

бетулиновой кислотой или ее производным наблюдается усиление противоопухолевого действия – ингибирующий эффект при совместном применении препаратов выше, чем при их использовании по отдельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Betulinic Acid for Glioblastoma Treatment: Reality, Challenges and Perspectives / Fernandes S. [et al] // Int J Mol Sci. – 2024. – Vol. 25, № 4. – P. 2108.
2. Betulinic acid induces autophagy-dependent apoptosis via Bmi-1/ROS/AMPK-mTOR-ULK1 axis in human bladder cancer cells / Zhang Y. [et al] // Aging (Albany NY). – 2021. – Vol. 3, № 17. – P. 21251–21267.
3. Effects and mechanisms of fatty acid metabolism-mediated glycolysis regulated by betulinic acid-loaded nanoliposomes in colorectal cancer / Wang G. [et al] // Oncol Rep. – 2020. – Vol. 44, № 6. – P. 2595–2609.
4. Effects of betulinic acid on AKT/mTOR pathway in renal cell carcinoma / Ataş M. N. [et al] // Turk J Urol. – 2022. – Vol. 48, № 1. – P. 58–63.
5. Metformin: A Possible Option in Cancer Chemotherapy / Ugwueze C. V. [et al] // Anal Cell Pathol (Amst). – 2020. – Vol. 2020:7180923. Mode of access: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7201450/>. – Date of access: 16.03.2025.

ВЛИЯНИЕ СОЛЮБИЛИЗАТОРОВ НА РАСТВОРИМОСТЬ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭТАНОЛАМИДОВ ПАЛЬМИТИНОВОЙ И СТЕАРИНОВОЙ КИСЛОТ

Терпинская Т.И.¹, Михальчук А.Л.²

¹Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси;

²Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь

Актуальность. При исследовании *in vitro* противоопухолевой активности этаноламидов жирных кислот (ЭАЖК) ранее нами было показано, что соединения, включающие остатки длинноцепочечных жирных кислот, обладают выраженным противоопухолевым действием [1, 3]. Вместе с тем, для этих ЭАЖК характерна слабая растворимость в воде, что затрудняет их применение в качестве противоопухолевых препаратов.

Одним из способов усиления биологической эффективности малорастворимых ЭАЖК может стать их солюбилизация. Для этого могут быть использованы соединения, являющиеся аналогами естественных метаболитов ЭАЖК в организме – этаноламмонийные соли жирных кислот. Последние, по существу, являются ионогенными поверхностно-активными веществами (ПАВами). Введение этаноламмонийных солей жирных кислот в препараты ЭАЖК может стать эффективным и биологически безопасным способом усиления их противоопухолевого действия.

Целью данной работы явилось исследование влияния этаноламмонийных солей жирных кислот на растворимость/солюбилизруемость и ингибирующий

эффект этаноламидов пальмитиновой или стеариновой кислот в отношении опухолевых клеток *in vitro*.

Материалы и методы. Исследуемые препараты: пальмитоилэтаноламид (ПЭА), стеароилэтаноламид (СЭА), этаноламмонийные соли пальмитиновой, стеариновой и лауриновой кислот. ПЭА и СЭА получены аминлизом метиловых эфиров пальмитиновой и стеариновой кислот в условиях модифицированного метода [2]. Метиловые эфиры пальмитиновой и стеариновой кислот получены в условиях общего синтетического метода этерификации карбоновых кислот по Фишеру с использованием в качестве катализатора п-толуолсульфокислоты в 7-кратном избытке метанола. Этаноламмонийные соли получали растворением эквимольных количеств карбоновых кислот и этаноламина в спирте с последующим упариванием при пониженном давлении и высушиванием до постоянного веса при температуре до 35-40 °С.

Для проведения биологических экспериментов готовили суспензии ЭАЖК на 1 % ДМСО в изотоническом растворе хлорида натрия и суспензии этаноламмонийных солей жирных кислот на изотоническом растворе хлорида натрия. При приготовлении комплексных препаратов, содержащих ЭАЖК и этаноламмонийные соли жирных кислот, указанные компоненты осторожно подогревали до 80 °С в течение 10 мин, смешивали, охлаждали до комнатной температуры.

Клетки глиомы С6 или Hela высевали в лунки культуральных планшетов, через 24 ч вносили исследуемые препараты, культивировали 48 ч при 37 °С и 5% CO₂, после чего выполняли МТТ-тест для оценки интенсивности клеточного роста.

Результаты. В ходе исследований растворимости/солублизуемости ПЭА и СЭА установлено, что при нагревании (70-90 °С) их суспензий в воде (3-7 мг/мл) образуются практически прозрачные слабо окрашенные опалесцирующие суспензии, которые разрушаются по мере охлаждения с выделением кристаллической фазы в прозрачном растворе. В растворе остаются следовые количества амидов (~0,01-0,009 мг/мл).

Растворимость этаноламмонийных солей пальмитиновой и стеариновой кислот в воде также показала сильную зависимость от условий. При нагревании суспензий солей (5-10 мг/мл) в воде (70-90 °С) первоначально образуются практически прозрачные слабо окрашенные опалесцирующие суспензии, которые при охлаждении постепенно (2-24 ч) разрушаются с образованием непрозрачных и нефiltrуемых суспензий. Оценка растворимости солей в воде центрифугированием и упариванием аликвоты надосадочной жидкости дала значения $1,7 \cdot 10^{-7}$ – $3,5 \cdot 10^{-7}$ моль/мл. Этаноламмонийная соль лауриновой кислоты легко солубилизуется в воде (7,5 мг/мл) с образованием слабо пенящегося прозрачного раствора, сохраняющегося при нормальных условиях (18-20 °С) без видимых изменений в течение 15-45 час.

Солубилизация ПЭА и СЭА этаноламмонийными солями пальмитиновой и стеариновой кислот даёт непрозрачные суспензии. Солубилизация ПЭА и СЭА легко солубилизуемой солью лауриновой кислоты приводит, в

зависимости от соотношения амида и соли (9:1 — 6:4), к образованию полупрозрачных опалесцирующих суспензий.

ПЭА в концентрации 250 мкМ, а также этаноламмонийная соль пальмитиновой кислоты, смесь этаноламмонийных солей пальмитиновой и стеариновой кислот (1:1), этаноламмонийная соль стеариновой кислоты или лауриновой кислоты в концентрации, составляющей 5% от массы ЭАЖК (6– 8 мкМ) не оказывали влияния на рост опухолевых клеток или оказывали слабое действие (до 12% подавления роста). Комплексные препараты, включающие ПЭА и вышеперечисленные этаноламмонийные соли жирных кислот, не привели к статистически значимым изменениям эффекта ПЭА, хотя в большинстве случаев наблюдалась слабая тенденция к усилению его ингибирующего действия (на 3 – 10 %). СЭА в концентрации 250 мкМ подавлял рост клеток в 2 – 2,2 раза, при дополнении препарата этаноламмонийными солями жирных кислот в указанной концентрации усиления противоопухолевого эффекта СЭА выявлено не было.

В последующих экспериментах использовали более высокую концентрацию этаноламмонийных солей – 125 мкМ, применяя их в эквимольном количестве с ПЭА или СЭА. При действии 125 мкМ этаноламмонийных солей пальмитиновой и стеариновой кислот, их смеси, а также соли лауриновой кислоты рост клеток глиомы С6 был подавлен на 19 – 37%. ПЭА в концентрации 125 мкМ вызвал тенденцию к торможению роста клеток на 6%, не достигшую статистической значимости, СЭА в той же дозе подавлял рост клеток глиомы С6 в 1,6 раза. При совместном действии ПЭА и солубилизаторов наблюдалось подавление клеточного роста, сходное с подавлением клеточного роста при действии только солубилизаторов. При совместном действии СЭА и солубилизаторов наблюдалось подавление клеточного роста, в 1,6 – 1,7 раза более выраженное, чем при действии препаратов по отдельности.

В экспериментах с клетками Hela ПЭА не повлиял на их рост, а СЭА подавлял в 1,4 раза. При дополнении препарата ПЭА этаноламмонийными солями жирных кислот усиления противоопухолевого эффекта не было выявлено (за исключением серии, где препарат ПЭА дополняли смесью этаноламмонийных солей пальмитиновой и стеариновой кислот; в этом случае наблюдалось усиление действия ПЭА в 1,6 раза), эффект препарата СЭА усилился в 1,3 – 1,7 раза.

Выводы. Исследование влияния этаноламмонийных солей пальмитиновой, стеариновой и лауриновой кислот на солубилизацию пальмитоил- и стеароилэтаноламидов показало, что образованию стабильных суспензий в наибольшей степени способствует соль лауриновой кислоты.

Опыты на клетках глиомы С6 и Hela продемонстрировали, что дополнение суспензии стеароилэтаноламида в эквимольном количестве всеми указанными этаноламмонийными солями способствует усилению его ингибирующего действия.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект M24-038).

ЛИТЕРАТУРА

1. Противоопухолевая активность этаноламидов и диэтаноламидов пальмитиновой и рицинолевой кислоты *invitro* / Терпинская Т.Т. [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2. – С. 53–59.
2. Способ получения этаноламидов полиненасыщенных жирных кислот : патент RU 2412157 / Касьянов С. П., Латышев Н. А. – Опубл. 20.02.2011.
3. Terpinskaya T.I., Yanchenko T.L., Polukoshko E.F., Lisovskaya M.V., Mikhal'chuk A. L. Antitumor effects of mono- and diethanolamines of fatty acids on Hela and glioma C6 cell line models // The 8th International Conference on Chemistry, Structure and Function of Biomolecules, Minsk, 1-5 October, 2024, Book of Abstract; Minsk, Belarus. / Editorial Board: V. Bokuts [et al.], Institute of Bioorganic Chemistry NASB, Minsk. – P. 99.

СПОСОБЫ УСИЛЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ ГЛИЦИРРЕТОВОЙ КИСЛОТЫ

Терпинская Т.И., Маркевич К.В.

*Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Беларусь*

Актуальность. Глицирретовая кислота – пентациклический тритерпеноид, агликон глицирризина – природного соединения, получаемого из корня солодки голой. К настоящему времени накоплены экспериментальные данные, свидетельствующие о противоопухолевой активности глицирретовой кислоты [2]. Это обуславливает интерес к более детальному изучению ее биологических свойств, механизмов действия и способов усиления противоопухолевого эффекта.

Ранее нами была продемонстрирована возможность повышения противоопухолевой активности другого пентациклического тритерпеноида – бетулиновой кислоты – посредством ее сочетания с некоторыми ингибиторами кальций-зависимых белков и кальциевых каналов/насосов [1]. Черты структурного сходства бетулиновой и глицирретовой кислоты позволили сделать предположение о возможности применения аналогичных подходов и для усиления действия последней.

Цель данной работы – изучить в экспериментах *in vitro* эффекты глицирретовой кислоты и ее сочетаний с ингибиторами кальций-зависимых белков и кальциевых каналов/насосов на рост культивируемых опухолевых клеток Hela и глиомы C6.

Материалы и методы. Опыты проведены на линиях крысиной глиомы C6 и Hela (человек, рак шейки матки). Клетки культивировали в среде ДМЕМ (Sigma) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиков.

При проведении экспериментов клетки высевали в лунки 96-луночных планшетов, культивировали 24 ч при 37 °С, затем вносили исследуемые