

УДК 542.06

СКРИНИНГ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ КОРНЯ *GLYCYRRHIZA GLABRA* L.*

© В.В. Ларина**, А.О. Романишин, П.К. Клещина, Д.Д. Кротов, Е.Г. Чупахин

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта,
ул. Александра Невского, 14, Калининград, 236041, Россия, surinas@mail.ru

Glycyrrhiza glabra L. (семейство *Fabaceae*) богата различными биологически активными компонентами, однако противоопухолевая активность экстрактов *G. glabra* и ее компонентов в отношении глиобластомы в настоящее время мало изучена. В качестве противораковых компонентов *G. glabra* обычно описывают глицикумарин, глицирретиновую кислоту, глицирризин, ликохалконы А и Е и др. Целью данной работы являлся скрининг противоопухолевой активности разнополярных экстрактов корня *G. glabra* в отношении клеток глиобластомы крысы С6; определение противоопухолевого компонента наиболее активного экстракта. Было получено восемь экстрактов *G. glabra* с использованием разнополярных экстрагентов: гексан, этилацетат, ацетон, метанол, этанол, ацетон 70%-ный, метанол 70%-ный, этанол 70%-ный, вода. Наибольшую противоопухолевую активность в отношении клеток линии С6 показал экстракт, полученный 70%-ным этанолом ($IC_{50} 49.16 \pm 11.61$ мкг/мл), при этом в отношении нормальных клеток он не обладал высокой цитотоксичностью в области низких концентраций. Указанный экстракт отличался высоким содержанием катехина и дайдзеина. Фракция, полученная раствором хлороформ : метанол (8 : 2), показала наибольшую активность в отношении клеток глиобластомы крысы С6. Из указанной фракции в индивидуальном виде был выделен дайдзеин. Исследование жизнеспособности клеток показало, что дайдзеин активен в отношении опухолевых клеток С6 ($IC_{50} 5.47 \pm 1.36$ мкг/мл).

Ключевые слова: солодка голая, *Glycyrrhiza glabra* L., экстракция, фракционирование, дайдзеин, противоопухолевая активность, фитохимический состав.

Для цитирования: Ларина В.В., Романишин А.О., Клещина П.К., Кротов Д.Д., Чупахин Е.Г. Скрининг противоопухолевой активности корня *Glycyrrhiza glabra* L. // Химия растительного сырья. 2025. №3. С. 254–263. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250316762>.

Введение

Солодка голая *Glycyrrhiza glabra* L. (семейство *Fabaceae*) – это небольшое многолетнее растение, произрастающее в Евразии, Северной Африке и Западной Азии [1]. Известны противораковые свойства экстрактов *Glycyrrhiza* *in vitro* и *in vivo*. Метанольный экстракт солодки может проявлять противоопухолевую активность против рака молочной железы, рака яичников и опухоли желудка [2]. Экстракты *G. glabra* могут подавлять рост раковых клеток, вмешиваясь в одну из их основных характеристик – ангиогенез. Это свойство было доказано в опытах *in vivo* [3]. Этанольный экстракт оказывает антипролиферативное действие против линии клеток рака молочной железы MCF-7. Экстракт корня *G. glabra* проявлял антимуtagenную активность, подавляя образование микроядер и хромосомные аномалии в клетках костного мозга мышей-альбиносов [4]. Водный экстракт солодки продемонстрировал значительное проапоптотическое свойство на клетках рака молочной железы из-за высокой концентрации общих фенольных соединений [5].

В настоящее время активно ведутся исследования по выделению индивидуальных соединений с противоопухолевой активностью из экстрактов *G. glabra*. Например, глицирризиновая кислота ингибирует пролиферацию клеток рака эндометрия и молочной железы [6]. Глицирризин может вызывать гибель клеток рака толстой кишки человека HCF116 и HT-29 [7]. Глицикумарин предотвращает рост опухоли в гепатоцеллюлярных клетках карциномы человека, рака простаты человека DU-145 [8].

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20250316762s

** Автор, с которым следует вести переписку.

В нескольких отчетах задокументирована противораковая эффективность водного экстракта *G. glabra* и родственных ему компонентов *in vitro* [3]. Например, было показано, что глицирретиновая кислота стимулирует апоптоз опухолевых клеток [9, 10]. Уон и соавторы [11] показали, что новый компонент ретрохалкона, ликохалкон Е, который был выделен из экстракта корня *G. inflata*, проявлял мощную цитотоксическую активность по сравнению с известными противоопухолевыми препаратами (изоликвиригенином и ликохалконом А).

Исследованиями *in vitro* и *in vivo* было показано, что формонетин оказывает противоопухолевое действие на различные раковые клетки, включая множественную миелому, клетки рака толстой кишки, молочной железы, предстательной железы, носоглотки и легких. Кроме того, было высказано предположение, что формонетин может регулировать различные молекулярные сигнальные пути, включая пролиферацию, регуляцию клеточного цикла, апоптоз, ангиогенез и метастазирование раковых клеток [12]. Многообещающие противоопухолевые свойства формонетина *in vivo* требуют дальнейших будущих исследований в области химиотерапии рака [12].

Несмотря на широкий круг исследований, противоопухолевая активность экстрактов солодки и ее компонентов в отношении глиобластомы в настоящее время мало изучена, поэтому изучение биологического действия экстракта солодки против клеток глиобластомы является важной задачей. В качестве противораковых компонентов *G. glabra* обычно выделяют глицикумарин, глицирретиновую кислоту, глицирризин, ликохалконы А и Е и др. [13]. В настоящей работе проведен скрининг противоопухолевой активности разнополярных экстрактов корня *G. glabra* в отношении клеток глиобластомы крысы С6 и в качестве противоопухолевого компонента водно-этанольного экстракта *G. glabra* выделен изофлавоон дайдзеин. Среди известных изофлавонов наиболее хорошо изученными соединениями в области противоопухолевой активности по отношению к глиомам являются генистеин и биоханин А [14], в то время как указанная активность дайдзеина описана мало.

Экспериментальная часть

Все используемые экстрагенты были реагентами класса ХЧ. Для калибровки ВЭЖХ использовали стандартные образцы: 3,4-дигидроксibenзойная кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 99-50-3, $\geq 97\%$), 2,5-дигидроксibenзойная кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 490-79-9, 99%), гиперозид (Sigma-Aldrich, США, CAS: 482-36-0, 98% для ВЭЖХ), галловая кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 149-91-7, $\geq 95\%$), апигенин-7-О-глюкозид (Sigma-Aldrich, США, CAS: 578-74-5, 93.47%), катехин (Sigma-Aldrich, США, CAS: 154-23-4, $\geq 99\%$ (для ВЭЖХ)), астрагалин (Sigma-Aldrich, США, CAS: 480-10-4, 92.5%), феруловая кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 537-98-4, $\geq 99\%$) кофейная кислота (Sigma-Aldrich, США, 501-16-6, 99%), хлорогеновая кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 327-97-9, $\geq 95\%$), неохлорогеновая кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 906-33-2, $\geq 98\%$ (для ВЭЖХ)), акацетин (Sigma-Aldrich, США, CAS: 480-44-4, $\geq 95\%$ (для ВЭЖХ)), кверцетин-3D-глюкозид (Sigma-Aldrich, США, CAS: 482-35-9, $\geq 90\%$ (для ВЭЖХ)), эллаговая кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 476-86-4, $\geq 95\%$ (для ВЭЖХ)), рутин (Sigma-Aldrich, США, CAS: 207671-50-9, $> 98.0\%$), лютеолин-7-глюкозид (Sigma-Aldrich, США, CAS: 5373-11-5, $> 98.0\%$ (для ВЭЖХ)), *n*-кумаровая кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 501-98-4, $\geq 98.0\%$), кафтаровая кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 67879-58-7, $\geq 95\%$), розмариновая кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 20283-92-5, 96%), цикориевая кислота (Sigma-Aldrich, США, CAS: 6537-80-0, $\geq 95\%$ (для ВЭЖХ)), оэнотеин В (Sigma-Aldrich, США, CAS: 104987-36-2, $\geq 80\%$ (для ВЭЖХ)), генистеин (Sigma-Aldrich, США, CAS №: 446-72-0 98% (для ВЭЖХ)), дайдзеин (Sigma-Aldrich, США, CAS №: 486-66-8, аналитический стандарт), формонетин (Sigma-Aldrich, США, CAS №: 485-72-3, 98%).

Объект исследования. Объектом исследования был корень солодки голой *G. glabra*. Период сбора: июнь – август 2021 г., место сбора – Калининградская область. Видовая принадлежность биоматериала подтверждена заведующим гербарием Института живых систем Балтийского федерального университета им. И. Канта А.В. Пунгиным (протокол № 9/2021). Корень *G. glabra* высушивали в сушильном шкафу при температуре 30–40 °С, после чего измельчали на лабораторной мельнице IKA Tube Mill до 5 мм. Для анализа химического состава образцов *G. glabra* использовали взрослые растения (корни).

Получение экстрактов. Экстракты *G. glabra* получали с учетом требований фармакопейной статьи ОФС.1.4.1.0021.15. В качестве экстрагентов были выбраны 9 растворителей: этанол, метанол, вода, этанол 70%, метанол 70%, этилацетат, гексан, ацетон, ацетон 70%. Экстракцию проводили методом мацерации в

течение 6 ч при постоянном перемешивании со скоростью 100 об./мин, модуль экстракции 1 : 40. Полученные экстракты отфильтровывали.

Фракционирование экстрактов. Фракционированию подвергали экстракт с наибольшей противоопухолевой активностью. Для этого 10 г корня *G. glabra* экстрагировали 400 мл растворителя методом мацерации. Растворитель удаляли с помощью вакуумного испарителя Heidolph Hei-VAP Precision при температуре 40 °С, а затем экстракт лиофилизировали на установке лиофильной сушки Labconco. Полученный экстракт растворяли в 5 мл этанола и выпаривали досуха на ротационном испарителе с добавлением 5 г силикагеля. Фракционирование проводили методом нормально-фазовой жидкостной хроматографии на стеклянной хроматографической колонке объемом 80 мл, заполненной суспензией силикагеля в гексане. Элюирование вели в градиентном режиме: фракция №1: гексан; фракция №2: гексан – хлороформ в соотношении 1 : 1; фракция №3: хлороформ; фракция №4: хлороформ – метанол в соотношении 9 : 1; фракция №5: хлороформ – метанол в соотношении 8 : 2; фракция №6: хлороформ – метанол в соотношении 1 : 1; фракция №7: метанол. Объем фракций составлял 90 мл.

Выделение индивидуальных БАВ. Выделение индивидуальных веществ из наиболее активной фракции проводили с использованием препаративного жидкостного хроматографа BÜCHI PURE C850 на колонке Prep Pure C18 100 Å 5 мкм 250×20 мм. Градиентный режим элюирования (концентрация элюента В от 5 до 90%). Подвижная фаза: элюент А – 0.1% ТФУ в бидистиллированной воде, В – ацетонитрил. Скорость потока – 19 мл/мин, аналитическая длина волны – 254, 270, 280 и 320 нм. Также выделение индивидуальных БАВ проводили с помощью коллектора фракций хроматографа LC-20AB «Shimadzu» Prominence с бинарным насосом. Диодно-матричный детектор SPD-M20A. Колонка Zorbax 300SB-C18 4.6×250 мм 5 мкм (Agilent). Разделение проводили при температуре 40 °С в режиме градиентного элюирования. Подвижная фаза: элюент А – 0.1% ТФУ в бидистиллированной воде, В – ацетонитрил. Скорость потока – 1 мл/мин, аналитическая длина волны – 254, 270, 280 и 325 нм.

Фитохимический состав экстрактов и фракций. Качественное и количественное определение содержания различных фенольных соединений осуществляли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Исследование проводилось на хроматографе LC-20AB «Shimadzu» Prominence с бинарным насосом и диодно-матричным детектором SPD-M20A, колонка Zorbax 300SB-C18 (4.6×250 мм, 5 мкм (Agilent)), 40 °С. Режим градиентного элюирования: элюент А – 0.1% ТФУ в бидистиллированной воде и элюент В – ацетонитрил. Скорость потока составляла 1 мл/мин, аналитическая длина волны – 254, 270, 280 и 325 нм. Идентификацию компонентов проводили по временам удерживания и спектрам индивидуальных стандартных веществ. Концентрацию соединений рассчитывали по калибровочным уравнениям. Погрешность определения концентрации составляла 3–5%. Результаты представляли в мг/кг растительного сырья.

Определение противоопухолевой активности экстрактов. Для анализа на противоопухолевую активность с целью устранения влияния растворителя на результаты анализа тестируемые образцы лиофилизировали и растворяли в 1 мл ДМСО. Клетки почки человека HEK293T (ATCC CRL-3216™) и глиобластомы крысы C6 (ATCC CCL-107™) высевали в 96-луночный планшет (Eppendorf, Германия) при плотности 1×10^3 клеток на лунку и культивировали в среде с высоким содержанием глюкозы DMEM (Capricorn Scientific, Германия), 10% FBS (Capricorn Scientific, Германия), 2 мм³ L-глутамина (Gibco, США), 1 мм³ пирувата натрия (Gibco, США), 1% Pen/Strep (Capricorn Scientific, Германия) и выдерживали при 37 °С в среде 5% CO₂. Через 24 ч клетки обрабатывали исследуемыми образцами в концентрациях 5, 25, 50, 100, 150 и 250 мкг/мл (для экстрактов); 100, 200, 300, 600, 900 мкг/мл (для фракций), 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10, 50, 100 мкг/мл (для индивидуального вещества). Через 72 ч был добавлен реагент Alamar Blue до конечной концентрации 100 мкМ (HiMedia, Индия). Измерение проводили через 1 ч с помощью считывателя микропланшетов ClarioStar (BMDLabTech, Германия), излучение – 590 нм, возбуждение – 560 нм. Эксперимент проводился в 8 повторях для каждого образца, было проведено 3 независимых эксперимента. Для 18 статистического анализа использовалось программное обеспечение GraphPad Prism (Сан-Диего, США). Полученные данные были нормализованы в процентах (отрицательные контрольные данные рассматривались как 100%) для расчета IC₅₀.

Обсуждение результатов

Противоопухолевая активность экстрактов *G. glabra*. Данные противоопухолевой активности экстрактов показаны на рисунке 1.

Экстракт, полученный 70%-ным этанолом, проявил наибольшую противоопухолевую активность в отношении клеток С6 (IC_{50} 49.16 \pm 11.61 мкг/мл), при этом в отношении нормальных клеток не обладал высокой цитотоксичностью в области низких концентраций. Остальные экстракты проявляли меньшую противоопухолевую активность, а водно-ацетоновый и гексановый экстракты показали выраженное цитотоксическое действие по отношению к нормальным клеткам НЕК293Т.

Фитохимический состав экстрактов *G. glabra*. Результаты фитохимического анализа представлены в таблице 1. Стоит отметить, что экстракты с высокой полярностью, полученные водно-спиртовыми растворами, были наиболее богаты фенольными компонентами, в то время как низкополярный гексановый экстракт содержал незначительное количество указанных БАВ. Ацетон, несмотря на высокую полярность, оказался не подходящим растворителем для извлечения БАВ фенольной природы из растительного сырья. На рисунке 1 электронного приложения к статье показана хроматограмма экстракта с наибольшей противоопухолевой активностью.

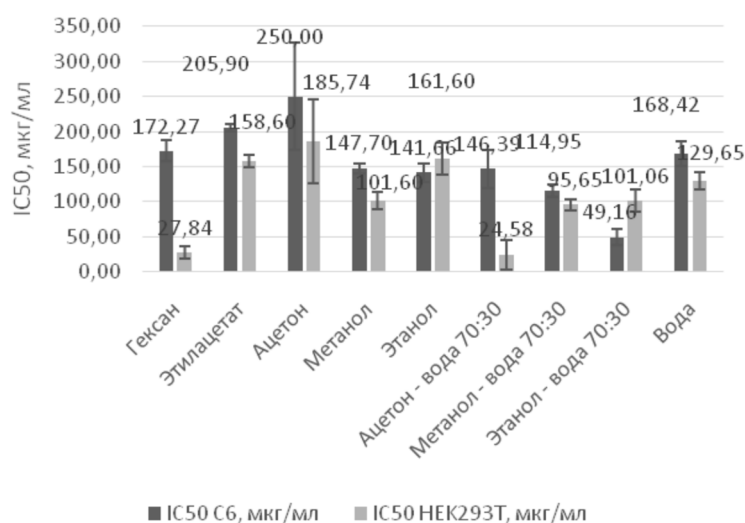


Рис. 1. Противоопухолевая активность экстрактов *G. glabra* в отношении клеток С6 и НЕК293Т

Таблица 1. Содержание БАВ в экстрактах *G. glabra*

Экстрагент	Содержание биологически активных веществ, мг/кг растительного сырья								
	3,4-дигидроксикатехиновая кислота	катехин	формонетин	дайдзеин	феруловая кислота	генистин	ононин	производные апигенин-7-О-глюкозида (сумма) ¹	производные дайдзеина ² (сумма)
Гексан	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Этилацетат	—	—	28 \pm 1	44 \pm 2	—	75 \pm 4	9 \pm 1	—	62 \pm 3
Ацетон	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Метанол	—	869 \pm 43	51 \pm 2	599 \pm 23	—	73 \pm 4	—	360 \pm 18	—
Этанол 96%	—	677 \pm 25	34 \pm 2	362 \pm 18	—	37 \pm 2	5 \pm 1	179 \pm 9	—
Ацетон 70%	—	—	—	495 \pm 21	—	—	123 \pm 6	54 \pm 3	—
Метанол 70%	—	1208 \pm 100	59 \pm 5	509 \pm 22	—	74 \pm 4	—	276 \pm 14	—
Этанол 70%	—	1437 \pm 71	46 \pm 2	552 \pm 22	—	76 \pm 4	30 \pm 2	238 \pm 12	—
Вода	23 \pm 1	1276 \pm 64	52 \pm 2	—	32 \pm 1	—	—	258 \pm 13	—

¹ посчитано на апигенин-7-О-глюкозид; ² посчитано на дайдзеин.

Наиболее активный водно-этанольный экстракт отличался высоким содержанием катехина и дайдзеина. Еще большее количество дайдзеина содержал метанольный экстракт, однако его противоопухолевая активность была низкой. Сравнивая два указанных экстракта, можно отметить, что метанольный экстракт не содержал большое количество катехина, но количество производных апигенин-7-О-глюкозида было в 1.5 раза выше, чем в экстракте, полученном 70%-ным этанолом. Кроме того, метанольный экстракт содержал

производное апигенин-7-О-глюкозида со временем удерживания 13.0 мин., что не наблюдалось в наиболее активном экстракте. Исходя из вышесказанного можно сделать предположение, что противоопухолевая активность водно-этанольного экстракта в отношении клеток глиобластомы крысы С6 обусловлена либо содержанием катехина, либо содержанием дайдзеина, однако производные апигенин-7-О-глюкозида оказывают мешающее влияние.

Полученные результаты можно объяснить синергетическим эффектом. Кроме того, противоопухолевое действие может оказывать другой, неидентифицированный компонент экстракта. В связи с этим с целью определения активных компонентов экстракта, полученный 70%-ным этанолом, был фракционирован.

Противоопухолевая активность фракций. Результаты противоопухолевой активности фракций представлены на рисунке 2.

Согласно правилу Липински, для проявления биологической активности липофильность веществ должна отвечать определенному оптимуму ($\log P < 5$). Однако известно, что сильно гидрофильные соединения также нежелательно выбирать в качестве кандидатов биологически активных веществ из-за их низкой биодоступности по причине быстрого метаболизма и выведения из организма. Таким образом, наиболее предпочтительными являются соединения со средней липофильностью. Фракция, полученная раствором хлороформ : метанол (8 : 2), показавшая наибольшую активность в отношении клеток глиобластомы крысы С6 (ATCC CCL-107™), отвечает этому требованию. Терапевтическое окно составляло 174.4 мкг/мл.

В работе [15] была изучена активность фракций водно-спиртового экстракта *G. glabra*. Наиболее активные фракции являлись высокополярными (метанол : вода 5 : 5, 6 : 4 и 7 : 3), что не соответствует правилу Липински. IC_{50} для этих фракций составляла 32 мкг/мл, что значительно ниже активности фракции хлороформ : метанол 8 : 2, полученной в данном исследовании (IC_{50} 103.2±27.8 мкг/мл).

Состав фракций наиболее активного экстракта G. glabra. Состав фракций наиболее активного экстракта показан в таблице 2.

Стоит отметить, что ряд компонентов, обнаруженных во фракциях, не наблюдались в экстракте, подвергнутому разделению. Это может быть связано с маскировкой этих веществ другими соединениями экстракта. Кроме того, время удерживания отдельных компонентов в составе различных смесей может изменяться, т.е. может иметь место взаимное влияние компонентов экстракта на время их удерживания.

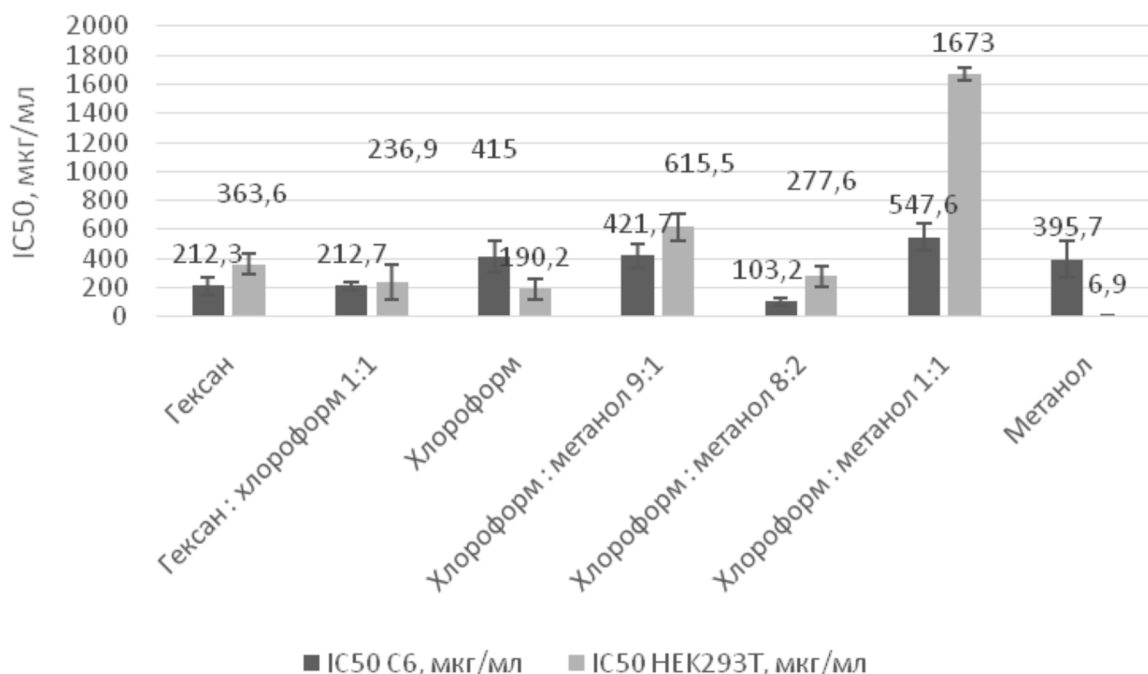


Рис. 2. Противоопухолевая активность фракций и их цитотоксичность в отношении нормальных клеток

Таблица 2. Состав фракций водно-этанольного экстракта *G. glabra*

Фракция	Содержание биологически активных веществ, мг/кг растительного сырья								
	3,4-дигидроксибензойная кислота	Формонonetин	Производные дайдзеина ¹ (сумма)	Дайдзеин	Ононин	Цикориевая кислота	Катехин	Производное генистина ²	Производные апигенин-7-О-глюкозида ³ (сумма)
Гексан	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Гексан : хлороформ 1 : 1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Хлороформ	–	1±1	–	–	–	–	–	–	–
Хлороформ : метанол 9 : 1	–	14±1	12±1	120±7	нпо	–	–	17±1	–
Хлороформ : метанол 8 : 2	4.5±1	–	12±1	264±14	–	11±1	–	53±3	–
Хлороформ : метанол 1 : 1	–	–	7	152±8	–	–	–	–	90±6
Метанол	–	–	–	43±2	1±1	–	330±17	–	63±4

¹ посчитано на дайдзеин; ² посчитано на генистин; ³ посчитано на апигенин-7-О-глюкозид.

На рисунке 2 электронного приложения к статье показана хроматограмма наиболее активной фракции, полученной смесью хлороформ : метанол 8 : 2. Данная фракция отличалась повышенным содержанием дайдзеина. Это подтверждает сделанное выше предположение о том, что именно дайдзеин обуславливал противоопухолевую активность. Для проверки этого предположения дайдзеин был выделен в индивидуальном виде.

Предположения о противоопухолевой активности катехина, сделанные выше, не подтвердились. Об этом свидетельствует низкая противоопухолевая активность метанольной фракции, которая содержит значительные количества катехина. Кроме того, эта фракция обладала высокой цитотоксичностью по отношению к нормальным клеткам НЕК293Т.

Мешающее влияние производных апигенин-7-О-глюкозида наблюдается при изучении противоопухолевой активности фракций так же, как и при изучении экстрактов. Фракция хлороформ – метанол 1 : 1 содержит значительные количества дайдзеина, однако она обогащена различными производными апигенин-7-О-глюкозида, что, вероятно, и снижает активность данной фракции. Кроме того, низкоактивная метанольная фракция также содержала значительные количества производных апигенин-7-О-глюкозида.

Выделение дайдзеина и его противоопухолевая активность. Для подтверждения противоопухолевой активности дайдзеина указанное БАВ было выделено в индивидуальном виде из фракции хлороформ – метанол 8 : 2. В результате препаративного разделения удалось выделить дайдзеин с выходом 76.4±3.2 мг/кг растительного сырья. Соединение было идентифицировано методом ВЭЖХ (рис. 3 электронного приложения). Чистота, определенная методом ВЭЖХ, составила 86±4%.

Результаты противоопухолевой активности дайдзеина в отношении клеток С6 (ATCC CCL-107™) и цитотоксичности в отношении НЕК293Т (ATCC CRL-3216™) представлены в таблице 3. Установлено, что дайдзеин активен в отношении опухолевых клеток С6 (ATCC CCL-107™) и имеет достаточно широкое терапевтическое окно.

В работе [15] было выделено три наиболее активных противоопухолевых компонента в отношении клеток С6: глицирретовая кислота ($IC_{50}=17.5$ мкМ или 8.24 мкг/мл), глаброл ($IC_{50}=17.5$ мкМ или 6.87 мкг/мл) и глабридин ($IC_{50}=17.5$ мМ или 5.68 мкг/мл). Дайдзеин, выделенный в настоящем исследовании, показал значительно более высокую активность.

Li и соавторы [16] изучали влияние глицирризиновой кислоты *in vitro* на рост клеток линии глиобластомы U251. IC_{50} спустя 72 ч составила 1.09 мМ (896 мкг/мл). В настоящем исследовании показано, что дайдзеин является более чем в 13 раз активнее в отношении клеток С6, чем глицирризиновая кислота в отношении U251.

В связи с вышесказанным дайдзеин можно рассматривать как перспективное противоопухолевое средство для направленного применения путем доставки лекарственного средства с указанным БАВ прицельно к месту опухоли и последующим его высвобождением. В работе [17] показано, что приготовленные системы наночастиц снижали нейротоксические эффекты дайдзеина и демонстрировали цитотоксические эффекты против раковых клеток U-87 MG, аналогичные эффектам дайдзеина ($p>0.05$).

Таблица 3. Противоопухолевая активность и цитотоксичность дайдзеина

IC ₅₀ С6, мкг/мл	IC ₅₀ НЕК293Т, мкг/мл
5.47±1.36	68.93±17.18

В то же время водно-этанольный экстракт, содержащий дайдзеин, подавлял жизнеспособность клеток С6, но не оказывал отрицательного влияния на НЕК293Т. Это говорит о защитном действии других компонентов экстракта на клетки почки человека. Однако прием тотального экстракта *G. glabra* нежелателен из-за побочного действия определенных соединений: в литературе описаны неблагоприятные эффекты экстрактов солодки на организм человека [18]. Таким образом, необходимо изучить возможность использования дайдзеина в качестве противоопухолевого компонента в комплексе с защитными средствами здоровых клеток.

Известно, что дайдзеином богаты различные бобовые растения [19, 20]. Так как дайдзеин показал значительно более высокую активность, чем другие противоопухолевые компоненты *G. glabra*, перспективным направлением исследований может быть поиск растительного сырья, условий его выращивания и методов выделения дайдзеина с целью получения наибольшего выхода указанного изофлавонола. Тем не менее, учитывая широкое терапевтическое окно для водно-этанольного экстракта солодки в отличие от чистого дайдзеина, можно сделать вывод, что в экстракте *G. glabra* присутствует оптимальное соотношение дайдзеина с другими компонентами, снижающими токсичность.

Выводы

Наибольшей противоопухолевой активностью в отношении клеток глиобластомы крысы С6 и наименьшей цитотоксичностью по отношению к нормальным клеткам НЕК293Т обладал водно-этанольный экстракт. Водно-ацетоновый и гексановый экстракты показали выраженное цитотоксическое действие по отношению к нормальным клеткам НЕК293Т.

Фракция средней полярности, а следовательно, и средней липофильности, полученная раствором хлороформ : метанол (8 : 2), показала наибольшую активность в отношении клеток глиобластомы крысы С6 (ATCC CCL-107™). Указанная фракция была богата дайдзеином, который также показал противоопухолевую активность в отношении клеток глиобластомы крысы С6. В связи с этим дайдзеин можно рассматривать как перспективное противоопухолевое средство. По результатам проделанной работы разработан и описан метод выделения дайдзеина из корня *G. glabra*.

Дополнительная информация

В электронном приложении к статье (DOI: <http://www.doi.org/10.14258/jcprm.20250316762s>) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Shah S.L., Wahid F., Khan N., Farooq U., Shah A.J., Tareen S., Ahmad F., Khan T. Inhibitory Effects of Glycyrrhiza glabra and Its Major Constituent Glycyrrhizin on Inflammation – Associated Corneal Neovascularization // Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine. 2018. Vol. 2018. Pp. 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/8438101>.
2. Hasan Md.K., Ara I., Mondal M.S.A., Kabir Y. Phytochemistry, pharmacological activity, and potential health benefits of Glycyrrhiza glabra // Heliyon. 2021. Vol. 7, no. 6. Pp. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07240>.
3. Sheela M.L., Ramakrishna M.K., Salimath B.P. Angiogenic and proliferative effects of the cytokine VEGF in Ehrlich ascites tumor cells is inhibited by Glycyrrhiza glabra // International immunopharmacology. 2006. Vol. 6, no. 3. Pp. 494–498. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2005.07.002>.

4. Sharma V., Agrawal R. Evaluation of Anticlastogenic effects of Glycyrrhiza glabra root extract against Cyclophosphamide induced Chromosomal aberration in Swiss albino Mice // Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2015. Vol. 5. Pp. 127–132. <https://doi.org/10.7324/japs.2015.50621>.
5. Hamad G., Elaziz A., Hassan S., Shalaby M., Mohdaly A.A.A. Chemical Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer Activities of Licorice (Glycyrrhiza glabra L.) Root and Its Application in Functional Yoghurt // J. Food Nutr. Res. 2020. Vol. 8, no. 12. Pp. 707–715. <https://doi.org/10.12691/jfmr-8-12-3>.
6. Mamedov N.A., Egamberdieva D. Phytochemical Constituents and Pharmacological Effects of Licorice: A Review. // Plant and human health. 2019. Vol. 3. Pp. 1–21. https://doi.org/10.1007/978-3-030-04408-4_1.
7. El-Saber Batiha G., Magdy Beshbishy A., El-Mleeh A., M. Abdel-Daim M., Prasad Devkota H. Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, and Pharmacological and Toxicological Activities of Glycyrrhiza glabra L. (Fabaceae) // Biomolecules. 2020. Vol. 10, no. 3. Pp. 1–19. <https://doi.org/10.3390/biom10030352>.
8. Song X., Yin S., Zhang E., Fan L., Ye M., Zhang Y., Hu H. Glycycomarin exerts anti-liver cancer activity by directly targeting T-LAK cell-originated protein kinase // Oncotarget. 2016. Vol. 7, no. 40. Pp. 65732–65743. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11610>.
9. Salvi M., Fiore C., Armanini D., Toninello A. Glycyrrhetic acid-induced permeability transition in rat liver mitochondria // Biochemical pharmacology. 2003. Vol. 66, no. 12. Pp. 2375–2379. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2003.08.023>.
10. Fiore C., Salvi M., Palermo M., Sinigaglia G., Armanini D., Toninello A. On the mechanism of mitochondrial permeability transition induction by glycyrrhetic acid // Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics. 2004. Vol. 1658, no. 3. Pp. 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.bbabo.2004.05.012>.
11. Yoon G., Jung Y.D., Cheon S.H. Cytotoxic Allyl Retrochalcone from the Roots of Glycyrrhiza inflata // Chemical and pharmaceutical bulletin. 2005. Vol. 53, no. 6. Pp. 694–695. <https://doi.org/10.1248/cpb.53.694>.
12. Tay K.C., Tan L.T.H., Chan C.K., Hong S.L., Chan K.G., Yap W.H., Pusparajah P., Lee L.-H., Goh B.H. Formononetin: A Review of Its Anticancer Potentials and Mechanisms // Frontiers in pharmacology. 2019. Vol. 10. Pp. 1–19. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00820>.
13. Tuli H.S., Garg V.K., Mehta J.K., Kaur G., Mohapatra R.K., Dhama K., Sak K., Kumar A., Varol M., Aggarwal D., Anand U., Kaur J., Gillan R., Sethi G., Bishayee A. Licorice (Glycyrrhiza glabra L.)-Derived Phytochemicals Target Multiple Signaling Pathways to Confer Oncopreventive and Oncotherapeutic Effects // OncoTargets and Therapy. 2022. Vol. 15. Pp. 1419–1448. <https://doi.org/10.2147/ott.s366630>.
14. Wong S.C., Kamarudin M.N.A., Naidu R. Anticancer Mechanism of Flavonoids on High-Grade Adult-Type Diffuse Gliomas // Nutrients. 2023. Vol. 15, no. 4. Pp. 1–25. <https://doi.org/10.3390/nu15040797>.
15. Goel B., Sharma A., Tripathi N., Bhardwaj N., Sahu B., Kaur G., Singh B., Jain S.K. In-vitro antitumor activity of compounds from Glycyrrhiza glabra against C6 glioma cancer cells: identification of natural lead for further evaluation // Natural Product Research. 2020. Vol. 35, no. 23. Pp. 5489–5492. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1786830>.
16. Li S., Zhu J.H., Cao L.P., Sun Q., Liu H.D., Li W.D., Li J.-S., Hang C.H. Growth inhibitory in vitro effects of glycyrrhizic acid in U251 glioblastoma cell line // Neurological Sciences. 2014. Vol. 35, no. 7. Pp. 1115–1120. <https://doi.org/10.1007/s10072-014-1661-4>.
17. Ozakar R.S., Cetin M., Taghizadehghalehjoughi A., Hacimuftuoglu A. Preparation and In Vitro Evaluation of Daidzein-Loaded Nanoparticulate Systems // The Eurasia Proceedings of Health, Environment and Life Sciences. 2022. Vol. 1. Pp. 1–12. <https://doi.org/10.55549/ephels.16>.
18. Omar H.R., Komarova I., El-Ghonemi M., Fathy A., Rashad R., Abdelmalak H.D., Yerramadha M.R., Ali Y., Helal E., Camporesi E.M. Licorice abuse: time to send a warning message // Therapeutic advances in endocrinology and metabolism. 2012. Vol. 3, no. 4. Pp. 125–138. <https://doi.org/10.1177/2042018812454322>.
19. Kazlauskaitė J.A., Ivanauskas L., Bernatoniene J. Novel Extraction Method Using Excipients to Enhance Yield of Genistein and Daidzein in Trifolium pratensis L. // Pharmaceutics. 2021. Vol. 13, no. 6. Pp. 1–17. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13060777>.
20. Kuligowski M., Sobkowiak D., Polanowska K., Jasińska-Kuligowska I. Effect of different processing methods on isoflavone content in soybeans and soy products // Journal of Food Composition and Analysis. 2022. Vol. 110. Pp. 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104535>.

Поступила в редакцию 15 января 2025 г.

После переработки 31 марта 2025 г.

Принята к публикации 16 апреля 2025 г.

Larina V.V.*, Romanishin A.O., Kleshchina P.K., Chupakhin E.G. SCREENING OF ANTICANCER ACTIVITY OF GLYCYRRHIZA GLABRA L. ROOT

Immanuel Kant Baltic Federal University, st. Alexandera Nevskogo, 14, Kaliningrad, 236041, Russia, surinac@mail.ru

Glycyrrhiza glabra L. (Fabaceae family) is rich in various biologically active components, however, the antitumor activity of *G. glabra* extracts and its components against glioblastoma has been poorly studied to date. Glycycomarin, glycyrrhetic acid, glycyrrhizin, licochalcones A and E, etc. are usually described as anticancer components of *G. glabra*. The aim of this work was to screen the antitumor activity of heteropolar extracts of *G. glabra* root against rat glioblastoma C6 cells; to determine the antitumor component of the most active extract. Eight *G. glabra* extracts were obtained using heteropolar extractants: hexane, ethyl acetate, acetone, methanol, ethanol, 70% acetone, 70% methanol, 70% ethanol, and water. The highest antitumor activity against C6 cells was demonstrated by the extract obtained with 70% ethanol (IC₅₀ 49.16 µg/ml), while it did not have high cytotoxicity against normal cells at low concentrations. This extract was distinguished by a high content of catechin and daidzein. The fraction obtained with a chloroform – methanol (8 : 2) solution showed the highest activity against rat glioblastoma C6 cells. Daidzein was isolated from this fraction in individual form. An MTT test study showed that daidzein is active against C6 tumor cells (IC₅₀ 68.29 µg/ml), but also has cytotoxicity against normal cells (IC₅₀ 68.93 µg/ml).

Keywords: *Glycyrrhiza glabra* L., extraction, fractionation, daidzein, antitumor activity, phytochemical composition.

For citing: Larina V.V., Romanishin A.O., Kleshchina P.K., Chupakhin E.G. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 3, pp. 254–263. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250316762>.

References

- Shah S.L., Wahid F., Khan N., Farooq U., Shah A.J., Tareen S., Ahmad F., Khan T. *Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, vol. 2018, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/8438101>.
- Hasan Md.K., Ara I., Mondal M.S.A., Kabir Y. *Heliyon*, 2021, vol. 7, no. 6, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07240>.
- Sheela M.L., Ramakrishna M.K., Salimath B.P. *International immunopharmacology*, 2006, vol. 6, no. 3, pp. 494–498. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2005.07.002>.
- Sharma V., Agrawal R. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2015, vol. 5, pp. 127–132. <https://doi.org/10.7324/japs.2015.50621>.
- Hamad G., Elaziz A., Hassan S., Shalaby M., Mohdaly A.A.A. *J. Food Nutr. Res.*, 2020, vol. 8, no. 12, pp. 707–715. <https://doi.org/10.12691/jfmr-8-12-3>.
- Mamedov N.A., Egamberdieva D. *Plant and human health*, 2019, vol. 3, pp. 1–21. https://doi.org/10.1007/978-3-030-04408-4_1.
- El-Saber Batiha G., Magdy Beshbishy A., El-Mleeh A., M. Abdel-Daim M., Prasad Devkota H. *Biomolecules*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 1–19. <https://doi.org/10.3390/biom10030352>.
- Song X., Yin S., Zhang E., Fan L., Ye M., Zhang Y., Hu H. *Oncotarget*, 2016, vol. 7, no. 40, pp. 65732–65743. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11610>.
- Salvi M., Fiore C., Armanini D., Toninello A. *Biochemical pharmacology*, 2003, vol. 66, no. 12, pp. 2375–2379. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2003.08.023>.
- Fiore C., Salvi M., Palermo M., Sinigaglia G., Armanini D., Toninello A. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 2004, vol. 1658, no. 3, pp. 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.05.012>.
- Yoon G., Jung Y.D., Cheon S.H. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 2005, vol. 53, no. 6, pp. 694–695. <https://doi.org/10.1248/cpb.53.694>.
- Tay K.C., Tan L.T.H., Chan C.K., Hong S.L., Chan K.G., Yap W.H., Pusparajah P., Lee L.-H., Goh B.H. *Frontiers in pharmacology*, 2019, vol. 10, pp. 1–19. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00820>.
- Tuli H.S., Garg V.K., Mehta J.K., Kaur G., Mohapatra R.K., Dhama K., Sak K., Kumar A., Varol M., Aggarwal D., Anand U., Kaur J., Gillan R., Sethi G., Bishayee A. *OncoTargets and Therapy*, 2022, vol. 15, pp. 1419–1448. <https://doi.org/10.2147/ott.s366630>.
- Wong S.C., Kamarudin M.N.A., Naidu R. *Nutrients*, 2023, vol. 15, no. 4, pp. 1–25. <https://doi.org/10.3390/nu15040797>.
- Goel B., Sharma A., Tripathi N., Bhardwaj N., Sahu B., Kaur G., Singh B., Jain S.K. *Natural Product Research*, 2020, vol. 35, no. 23, pp. 5489–5492. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1786830>.
- Li S., Zhu J.H., Cao L.P., Sun Q., Liu H.D., Li W.D., Li J.-S., Hang C.H. *Neurological Sciences*, 2014, vol. 35, no. 7, pp. 1115–1120. <https://doi.org/10.1007/s10072-014-1661-4>.
- Ozakar R.S., Cetin M., Taghizadehghalehjoughi A., Hacimuftuoglu A. *The Eurasia Proceedings of Health, Environment and Life Sciences*, 2022, vol. 1, pp. 1–12. <https://doi.org/10.55549/ephels.16>.
- Omar H.R., Komarova I., El-Ghonemi M., Fathy A., Rashad R., Abdelmalak H.D., Yerramadha M.R., Ali Y., Helal E., Camporesi E.M. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 2012, vol. 3, no. 4, pp. 125–138. <https://doi.org/10.1177/2042018812454322>.
- Kazlauskaitė J.A., Ivanauskas L., Bernatoniene J. *Pharmaceutics*, 2021, vol. 13, no. 6, pp. 1–17. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13060777>.

* Corresponding author.

20. Kuligowski M., Sobkowiak D., Polanowska K., Jasińska-Kuligowska I. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022, vol. 110, pp. 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104535>.

Received January 15, 2025

Revised March 31, 2025

Accepted April 16, 2025

Сведения об авторах

Ларина Виктория Викторовна – старший преподаватель, surinas@mail.ru

Романишин Александр Олегович – инженер-исследователь, romanishin.alexander97@yandex.ru

Клещина Полина Константиновна – студент, kleschina@bk.ru

Кротов Даниил Дмитриевич – студент, krotovdaniil31@gmail.com

Чупахин Евгений Геннадьевич – кандидат химических наук, научный сотрудник, chupakhinevgen@gmail.com

Information about authors

Larina Victoria Viktorovna – senior lecturer, surinas@mail.ru

Romanishin Alexander Olegovich – research engineer, romanishin.alexander97@yandex.ru

Kleshchina Polina Konstantinovna – student, kleschina@bk.ru

Krotov Daniil Dmitrievich – student, krotovdaniil31@gmail.com

Chupakhin Evgeny Gennadiyevich – candidate of chemical sciences, research fellow, chupakhinevgen@gmail.com