

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ СТЕАРОИЛЭТАНОЛАМИДА С ЭТАНОЛАММОНИЙНЫМИ СОЛЯМИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ И ЛАУРИЛСАРКОЗИНАТОМ НАТРИЯ

Терпинская Т.И.¹, Михальчук А.Л.²

¹Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси

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

Актуальность. Наши предыдущие исследования *in vitro* показали, что стеароилэтаноламид (СЭА) проявляет противоопухолевые свойства [1], а этаноламмонийные соли жирных кислот способствуют повышению его солубилизации и, как показал МТТ-тест, усилению противоопухолевой активности [3].

Это обосновывает интерес к изучению механизмов противоопухолевого действия СЭА и его сочетаний с солубилизирующими веществами. Подавление роста опухолевых клеток может быть обусловлено как гибелью клеток, так и ингибированием клеточного деления. Это, в свою очередь, связано с нарушением физиологического состояния клеток, которое часто вызывается повышенным образованием активных форм кислорода и нарушением окислительно-восстановительного баланса клетки.

Цель данной работы – исследование влияния стеароилэтаноламида и его сочетания с солубилизаторами на жизнеспособность и пролиферацию опухолевых клеток, а также на уровень активных форм кислорода.

В качестве солубилизаторов использовали этаноламмонийные соли стеариновой и лауриновой кислоты (ЭАС СК и ЭАС ЛК соответственно), солубилизирующие свойства которых были изучены нами ранее [3], а также лаурилсаркозинат натрия – поверхностно-активное вещество (ПАВ), использующееся в промышленности и косметологии.

Материалы и методы. Синтез исследуемых препаратов: СЭА, этаноламмонийные соли стеариновой и лауриновой кислот, лаурилсаркозинат натрия. СЭА синтезировали модифицированным методом аминолитического метилового эфира пальмитиновой кислоты [2]. Этанолламмонийные соли стеариновой и лауриновой кислот получали растворением эквимольных количеств этаноламина и указанных кислот в спирте, с последующим упариванием при пониженном давлении и высушиванием остатка при 35-40 °С до постоянной массы. Лауроилсаркозинат натрия, мягкое анионное ПАВ, практически биобезопасное при наружном применении, широко применяется в косметических и гигиенических продуктах. Использованный в работе лаурилсаркозинат натрия был получен аминолитическим гидролизом метиллаурата саркозинатом натрия кипячением в метаноле (~2 часа) в присутствии каталитических количеств (0,25-0,5 %) карбоната натрия до полного израсходования метиллаурата с последующим высаждением ацетном при охлаждении

(0 - +5 °C), фильтрованием продукта на фильтре Шотта и высушиванием в вакуум-эксикаторе до постоянной массы (т.пл. 45-47 °C).

Эксперименты *in vitro* проводили на клетках глиомы С6, которые культивировали в среде ДМЕМ с 10% ЭТС и антибиотиками, высевали в лунки культуральных планшетов, культивировали 24 ч в инкубаторе при 5% CO₂ и 37 °C, затем вносили исследуемые препараты. До внесения исследуемые вещества осторожно прогревали до 80 °C и охлаждали до комнатной температуры. Через 48 ч исследовали клетки методом проточной цитометрии. Для оценки апоптоза и некроза использовали красители BD Horizon™ V450 Annexin V (BD Biosciences) и пропидиум йодид (Sigma), для определения количества клеток – флуоросферы FLOW-COUNT™ (Beckman Coulter), для исследования распределения клеток по фазам клеточного цикла – DAPI (Sigma), определения уровня митохондриального супероксида – MitoSOX™ (Thermo Fisher Scientific), восстановленного глутатиона – монохлоробиман (Sigma), цитозольного супероксида – дигидроэтидиум (Sigma), перекиси водорода и пероксинитрита – дигидрородоамин 123 (ДГР 123, Molecular Probes by Life Technologies).

Результаты. Исследования показали, что солюбилизаторы не оказали выраженного цитотоксического действия, при этом ЭАС СК и лаурилсаркозинат натрия вызывали тенденцию к повышению количества клеток в состоянии позднего апоптоза и некроза на 0,1 % – 3,8%. СЭА также индуцировал апоптоз и некроз, снижая общую жизнеспособность в 1,1 раза. Солюбилизаторы усиливали цитотоксическое действие СЭА в 1,1 – 1,3 раза, повышая долю клеток в состоянии некроза.

Изучение антипролиферативного действия препаратов показало, что ЭАС СК и СЭА, сочетания СЭА + ЭАС ЛК, СЭА + лаурилсаркозинат натрия замедляли клеточную пролиферацию в 1,2 – 1,4 раза, а сочетание СЭА + ЭАС СК – в 2,1 раза. ЭАС СК и ЭАС ЛК не повлияли на распределение клеток по фазам клеточного цикла, лаурилсаркозинат натрия способствовал задержке клеток в G0/G1-фазе (увеличение количества на 23%) и снижению их количества в G2/M-фазе.

СЭА и его комплексы с солюбилизаторами способствовали задержке клеток в G0/G1-фазе (увеличение количества на 17 – 31%). Комплекс СЭА + ЭАС СК также способствовал увеличению количества клеток в G2/M-фазе (увеличение количества на 29%). При этом под действием СЭА и его комплексов с ЭАС СК, ЭАС ЛК или лаурилсаркозинатом натрия наблюдалось снижение количества клеток в S-фазе в 1,4 – 1,7 раза. Действие комплекса СЭА + ЭАС ЛК вызывало тенденцию аналогичного характера, однако не достигшую статистической значимости, а также снижение количества клеток в G2/M-фазе в 1,6 раза.

Благодаря влиянию на жизнеспособность и пролиферацию клеток, СЭА вызывал снижение количества жизнеспособных клеток в 1,3 раза, ЭАС СК, ЭАС ЛК и лаурилсаркозинат натрия усиливали эффект СЭА в 2,0; 1,8 и 1,2 раза (в

последнем случае статистическая значимость при сравнении с СЭА не достигнута).

ЭАС СК, СЭА, сочетания СЭА с ЭАС СК, ЭАС ЛК или лаурилсаркозинатом натрия повышали уровень митохондриального супероксида в клетках в 1,4 – 1,5 раза. Синергического или дополнительного эффекта при сочетании СЭА с солубилизаторами не выявлено. Уровень цитоплазматического супероксида был повышен в присутствии всех исследованных препаратов, наиболее выражено – в присутствии лаурилсаркозината натрия (в 4,9 раза), а также сочетания СЭА + ЭАС ЛК (в 7,4 раза) и СЭА + лаурилсаркозинат натрия (в 6,2 раза). Также в присутствии всех исследованных препаратов, кроме ЭАС ЛК, выявлен повышенный уровень активных форм кислорода, выявляемых ДГР 123 (прежде всего, перекиси водорода и пероксинитрита), наиболее выражено (в 1,8 раза) – в присутствии лаурилсаркозината натрия и сочетания СЭА с ЭАС СК или лаурилсаркозинатом натрия. Уровень восстановленного глутатиона был снижен (в 1,7 раза) только в присутствии СЭА и имел тенденцию к снижению в присутствии сочетания СЭА + лаурилсаркозинат натрия. В остальных случаях не изменялся или несколько повышался (в 1,2 раза), хотя повышение в большинстве случаев не достигало статистической значимости.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют, что СЭА и его сочетания с этаноламмонийными солями стеариновой и лауриновой кислоты, а также с лаурилсаркозинатом натрия способствуют некротической и апоптотической гибели опухолевых клеток, торможению клеточной пролиферации при задержке клеток в G0/G1- или G2/M-фазе и снижении в S-фазе, а также повышению в клетках уровня активных форм кислорода. Сочетание СЭА + ЭАС СК, вызвавшее наиболее заметное торможение клеточной пролиферации, также вызывало наиболее выраженное повышение уровня цитоплазматического супероксида.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект М24-038).

ЛИТЕРАТУРА

1. Противоопухолевая активность этаноламидов и диэтаноламидов пальмитиновой и рицинолевой кислоты *invitro* / Т. И. Терпинская, [и др.] // Биохимия и молекулярная биология. – 2023. – Т. 2. – С. 53–59.
2. Патент № 2412157 С1 Российская Федерация, МПК С07С 231/02, С07С 233/20. Способ получения этаноламидов полиненасыщенных жирных кислот : № 2009134368/04 : заявл. 09.09.2009 : опубл. 20.02.2011 / Касьянов С. П., Латышев Н. А. ; заявитель Учреждение Российской академии наук Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 10 с.
3. Терпинская, Т. И. Влияние солубилизаторов на растворимость и противоопухолевое действие этаноламидов пальмитиновой и стеариновой кислот / Т. И. Терпинская, А. Л. Михальчук // Актуальные проблемы общей и клинической биохимии – 2025: сб. материалов респ. науч.-практ. конф.

с междунар. участием, посвящ. 100-летию со дня рождения академика Ю.М. Островского, 26 июня 2025 г. / редкол.: В. В. Лелевич (отв. ред.), С. В. Лелевич, А. Г. Веницкая. – Гродно: ГрГМУ, 2025. – С. 294–297.

РОЛЬ КАННАБИНОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПРОТИВООПУХОЛЕВОМ ЭФФЕКТЕ ЭТАНОЛАМИДОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Терпинская Т.И.

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

Актуальность. Этаноламиды жирных кислот – широко распространенные в живых организмах вещества, обладающие плеiotропными биологическими эффектами, в том числе противоопухолевой активностью [1]. В то же время механизмы действия этих соединений на рост опухолевых клеток мало изучены.

Известно, что биологическое действие, в первую очередь, противовоспалительное, наиболее изученного представителя ряда этаноламидов жирных кислот – пальмитоилэтаноламида (ПЭА), может быть опосредовано рецепторами, которые участвуют в реализации эффектов каннабиноидов. Это каннабиноидные рецепторы (Cannabinoid receptors – CBs) CB1 и CB2, рецепторы, активируемые пероксисомным пролифератором (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors – PPARs) α и γ , а также G-белок связанные рецепторы (G protein-coupled receptors – GPRs) GPR18 и GPR55 [1].

Исходя из этого, данные рецепторы можно рассматривать в качестве структур, которые, возможно, опосредуют противоопухолевые эффекты этаноламидов жирных кислот.

Цель данной работы – исследовать роль рецепторов CB1, CB2, PPAR α , PPAR γ , GPR18 и GPR55 в противоопухолевом эффекте этаноламидов пальмитиновой и стеариновой кислоты.

Для этого изучали влияние ингибиторов указанных рецепторов на противоопухолевое действие этаноламидов жирных кислот.

Материалы и методы. Реактивы: AM 251 (MedChemExpress), AM 630 (Cayman), GW 6471 (MedChemExpress), GW9662 (MedChemExpress), PSB CB5 (MedChemExpress), C39-219 (BLDPharm), 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромид (МТТ, Glentham Life Sciences). ПЭА и стеароилэтаноламид (СЭА), синтезированные по методу, описанному в [1], предоставлены Институтом биоорганической химии в рамках проекта БРФФИ М24-038.

Клетки: глиома С6 (крыса), Hela (цервикальная карцинома, человек) из коллекции Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Беларусь.