

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

препараты – глицирретовую кислоту (50 – 400 μM), хлорпромазин (7, 14 и 28 μM), циклоспорин (2 μM), A23187 (2,5 μM), U73122 (10 μM), рутениевый красный (20 μM), верапамил (30 μM) и этиленгликоль-бис(2-аминоэтиловый эфир)-N,N,N,N-тетрауксусная кислота (ЭГТА, 0,2 мМ). Культивировали 48 ч, затем оценивали ингибирующий эффект препаратов на клеточный рост с помощью МТТ-теста.

Результаты и обсуждение. Глицирретовая кислота оказывала зависимый от концентрации ингибирующий эффект на рост опухолевых клеток, в концентрации от 50 до 400 μM подавляя его на 7 – 96%.

Хлорпромазин (ингибитор кальций-связывающего белка кальмодулина), циклоспорин (ингибитор кальмодулин-зависимой протеинфосфатазы кальциневрина и митохондриальной поры), U73122 (ингибитор фосфолипазы C и A2, который ингибирует гидролиз фосфатидилинозитола до инозитолтрифосфата, что приводит к снижению свободного цитозольного Ca^{2+}), рутениевый красный (ингибитор митохондриального Ca^{2+} -унипортера – трансмембранного белка, благодаря которому кальций поступает в митохондрии, и ванилоидных каналов временного рецепторного потенциала (TRPV)), A23187 (ионофор кальция) вызывали тенденцию к торможению роста или статистически значимо подавляли рост хотя бы одной из двух исследуемых клеточных линий (подавление роста на 11 – 46%).

Эти же соединения способствовали усилению в 1,3 – 3,0 раза ингибирующего действия 70 μM глицирретовой кислоты, которая сама в данной концентрации тормозила клеточный рост на 7 – 16%. При этом эффект сочетанного применения во всех случаях был сильнее, чем эффект отдельных препаратов, хотя в большинстве случаев не превышал суммы их эффектов. Наиболее выраженное действие на оба типа клеток оказывали хлорпромазин и A23187.

Верапамил (блокатор потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа) и ЭГТА (хелатор кальция) не повлияли на клеточный рост и эффект глицирретовой кислоты.

Хлорпромазин показал дозую зависимость действия на рост опухолевых клеток и на эффект глицирретовой кислоты. В концентрации 7 – 28 μM этот препарат подавлял клеточный рост в 1,2 – 4,3 раза, глицирретовая кислота в концентрации 120 μM – в 1,2 – 1,5 раза. При сочетанном применении хлорпромазина и глицирретовой кислоты эффект усиливался, максимальное усиление наблюдали при наибольшей использованной концентрации хлорпромазина (28 μM) – в 2,2 - 4,2 раза по сравнению с эффектом хлорпромазина и в 6,6 – 8,1 раза по сравнению с эффектом бетулиновой кислоты.

Наиболее мощный ингибирующий эффект показало сочетание глицирретовой кислоты, хлорпромазина и рутениевого красного (концентрация препаратов в данном опыте составляла 120, 14 и 20 μM соответственно), обеспечившее подавление роста глиомы C6 и Hela в 24 и 6,1 раза соответственно. Эффект этих препаратов на клетки Hela продемонстрирован на рисунке 1.

При увеличении концентрации производного бетулиновой кислоты до 8 μM наблюдали усиление его ингибирующего действия (подавление клеточного роста в 2,7 раза), метформин в концентрации 10 и 20 mM усиливал эффект производного бетулиновой кислоты более чем в 10 раз. При уменьшении концентрации производного бетулиновой кислоты до 2 μM подавления клеточного роста и усиливающего действия метформина не выявлено.

В опытах с клетками A549 и Hela также выявлено дозозависимое подавление клеточного роста в присутствии 2,5 – 20 mM метформина в 1,2 – 2,4 раза. Производное бетулиновой кислоты в концентрации 4 и 8 μM вызвало ингибирование роста клеток A549 в 1,4 раза и 2,6 раза, клеток Hela – в 1,7 и 2,8 раза. Метформин усилил эффект производного бетулиновой кислоты в 1,2 – 37,4 раза, выраженность эффекта зависела от дозы препаратов и типа клеток.

Таким образом, метформин, бетулиновая кислота, а в еще большей степени – ее производное дозозависимо подавляли рост опухолевых клеток. При сочетанном применении метформина и бетулиновой кислоты или ее производного наблюдалось усиление эффекта по сравнению с эффектом их отдельного применения.

Согласно данным литературы, противоопухолевая активность бетулиновой кислоты и ее производных может быть связана главным образом с индукцией апоптоза через подавление экспрессии киназы АКТ1 [4], с супрессией ядерного фактора κB [1], с ингибированием гликолиза и опосредованной жирными кислотами продукции пирувата и лактата [3], с активацией АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК) и ингибированием мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) [2], хотя последнее выявляется не всегда [4].

Прямое ингибирующее действие метформина на опухолевые клетки, как полагают, реализуется через активацию АМФК, ингибирование mTOR и комплекса I митохондриальной дыхательной цепи, снижение энергетического статуса клетки, модуляцию рецептора аденозина A1 (ADORA), снижение уровня инсулина/инсулиновых факторов роста [5].

Исходя из этого, можно предположить, что по крайней мере некоторые пути реализации противоопухолевого действия бетулиновой кислоты и метформина имеют общие элементы, что может обуславливать аддитивный эффект при комбинировании этих соединений. Вместе с тем, эти вещества также имеют отличия в спектре своих молекулярных мишеней, что может обеспечить усиление синергизма при их совместном применении.

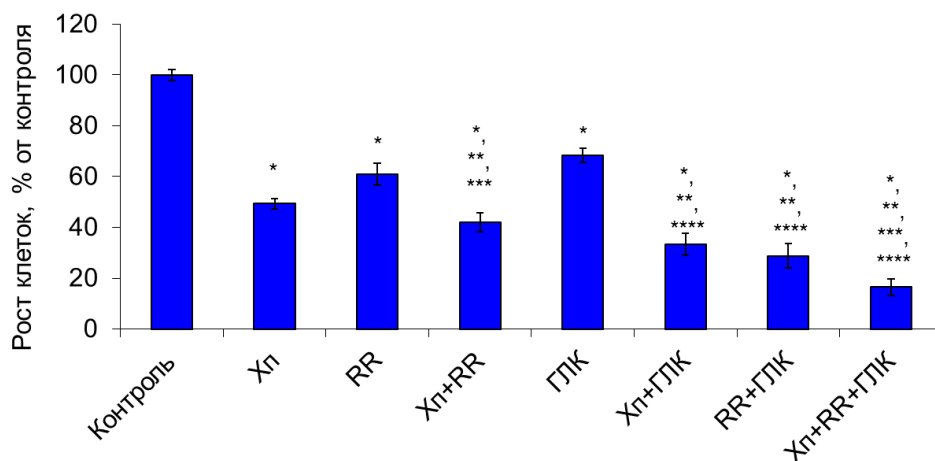


Рисунок 1 – Влияние совместного применения хлорпромазина (Хп, 14 μ M), рутениевого красного (RR, 20 μ M) и глицирретовой кислоты (ГЛК, 120 μ M) на рост клеток Hela (б), n = 6; * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем; ** – $p < 0,05$ при сравнении с эффектом Хп; * – $p < 0,05$ при сравнении с эффектом RR; **** – $p < 0,05$ при сравнении с эффектом ГЛК**

При увеличении концентрации производного бетулиновой кислоты до 8 μ M наблюдали усиление его ингибирующего действия (подавление клеточного роста в 2,7 раза), метформин в концентрации 10 и 20 мМ усиливал эффект производного бетулиновой кислоты более чем в 10 раз. При уменьшении концентрации производного бетулиновой кислоты до 2 μ M подавления клеточного роста и усиливающего действия метформина не выявлено.

В опытах с клетками A549 и Hela также выявлено дозозависимое подавление клеточного роста в присутствии 2,5 – 20 мМ метформина в 1,2 – 2,4 раза. Производное бетулиновой кислоты в концентрации 4 и 8 μ M вызвало ингибирование роста клеток A549 в 1,4 раза и 2,6 раза, клеток Hela – в 1,7 и 2,8 раза. Метформин усилил эффект производного бетулиновой кислоты в 1,2 – 37,4 раза, выраженность эффекта зависела от дозы препаратов и типа клеток.

Таким образом, метформин, бетулиновая кислота, а в еще большей степени – ее производное дозозависимо подавляли рост опухолевых клеток. При сочетанном применении метформина и бетулиновой кислоты или ее производного наблюдалось усиление эффекта по сравнению с эффектом их отдельного применения.

Согласно данным литературы, противоопухолевая активность бетулиновой кислоты и ее производных может быть связана главным образом с индукцией апоптоза через подавление экспрессии киназы АКТ1 [4], с супрессией ядерного фактора κ B [1], с ингибированием гликолиза и опосредованной жирными кислотами продукции пирувата и лактата [3], с активацией АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК) и ингибированием мишени рапамицина млекопитающих (mTOR) [2], хотя последнее выявляется не всегда [4].

Прямое ингибирующее действие метформина на опухолевые клетки, как полагают, реализуется через активацию АМФК, ингибирование mTOR и комплекса I митохондриальной дыхательной цепи, снижение энергетического

статуса клетки, модуляцию рецептора аденозина A1 (ADORA), снижение уровня инсулина/инсулиновых факторов роста [5].

Исходя из этого, можно предположить, что по крайней мере некоторые пути реализации противоопухолевого действия бетулиновой кислоты и метформина имеют общие элементы, что может обуславливать аддитивный эффект при комбинировании этих соединений. Вместе с тем, эти вещества также имеют отличия в спектре своих молекулярных мишеней, что может обеспечить усиление синергизма при их совместном применении.

Выводы

Показано, что глицирретовая кислота дозозависимо подавляет рост клеток глиомы C6 и Hela.

Усиление ингибирующего действия может быть достигнуто посредством сочетанного применения глицирретовой кислоты с ингибиторами кальмодулина, кальциневрина, фосфолипаз A и C, каналов временного рецепторного потенциала, митохондриального Ca^{2+} -унипортера, а также с кальциевым ионофором, что обеспечивает более выраженный эффект, чем применение глицирретовой кислоты и указанных ингибиторов по отдельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние бетулиновой кислоты и модуляторов кальциевого обмена на рост опухолевых клеток / Терпинская Т.И [и др.] //Биохимия и молекулярная биология. – 2024. – Т3, №1. – С 136–142.

2. Терпинская Т.И. Противоопухолевые свойства глицирризиновой и глицирретовой кислоты // Новости медико-биологических наук. – 2023. – Т.23, №3. – С. 235–252.

КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ С ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ

Халецкая Е.И., Ильич Т.В.

*Гродненский государственный университет имени Янки Купалы,
Гродно, Беларусь*

Актуальность. Изучение параметров комплексообразования ацетилсалициловой кислоты с различными типами циклодекстринов имеет важное значение как для фундаментальной, так и для прикладной науки. Ацетилсалициловая кислота (АСК) является одним из наиболее широко используемых лекарственных средств благодаря своим противовоспалительным, жаропонижающим и анальгезирующим свойствам. Однако, наличие целого ряда побочных эффектов, ограничивает ее клиническую эффективность.

Циклодекстрины, обладающие способностью образовывать комплексы с различными веществами, могут существенно улучшить растворимость и стабильность включаемых молекул. Исследование взаимодействия ацетилсалициловой кислоты с α -, β - и 2-гидроксипропил- β -циклодекстринами