ЖУРНАЛ ФИЗИЧЕСКОЙ ХИМИИ, 2023, том 97, № 5, с. 624–633

ФИЗИКА И ХИМИЯ ЭЛЕМЕНТАРНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

УДК 544.16;615.322;577.352

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛИЦИРРИЗИНА[1]

© 2023 г. Н. Э. Поляков[a,b,*], Т. В. Лешина[a]

[a] *Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, Новосибирск, Россия*

[b] *Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия*

**e-mail: polyakov@kinetics.nsc.ru*

Поступила в редакцию 20.10.2022 г.
После доработки 20.10.2022 г.
Принята к публикации 02.11.2022 г.

В представленном обзоре предпринята попытка собрать и систематизировать имеющиеся данные об антиоксидантной активности глицирризина, полученные с использованием различных физико-химических методов, а также стимулировать дальнейшие дискуссии о механизмах его активности и перспективах его применения как многофункциональной системы доставки лекарств.

Ключевые слова: глицирризин, антиоксидантная активность, свободные радикалы, супрамолекулярные комплексы, мицеллы

DOI: 10.31857/S0044453723050229, **EDN:** HMDSWE

Глицирризин или глицирризиновая кислота (ГК) – основной активный компонент корня солодки (Glycyrrhiza glabra и G. uralensis) [1]. По своей химической структуре ГК представляет собой амфифильную молекулу: гидрофильная часть представлена остатками глюкуроновой кислоты, а гидрофобная – остатком глицирретиновой кислоты (рис. 1).

ГК и корень солодки имеют очень долгую историю применения в традиционной народной медицине. ГК известна с давних времен в Древнем Китае, Египте, Японии [2]. В последние десятилетия свойства ГК интенсивно изучались не только в Азии, но и в Европе [3–9]. С древних времен солодку использовали для лечения заболеваний легких, печени, желудка, различных инфекций мочевыводящих путей, лихорадки и заболевания глаз. Недавние исследования также продемонстрировали значительное влияние ГК и экстракта корня солодки на коронавирусы (включая SARS-CoV-2) наряду с другими вирусами (вирусами герпеса, флавивирусами, вирусом гепатита С и вирусом гриппа) [10–20]. Еще одно многообещающее направление использования ГК – его антиоксидантная активность [21–26]. Учитывая участие антиоксидантов в различных процессах в живых системах, антиоксидантная активность ГК может найти широкое применение в комплексной терапии различных заболеваний. Следует подчеркнуть, что, несмотря на обилие примеров антиоксидантной активности ГК *in vivo* и *in vitro*, среди ученых до сих пор нет единого мнения о физико-химическом механизме этой активности на молекулярном уровне, и дискуссии на эту тему продолжаются до сих пор [27–35]. Следует отметить, что большая часть работ, посвященных ГК, все же касается ее собственной биологической активности. Однако в последние десятилетия в дополнение к собственной терапевтической активности было обнаружено новое необычное свойство ГК – усиливать терапевтическую активность других лекарственных средств

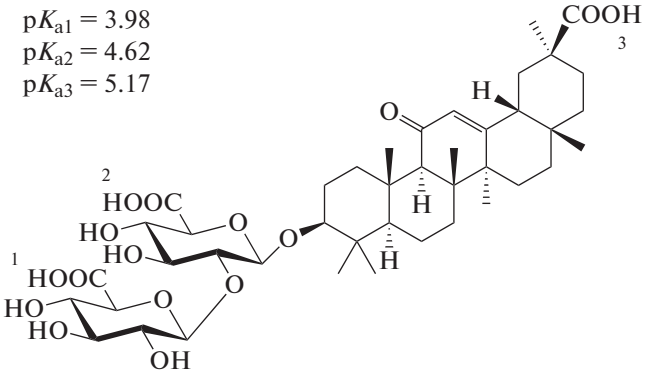

Рис. 1. Структурная формула молекулы глицирризина.

[1] Материалы 10-й Международной конференции, посвященной памяти В.В. Воеводского, “Физика и химия элементарных химических процессов”, Новосибирск, 5–9 сентября 2022 г.

[3, 36]. С помощью различных физико-химических методов было продемонстрировано, что этот эффект связан со способностью ГК образовывать комплексы включения с различными лекарственными средствами [3, 8, 36–41], в том числе с антиоксидантами [32, 37, 39, 42]. В качестве основных физико-химических механизмов усиления активности лекарств в комплексах с ГК рассматривается увеличение растворимости и мембранной проницаемости [41].

Учитывая изложенное выше, можно констатировать, что ГК имеет отличные перспективы использования в комбинированной терапии благодаря собственной биологической активности и способности усиливать действие других лекарств, в качестве средства доставки. Так, авторы обзора [8] демонстрируют такую возможность на примере участия ГК в противоопухолевой терапии. Показано, что комбинация ГК и препаратов первого ряда оказывает лучшее терапевтическое воздействие на опухоль. Комплексы с ГК проявляют противоопухолевую способность широкого спектра действия, а также усиливают абсорбцию лекарственного средства [3, 8].

В этом обзоре мы попытались собрать и систематизировать имеющиеся физико-химические данные, касающиеся различных аспектов антиоксидантной активности ГК, а также стимулировать дальнейшие дискуссии о механизмах активности ГК и перспективах ее применения как многофункциональной системы доставки лекарств. Будут обсуждены примеры реакции ГК со свободными радикалами и сольватированным электроном, примеры роста устойчивости лекарственных молекул по отношению к действию оксидантов за счет инкапсуляции в мицеллы и гелевые наночастицы ГК, а также примеры повышения биодоступности и активности других антиоксидантов в присутствии ГК.

САМОАССОЦИАТЫ ГЛИЦИРРИЗИНА И КОМПЛЕКСЫ ВКЛЮЧЕНИЯ С ЛЕКАРСТВЕННЫМИ МОЛЕКУЛАМИ

Как подчеркивается многими авторами, именно амфифильность молекулы ГК (см. рис. 1) определяет ее способность самоагрегироваться в водных растворах с образованием различных самоассоциатов (димеров, мицелл и гелевых наночастиц) [3, 41], а также нековалентных комплексов типа “гость–хозяин” с другими молекулами, среди которых основной интерес представляют лекарственные препараты [3, 8, 41, 43]. Исследования, связанные с разработкой инновационных отечественных препаратов с использованием супрамолекулярных систем доставки лекарств на основе ГК, были начаты в Уфимском и Новосибирском научных центрах в 90-х годах прошлого века под руководством академика Г.А. Толстикова [44]. В экспериментах на животных было показано, что композиты лекарственных молекул с ГК существенно, в десятки и сотни раз, способны снизить терапевтические дозы лекарства, уменьшить или даже полностью исключить нежелательные побочные эффекты и в некоторых случаях усилить нетипичные, так называемые плейотропные свойства препаратов [36]. В дальнейших работах было показано, что такие значительные и благоприятные изменения фармакологических характеристик происходят благодаря образованию так называемых “супрамолекулярных комплексов включения” лекарственных молекул в самоассоциаты ГК [3, 45–47]. Считается, что фармакологический эффект таких структур достигается за счет нескольких факторов, важнейшие среди них – увеличение растворимости, мембранной проницаемости, биодоступности, а также снижение метаболизма ферментами желудочно-кишечного тракта.

Наиболее подробно в мировой литературе исследовано образование мицелл ГК. Значения критической концентрации мицеллообразования (ККМ), определенные различными методами, находятся в хорошем согласии. Мицуо Кондо с соавторами провели сравнительное исследование α- и β-ГК [48]. Было отмечено, что хотя оба соединения формируют мицеллы (значения ККМ соединений были почти равными, ~$(2–3) \times 10^{-4}$ М), только β-ГК образует гель в водном растворе в кислой среде (pH < 4.5), даже в разбавленном растворе (~1 мМ). Из исследований гелеобразования нескольких производных β-ГК был сделан вывод о том, что для гелеобразования необходима свободная карбоксильная группа тритерпенового фрагмента, и, по меньшей мере, одна из карбоксильных групп и некоторые из гидроксильных групп фрагмента глюкуроновой кислоты также должны быть свободными. Что касается формы мицелл, то мнения разных авторов на этот счет расходятся. Так, согласно данным, полученным K. Matsuoka с соавторами методом малоуглового рентгеновского рассеяния [49], ГК образует мицеллы в водном растворе со стержнеобразной структурой (радиус 1.5 нм, длина 21 нм) при pH 5–6. Другие авторы считают, что мицеллы ГК имеют круглую форму. Так, Y. Wang с соавторами методами динамического светорассеяния и просвечивающей электронной микроскопии показали, что мицеллы ГК представляют из себя сферические частицы диаметром ~10 нм [50].

В исследованиях, посвященных образованию мицелл и гелей ГК [48–51], подчеркивалось, что взаимодействие молекул ГК между собой напрямую связано с состоянием карбоксильных групп. Данное заключение следует из того, что мицеллы образуются только в кислой среде, когда COOH-группы ГК не диссоциированы. Более детально этот вопрос был исследован методом ядерного

магнитного резонанса (ЯМР). Метод ЯМР высокого разрешения предоставляет хорошие возможности для изучения структуры агрегатов ГК благодаря чувствительности химических сдвигов и ширин линий протонов ГК к процессам агрегации. Так, авторы работы [52] проанализировали ^{1}H ЯМР-спектры растворов ГК при различных значениях pH и концентраций и измерили времена релаксации T_2. Было обнаружено, что концентрация ГК, определенная по спектрам ЯМР высокого разрешения, не соответствует количеству растворенного вещества и, начиная с определенной концентрации, которая зависит от pH раствора, она достигает предельного значения. Авторы предположили, что это отклонение связано с процессами гелеобразования. Действительно, линии ЯМР для типичного геля имеют ширину 3–8 кГц [53] вследствие быстрой диполь-дипольной релаксации, т.е. из-за большой ширины линий геля они не могут наблюдаться в спектрах ЯМР высокого разрешения. Таким образом, при ширине спектра, обычной для растворов, наблюдаемые линии ГК относятся только к структурам, присутствующим в растворе (от мономеров до мицелл). Авторы показали, что при каждом значении pH существует определенная критическая концентрация, после которой образуется твердоподобный гель, при этом концентрация “лабильной” фракции остается приблизительно постоянной. При изменении pH от 2 до 5 критическая концентрация гелеобразования увеличивается от 0.3 до 2.7 мМ [52].

Чтобы понять роль ассоциации в спектральных превращениях с изменением концентрации ГК, авторы измерили времена релаксации T_2 протонов ГК при pH 3–5. Во всех случаях релаксация хорошо описывалась только в рамках биэкспоненциальной модели, что характерно для медленного (в масштабе ЯМР) обмена между мицеллой и всеми предмицеллярными состояниями. Быстрая компонента релаксации имеет практически постоянное время T_{21} = 3–4 мс, в то время как медленная компонента T_{22} существенно изменяется от 200 до 15 мс при увеличении концентрации ГК. Авторы показали, что уменьшение времен релаксации T_{22} для предмицеллярных состояний при увеличении концентрации ГК связано со смещением равновесия в сторону более крупных ассоциатов. При измерении времен релаксации при различных концентрациях ГК были определены значения критических концентраций мицеллообразования ГК. Значение ККМ при pH 5 составляет ~2.3 мМ, что согласуется с данными [49], тогда как при более низком pH (4 и менее) значения ККМ ниже 0.3 мМ [52].

Теперь рассмотрим, как же способность ГК образовывать самоассоциаты и комплексы включения связана с ее антиоксидантной активностью в комбинированной терапии. Здесь можно выделить три независимых физико-химических подхода. Первый заключается в увеличении растворимости и биодоступности природных антиоксидантов за счет ассоциации с ГК. В качестве примера можно привести работы по исследованию комплексов каротиноидов и флаваноидов с ГК [41–43]. Известно, что каротиноиды – очень эффективные природные антиоксиданты, однако их практическое применение в медицине ограничивается их крайне низкой растворимостью в воде и нестабильностью в присутствии света, ионов переходных металлов и других факторов. В работах [32, 37, 39] показано, что включение каротиноидов в комплексы и мицеллы ГК позволяет преодолеть большинство из этих проблем. В частности, удается достичь повышения растворимости в воде в несколько тысяч раз, и в десятки раз снизить скорость окисления каротиноидов ионами железа в присутствии ГК и ее динатриевой соли не только в воде, но и в водных смесях с органическими растворителями [37].

Интересные результаты были получены при изучении комплексов ГК с каротиноидами ксантофиллами (лютеин, зеаксантин, астаксантин). В присутствии даже небольших количеств воды в органическом растворителе (<5%) эти каротиноиды образуют агрегаты, обладающие существенно более низкой антиоксидантной активностью. Показано, что взаимодействие с молекулами ГК разрушает самоассоциаты этих каротиноидов, повышая тем самым их антиоксидантную активность [37]. Зеаксантин и лютеин играют важную роль в защите сетчатки глаз человека и других млекопитающих от окисления коротковолновым видимым светом и активными формами кислорода (АФК). Недостаточное содержание этих каротиноидов в тканях сетчатки приводит к повреждению глаз, а в конечном итоге – к возрастной макулярной дистрофии и к необратимой слепоте.

Другой аспект влияния ГК на антиоксидантную активность каротиноидов был обнаружен в работе [32]. С использованием метода ЭПР со спиновыми ловушками авторы показали, что комплексообразование некоторых каротиноидов с ГК даже в неводных средах значительно, в разы, а в некоторых случаях и в десятки раз, повышает скорость реакции ряда каротиноидов с пероксидными радикалами. Было замечено, что способность различных каротиноидов захватывать пероксидные радикалы коррелирует с их потенциалами окисления, и предположено, что комплексообразование может оказывать влияние на электрохимические потенциалы каротиноидов. Измерение вольтамперных характеристик каротиноидов в присутствии ГК подтвердило эту гипотезу [32]. При этом, чем выше был потенциал окисления каротиноида, тем сильнее

эффект ГК. Для каротиноидов с самыми низкими потенциалами (бета-каротин и зеаксантин, E_{ox} ~ ~ 0.5 эВ) эффекта ГК не наблюдалось.

И наконец, третий подход связан с ингибированием образования свободных радикалов при фоторазложении фототоксичных лекарственных соединений. Известно, что многие лекарственные молекулы содержат хромофорные группы, способные вступать в фотохимические реакции при поглощении кванта света. Их фотопревращения могут быть причиной снижения терапевтического эффекта и повышения токсичности. Кроме того, могут возникнуть и другие проблемы вследствие поражения внутренних органов при взаимодействии лекарственного средства с радиацией. Реакции биологических систем под действием солнечного света представляют особый интерес благодаря их широкой области применения [54]. Одно из биологических приложений – явления фотосенсибилизации. Реакции фотосенсибилизации представляют собой постоянно растущую область исследований, посвященных желательным и нежелательным процессам, вызываемым в биологических системах поглощением света. В общем виде фотосенсибилизация представляет собой аномально высокую реактивность биологического субстрата под действием искусственных источников или естественного солнечного света. Приведем несколько примеров. Первый пример нифедипин (НФ, диметиловый эфир 1,4-дигидро-2,6-диметил-4-(2'-нитрофенил)-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты), препарат, используемый для лечения гипертонии, чрезвычайно чувствителен к ультрафиолетовому излучению и видимому свету до 450 нм. Квантовый выход его фотодеградации ~0.5. Эта крайняя фотонестабильность в сочетании с тем, что НФ часто назначают для длительной терапии, послужила причиной для начала исследований механизмов его фотоиндуцированных превращений, включая реакции с биологическими мишенями [55, 56]. В указанных работах было обнаружено, что воздействие УФ-А и дневного света дает одни и те же фотопродукты. В фосфатном буфере превращение является количественным, единственный фотопродукт – нитрозопроизводное нифедипина. В организме нифедипин образует комплекс с сайтом связывания кальциевых рецепторов L-типа, состоящий из шести пространственно разделенных аминокислотных остатков, когда его конформация соответствует закрытому каналу. В результате разработки детальных атомистических моделей взаимодействия лекарства с рецептором (QSAR analysis) было показано, что перенос электрона – потенциально наиболее вероятный механизм взаимодействия НФ с окружением сайта связывания Ca^{2+}-рецептора [57]. В работах [38, 58, 59] методами оптической спектроскопии, ЯМР, РАМРА[2] и молекулярной динамики показано, что НФ образует прочные комплексы с ГК в водных растворах, характеризующиеся повышенной растворимостью (в 35 раз) и мембранной проницаемостью (в 5 раз). Методами ЯМР и химической поляризации ядер (ХПЯ) продемонстрировано, что фотоиндуцированное взаимодействие НФ с ароматическими аминокислотами протекает по радикальному механизму. Комплексообразование с ГК полностью блокирует этап переноса электрона между НФ и аминокислотой [38].

Еще один пример ингибирования фотоиндуцированного радикального распада лекарственного соединения глицирризином – это дитерпеновый алкалоид лаппаконитин (ЛК). Известно, что ЛК проявляет антиаритмическую и гипотензивную активность [60]. Однако из-за токсичности и побочных эффектов его клиническое применение весьма ограничено. Другой недостаток, ограничивающий использование ЛК, – его высокая фотохимическая чувствительность [61–65]. В связи с широким спектром применения дитерпеновых алкалоидов в химии и фармакологии [61] исследование структуры и свойств их парамагнитных интермедиатов представляет безусловный интерес. В работах [62–66] методами ХПЯ, ЭПР и лазерного импульсного фотолиза было продемонстрировано, что под действием УФ-излучения ($\lambda < 350$ нм) ЛК может подвергаться радикальному фотораспаду как в результате мономолекулярного переноса электрона, так и при взаимодействии с биологическими донорами электрона. В серии работ [67–69] методами ЯМР и ХПЯ показано, что глицирризиновая кислота может существенно изменять эффективность и направление фототрансформации алкалоида лаппаконитина как за счет его солюбилизации в мицеллах ГК [37], так и за счет протонирования аминного азота ЛК в водно-спиртовых растворах. В результате блокируются как внутри-, так и межмолекулярные каналы реакции. Напомним, что образование мицелл ГК в водных растворах происходит при концентрациях ~1 мМ, зависящих как от pH среды, так и от добавок органических растворителей [52]. При более низких концентрациях ГК образует стабильные супрамолекулярные комплексы с молекулами ЛК состава 1 : 1 и константой стабильности ~2×10^5 M^{-1} c^{-1} [66]. Необходимо подчеркнуть, что солюбилизация ЛК в мицеллах и комплексах ГК существенно влияет и на его терапевтическую активность. Применение комплексов ГК в экспериментах *in vivo* позволило снизить терапевтическую дозу ЛК в десятки раз [44].

[2] Parallel Artificial Membrane Permeability Assay – исследование проницаемости на искусственных мембранах.

Третий пример ингибирования фотоиндуцированного радикального распада лекарственного соединения глицирризином – нестероидное противовоспалительное средство – кетопрофен (КП). Известно, что КП – наиболее светочувствительное среди нестероидных противовоспалительных средств и может вызывать фототоксические и фотоаллергические реакции [70–73]. Короткоживущие парамагнитные частицы, образующиеся под действием УФ-облучения в гомогенных растворах, рассматриваются как основной источник фототоксичности КП. Образование таких частиц доказано, в том числе, и методом химической поляризации ядер [72, 73]. В работе [74] авторы предприняли попытку использовать глицирризин для повышения фотостабильности КП. В данной работе для изучения особенностей фотолиза кетопрофена в мицеллах и гелевых наночастицах ГК были также применены методы ХПЯ и ЯМР. Показано, что включение кетопрофена в мицеллы ГК или гелевые наночастицы значительно снижает скорость его фотодеградации. В качестве механизма фотостабилизации КП авторы предположили изоляцию молекул КП от молекул воды в мицеллах и гелевых наночастицах, присутствие которой значительно ускоряет фотораспад. Полученные авторами результаты могут быть полезны при разработке лекарственных форм кетопрофена для наружного применения.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЛИЦИРРИЗИНА С ЛИПИДНЫМИ МЕМБРАНАМИ

Важный аспект антиоксидантной активности ГК – ее способность встраиваться в клеточные мембраны и влиять на их физические и функциональные свойства. Во-первых, благодаря своей липофильности, ГК способна проникать внутрь липидного бислоя и работать не только как гидрофильный, но и как липофильный антиоксидант, защищая молекулы липидов и встроенных белков от повреждения свободными радикалами. Во-вторых, изменяя подвижность липидов, температуру фазового перехода, трансмембранный потенциал и другие физические параметры мембраны, ГК может оказывать липид-опосредованное влияние на работу собственных антиоксидантных систем клетки [3]. Интерес к мембраномодифицирующей способности ГК особенно возрос за последние годы в связи с обнаружением вирус-ингибирующего действия ГК на SARS-CoV-2 – возбудитель COVID-19 [13, 14, 75, 76]. Это связано с тем, что одним из возможных механизмов противовирусного действия ГК считается препятствование слияния оболочки вируса с плазматической мембраной клетки хозяина [12, 16, 17].

Другая причина повышенного интереса исследователей к мембраномодифицирующей способности ГК связана с установлением факта, что ГК улучшает абсорбцию и биодоступность различных препаратов [58, 59, 77–79]. При транспорте молекула лекарства должна преодолевать множество барьеров в виде однослойных и многослойных мембран. Несмотря на то, что клеточные структуры не все одинаковы, факторы воздействия и пути прохождения лекарственных средств подобны для разных клеток, что позволяет использовать модельные липидные мембраны (липосомы и бицеллы) для выяснения физических механизмов транспорта малых молекул через клеточные мембраны. Ряд результатов свидетельствует о том, что ГК может усиливать проникновение лекарств в клетки за счет влияния на свойства клеточных мембран [80–84]. В частности, в указанных работах установлено, что ГК может повышать проницаемость эритроцитов и клеток K562 для ионов формиата. Авторы показали, что повышение проницаемости может быть связано с мембраномодифицирующей активностью ГК. Для доказательства этой гипотезы авторы применили методы ЯМР и молекулярной динамики (МД). Было изучено взаимодействие ГК с липосомами пальмитоил-олеоил-фосфатидилхолина (ПОФХ), диолеил-фосфатидилхолином (ДОФХ) и дипальмитоил-фосфатидилхолином (ДПФХ). Обнаружено, что в присутствии глицирризина наблюдалось двукратное ускорение транспорта ионов формиата через мембрану эритроцитов по сравнению с необработанными клетками [84]. Молекулярно-динамическое моделирование показало, что молекулы ГК располагаются преимущественно во “внешнем” полуслое мембраны и могут свободно обмениваться между полярной частью полуслоя и его гидрофобной внутренней частью. При этом они захватывают и несколько молекул воды. Также обнаружено, что ГК может проникать в бислои различных типов липидов. Но только для мембраны ДПФХ, самой жесткой из трех исследованных типов, ГК может проникать во “внутренний” полуслой. В месте локализации молекул ГК возникают утончения мембраны, которые могут привести к образованию пор, делающих бислой проницаемым для ионов и малых молекул [83]. Сапра и др. [85] продемонстрировали способность ГК создавать мелкие поры на поверхности бислоя и нарушать структуру липидного бислоя в эпидермисе крыс *in vitro*. Отметим, что эта способность может быть задействована в механизме трансдермальной доставки лекарств. Также наблюдаемое порообразование и перенос молекул воды молекулами ГК могут способствовать пассивному транспорту через липидную мембрану молекул в супрамолекулярном комплексе с ГК. Отметим, что усиление транспорта ионов через мембрану в присутствии ГК может

оказывать влияние и на трансмембранный потенциал. Это предположение было подтверждено в экспериментах с клетками тимоцитов крыс [78]. Влияние ГК на трансмембранный потенциал тимоцитов крыс исследовали с помощью потенциал-чувствительного флуоресцентного зонда 4-(*n*-диметиламиностирил)-1-метилпиридиний (ДСМ). Инкубация клеток с ГК в мицеллярной форме приводит к уменьшению амплитуды наблюдаемой кинетики флуоресценции ДСМ, что указывает на снижение трансмембранного потенциала. Предлагаемый механизм заключается в повышении проницаемости мембраны плазматической клетки для ионов (пассивный ионный транспорт) за счет включения ГК.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЛИЦИРРИЗИНА СО СВОБОДНЫМИ РАДИКАЛАМИ И СОЛЬВАТИРОВАННЫМ ЭЛЕКТРОНОМ

К настоящему времени существует уже несколько исследований *in vitro* и *in vivo*, в которых подчеркивается наличие собственной антиоксидантной активности ГК [23, 25, 86–88]. Результаты исследований *in vitro* и *in vivo* подробно описаны и в ряде обзоров [3, 89–91]. Эти работы продемонстрировали антиоксидантную активность в отношении активных форм кислорода, таких как гидроксильные радикалы, пероксидные и супероксидные ионы, которые играют важную роль в развитии заболеваний, связанных с активными формами кислорода (АФК), или в механизмах, связанных со старением. Также ГК может активировать ядерный фактор Nrf2 посредством окислительно-восстановительной регуляции Keap1, в то время как он может влиять на клеточные уровни АФК посредством дополнительных механизмов.

Значительное внимание в исследованиях *in vitro* и *in vivo* уделяется и антиоксидантной роли ГК в фотоиндуцированных процессах, в частности связанных с развитием и лечением кожных заболеваний. В случае рака кожи, для лечения опухолей, вызванных УФ-В-излучением, ГК считается естественным антиоксидантным агентом, защищающим митохондриальные функции в условиях окислительного стресса [92]. Результаты работы C. Lee с соавторами показали, что действие ГК как противоракового агента может быть связано с повышенным образованием АФК и уменьшением концентрации GSH, вызывающими изменения проницаемости митохондриальной мембраны, что приводит к высвобождению цитохрома *c* и активации каспазы-3 [93]. Другие авторы показывают, что ГК ингибирует пролиферацию клеток HepG2 при раке печени, а также увеличивает образование АФК, продукцию NO и снижает потенциал митохондриальной мембраны [94]. Физико-химические аспекты взаимодействия ГК с клеточными мембранами нами были рассмотрены в предыдущей главе обзора.

Учитывая участие антиоксидантов в различных процессах живых систем, можно предположить, что антиоксидантная активность является существенным аспектом воздействия глицирризина в комплексной терапии различных заболеваний. Следует подчеркнуть, что, несмотря на обилие примеров антиоксидантной активности глицирризина *in vivo* и *in vitro*, среди ученых до сих пор нет единого мнения о молекулярном механизме этой активности ГК. Более того, дискуссии на эту тему продолжаются и сегодня [25–35]. Так, некоторые авторы утверждают, что глицирризин не захватывает гидроксильные радикалы или супероксидные анион-радикалы, но реагирует с радикалами 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (DPPH) [27–29]. Напротив, другие авторы показали, что глицирризин нейтрализует радикалы АФК, но не удаляет радикалы ДФПГ [30–35]. Так, авторы [32] измерили относительные константы скорости реакции радикалов OOH с глицирризином и рядом антиоксидантов (каротиноиды) с помощью метода ЭПР со спиновыми ловушками и показали, что антиоксидантная способность глицирризина даже выше, чем у широко применяемых антиоксидантов бета-каротина и зеаксантина. Исследование методом импульсного радиолиза [33] показало, что глицирризин обеспечивает радиационную защиту, захватывая образующиеся при облучении свободные радикалы и сольватированные электроны. Авторы измерили константы скорости реакции глицирризина с гидроксильным радикалом и сольватированным электроном, которые составляют 1.2×10^{10} и 3.9×10^{9} M^{-1} c^{-1} соответственно. Мы полагаем, что радио- и фотозащитные свойства глицирризина также могут найти применение на практике. D. Farmanzadeh с соавторами [26] провели расчеты энтальпий диссоциации связи O–H и потенциала ионизации ГК методом DFT и показали, что антиоксидантный характер ГК может быть обусловлен механизмом переноса атома водорода.

В работах [74, 95] для исследования антиоксидантной активности ГК авторы применили метод химической поляризации ядер (ХПЯ), один из наиболее информативных экспериментальных методов изучения реакций свободных радикалов в сложных химических и биохимических процессах [96–98]. Авторы работ [74, 95] проследили влияние ГК на поведение парамагнитных частиц, образующихся при УФ-облучении ксенобиотиков, в том числе молекул лекарственных средств (напроксен и кетопрофен), и обнаружили уменьшение концентрации свободных радикалов в растворах в присутствии ГК. Кроме того, методом ХПЯ достоверно установлено, что молекула ГК

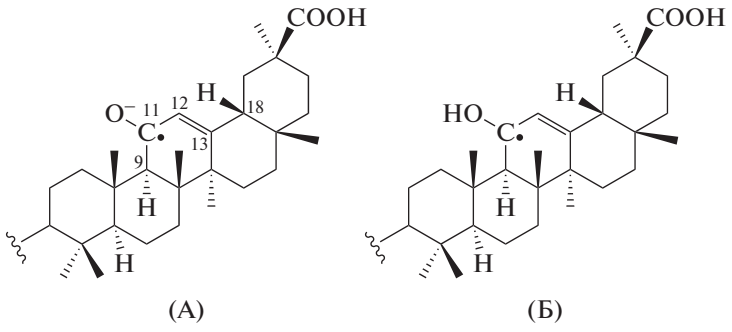

Рис. 2. Парамагнитные интермедиаты глицирризина: А – анион-радикал, Б – нейтральный радикал.

захватывает сольватированный электрон, генерируемый при УФ-облучении напроксена и кетопрофена. Анализ эффектов ХПЯ в сочетании с расчетами DFT позволил установить природу радикальных интермедиатов ГК, образующихся при захвате сольватированного электрона (рис. 2).

Расчеты методом DFT, проведенные в работе [95], предсказывают существенное различие в распределении спиновой плотности в анион-радикале и нейтральном радикале ГК (табл. 1).

Наблюдение эффектов ХПЯ одного знака (эмиссия) на протонах 9-H, 12-H и 18-H глицирризина в процессе УФ-облучения напроксена в присутствии ГК позволил заключить, что анион-радикал ГК в растворе подвергается быстрому протонированию с образованием нейтрального радикала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, физико-химические исследования, проведенные с использованием широкого набора физических методов, позволили установить возможные молекулярные механизмы антиоксидантного действия ГК, включающие как собственную антиоксидантную активность, так и способность усиливать действие других антиоксидантов. Условно их можно разделить на три группы. Первый механизм – реакция самой молекулы ГК с активными формами кислорода, сольватированным электроном или радикальными формами ксенобиотиков. Методами импульсного радиолиза, ЭПР со спиновыми ловушками и химической поляризации ядер показано, что для ряда парамагнитных частиц эффективность их захвата молекулами ГК превышает таковую для известных природных антиоксидантов. Второй механизм – ингибирование образования свободных радикалов с участием молекул лекарств в темновых и фотоиндуцированных окислительно-восстановительных реакциях за счет инкапсулирования молекулы лекарства в мицеллы или гелевые наночастицы ГК. И наконец, третий механизм связан со способностью ГК усиливать терапевтическую (в том числе и антиоксидантную) активность других лекарств и антиоксидантов. Эффект ГК заключается в увеличении растворимости и биодоступности природных антиоксидантов и других липофильных молекул за счет включения в мицеллы и комплексы ГК. Дополнительное усиление биодоступности достигается за счет мембраномодифицирующей способности ГК, облегчающей пассивный транспорт биомолекул через липидную мембрану. Мембраномодифицирующая способность ГК, по мнению некоторых авторов, может оказывать и опосредованное влияние на работу собственных антиоксидантных ферментов живых клеток. В заключение можно констатировать, что глицирризин имеет отличные перспективы использования в комбинированной терапии благодаря собственной биологической активности и способности усиливать действие других лекарств в качестве системы доставки.

Таблица 1. Величины констант СТВ (в мТ) в анион-радикале (А) и нейтральном радикале (Б) глицирризина, рассчитанные методом DFT, по данным [95]

Позиция	А	Б
9-CH	+0.266	+0.676
12-CH	–0.069	+0.072
18-CH	+0.147	+0.206

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Гранкина В.П., Кондратенко Р.М.* Солодка: биоразнообразие, химия, применение в медицине. Новосибирск: Академическое издательство “Гео”, 2007. 311 с.
2. *Shibata S.* // Yakugaku Zasshi - Journal of the Pharmaceutical Society of Japan. 2000. V. 120(10). P. 849. https://doi.org/10.1248/yakushi1947.120.10_849
3. *Selyutina O.Yu., Polyakov N.E.* // Int. J. Pharm. 2019. V. 559. P. 271.

4. *Fiore C., Eisenhut M., Ragazzi E. et al.* // J. Ethnopharmacol. 2005. V. 99. P. 317.
5. *Ming L.J., Yin A.C.* // Natural Product Communications. 2013. V. 8(3). P. 415.
6. *Lohar A.V., Wankhade A.M., Faisal M. et al.* // European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences. 2020. V. 7(7). P. 330.
7. *Hasan M.K., Ara I., Mondal M.S.A., Kabir Y.* // Heliyon. 2021. V. 7(6). e07240. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07240
8. *Su X., Wu L., Hu M. et al.* // Biomed. Pharmacother. 2017. V. 95. P. 670. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.123
9. *Graebin C.S.* // Sweeteners. 2016. P. 1–17. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26478-3_15-1
10. *Sun Z.G., Zhao T.T., Lu N. et al.* // Mini. Rev. Med. Chem. 2019. V. 19(10). P. 826. https://doi.org/10.2174/1389557519666190119111125
11. *Hoever G., Baltina L., Michaelis M. et al.* // J. Med. Chem. 2005. V. 24. P. 1256.
12. *Cinatl J., Morgenstern B., Bauer G. et al.* // Lancet. 2003. V. 361(9374). P. 2045. Doi: https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)13615-x
13. *Chrzanowski J., Chrzanowska A., Graboń W.* // Phytotherapy Research. 2021. V. 35(2). P. 629. https://doi.org/10.1002/ptr.6852
14. *Bailly C., Vergoten G.* // Pharm. Ther. 2020. V. 214. P. 107618. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107618
15. *Kang H., Lieberman P.M.* // J. Virol. 2011. V. 85(21). P. 11159.
16. *Lin J.C.* // Antiviral Res. 2003. V. 59. P. 41. https://doi.org/10.1016/s0166-3542(03)00030-5
17. *Duan E., Wang D., Fang L. et al.* // Antiviral Res. 2015. V. 120. P. 122. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.06.001
18. *Harada S.* // Biochem. J. 2005. V. 392. P. 191.
19. *Sui X., Yin J., Ren X.* // Antiviral Res. 2010. V. 85. P. 346.
20. *Wolkerstorfer A., Kurz H., Bachhofner N., Szolar O.H.* // Antiviral Res. 2009. V. 83. P. 171.
21. *Konovalova G.G., Tikhaze A.K., Lankin V.Z.* // Bull. Exp. Biol. Med. 2000. V. 130. P. 658.
22. *Egashira T., Takayama F., Wada Y. et al.* // Yakuri to Chiryo. 1994. V. 22(7). P. 2981.
23. *Ojha S., Javed H., Azimullah S. et al.* // Neurotoxicity Research. 2016. V. 29. P. 275. https://doi.org/10.1007/s12640-015-9579-z
24. *Khorsandi L., Orazizadeh M., Mansori E., Fakhredini F.* // Bratisl. Lek. Listy. 2015. V. 116(6). P. 383. https://doi.org/10.4149/bll_2015_073
25. *Kiso Y., Tohkin M., Hikino H. et al.* // Planta Med. 1984. V. 50(4). P. 298. https://doi.org/10.1055/s-2007-969714
26. *Farmanzadeh D., Tabari L.* // J. Indian Chem. Soc. 2017. V. 94(3). P. 261.
27. *Imai K., Takagi Y., Iwazaki A., Nakanishi K.* // Free Rad. Antiox. 2014. V. 3(1). P. 40.
28. *Rackova L., Jancinova V., Petrikova M. et al.* // Nat. Prod. Res. 2007. V. 21(14). P. 1234.
29. *Takayama F., Egashira T., Yamanaka Y.* // Japan. Pharm. Ther. 2000. V. 28(9). P. 763.
30. *Kato T., Horie N., Hashimoto K. et al.* // In Vivo. 2008. V. 22(5). P. 583.
31. *Cheel J., Van Antwerpen P., Tumova L. et al.* // Food Chem. 2010. V. 122(3). P. 508.
32. *Polyakov N.E., Leshina T.V., Salakhutdinov N.F. et al.* // Free Rad. Biol. Med. 2006. V. 40(10). P. 1804.
33. *Gandhi N.M., Maurya D.K., Salvi V. et al.* // J. Radiat. Res. 2004. V. 45(3). P. 461. https://doi.org/10.1269/jrr.45.461
34. *Beskina O.A., Abramov A.Y., Gabdulkhanova A.G. et al.* // Biomed. Khim. 2006. V. 52(1). P. 60.
35. *Thakur D., Abhilasha, Jain A., Ghoshal G.* // J. Sci. Ind. Res. 2016. V. 75(8). P. 487.
36. *Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Bryzgalov A.O.* // Mini-Rev. Med. Chem. 2009. V. 9. P. 1317.
37. *Apanasenko I.E., Selyutina O.Yu., Polyakov N.E. et al.* // Arch. Biochem. Biophys. 2015. V. 572. P. 58.
38. *Polyakov N.E., Khan V.K., Taraban M.B., Leshina T.V.* // J. Phys. Chem. B. 2008. V. 112. P. 4435. https://doi.org/10.1021/jp076850j
39. *Polyakov N.E., Magyar A., Kispert L.D.* // J. Phys. Chem. B. 2013. V. 117. P. 10173.
40. *Pashkina E., Evseenko V., Dumchenko N. et al.* // Nanomaterials. 2022. V. 12. P. 148. https://doi.org/10.3390/nano12010148
41. *Душкин А.В., Метелева Е.С., Толстикова Т.Г., Хвостов М.В. и др.* // Химия в интересах устойчивого развития. 2019. Т. 27. С. 233. https://doi.org/10.15372/KhUR2019
42. *Сунцова Л.П., Шлотгауэр А.А., Евсеенко В.И. и др.* // Химия в интересах устойчивого развития. 2019. Т. 27. С. 193. https://doi.org/10.15372/KhUR2019125
43. *Focsan A.L., Polyakov N.E., Kispert L.D.* // Molecules. 2019. V. 24. P. 3947. https://doi.org/10.3390/molecules24213947
44. *Толстикова Т.Г., Толстиков А.Г., Толстиков Г.А.* // Вестн. РАН. 2007. Т. 77. № 10. С. 867. *Tolstikova T.G., Tolstikov A.G., Tolstikov G.A.* // Herald of the Russian Academy of Sciences. 2007. V. 77(5). P. 447.
45. *Dushkin A.V., Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Tolstikov G.A.* Complexes of polysaccharides and glycyrrhizic acid with drug molecules. Mechanochemical synthesis and pharmacological activity. In: *Karunaratne D.N.* (Ed.), The Complex World of Polysaccharides. InTech: Rijeka, Croatia. 2012. P. 573.
46. *Song J., Kim J.Y., You G. et al.* // Biotechnology and Bioprocess Engineering. 2022. V. 27(2). P. 163. https://doi.org/10.1007/s12257-021-0198-7
47. *Shen C., Shen B., Zhu J. et al.* // Drug Dev. Ind. Pharm. 2021. V. 47(2). P. 207. https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1862178
48. *Kondo M., Minamino H., Okuyama G. et al.* // J. Soc. Cosmet. Chem. 1986. V. 37. P. 177.

49. *Matsuoka K., Miyajima R., Ishida Y. et al.* // Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. 2016. V. 500. P. 112.
50. *Wang Y., Zhao B., Wang S. et al.* // Drug Delivery. 2016. V. 23(5). P. 1623. https://doi.org/10.3109/10717544.2015.1135489
51. *Kornievskaya V.S., Kruppa A.I., Polyakov N.E., Leshina T.V.* // J. Phys. Chem. B. 2007. V. 111. P. 11447.
52. *Petrova S.S., Schlotgauer A.A., Kruppa A.I., Leshina T.V.* // Z. Phys. Chem. 2016. V. 231. P. 1. https://doi.org/10.1515/zpch-2016-0845
53. *Spěváček J.* // Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 2009. V. 14. P. 184.
54. *Cosa G.* // Pure Appl. Chem. 2004. V. 76(2). P. 263.
55. *De Vries H., Beijersbergen van Henegouwen G.M.J.* // Photochem. Photobiol. 1995. V. 62. P. 959.
56. *Polyakov N.E., Taraban M.B., Leshina T.V.* // Photochem. Photobiol. 2004. V. 80. P. 565.
57. *Schleifer K.-J.* // Pharmazie. 1999. V. 54. P. 804.
58. *Selyutina O.Yu., Mastova A.V., Shelepova E.A., Polyakov N.E.* // Molecules. 2021. V. 26. P. 1270. https://doi.org/10.3390/molecules26051270
59. *Kim A.V., Shelepova E.A., Evseenko V.I. et al.* // J. Mol. Liq. 2021. V. 344. P. 117759.
60. *Turabekova M.A., Rasulev B.F.* // Molecules. 2004. V. 9. P. 1194.
61. *Wang F.-P., Chen Q.-H., Liu X.-Y.* // Natural Product Reports. 2010. V. 27(4). P. 529. https://doi.org/10.1039/b916679c
62. *Polyakov N.E., Khan V.K., Taraban M.B. et al.* // Org. Biomol. Chem. 2005. V. 3. P. 881.
63. *Polyakov N.E., Leshina T.V., Tkachev A.V. et al.* // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 2008. V. 197. P. 290.
64. *Polyakov N.E., Simaeva O.A., Taraban M.B. et al.* // J. Phys. Chem. B. 2010. V. 114(13). P. 4646.
65. *Ageeva A.A., Khramtsova E.A., Plyusnin V.F. et al.* // Photochem. Photobiol. Sci. 2018. V. 17(2). P. 192. https://doi.org/10.1039/c7pp00366h
66. *Polyakov N.E., Leshina T.V.* // Russ. Chem. Bull. Int. Ed. 2007. V. 56. P. 631.
67. *Polyakov N.E., Khan V.K., Taraban M.B. et al.* // J. Phys. Chem. B. 2005. V. 109(51). P. 24526. Doi: https://doi.org/10.1021/jp053434v
68. *Kornievskaya V.S., Kruppa A.I., Polyakov N.E., Leshina T.V.* // J. Phys. Chem. B. 2007. V. 111. P. 11447.
69. *Kornievskaya V.S., Kruppa A.I., Leshina T.V.* // J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. 2008. V. 60. P. 123-130.
70. *Lugović-Mihić L., Duvančić T., Fercek I. et al.* // Acta Clin. Croat. 2017. V. 56. P. 277.
71. *Okazaki S., Hirata A., Shogomori Y. et al.* // J. Photochem. Photobiol. B. 2021. V. 214. P. 112090. https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOBIOL.2020.112090
72. *Babenko S.V., Kuznetsova P.S., Polyakov N.E., Kruppa A.I., Leshina T.V.* // J. Photochem. Photobiol. A Chem. 2020. V. 392. P. 112383.
73. *Mastova A.V., Selyutina O.Yu., Evseenko V.I., Polyakov N.E.* // Membranes. 2022. V. 12. P. 251.
74. *Selyutina O.Yu., Babenko S.V., Kruppa A.I. et al.* // New J. Chem. 2022. V. 46. P. 17865. https://doi.org/10.1039/D2NJ02553A
75. *van de Sand L., Bormann M., Alt M. et al.* // Viruses. 2021. V. 13(4). P. 609. https://doi.org/10.3390/v13040609
76. *Yu S., Zhu Y., Xu J. et al.* // Phytomedicine. 2020. P. 153364. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153364
77. *Kong R., Zhu X., Meteleva E.S. et al.* // Int. J. Pharm. 2017. V. 534. P. 108. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.10.011
78. *Glazachev Yu.I., Schlotgauer A.A., Timoshnikov V.A., et al.* // J. Memb. Biol. 2020. V. 253(4). https://doi.org/10.1007/s00232-020-00132-3
79. *Kim A.V., Shelepova E., Selyutina O.Yu. et al.* // Mol. Pharm. 2019. V. 16. P. 3188. https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00390
80. *Selyutina O.Yu., Polyakov N.E., Korneev D.V., Zaitsev B.N.* // Russ. Chem. Bull. 2014. V. 63(5). P. 1201. https://doi.org/10.1007/s11172-014-0573-z
81. *Selyutina O.Yu., Apanasenko I.E., Shilov A.G. et al.* // Russ. Chem. Bull. 2017. V. 66(1). P. 129. https://doi.org/10.1007/s11172-017-1710-2
82. *Selyutina O.Yu., Apanasenko I.E., Polyakov N.E.* // Russ. Chem. Bull. 2015. V. 64 (7). P. 1555. https://doi.org/10.1007/s11172-015-1040-1
83. *Selyutina O.Yu., Apanasenko I.E., Kim A.V. et al.* // Colloids and Surfaces. B. Biointerfaces. 2016. V. 147. P. 459. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.08.037
84. *Selyutina O.Yu., Polyakov N.E., Korneev D.V., Zaitsev B.N.* // Drug Delivery. 2016. V. 23(3). P. 858. https://doi.org/10.3109/10717544.2014.919544
85. *Sapra B., Jain S., Tiwary A.K.* // Drug Delivery. 2008. V. 15. P. 443. https://doi.org/10.1080/10717540802327047
86. *Harikrishnan R., Devi G., van Doan H. et al.* // Fish & Shellfish Immunology. 2021. V. 119. P. 193. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.09.040
87. *Li X.-L., Zhou A.-G., Zhang L., Chen W.-J.* // Int. J. Mol. Sci. 2011. V. 12. P. 905.
88. *Takayama F., Egashira T., Yamanaka Y.* // Japan. J. Pharm. 1995. V. 67. P. 104. https://doi.org/10.1016/S0021-5198(19)46379-8
89. *Li J.Y., Cao H.Y., Liu P. et al.* // Biomed. Res. Int. 2014. P. 872139.
90. *Pastorino G., Cornara L., Soares S. et al.* // Phyther. Res. 2018. V. 32. P. 2323.
91. *Obolentseva G.V., Litvinenko V.I., Ammosov A.S. et al.* // Pharm. Chem. J. 1999. V. 33. P. 427.
92. *Tripathi M., Singh B.K., Kakkar P.* // Food Chem. Toxicol. 2009. V. 47. P. 339.
93. *Lee C.S., Kim Y.J., Lee M.S. et al.* // Life Sci. 2008. V. 83. P. 481.

94. *Hasan S.K., Siddiqi A., Nafees S. et al.* // Mol. Cell. Biochem. 2016. V. 416. P. 169.

95. *Ageeva A.A., Kruppa A.I., Magin I.M. et al.* // Antioxidants. 2022. V. 11. P. 1591. https://doi.org/10.3390/ antiox11081591

96. *Morozova O.B., Ivanov K.L.* // Chem. Phys. Chem. 2019. V. 20(2). P. 197. https://doi.org/10.1002/cphc.201800566

97. *Goez M.* Elucidating Organic Reaction Mechanisms Using Photo-CIDNP Spectroscopy. In: *Kuhn L.T.* (Ed.). Hyperpolarization Methods in NMR Spectroscopy. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2013. P. 1–32. https://doi.org/10.1007/128_2012_348.

98. *Kuhn L.T., Bargon J.* Exploiting Nuclear Spin Polarization to Investigate Free Radical Reactions Via in Situ NMR. In: *Bargon J., Kuhn L.T.* (Ed.) In situ NMR Methods in Catalysis. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. 2007. P. 125–154. https://doi.org/10.1007/128_2007_119