ацильного заместителя при атоме C(2), а также функциональной группы при

атоме C(3), способной образовывать водородные связи. Аналогичное заключение было сделано и в отношении ДАК при использовании в исследованиях *rac*-1,2-диолеилглицерина в качестве субстрата.

В условиях эксперимента наиболее активными оказались соединения **32a,b**; тогда как липид **10** диольного типа в данном случае был неактивен.

При испытаниях в качестве одного из активаторов 2-*O*-ацетил-1-*O*-олеилглицерина были исследованы соединения типа **21**, **23** и **26** на их способность ингибировать ПКЦ (полученную из головного мозга крупного рогатого скота), что позволило выявить влияние структуры этих соединений на процесс ингибирования. В табл. 1 приведены данные по величине концентрации при 50%-ном ингибировании ПКЦ соединениями различной структуры.^{16, 54}

Из приведенных данных можно сделать следующие выводы:

— замена кислородного атома на атом серы не приводит к существенному изменению активности (сравни соединения **23a** и **23f**);

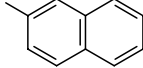
— длинная алкильная цепь при атоме C(1) глицерина играет решающую роль в проявлении активности (**23e** неактивен);

— не обнаружено существенных различий в активности соединений, содержащих метокси- и этокси группы при атоме C(2) глицеринового фрагмента (соединения **23a** и **23b**);

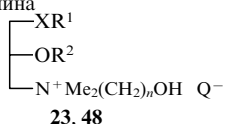
— на активность влияет изменение длины цепи *N,N*-диметилалкиламмониевого спирта. Так, пропанольное производное **23g** показывает более высокую активность, чем **23a**;

Таблица 1. Данные по концентрации при 50%-ном ингибировании (IC_{50} , мкмоль $\cdot$ л⁻¹) ПКЦ.^{16, 54}

		$\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{R}^1 \quad \text{R}^2 \\ \text{N}^+ \text{Me}_2 \text{R}^3 \quad \text{Q}^- \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{XR}^1 \\ \text{OR}^2 \\ \text{Z-N}^+ \text{Me}_2 \text{R}^3 \quad \text{Q}^- \end{array}$		
		21		23, 26		
Соединение	X	R ¹	R ²	R ³	Q	IC ₅₀
ET-18-OMe ^a	O	C ₁₈ H ₃₇	Me	Me	—	12
21	—	C ₁₇ H ₃₅	H	(CH ₂) ₃ OH	Br	13
23a	S	C ₁₆ H ₃₃	Me	(CH ₂) ₂ OH	Br	27
23b	S	C ₁₆ H ₃₃	Et	(CH ₂) ₂ OH	Br	37
23c	S	C ₁₆ H ₃₃	Et	(CH ₂) ₃ OH	Br	26
23d	S	C ₁₆ H ₃₃	Me	Me	Me	25
23e	O	Napht ^b	Me	(CH ₂) ₂ OH	Br	≥40
23f	O	C ₁₆ H ₃₃	Me	(CH ₂) ₂ OH	I	17
23g	S	C ₁₈ H ₃₇	Me	(CH ₂) ₃ OH	I	5
23h	O	C ₁₆ H ₃₃	Me	Me	Br	> 40
23i	O	C ₁₆ H ₃₃	H (вместо OR ²)	Me	Br	≥40
26a ^c	O	C ₁₆ H ₃₃	Me	Me	Br	31
26b ^d	O	C ₁₆ H ₃₃	Me	Me	Br	> 40
26c ^e	O	C ₁₆ H ₃₃	Me	Me	Br	≥0
26d ^d	O	C ₁₆ H ₃₃	Et	Me	Br	≥40

^a Z = OPO₃⁻(CH₂)₂, ^b Napht = , ^c Z = O(CH₂)₂,

^d Z = O(CH₂)₄, ^e Z = O(CH₂)₆.

Таблица 2. Данные по концентрации при 50%-ном ингибировании роста неопластических клеток в ряду липидов с катионной головкой в форме «обращенного» холина

Соединение	X	R ¹	R ²	n	Q	IC ₅₀ , мкмоль · л ⁻¹	Тип клеток	Ссылки
ET-18-OMe	O	C ₁₈ H ₃₇	Me	—	—	2.50 ± 0.31	HL-60	6
23a	S	C ₁₆ H ₃₃	Me	2	Br	4.66 ± 0.27	HL-60	54
23b	S	C ₁₆ H ₃₃	Et	2	Br	3.72 ± 0.05	HL-60	54
23c	S	C ₁₆ H ₃₃	Et	3	Br	2.95 ± 0.36	HL-60	54
23g	S	C ₁₈ H ₃₇	Me	3	Br	3.55 ± 0.22	HL-60	54
23e	S	Napht	Me	2	Br	> 10	HL-60	54
23j	S	C ₁₈ H ₃₇	H	2	I	0.35 ± 0.05	KB	5
23k	S	C ₁₆ H ₃₃	C ₆ H ₁₁	2	Br	7.15	HL-60	6
48	S	C ₁₆ H ₃₃	CH ₂ OMe (вместо OR ²)	3	Br	3.46	HL-60	6

— замена «обращенной» холиновой группы на триалкиламмониевую улучшает ингибирование фермента (свободная гидроксильная группа несущественно изменяет активность);

— замена четвертичной аммониевой группы на гидроксильную не влияет на ингибирование ПКЦ, но полностью уничтожает цитотоксичность этих аналогов в отношении опухолевых клеток;

— перемещение четвертичного атома азота от глицеринового скелета на конец алкильной цепи из нескольких метиленовых групп незначительно влияет на ПКЦ-активность (соединения **26a–c** и **23b**).

В заключение необходимо отметить, что ограничение подвижности глицеринового скелета при включении R¹ и R² в структуру ацетального типа не приводит к уменьшению активности. Кроме того, стереоспецифичность синтезированных соединений не является определяющим фактором в ингибировании ПКЦ.¹⁶ Предварительные эксперименты по выяснению механизма ингибирования ПКЦ показали, что приведенные соединения блокируют ее активацию фосфатидилсеринном.

В настоящее время проводятся исследования, которые помогут выявить для этих соединений корреляцию между антинеопластической активностью и способностью ингибировать ПКЦ.

4. Противоопухолевое действие положительно заряженных липидов

Широко известно, что положительно заряженные липиды алкильного типа влияют на метаболизм и рост разнообразных неопластических клеточных линий. Соединение ET-18-OMe и его бесфосфорные аналоги накапливаются на поверхности плазматической мембраны, ингибируя ПКЦ и некоторые другие киназы, что, возможно, связано с проявляемой ими антинеопластической активностью *in vitro* (HL-60- и KB-клетки) и *in vivo* (S-180- и MM46-клетки).²⁰ Кроме того, липиды алкильного типа могут селективно накапливаться в опухолевых клетках в силу низкой активности в них ферментов, расщепляющих простые эфирные связи.^{28, 55} Вследствие этого нарушается нормальный биосинтез липидов клеточной мембраны, ее функции и целостность.

Был синтезирован ряд катионных липидов, обладающих антинеопластической активностью. Условно их можно подразделить на пять основных серий:

1) липиды с катионной головкой в форме «обращенного» холина (табл. 2);

2) катионные липиды ацетального типа (табл. 3).

3) липиды с аммониевой группой, присоединенной непосредственно к глицериновому фрагменту (табл. 4).

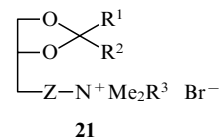
4) липиды с катионной головкой, присоединенной к глицериновому скелету через спейсерную группу (табл. 5).

5) производные катионных липидов диольного типа (табл. 6).

Все соединения были исследованы на антинеопластическую активность по отношению к клеткам различного типа (табл. 2–6). При сопоставлении результатов экспериментов, проведенных в сходных условиях можно сделать ряд выводов.

«Обращенные» холины первой серии в основном оказались менее активными, чем соединения третьей и четвертой серий, которые сравнимы по активности с эталонным ET-18-OMe. Наличие гидроксильной группы в катионной головке несколько снижает активность. Влияние гетероатома (S или O) при атоме C(1) глицерина точно не выяснено.⁵⁴

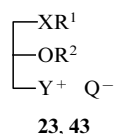
Уменьшение длины алкильного заместителя при атоме C(1) глицерина или замена его на ароматическую систему снижает активность соединения в отношении клеток HL-60. Так, соединение **23e** (табл. 2) не проявляет активности в пределах измеряемых концентраций.

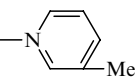
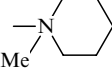
Таблица 3. Данные по концентрации при 50%-ном ингибировании роста неопластических клеток в ряду катионных липидов ацетального типа.⁵⁴

Соединение	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ , мкмоль · л ⁻¹	Тип клеток
21a	C ₁₇ H ₃₅	H	(CH ₂) ₃ OH	6.47 ± 0.24	HL-60
21b	Me	Me	(CH ₂) ₂ OH	> 10	HL-60
21c^a	C ₁₇ H ₃₅	Me	Me	2.82 ± 0.42	HL-60

^a Z = O(CH₂)₄.

Таблица 4. Данные по концентрации при 50%-ном ингибировании роста неопластических клеток HL-60 в ряду липидов с аммониевой группой, присоединенной непосредственно к глицериновому фрагменту.



Соединение	X	R ¹	R ²	Y	Q	IC ₅₀ , мкмоль · л ⁻¹	Ссылки
23h	O	C ₁₆ H ₃₃	Me	NMe ₃	Br	1.59 ± 0.17	54
23i	O	C ₁₆ H ₃₃	H (вместо OR ²)	NMe ₃	Br	1.61 ± 0.10	54
23l	O	C ₁₆ H ₃₃	Et	NEt ₃	Br	0.68 ± 0.11	54
23m	O	C ₁₆ H ₃₃	Et		Br	1.01 ± 0.06	54
23n	O	C ₁₆ H ₃₃	H (вместо OR ²)		Br	0.82 ± 0.24	54
23o	O	C ₈ H ₁₇	Me	NMe ₃	Br	21.15 ± 5.40	6
23p	O	C ₁₆ H ₃₃	Me		Br	1.07 ± 0.30	6
23q	O	C ₁₈ H ₃₇	Et		Br	2.92	6
23d	S	C ₁₆ H ₃₃	Me	NMe ₃	Br	2.20 ± 0.30	43
23r	S	C ₁₆ H ₃₃	Me	NMe ₂ CH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	Br	3.62 ± 0.04	6
23s	S	C ₁₆ H ₃₃	Me		Br	8.75	6
23t	S	C ₁₆ H ₃₃	C ₅ H ₁₁	NMe ₃	Br	6.14	6
43	O	C ₁₆ H ₃₃	Me	SMe(CH ₂) ₂ OH	TsO	2.49 ± 0.29	6

Ограничение ротационной подвижности при наличии ацетальной системы при атомах C(1) и C(2) глицеринового фрагмента уменьшает антинеопластическую активность соединений.

Наличие метокси- или этоксигрупп при атоме C(2) не сказывается на величине активности. Однако наличие алкильного заместителя с длиной цепи более пяти атомов углерода резко снижает активность соединения. Замена метокси- и этоксигрупп на гетероциклические основания пиримидинового или пиридазинового типа вызывает небольшое уменьшение антинеопластической активности.²⁴

Среди соединений четвертой серии ингибирование роста неопластических клеток слегка снижается при увеличении длины спейсерной группы, но остается близким к активности ET-18-OMe.

Наличие четвертичной аммониевой или третичной сульфониевой групп является необходимым для проявления активности, причем сульфониевые и пиридиниевые производные более активны.⁶

Степень олигомеризации этиленоксигруппы в соединениях структуры **29** не играет решающей роли для их активности *in vitro*²⁰ (табл. 5). Аналогичный вывод можно сделать и относительно соединений **49a**, **49b** с различным количеством метиленовых групп, отделяющих сульфогруппу от катионной головки.⁵⁶

Интересно, что соединение **29**, содержащее ацетоацетильную группу при атоме C(2) глицеринового фрагмента, оказа-

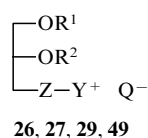
лось довольно активным в исследованиях *in vivo* против клеток S-180 и MM46, в отличие от исследований *in vitro*.²⁰

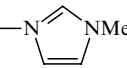
Некоторые из синтезированных аналогов были проверены в других системах. Так, для клеточных линий ChaGo и K562-4 ингибирование было аналогично клеточной линии 77. Ингибирование клеток P388 лейкемии мыши сравнимо с действием против клеток KB. Клетки гепатомы крысы МНС, полученные от гепатомы Морриса 7795, ингибировались в 2–3 раза хуже, чем штамм клеток 77 (см.⁵).

Имеются сведения,⁵⁷ доказывающие, что немаловажную роль в уменьшении токсичности липидов алкильного типа (АЛ) для HL-60 клеток *in vitro* играет повышенная концентрация холестерина в клеточной мембране.

5. Противовирусная активность положительно заряженных липидов

Синтетические липиды алкильного типа проявляют широкий спектр биологической активности, включая ингибирование репликации вируса ВИЧ-1. Точный механизм действия не совсем ясен. ВИЧ-инфицирование — поэтапный процесс, начинающийся со связывания ВИЧ с CD₄-рецепторами лимфоцитов. После связывания ВИЧ проникает в клетку либо посредством прямого слияния вирусной оболочки с плазматической мембраной, либо благодаря рецептор-зависимому эндоцитозу комплекса CD₄–ВИЧ.^{6, 59} Существуют данные, показывающие, что блокада ВИЧ-зависимого фосфорилиро-

Таблица 5. Данные по концентрации при 50%-ном ингибировании роста неопластических клеток в ряду липидов с катионной головкой, присоединенной к глицерину через спейсерную группу.

Соединение	R ¹	R ²	Z	Y	Q	IC ₅₀ мкг · мл ⁻¹	Тип клетки	Ссылки
ET-18-OMe	C ₁₆ H ₃₃	Me	O(CH ₂) ₂	NMe ₃	Br	2.5 ± 0.31 ^a 0.63	HL-60 KB	6, 54 20
26a	C ₁₆ H ₃₃	Me	O(CH ₂) ₂	NMe ₃	Br	1.85 ± 0.15 ^a	HL-60	54
26b	C ₁₆ H ₃₃	Me	O(CH ₂) ₂	NMe ₃	Br	2.30 ± 0.37	HL-60	54
26e	C ₁₆ H ₃₃	Me	O(CH ₂) ₂	NMe ₃	Br	3.79 ± 0.13 ^a	HL-60	54
26d	C ₁₆ H ₃₃	Et	O(CH ₂) ₄	NMe ₃	Br	1.86 ± 0.04	HL-60	54
26f	C ₁₆ H ₃₃	Et	O(CH ₂) ₄		Br	0.78 ± 0.02	HL-60	54
26g	C ₁₆ H ₃₃	H (вместо OR ²)	O(CH ₂) ₄	NMe ₃	Br	1.56 ± 0.10 ^a	HL-60	54
26h	C ₁₈ H ₃₇	Me	O(CH ₂) ₂	NMe ₃	Cl	1.25 0.16	HL-60 KB	20 20
29a	C ₁₈ H ₃₇	Me	(OCH ₂ CH ₂) ₂	NMe ₃	Cl	1.25 0.32	HL-60 KB	20 20
29b	C ₁₈ H ₃₇	Me	(OCH ₂ CH ₂) ₅	NMe ₃	Cl	1.25 0.16	HL-60 KB	20 20
29c	C ₁₈ H ₃₇	C ₄ H ₉	(OCH ₂ CH ₂) ₂	NMe ₃	Cl	2.5	HL-60	20, 24
29d	C ₁₈ H ₃₇		(OCH ₂ CH ₂) ₂	NMe ₃	Cl	0.31 0.32	HL-60 KB	20, 24, 58 20, 24, 58
29e	C ₁₈ H ₃₇	COCH ₂ Ac	(OCH ₂ CH ₂) ₂	NMe ₃	Cl	20.0	HL-60	20, 24
29f	C ₁₈ H ₃₇	CH ₂ CF ₃	(OCH ₂ CH ₂) ₂	NMe ₃	Cl	2.5	HL-60	20, 24
29g	C ₁₈ H ₃₇		(OCH ₂ CH ₂) ₂		Cl	0.63	HL-60	24, 58
27	C ₁₆ H ₃₃	Me	S(CH ₂) ₂	NMe ₃	Br	2.4	HL-60	6
49a	C ₁₆ H ₃₃	Me	SO ₂ (CH ₂) ₃	NMe ₃	MsO	1.25	HL-60	56
49b	C ₁₆ H ₃₃	Me	SO ₂ (CH ₂) ₆	NMe ₃	MsO	5.0	HL-60	56

^a Размерность мкмоль · л⁻¹.

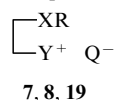
вания CD₄-рецепторов посредством введения селективного ингибитора ПКЦ эффективно ингибирует инфицирование клетки вирусом.

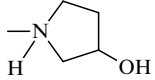
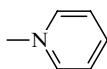
Недавно был исследован новый класс алкильных липидов — потенциальных ингибиторов ПКЦ — на анти-ВИЧ-1-активность. В проведенных исследованиях для определения действия структурно модифицированных, не содержащих фосфора, аналогов липидов алкильного типа использовали монослои или суспензионные культуры Т-клеток (СЕМ-ss) человека. Изучали концентрацию 50%-ного ингибирования роста СЕМ-ss клеток и образования бляшек ВИЧ-1, а также уменьшение вирусного баддинга (захвата вирусом области клеточной мембраны при проникновении в клетку).^{17, 60}

В результате экспериментов установили, что обработка клеток инфицированных ВИЧ-1 соединениями этого типа не

сопровождается увеличением активности обратной транскриптазы, что подразумевает различные механизмы действия 3'-азидо-3'-дезокситимидина (АЗТ) и катионных липидов.

Электронно-микроскопические исследования показали,⁶⁰ что в клетках, инфицированных ВИЧ-1 и обработанных положительно заряженными липидами, отсутствует вирусный баддинг на поверхности клеточной мембраны, однако присутствуют внутриклеточные вакуолярные частицы вируса. Эти данные предполагают, что аналоги АЛ нарушают процесс образования цитоплазматических вакуолярных форм ВИЧ-1 в Т-клетках. Связывание ВИЧ-1 с CD₄-рецепторами Т-лимфоцитов вызывает их фосфорилирование при помощи фосфолипид-Ca²⁺-зависимой ПКЦ, при этом катионные липиды, ингибирующие киназу, блокируют внут-

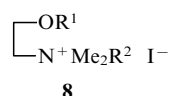
Таблица 6. Данные по концентрации при 50%-ном ингибировании роста неопластических клеток в ряду производных катионных липидов диольного типа.

Соединение	X	R	Y	Q	IC ₅₀ , мкмоль · л ⁻¹	Тип клетки	Ссылки
7	OCO	C ₁₅ H ₃₁	NMe ₂ (CH ₂) ₂ OH	Br	50 ^a	KB	5
8a	O	C ₁₂ H ₂₅	NMe ₂ (CH ₂) ₂ OH	I	0.78 ± 0.03	KB	5
8b	O	C ₁₆ H ₃₃	NMe ₂ (CH ₂) ₂ OH	Br	0.33 ± 0.12	KB	5
8c	O	Ph	NMe ₂ (CH ₂) ₂ OH	Br	> 100	HL-60	5
8d	O	H	NMe ₂ (CH ₂) ₂ OH	Br	> 100	HL-60	5
8e	O	C ₁₆ H ₃₃		Br	1.26 ± 0.36	HL-60	5
19a	S	C ₁₆ H ₃₃		Br	2,28	HL-60	6
19b	S	C ₁₆ H ₃₃	NMe ₂ (CH ₂) ₂ OH	Br	3.95	HL-60	6

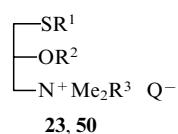
^a Размерность ммоль · л⁻¹.

риклеточные процессы развития и размножения вирусных частиц. Ингибирование образования бляшек ВИЧ-1 происходит концентрационно-зависимым образом до тех пор, пока вирус не перестает действовать на рост Т-клеток человека.

Исследовали активность против ВИЧ-1 следующих соединений:



R¹ = C₁₈H₃₇; R² = (CH₂)₂CH(OH)CH₂OH (**8f**);
R¹ = C₁₆H₃₃; R² = (CH₂)₂OH (**8g**), (CH₂)₃OH (**8h**)



Соединение	R ¹	R ²	R ³	Q
23a	C ₁₆ H ₃₃	Me	(CH ₂) ₂ OH	Br
23b	C ₁₆ H ₃₃	Et	(CH ₂) ₂ OH	Br
23d	C ₁₆ H ₃₃	Me	Me	Br
23g	C ₁₈ H ₃₇	Me	(CH ₂) ₃ OH	I
23r	C ₁₆ H ₃₃	Me	CH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	Br
23u	C ₁₆ H ₃₃	Et	C ₅ H ₅ N ⁺ (вместо N ⁺ Me ₂ R ³)	Br
50	C ₁₆ H ₃₃	Et	OH (вместо N ⁺ Me ₂ R ³)	—

Анализ результатов (табл. 7) показывает, что ингибирование образования бляшек ВИЧ-1 в клетках СЕМ-ss происходит в пределах нетоксичных для клеток-хозяев концентраций. Для проявления анти-ВИЧ-1-активности соединения этого типа должны обладать длинноцепным алкильным заместителем при атоме С(1), короткоцепным при атоме С(2) и четвертичной аммониевой группой при атоме С(3) глицерина.

Изменения типа катионной головки и размеров заместителей при четвертичном атоме азота не оказывают существенного влияния на активность соединений.^{17, 60} Однако в случае ее отсутствия соединение становится неактивным (например, **50**).

К сожалению, не получено никаких данных, позволяющих судить об ингибировании образования бляшек вируса герпеса простого типа 2 (ВГП-2) или инактивации внутриклеточного вируса, что, очевидно, говорит о селективности соединений такого типа против ВИЧ-1. По-видимому, это происходит в силу того, что они взаимодействуют с цитоплазматической мембраной (место баддинга ВИЧ-1), а не с ядерной мембраной (место баддинга вируса герпеса). Кроме того, вирусу герпеса для инфицирования не требуется РКС, и вирусное размножение отлично от ВИЧ-1 (табл. 7).¹⁷

В настоящее время проводятся исследования по выяснению механизма действия аналогов АЛ, ингибирующих инфицирование ВИЧ-1 и вызывающих образование дефектных форм вируса. Показано, что липидные антагонисты не являются ингибиторами обратной транскриптазы, но нарушают репликацию вируса на последней стадии. Поэтому выбор оптимальных аналогов может обеспечить специалистов эффективными химиотерапевтическими препаратами, которые индивидуально или в сочетании с ДНК-интерактивными анти-ВИЧ-нуклеозидными аналогами можно будет использовать в лечении СПИДа.⁶⁰

6. Катионные липиды — аналоги и антагонисты ФАТ

В последнее десятилетие синтезированы и изучены многочисленные специфические и неспецифические аналоги и антагонисты фактора активации тромбоцитов. Особый интерес представляют синтетические производные, позволяющие решить вопрос о соотношении между структурой и биологической активностью и о возможном терапевтическом действии.

Многочисленные ФАТ-антагонисты липидной структуры можно подразделить на следующие типы: природные фосфолипидные антагонисты ФАТ, их производные и синтетические соединения. В основном эти антагонисты — активные ингибиторы связывания ФАТ с его рецепторами. Многие из них высоко специфичны по своему биологическому действию, за исключением некоторых фосфолипидных аналогов, которые при высоких концентрациях не проявляют

Таблица 7. Данные по концентрации при 50%-ном ингибировании в отношении образования бляшек ВИЧ-1 и роста СЕМ-ss клеток.^{17, 60}

Соединение	IC ₅₀ образования бляшек ВИЧ, мкмоль · л ⁻¹	IC ₅₀ роста СЕМ-ss клеток, мкмоль · л ⁻¹	D ^a
A3T	0.004 ± 0.001	5.6 ± 0.8	1400
ET-18-OMe	0.92 ± 0.39	4.0 ± 0.7	4.3
23a	0.37 ± 0.02	2.1 ± 1.0	5.7
23b	0.63 ± 0.18	5.1 ± 0.4	8.1
23d	0.39 ± 0.24	5.3 ± 0.1	13.4
23g	0.41 ± 0.29	4.0 ± 2.7	9.8
23i	0.49 ± 0.23	2.0 ± 0.1	4.1
23k	0.21 ± 0.01	1.1	5.2
8f	0.20 ± 0.05	2.0 ± 0.5	14.5
8g	0.38 ± 0.29	6.0 ± 0.2	15.6
8h	0.24 ± 0.06	1.5 ± 0.1	6.1
50	> 5.0	> 20.0	—

^a D — дифференциальная селективность — отношение концентрации ингибирования роста СЕМ-ss клеток к концентрации ингибирования образования бляшек ВИЧ-1.

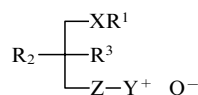
какой-либо значительной антагонистической активности.^{26, 61}

Таблица 8. Данные по концентрации при 50%-ном ингибировании агрегации тромбоцитов антагонистами ФАТ (условия проведения экспериментов, тип тромбоцитов см. в литературном источнике).

Соединение	X	R ¹	R ²	Z	Y	Q	IC ₅₀ , мкмоль · л ⁻¹	Ссылки
CV-3988	CONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	OPO ₃ ⁻ (CH ₂) ₂		—	1.6	26
ONO-6240	O	C ₁₆ H ₃₃	OEt	O(CH ₂) ₇		OMs	0.1	61, 72, 73
CV-6209	CONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	CONAcCH ₂		OMs	0.2	35
Ro-18-8736	CONH	C ₁₈ H ₃₇	NHCOOMe	OCO(CH ₂) ₃		I	0.63	74
Ro-19-3704	CONH	C ₁₈ H ₃₇	OCOOMe	O(CH ₂) ₄		I	0.1 + 1	74, 75
Ru-45703	O	C ₁₈ H ₃₇	OEt	COO(CH ₂) ₄	NMe ₃	I	8.0	22, 76
33a	O	C ₁₈ H ₃₇	OCOMe	O(CH ₂) ₄	NMe ₃	I	> 100	77
42a	O	C ₁₈ H ₃₇	OCOMe	CONAcCH ₂ CH ₂	NMe ₃	I	0.88	35
42b	O	C ₁₈ H ₃₇	OCOMe	CONH(CH ₂) ₂	NMe ₃	Br	8.4	35
42c	CONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	CONAc(CH ₂) ₃	NMe ₃	I	8.5	35
42d	CONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	CONH(CH ₂) ₂ Me	—	—	> 30	35

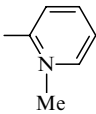
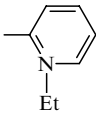
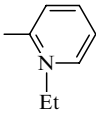
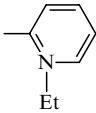
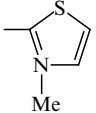
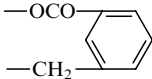
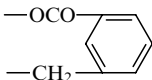
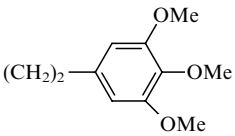
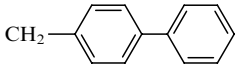
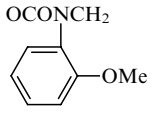
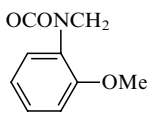
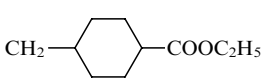
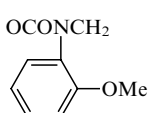
В настоящее время наиболее широко используются два метода изучения ФАТ-антагонистов в условиях *in vitro*: ингибирование вызываемой ФАТ агрегации тромбоцитов кролика, человека и морской свинки, а также ингибирование специфического связывания [¹H]ФАТ с клетками или изолированными мембранами.⁶¹ В экспериментах *in vivo*, обычно проводимых на мышах или кроликах, рассматривается воздействие антагонистов на снижение давления, вызываемое ФАТ, а также предотвращение летального действия высоких доз ФАТ.^{47, 62–67}

Один из первых антагонистов ФАТ фосфолипидной природы CV-3988 (табл. 8) был синтезирован сначала как сильный противогрибковый и цитотоксический агент.⁶⁸ Следующий структурный бесфосфорный аналог — CV-6209 — оказался примерно в 80 раз активнее в экспериментах *in vitro*.^{26, 61, 63, 69, 70} В этой связи была синтезирована серия антагонистов путем замещения фосфохолиновой группы ФАТ на четвертичные аммониевые группы различного типа, присоединенные к глицериновому фрагменту посредством спейсерных групп. В общем виде структуру ФАТ-антагонистов можно представить следующим образом:



Сила антагонистов по отношению к вызванному ФАТ состоянию зависит от их структуры и условий эксперимента. Для каждой серии катионных липидов, представители которых приведены в табл. 8, получены данные по концентрациям ингибирования вызванной ФАТ агрегации тромбоцитов. Для большинства из них поставлены эксперименты

Таблица 8 (окончание).

Соединение	X	R ¹	R ²	Z	Y	Q	IC ₅₀ , мкмоль · л ⁻¹	Ссылки
51a	OCONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	OCONAc(CH ₂) ₂		Cl	0.2	35
51b	OCONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	OCONAcCH ₂		Cl	0.075	61
51c	OCONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	OCONAcCH ₂		Cl	0.084	61
51d	OCONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	OCONAcCH ₂		Cl	0.091	61
51e	OCONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	OCONAcCH ₂		I	0.41	61
52a	OCONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	NHSO ₂ (CH ₂) ₃	NMe ₃	Cl	48.1	25
52b	OCONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	NHSO ₂ (CH ₂) ₃		I	1.89	25
52c	OCONH	C ₁₈ H ₃₇	OMe	NHSO ₂ (CH ₂) ₃		I	5.20	25
52d	S	C ₁₆ H ₃₃	OMe	NHSO ₂ (CH ₂) ₃		I	3.64	25
53a	O	C ₁₆ H ₃₃	H			Br	3.6	78
53b	O	C ₁₈ H ₃₇	H		NMe ₃	Br	31	78
54a	O		—	OCONAcCH ₂	—	I	0.38	62, 70
54b	O		—		—	I	0.025	62, 70
54c	OCONH	(CH ₂) ₃ OCONHC ₁₈ H ₃₇	—		—	Cl	0.044	62, 70
54d	OCONH		—		—	I	2.6	62, 70

по изучению влияния антагониста на патологические состояния, вызванные введением ФАТ в условиях *in vivo*.^{25, 35, 61–64, 71}

Перечислим основные требования, предъявляемые к структуре антагонистов ФАТ:

— длинноцепной заместитель при атоме С(1), присоединенный к глицерину посредством окси-, тио-, карбамоил-, карбамоилтиогруппы, оптимально должен содержать 16–18 углеродных атомов;

— конфигурация хирального центра должна быть аналогична ФАТ (R);

— заместитель при атоме С(2) глицерина по своему характеру и пространственному объему должен быть аналогичен ацетилю;

— необходима замена фосфатной группы при атоме С(3) на спейсерную группу любого типа;

— катионная головка должна иметь приемлемую структуру.

Из представленных в табл. 8 данных следует, что замена алкильной цепи при атоме С(1) глицерина на ароматические и гетероциклические группы с заместителями различной длины и структуры не привела к резкому изменению антагонистической активности (сравни CV-6209 и **54a**).^{35, 61, 62}

Никаких значительных различий в активности *in vitro* между RS- и R(–)- и S(+)-аналогами не было обнаружено (сравни **51b–d**). Подобная ситуация была отмечена для соединений SRI 63-072 и SRI 63-119.^{35, 79}

В случае, когда спейсерная группа Z представляет собой карбамоильное производное, введение ацила в эту группу приводит к увеличению блокировки агрегации тромбоцитов *in vitro* (сравни **42a** и **42b**).^{62, 64, 70} Однако если в спейсерной группе вместо ацильного заместителя используются амидные мостики, линейные имидные связи, алкильные и некоторые карбамоильные заместители, активность снижается довольно заметно. Аналогичный эффект вызывает увеличение размера спейсерной группы в целом.^{62, 70}

В качестве катионной головки предпочтительно использовать тиазолиниевые и пиридиновые группы. Причем наличие в гетероцикле этильного заместителя при четвертичном атоме азота — наиболее благоприятно сказывается на антагонистической активности (соединение **51b**).^{35, 61, 70}

В настоящее время антагонисты ФАТ помогают прояснить возможную роль этого природного биорегулятора в различных патологических изменениях в организме, а также его взаимодействие с другими возбудителями и иммунологическими посредниками этих процессов.⁸⁰ Многие исследователи активно работают над оценкой их клинического действия. Полученные данные позволяют предположить, что можно с определенным терапевтическим эффектом воздействовать на астму, аллергические заболевания, шоковые синдромы, эндотоксикацию организма и преждевременные роды, псориаз и многие аллергические болезни глаз.

В заключение необходимо отметить, что создание и многогранное изучение новых положительно заряженных глицеролипидов с целью выявления среди них биологически активных веществ с расширенным спектром терапевтического действия является актуальным направлением биоорганической химии и биотехнологии.

Литература

1. P.Pinnoduwege, L.Schmitt, L.Huang. *Biochim. Biophys. Acta*, **985**, 33 (1989)
2. N.Ballas, N.Zakai, I.Sela, A.Loyter. *Biochim. Biophys. Acta*, **939**, 8 (1988)
3. Пат. 4661663 США (1987)
4. J.H.Fuhrhop, H.Tank. *Chem. Phys. Lipids*, **43**, 193 (1987)
5. S.C.Crumpton, B.Goz, K.S.Ishaq. *Anticancer Res.*, **8**, 1361 (1988)

6. S.L.Morris-Natschke, F.Gumus, C.J.Marasco, K.L.Meyer, M.Marx, C.Piantadosi, M.D.Layne, E.J.Modest. *J. Med. Chem.*, **36**, 2018 (1993)
7. J.Goddat, H.Coste, I.Vilgrain, E.Chambaz, H.Driguez. *Lipids*, **27**, 331 (1992)
8. A.Ito, R.Miyazoe, J.-Y.Mitoma, T.Akao, T.Osaki, T.Kunitake. *Biochem. Int.*, **22**, 235 (1990)
9. X.Zhou, A.L.Klibanov, L.Huang. *Biochim. Biophys. Acta*, **1065**, 8 (1991)
10. J.P.Behr, B.Demeneix, J.P.Loeffler, J.Perez-Mutul. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 6982 (1989)
11. P.L.Felgner, G.M.Ringold. *Nature (London)*, **337**, 387 (1989)
12. P.L.Felgner, T.R.Gadek, M.Holm, R.S.Roman, H.W.Chan, M.Wenz, J.P.Northrop, G.M.Ringold, M.Danielsen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 7413 (1989)
13. R.W.Malone, P.L.Felgner, I.M.Verma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 6077 (1989)
14. Пат. 4897355 США (1990)
15. N.Duzgunes, J.A.Goldstein, D.S.Friend, P.L.Felgner. *Biochemistry*, **28**, 9179 (1989)
16. C.J.Marasco, C.Piantadosi, K.L.Meyer, S.L.Morris-Natschke, K.S.Ishaq, G.W.Small, L.W.Daniel. *J. Med. Chem.*, **33**, 985 (1990)
17. L.S.Kucera, N.Iyer, E.Leake, A.Raben, E.J.Modest, L.W.Daniel, C.Piantadosi. *AIDS Res. Hum. Retrovir.*, **6**, 491 (1990)
18. И.Д.Константинова, Н.И.Зайцева, И.П.Ушакова, Г.А.Серебренникова. *Изв. АН. Сер. хим.*, 1826 (1994)
19. И.Д.Константинова, И.П.Ушакова, Г.А.Серебренникова. *Биорг. химия*, **19**, 844 (1993)
20. K.Ukawa, E.Imamiya, H.Yamamoto, T.Aono. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 3277 (1989)
21. F.Heymans, M.C.Borrel, C.Broquet, J.Lefort, J.J.Godfroid. *J. Med. Chem.*, **28**, 1094 (1985)
22. J.J.Godfroid, F.Heymans. In *Progress in Biochemical Pharmacology*. (Ed. P.Braquet). Karger, Basel., **22**, 25 (1988)
23. P.A.Tremblay, M.Kates. *Can. J. Biochem.*, **57**, 595 (1979)
24. Пат. 0302744 Европа (1989)
25. Пат. 0321296 Европа (1988)
26. P.Braquet, J.J.Godfroid. In *Platelet Activating Factor and Related Lipid Mediators*. (Ed. F.Snyder). Plenum Press, New York, 1987. P.191
27. P.Braquet, J.J.Godfroid. *Trends Pharmacol. Sci.*, **7**, 397 (1986)
28. L.Stamatatos, R.Leventis, M.J.Zuckermann, J.R.Silvius. *Biochemistry*, **27**, 3917 (1988)
29. M.Takatani, Y.Yoshioka, A.Tasaka, Z.Terashita, Y.Imura. *J. Med. Chem.*, **32**, 56 (1989)
30. Пат. 0147768 Европа (1985)
31. B.Wichrowski, S.Jouquy, C.Broquet, F.Heymans, J.J.Godfroid, J.Fichelle, M.Worcel. *J. Med. Chem.*, **31**, 410 (1988)
32. K.Burri, R.Barner, J.M.Cassal, P.Hadvary, G.Hirt. In *The Proceedings of the Symposium «Is There a Place for PAF-Acether Antagonists?»*, Paris, 1985
33. И.Д.Константинова, С.Г.Завгородний, А.И.Мирошников, И.П.Ушакова, Г.А.Серебренникова. *Биорг. химия*, **21**, 71 (1995)
34. S.Zavgorodny, M.Polianski, E.Besidsky, V.Kriukov, A.Sanin, M.Pokrovskaya, G.Gurskaya, H.Lonnberg, A.Azhayev. *Tetrahedron Lett.*, **32**, 7593 (1991)
35. A.Di Guilio, A.Oratore, M.G.Tozzi-Ciancarelli, C.Grifo, A.Finazzi-Agro. *Biochem. Int.*, **16**, 999 (1988)
36. R.M.Epand, R.J.B.Chen, K.S.Robinson. *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 6833 (1989)
37. J.Gallova, F.Devinsky, P.I.Palgavy. *Chem. Phys. Lipids*, **53**, 231 (1990)
38. T.Seimiya, H.Miyasaka, T.Kato, T.Shirakawa, K.Ohbu, M.Iwahashi. *Chem. Phys. Lipids*, **43**, 161 (1987)
39. I.Jaaskelainen, J.Monkkonen, A.Urtti. *Biochim. Biophys. Acta. Biomembranes*, **1195**, 115 (1994)
40. R.Leventis, P.I.Silvius. *Biochim. Biophys. Acta*, **1023**, 124 (1990)
41. C.E.Holt, N.Garlich, E.Cornel. *Neuron*, **4**, 203 (1990)
42. C.L.Innes, P.B.Smith, R.Langenbach, K.R.Tindall, L.R.Boone. *J. Virol.*, **64**, 957 (1990)
43. Пат. 2188900 Великобритания (1987)
44. T.Ono, Y.Fujino, T.Tsuchiya, M.Tsuda. *Neurosci. Lett.*, **117**, 259 (1990)

45. C.Staedel, J.S.Remy, Z.X.Hua, T.R.Broker, L.T.Chow, J.P.Behr. *J. Investigat. Dermatol.*, **102**, 768 (1994)
46. J.H.Felgner, R.Kumar, C.N.Sridhar, C.J.Wheeler, Y.J.Tsai, R.Border, P.Ramsey, M.Martin, P.L.Felgner. *J. Biol. Chem.*, **269**, 2550 (1994)
47. S.Capaccioli, G.Dipasquale, E.Mini, T.Mazzei, A.Quattrone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **197**, 818 (1993)
48. S.Capaccioli, G.Dipasquale, E.Mini, T.Mazzei, A.Quattrone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **200**, 1769 (1994)
49. R.Stribling, E.Brunette, D.Liggitt, K.Gaensler, R.Debs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 11277 (1992)
50. K.L.Brigham, B.Meyrick, B.Christman, J.T.Conary, G.King, L.C.Berry, M.A.Magnuson. *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.*, **8**, 209 (1993)
51. N.Zhu, D.Liggitt, Y.Liu, R.Debs. *Science*, **261**, 209 (1993)
52. H.San, Z.Y.Yang, V.J.Pompili, M.L.Jaffe, G.E.Plautz, L.Xu, J.H.Felgner, C.J.Wheeler, P.L.Felgner, X.Gao, L.Huang, D.Gordon, G.J.Nabel, E.G.Nabel. *Hum. Gene Therapy*, **4**, 781 (1993)
53. F.O.Nestle, R.S.Mitra, C.F.Bennett, H.Chan, B.J.Nickoloff. *J. Investigat. Dermatol.*, **103**, 569 (1994)
54. S.L.Morris-Natschke, K.L.Meyer, C.J.Marasco, C.Piantadosi, F.Rossi, P.L.Godwin, E.J.Modest. *J. Med. Chem.*, **33**, 1812 (1990)
55. J.F.Soodma, C.Piantadosi, F.Snyder. *Cancer Res.*, **30**, 309 (1970)
56. Пат. 0255306 Европа (1988)
57. L.Diomedea, A.Bizzi, A.Magistrelli, E.Modest, A.Noseda. *Int. J. Cancer*, **46**, 341 (1990)
58. Пат. 4920134 США (1991)
59. A.P.Fields, D.P.Bednarik, A.Hess, W.S.May. *Nature (London)*, **333**, 278 (1988)
60. K.L.Meyer, C.J.Marasco, S.L.Morris-Natschke, K.S.Ishaq, C.Piantadosi, L.S.Kucera. *J. Med. Chem.*, **34**, 1377 (1991)
61. T.Y.Shen, S.B.Hwang, T.W.Doeber, J.C.Robbins. In *Platelet Activating Factor and Related Lipid Mediators*. (Ed. F.Snyder). Plenum, New York, 1987. P. 153
62. Пат. 0353474 Европа (1990)
63. K.S.Wang, M.Monden, T.Kanai, M.Gotoh, K.Umeshita, T.Ukei, T.Mori. *Surgery*, **113**, 76 (1993)
64. A.Wissner, M.L.Carroll, B.D.Johnson, S.S.Kerwar, W.C.Pickett, R.E.Schaub, L.W.Torley, M.P.Trova, C.A.Kohler. *J. Med. Chem.*, **35**, 4779 (1992)
65. S.Desquand. *Therapie*, **48**, 585 (1993)
66. WO PCT 89/07099 (1989)
67. M.Koltai, D.Hosford, P.Braquet. *J. Lipid Mediators*, **6**, 183 (1993)
68. Z.Terashita, S.Tsushima, Y.Yoshioka, H.Nomura, Y.Inada, K.Nishikawa. *Life Sci.*, **32**, 1975 (1983)
69. Z.Terashita, Y.Imura, M.Takatani, S.Tsushima, K.Nishikawa. In *The Second International Conference on Platelet Activating Factor and Structurally Related Alkyl Ether Lipids*. Gateinburg, TN, 1986. P. 29
70. M.P.Trova, A.Wissner, M.L.Carroll, S.S.Kerwar, W.C.Pickett, R.E.Schaub, L.W.Torley, C.A.Kohler. *J. Med. Chem.*, **36**, 580 (1993)
71. W.A.Thompson, S.Coyle, K.Vanze, H.Oldenburg, R.Trousdale, M.Rogy, D.Felsen, L.Moldawer, S.F.Lowry, R.Maier, D.Wittmann. *Arch. Surgery*, **129**, 72 (1994)
72. K.Helmut, H.K.Mangold. In *Progress in Biochemical Pharmacology*. (Ed. P.Braquet). Karger, Basel, **22**, 1 (1988)
73. T.Miyamoto, H.Ohno, T.Yano, T.Okada, N.Hamonaka, A.Kawasaki. In *The Third International Congress of Inflammation*. Paris, 1984. P. 513
74. T.Miyamoto, H.Ohno, T.Yano, T.Okada, N.Hamonaka, A.Kawasaki. In *Advances in Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Research*. (Eds O.Hayaishi, S.Yamamoto). Raven Press, New York, 1985. P. 15
75. C.Mounier, M.Hatmi, A.Faili, C.Bon, B.B.Vargaftig. *J. Pharmacol. Experiment. Therapeutics*, **264**, 1460 (1993)
76. H.K.Mangold, N.Weber. *Lipids*, **22**, 789 (1987)
77. A.Wissner, R.E.Schaub, P.E.Sum, C.A.Kohler. *J. Med. Chem.*, **29**, 328 (1986)
78. Пат. 0336142 Европа (1989)
79. C.M.Winslow, R.C.Anderson, F.J.D'Aries, G.E.Frisch. In *New Horizons in Platelet Activating Factor Research*. (Eds M.L.Lee, C.M.Winslow). Wiley, New York, 1987. P. 153
80. B.M.Schreiber, M.D.Layne, E.J.Modest. *Lipids*, **29**, 237 (1994)

POSITIVELY CHARGED LIPIDS: STRUCTURE, SYNTHESIS AND APPLICATION

I. D. Konstantinova, G. A. Serebrennikova

M.V.Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology

86, Prosp. Vernadskogo, 117571 Moscow, Russian Federation, Fax +7(095)430-7983

The data on the structure, synthetic approaches and application of positively charged lipids is reviewed. These substances are shown to offer promise as antitumor and antiviral agents and also as the antagonists of platelet activating factor and mediators of transfection.

Bibliography — 80 references.

Received 12th July 1995