

ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ N-АЦИЛЭТАНОЛАМИНОВ *IN VITRO*

Терпинская Т.И.¹, Янченко Т.Л.¹, Полукошко Е.Ф.¹,
Лисовская М. В.², Давыдов В.Ю.², Михальчук А.Л.²

¹Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси

²Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси

Актуальность. N-ацилэтанолламины (этанолламиды жирных кислот) распространены в природе от одноклеточных до высших растений и животных и проявляют множество важных биологических эффектов. Они участвуют в поддержании гомеостаза клеточно-тканевого уровня и рассматриваются как сигнальные молекулы локального действия – аутокоиды, производящиеся «по запросу» и быстро метаболизирующиеся в тех же клетках и тканях. Этанолламиды жирных кислот участвуют в регуляции воспаления, боли, энергетическом обмене, оказывают жаропонижающий, противомикробный, обезболивающий, нейропротекторный эффекты [1]. Имеются данные о противоопухолевой активности этанолламидов жирных кислот, в частности, пальмитоилэтанолламида [2]. Эти данные свидетельствуют о перспективности поиска новых фармакологически активных соединений в ряду N-ацилэтанолламинов и изучении механизмов их действия. Предметом нашего интереса является поиск соединений с противоопухолевой активностью.

Цель работы – исследовать зависимость противоопухолевого эффекта N-ацилэтанолламинов от длины алифатического фрагмента жирнокислотного остатка и структуры этанолламидного фрагмента.

Материалы и методы исследования. C₄-, C₈-, C₁₆-, C₁₈-моноэтанолламиды жирных кислот (бутаноил-, каприлоил-, пальмитоил- и стеароилэтанолламиды) были получены методом аминолиза метиловых эфиров соответствующих карбоновых кислот. C₄-, C₈-, C₁₆-, C₁₈-диэтанолламиды жирных кислот (бутаноил-, каприлоил-, пальмитоил- и стеароилдиэтанолламиды) получали по методу смешанных ангидридов. Контроль чистоты целевых соединений осуществлялся методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Биологические эксперименты проведены на клетках *Hela* (рак шейки матки, человек) и глиомы *S6* (крыса). При проведении опытов к клеткам, культивируемым в среде ДМЕМ с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиков (пенициллин, стрептомицин, неомицин), добавляли моно- или диэтанолламиды в дозах 500 мкМ,

а при исследовании дозовой зависимости пальмитоил- и стеароилдиэтананоламида – в дозах от 16 до 250 мкМ в двойных разведениях. Через 48 ч культивирования готовили клеточные пробы и определяли жизнеспособность клеток с помощью окраски пропидий йодидом (*Sigma*) и концентрацию клеток в пробах с использованием флуоросфер FLOW-COUNT™ (*Beckman Coulter*). Для анализа клеточных проб использовали проточный цитофлуориметр *BD FACSCanto II*. Данные обрабатывали методами вариационной статистики, достоверность различий между сериями определяли согласно критерию Манна-Уитни.

Результаты. При исследовании клеток *Hela* вариация жизнеспособности клеток, обработанных исследуемыми моноэтаноламидами жирных кислот, составляла не более 1%. Не выявлено статистически значимого влияния бутаноил-, каприлоил- и пальмитоилэтаноламида на пролиферацию, в то время как стеароилэтаноламид оказал антипролиферативный эффект, снизив концентрацию клеток в пробах вдвое. В экспериментах на клетках глиомы *S6* при действии пальмитоил- и стеароилэтаноламида снижение жизнеспособности клеток составляло около 10%, а подавление пролиферации – 24 и 54%. В целом количество жизнеспособных клеток снизилось в 1,4 и 2,4 раза соответственно.

Эти данные свидетельствуют, что этаноламиды жирных кислот с длинноцепочечным алкильным фрагментом проявляли *in vitro* противоопухолевый эффект, который обуславливался главным образом подавлением пролиферации клеток. Чем большей длиной алкильного фрагмента характеризовались этаноламиды жирных кислот, тем более выраженным было их антипролиферативное действие. Клетки глиомы *S6* были более чувствительны к действию пальмитоил- и стеароилэтаноламида, чем клетки *Hela*.

Для исследования роли этаноламидного фрагмента были синтезированы диэтанолламиды пальмитиновой и стеариновой кислот.

Биологические эксперименты показали, что пальмитоил- и стеароилдиэтанолламиды снизили жизнеспособность и клеточную пролиферацию в пробах как клеток *Hela*, так и глиомы *S6*. Жизнеспособность была снижена на 10–37%, пролиферация – на 74–89%. В целом пальмитоилдиэтанолламид, оказывая цитотоксическое и антипролиферативное действие, способствовал уменьшению количества жизнеспособных клеток *Hela* в 5,8 раза, клеток глиомы *S6* – в 5,3 раза. Стеароилдиэтанолламид оказал еще более выраженный эффект на клетки *Hela*, снизив количество жизнеспособных клеток в пробе в 10,2 раза, и подавил рост клеток глиомы *S6* в 4,9 раза.

На клетках глиомы *S6* была исследована дозовая зависимость эффекта пальмитоил- и стеароилдиэтанолламидов.

При исследовании пальмитоилдиэтананоламида выявлено, что это соединение оказывает практически аналогичные эффекты в дозах 500 и 250 мкМ, в дозе 125 мкМ цитотоксическая и антипролиферативная активность несколько снижается, хотя отличия от контроля по обоим этим параметрам остаются статистически значимыми. Концентрация жизнеспособных клеток в пробах снижается в 3,4 раза по сравнению с контролем. В дозе 63 мкМ пальмитоилдиэтананоламид не оказал цитотоксического эффекта, но значительно снизил пролиферацию, что привело к уменьшению количества клеток вдвое. В дозе 32 мкМ пальмитоилдиэтананоламид подавлял рост опухолевых клеток в 1,5 раза; при дозе 16 мкМ также наблюдалась тенденция к подавлению роста опухоли, но не достигшая статистической значимости.

Стеароилдиэтананоламид оказывал эффекты, аналогичные эффектам пальмитоилдиэтананоламида, однако в дозах 125 и 63 мкМ они были более выраженными – наблюдалось снижение количества жизнеспособных клеток в пробах соответственно в 5,8 и 4,6 раза.

Выводы. На моделях клеток *Hela* и глиомы *C6* выявлено, что моноэтананоламиды масляной и каприловой кислот не оказывают противоопухолевого действия, а моноэтананоламиды пальмитиновой и стеариновой кислот снижают жизнеспособность и/или подавляют клеточную пролиферацию. Ингибирующее действие диэтананоламидов пальмитиновой и стеариновой кислот оказалось более выраженным, чем действие моноэтананоламидов этих кислот. На клетках глиомы *C6* показано, что противоопухолевый эффект диэтананоламидов пальмитиновой и стеариновой кислот имеет дозозависимый характер.

Полученные данные позволяют заключить, что противоопухолевый эффект N-ацилэтананоламинов зависит от длины жирнокислотного остатка и структуры амидного фрагмента. Противоопухолевому действию способствуют увеличение длины алифатического фрагмента и наличие диэтананоламидного фрагмента вместо моноэтананоламидного.

Литература

1. Palmitoylethanolamide: A Natural Compound for Health Management / P. Clayton [et al.] // Int J Mol Sci. – 2021 – V. 22, № 10. – P. 5305. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8157570/> – Date of access: 20.12.2022.
2. Palmitoylethanolamide Reduces Colon Cancer Cell Proliferation and Migration, Influences Tumor Cell Cycle and Exerts In Vivo Chemopreventive Effects / E. Pagano [et al.] // Cancers (Basel). – 2021. – V. 13, № 8. – P. 1923. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8073478/> – Date of access: 20.12.2022.