

УДК 577.352.465

©Коллектив авторов

ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ

*О.А. Бескина¹, А.Ю. Абрамов¹, А.Г. Габдулхакова², А.В. Миллер²,
В.Г. Сафронова², М.В. Замараева¹*

¹Национальный университет Узбекистана, биолого-почвенный факультет,
кафедра биофизики, 700174 Ташкент, Вузгородок, УзМУ;
тел.: (988-71) 118-85-44; факс: (99-871) 144-77-28;
эл. почта: mzamarav@mail.tps.uz

²Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино,
Московская обл., ул. Институтская, 3; эл. почта: safronova@icb.psn.ru

Исследованы возможные механизмы антиоксидантной активности глицирризиновой кислоты (ГК). В экспериментах со стабильным 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил радикалом показано, что ГК в диапазоне концентраций 1-100 мкМ не проявляет антирадикальных свойств. Эти данные подтверждены исследованием влияния ГК на хемилюминесценцию люминола в присутствии перекиси водорода в бесклеточной системе.

В то же время ГК дозозависимо снижает образование активных форм кислорода нейтрофилами при активации их как форбол 12-мирикат 13-ацетатом (ФМА), так и хемотаксическим пептидом - N-формил-Мет-Лей-Фен (ФМЛФ). Методом флуоресценции дихлордигидрофлуоросцеина (ДФС) показано, что непосредственное добавление ГК в культуру нейронов не снижает уровень образования свободных радикалов. Однако предварительная инкубация клеток с ГК приводит к снижению скорости образования свободных радикалов и к повышению уровня восстановленного глутатиона.

Ключевые слова: глицирризиновая кислота, антиоксидантная активность, оксидантная активность нейтрофилов, глутатион, культура нейронов гиппокампа.

ВВЕДЕНИЕ. Глицирризиновая кислота (ГК) – природный гликозид, относящийся к классу тритерпеноидов, выделенный из широко распространенного в природе растения *Glycyrriza Glabra L.*. Для глицирризиновой кислоты установлено большое количество различных биологических и фармакологических эффектов. В частности, показано, что ГК обладает минералкортикоидоподобным действием. Для нее также установлена антивирусная, иммуностропная, противоаллергическая, противоопухолевая, противовоспалительная активности [1-7]. В литературе имеются также данные об антиоксидантной активности ГК [1], однако механизм её реализации не установлен. Вместе с тем известно, что патогенез целого ряда заболеваний сопровождается резким увеличением свободнорадикального окисления (СРО), которое усугубляет патологические процессы. В связи с этим можно предположить, что одним из возможных механизмов столь широкого спектра фармакологической активности ГК является регуляция СРО. Действие ГК

может реализоваться несколькими путями, включая влияние на активность ферментов антиоксидантной системы и содержание эндогенных антиоксидантов или проявление собственной антирадикальной активности. Указанные эффекты могут быть как результатом непосредственного влияния, так и опосредованного.

В работе было исследовано взаимодействие ГК со свободными радикалами, влияние ГК на оксидазную активность нейтрофилов, образование свободных радикалов и содержание восстановленного глутатиона в культуре нейронов гиппокампа.

МЕТОДИКА. В работе были использованы: глицирризиновая кислота, форбол 12-мирилат 13-ацетат (ФМА), люминол, хемотаксический пептид N-формил-Мет-Лей-Фен (ФМЛФ), HEPES, зимозан, монохлорбиман (MCB), дихлордигидрофлуоресцеин диацетат (H2DCFH-DA), Fura 2-AM, 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил (ДФПГ), фирм: "Sigma" (США), "Serva" (Германия), "Reanal" (Венгрия). Остальные использованные реактивы (квалификации хч, чда или осч) произведены в России.

Нейтрофилы получали из перитонеальной полости мышей-самцов аутбредной линии NMRI по стандартной методике с модификациями [8]. Клетки использовали через 1 ч после выделения. Плотность клеток в экспериментальной ячейке составляла 10^6 клеток/мл.

Нейроны гиппокампа были выращены в смешанной первичной культуре нейронов и клеток глии [9].

Измерение содержания восстановленного глутатиона (GSH) в клетках проводили, используя флуоресцентный зонд MCB (50 мкМ). В большинстве экспериментов клетки были загружены MCB в среде регистрации (CP) в течение 30-120 мин при комнатной температуре или в культуральной среде в течение 30-60 мин при 36°C [10,11]. Флуоресценцию MCB-GSH аддукта возбуждали ксеноновой лампой ($\lambda_{\text{возб.}}$ - 380 нм, $\lambda_{\text{рег.}}$ - 400 нм). Изображения флуоресцентного MCB-GSH аддукта были получены с использованием обычной CCD камеры. Все данные с оптических изображений были получены и проанализированы с использованием специального программного обеспечения "Kinetic Imaging".

Для одновременного измерения $[\text{Ca}^{2+}]_i$ и скорости образования свободных радикалов нейроны гиппокампа загружали 5 мкМ Fura 2-AM и 20 мкМ H2DCFH-DA в среде регистрации в течение 30 мин. Флуоресценцию возбуждали ксеноновой лампой, $\lambda_{\text{возб.}}$ - 340 и 380 нм, $\lambda_{\text{рег.}}$ - 510 нм для Fura-2; $\lambda_{\text{возб.}}$ - 490 нм, $\lambda_{\text{рег.}}$ - 525 нм для H2DCFH-DA.

Продукцию активных форм кислорода (АФК) нейтрофилами оценивали по люминол-зависимой хемилюминесценции [12], которую измеряли хемилюминометром ХЛ-111, разработанным и изготовленным в лаборатории клеточной нейробиологии ИБК РАН. Хемилюминесценцию (ХЛ) регистрировали при 37°C последовательно от 12 ячеек, время опроса которых составляло 5 с. Физиологический раствор для измерений имел следующий состав: 138 мМ NaCl, 6 мМ KCl, 1 мМ CaCl_2 , 1 мМ MgSO_4 , 5 мМ NaHCO_3 , 1 мМ Na_2HPO_4 , 10 мМ глюкоза, 10 мМ HEPES, 0,135 мМ люминол, 0,1 мМ NaN_3 и 300 ед/мл пероксидазы, pH 7,4. Для активации респираторного взрыва нейтрофилов использовали 10 мкМ хемотаксический пептид N-формил-Мет-Лей-Фен (ФМЛФ) и 1 мкМ форболовый эфир (ФМА). Анализ результатов был проведен по изменению суммарной продукции АФК за 50 с от момента добавления ФМЛФ и ФМА в качестве активирующих агентов, что примерно соответствует изменению максимума хемилюминесцентного ответа. Полученный эффект выражали как среднее значение \pm ошибка средней.

Для определения антирадикальной активности с помощью стабильного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила (ДФПГ) был использован метод Глевинда [13]. Метод основан на изменении оптической плотности раствора вследствие перехода ДФПГ в нерадикальную форму, измеряемой при 517 нм.

Определение антирадикальной активности в бесклеточной системе с пероксидом водорода (H_2O_2) оценивали по люминол-зависимой

хемилюминесценции, которую измеряли с помощью хемилюминометра ХЛ-111. Для измерения в экспериментальную ячейку добавляли среду, люминол и 0,3% H_2O_2 и регистрировали исходный уровень ХЛ. Затем в ячейку вносили исследуемое соединение. Обработку экспериментальных данных проводили по аналогии с респираторным взрывом нейтрофилов.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Исследование антирадикальной активности глицерризиновой кислоты (ГК). Для исследования антирадикальной активности ГК нами была проведена серия экспериментов с стабильным ДФПГ (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил) радикалом, переход которого в нерадикальную форму приводит к уменьшению оптической плотности раствора [14]. Результаты данных экспериментов показали, что ГК не вызывает изменений оптической плотности $1 \cdot 10^{-4}$ М раствора ДФПГ даже в концентрации 100 мкМ (данные не приводятся). Эти данные позволяют сделать вывод об отсутствии у ГК антирадикальной активности.

Это было подтверждено также в экспериментах по измерению люминол-зависимой хемилюминесценции в бесклеточной модельной системе с пероксидом водорода. Добавление ГК в концентрации 1-100 мкМ в данных условиях не приводило к изменению уровня хемилюминесценции (рис. 1А).

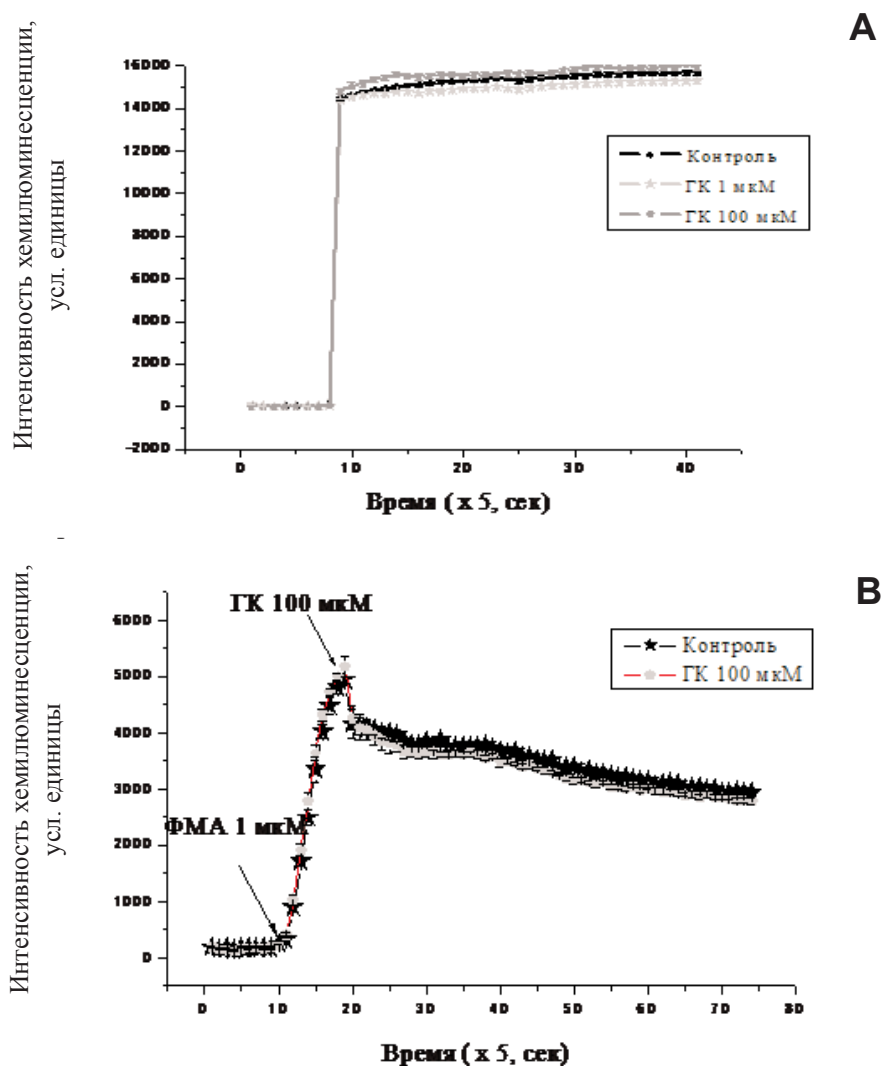


Рисунок 1.

Кинетика изменения хемилюминесценции люминола в бесклеточной системе с H_2O_2 (А) и при активации нейтрофилов 1 мкМ ФМА (В) в контроле и при добавлении ГК.

ГК добавлена в момент максимальной активности клеток.

Влияние глицирризиновой кислоты на респираторный взрыв нейтрофилов. Нейтрофилы являются компонентом врожденного иммунитета и обеспечивают наиболее быстрые защитные реакции организма от повреждающих агентов. Одной из таких реакций является массивный выброс АФК в респираторном взрыве, однако избыточная продукция АФК нейтрофилами и другими фагоцитами может быть повреждающим фактором для клеток организма-хозяина [15]. Мы исследовали влияние ГК на респираторный взрыв нейтрофилов, вызванный хемотаксическим пептидом N-формил-Мет-Лей-Фен (ФМЛФ), действующим через специфический рецептор, и форболовым эфиром - форбол 12-мирилат 13-ацетатом (ФМА), непосредственно активирующим протеинкиназу C (ПКС).

Нами было установлено, что даже в высокой концентрации (100 мкМ) ГК практически не вызвала изменения интенсивности спонтанной хемилюминесценции, что говорит об отсутствии ее действия на уровень спонтанной продукции АФК. Добавление ГК в момент максимальной активности нейтрофилов, активированных ФМА, также не приводило к изменению интенсивности хемилюминесценции (рис. 1В). Это подтверждает полученные нами данные об отсутствии у ГК антирадикальных свойств. Кроме того, на основании этих результатов можно заключить, что ГК не влияет на активность активированной NADPH-оксидазы, ответственной за продукцию АФК при респираторном взрыве. Однако предварительная инкубация нейтрофилов с ГК в течение 10 мин приводила к дозозависимому снижению образования АФК клетками в ответ на 1 мкМ ФМА. Так, при добавлении 0,1 мкМ ГК наблюдалось снижение оксидазной активности нейтрофилов на $25 \pm 7\%$ ($n=16$) по отношению к контролю. Увеличение концентрации ГК приводило к дальнейшему ингибированию продукции АФК нейтрофилами. В концентрации 100 мкМ ГК снижала продукцию АФК на $52 \pm 4\%$ ($n=16$) по сравнению с контролем (рис. 2А). Следовательно, ГК влияет на процесс активации NADPH-оксидазы в нейтрофилах, возможно, ингибируя ПКС.

При активации нейтрофилов, предварительно инкубированных с ГК с хемотаксическим пептидом, также наблюдалось снижение продукции АФК (рис. 2В), но зависимость оксидазной активности клеток от концентрации ГК была несколько иной, чем при активации клеток ФМА. Так, при добавлении 0,1 мкМ ГК продукция АФК снижалась на $8 \pm 3\%$ ($n=18$) по отношению к контролю. Однако при увеличении концентрации ГК до 1 мкМ наблюдалось ингибирование на $51 \pm 6\%$ ($n=18$) ответа нейтрофилов на 10 мкМ ФМЛФ, а инкубация клеток с 100 мкМ ГК в течение 10 мин приводила к снижению ответа на $77 \pm 5\%$ ($n=18$). Таким образом, ГК сильнее ингибирует респираторный взрыв, вызванный активацией специфического рецептора, вероятно, ингибируя активацию NADPH-оксидазы, что не исключает того, что и в этом случае ПКС может быть мишенью ГК. Однако это требует исследований с использованием более прямых методов.

Влияние глицирризиновой кислоты на кальциевый гомеостаз и продукцию свободных радикалов в клетках. Свободные радикалы в клетке могут производиться различными ее компонентами – митохондриями, NADPH-оксидазой и другими. Измерить внутриклеточный уровень свободных радикалов и скорость их производства в клетке можно при помощи флуоресцентных зондов – таких как дихлордигидрофлуоресцин (dichlorodihydrofluorescein - DCF). При использовании данного зонда клетки загружаются его нефлуоресцентным аналогом - дихлордигидрофлуоресцин диацетат (H₂DCFH-DA), который, попадая в клетку, окисляется свободными радикалами до DCF. Скорость возрастания флуоресценции DCF отражает скорость производства свободных радикалов. В наших экспериментах первичная культура нейронов гиппокампа загружалась как H₂DCFH-DA, так и кальциевым индикатором Fura-2AM, так как в некоторых случаях процесс производства свободных радикалов может зависеть от кальциевой сигнализации [16].

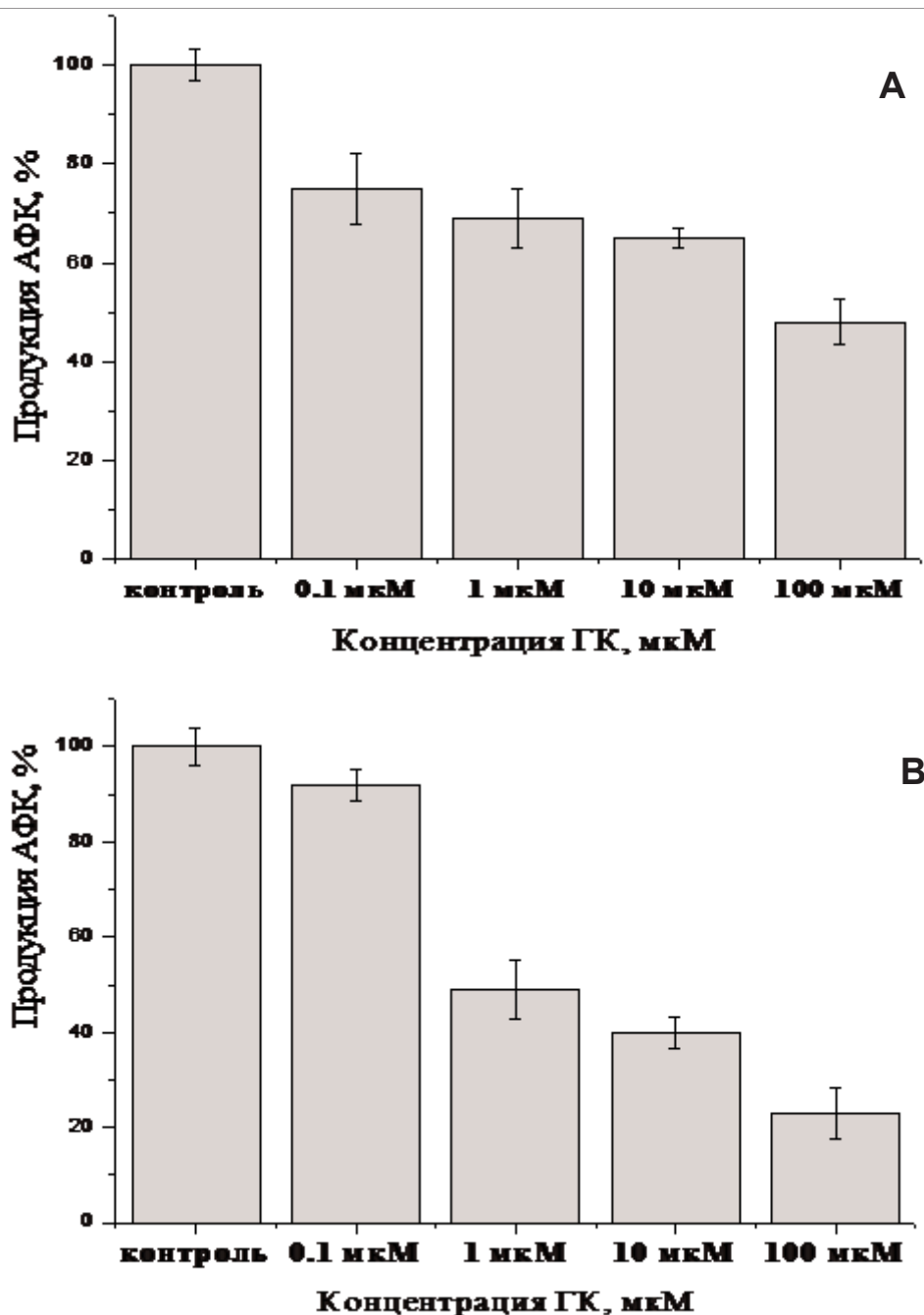


Рисунок 2.

Влияние предынкубации нейтрофилов с ГК на хемилюминесценцию клеток при активации продукции АФК 1 мкМ ФМА (А) и 10 мкМ ФМЛФ (В). Нейтрофилы были предынкубированны с ГК в течении 10 мин.

Как следует из наших результатов, ГК в низких концентрациях (100 нМ-20 мкМ) не изменяли $[Ca^{2+}]_i$ в нейронах. На рисунке 3А представлены данные по действию 2 мкМ ГК ($n=84$). Дальнейшее увеличение концентрации ГК до 50 мкМ приводило к значительному росту $[Ca^{2+}]_i$ в клетках (рис.3В). Однако в исследованном диапазоне концентрации (0,1-50 мкМ) ГК не изменяла скорость продукции свободных радикалов в нейронах (рис.3 А-В) при кратковременном воздействии. Это еще раз указывает на то, что данное соединение не обладает истинной антиоксидантной активностью в клетках, т.к. ранее было показано, что антиоксиданты в аналогичных условиях значительно ингибировали рост

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ

интенсивности флуоресценции [17]. Однако, преинкубация клеток даже с 2 мкМ ГК (рис. 3С) приводила к значительному снижению скорости производства свободных радикалов. (от $12,0 \pm 1,1$ усл.ед. интенсивности флуоресценции в минуту в контроле до $3,4 \pm 0,6$). Увеличение концентрации ГК до 50 мкМ приводило к аналогичным результатам (данные не приводятся). Таким образом, несмотря на отсутствие антирадикальных свойств у ГК, инкубация клеток с данным соединением способна значительно снижать скорость производства свободных радикалов в клетке, что дает основания предположить опосредованный механизм антиоксидантной активности ГК.

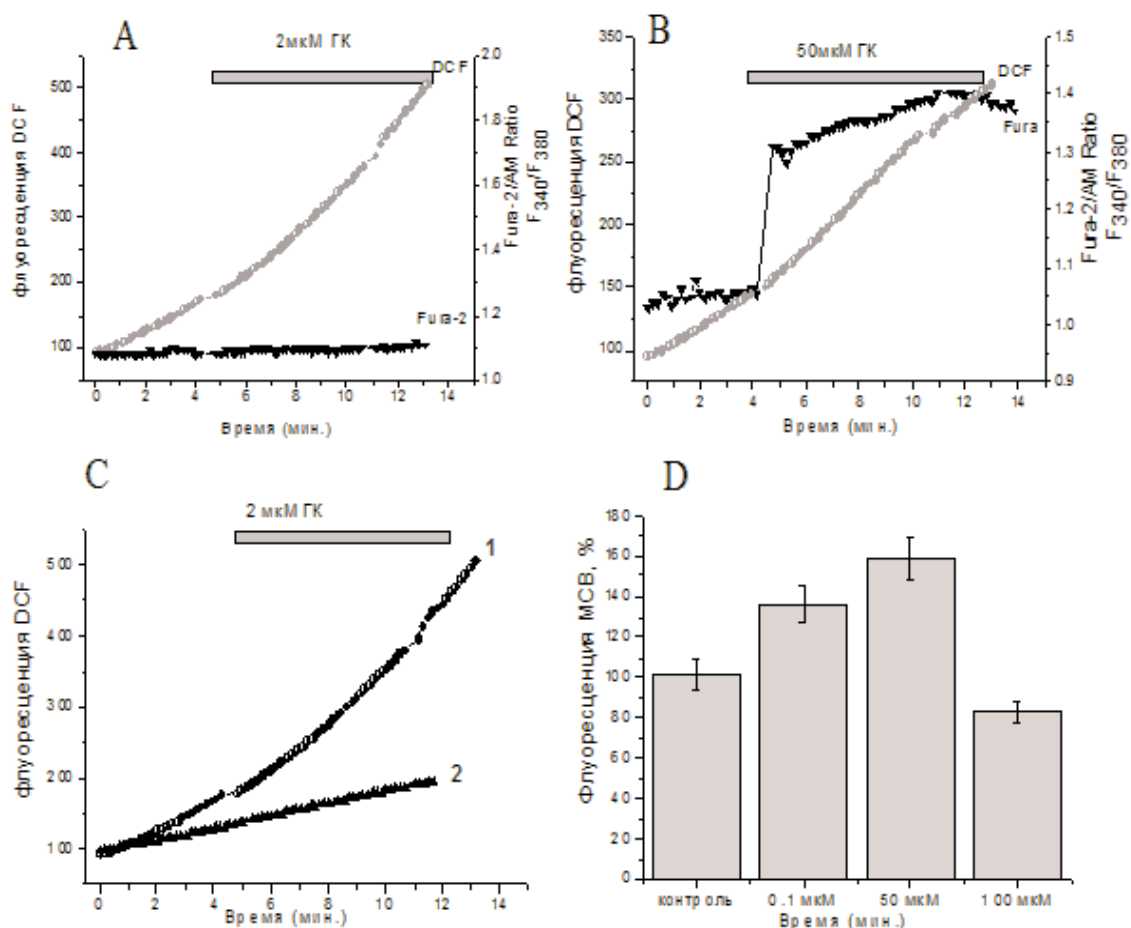


Рисунок 3.

Влияние ГК на производство свободных радикалов, уровень внутриклеточного кальция и GSH в нейронах гиппокампа.

На рисунках представлены средние значения одновременных измерений $[Ca^{2+}]_i$ и производства свободных радикалов при помощи Fura-2 и DCF соответственно. **A** и **B** – изменение $[Ca^{2+}]_i$ и продукции свободных радикалов при действии ГК в концентрации 2 мкМ (**A**) и 50 мкМ (**B**). **C** – влияние преинкубации клеток с 2 мкМ ГК на производство свободных радикалов (кривая 2). Кривая 1 дана для контроля.

D - Влияние ГК на уровень GSH в нейронах гиппокампа.

Исследование влияния глицирризиновой кислоты на уровень глутатиона в клетках. Трипептид глутатион является одним из важнейших компонентов системы антиоксидантной защиты клетки, участвуя в обезвреживании перекисей и гидроксильных радикалов [18].

Проведенные исследования показали, что ГК в концентрации 1-100 нМ практически не влияла на содержание восстановленного глутатиона в нейронах гиппокампа крыс. Однако инкубация клеток с 1 мкМ ГК в течение 30 мин

приводила к увеличению интенсивности флуоресценции МСВ более чем на $36 \pm 9\%$ ($n=8$) по сравнению с контролем (рис.3D), что свидетельствует о повышении уровня восстановленного глутатиона в нейронах. Увеличение концентрации ГК до 50 мкМ вызывало повышение содержания GSH на $58 \pm 11\%$ ($n=6$) по отношению к контролю. Однако, при увеличении концентрации ГК дальнейшего роста интенсивности флуоресценции МСВ не наблюдалось. Напротив, инкубация первичной культуры нейронов с 100 мкМ ГК в течение 30 мин приводила к некоторому снижению содержания восстановленного глутатиона в клетках, величина сигнала при этом составляла $83 \pm 6\%$ ($n=7$, $p < 0,1$) от уровня сигнала от контрольных клеток. Падение уровня GSH, индуцированное добавлением 100 мкМ ГК, может быть обусловлено значительным увеличением $[Ca^{2+}]_i$, к которому приводит действие ГК в данной концентрации и которое, как известно, может приводить к активации нейрональной NO-синтазы [19] и гиперпродукции АФК. В свою очередь увеличение продукции АФК может приводить к истощению антиоксидантной системы клетки.

ОБСУЖДЕНИЕ. В экспериментах со стабильным радикалом ДФПГ нами было установлено, что ГК не обладает истинной антирадикальной активностью. Это вывод был также нами подтвержден экспериментами в бесклеточной модельной системе с пероксидом водорода, где также было показано, что ГК не подавляет в данных условиях люминол-зависимую хемилюминесценцию, т.е. данное соединение не является “ловушкой” радикалов.

Однако в экспериментах по изучению влияния ГК на продукцию АФК нейтрофилами было установлено, что предварительная инкубация клеток с 0,1-100 мкМ ГК дозозависимо подавляет продукцию АФК при двух способах активации клеток: 1) форбол 12-мирикат 13-ацетатом (ФМА), который активирует протеинкиназу C (ПКС), осуществляющую фосфорилирование компонентов комплекса NADPH-оксидазы [20]; 2) хемотаксическим пептидом N-формил-Мет-Лей-Фен (ФМЛФ), инициирующим респираторный взрыв через специфический рецептор на мембране нейтрофилов [21].

Следует отметить, что более значительное ингибирование продукции АФК наблюдалось при активации нейтрофилов хемотаксическим пептидом ФМЛФ. Так, в концентрации 100 мкМ ГК ингибировала продукцию АФК нейтрофилами, активированными ФМЛФ, на $77 \pm 5\%$, в то время как в случае активации клеток ФМА, данный эффект составлял $52 \pm 4\%$.

Полученные в наших экспериментах результаты по исследованию влияния ГК на респираторный взрыв нейтрофилов дают основание считать, что действие ГК может быть обусловлено ее влиянием на взаимодействие ФМЛФ с рецептором и дальнейшую передачу сигнала с рецептора на NADPH-оксидазу. Это предположение подтверждается многочисленными данными о неспецифическом взаимодействии ГК с различными типами клеточных рецепторов [22, 23].

Другим возможным механизмом действия ГК на оксидазную активность нейтрофилов является ее ингибирующее влияние на активность ПКС, что препятствует фосфорилированию компонентов комплекса NADPH-оксидазы. Это предположение согласуется с имеющимися литературными данными о блокировании активности данного фермента ГК [1].

Однако обнаруженная нами способность ГК в концентрациях 1-50 мкМ повышать уровень восстановленного глутатиона на 30-58% свидетельствует, что и этот механизм может вносить свой вклад в регуляцию окислительного статуса клеток. Следует отметить, что для проявления антиоксидантной активности ГК во всех выполненных нами экспериментах необходима была прединкубация клеток с данным соединением, что предполагает отсутствия её прямых эффектов в данных условиях.

Вместе с тем, для некоторых солей ГК ранее было установлено, что данные соединения ингибируют хемилюминесценцию плазмы крови в железо-зависимой системе [24]. Следует отметить, что нами проводились исследования по влиянию ГК на перекисное окисление липидов (ПОЛ) митохондрий печени, оцененное по

накоплению малонового диальдегида, где было показано, что ГК не оказывает влияние на ПОЛ, индуцируемое как системой железо-аскорбат, так и гидропероксидом кумола (данные не приводятся). Такое различие в полученных результатах может быть следствием использования разных препаратов для исследования.

Вместе с тем в литературе имеются данные о том, что ГК влияет на окислительный статус клеток через регуляцию активности монооксигеназной системы. Так, в работе [25] установлено, что ГК защищает клетки HepG2 от афлатоксин индуцированного стресса, как за счет активации глутататион-трансферазы так и способности ингибировать метаболическую активацию гепатотоксина. Эти данные согласуются с ранее полученными результатами экспериментов проведенных в условиях *in vitro* где было показано, что соли ГК снижают скорость гидроксилирования анилина микросомами печени [24]. Однако в этой же работе было установлено, что в экспериментах *in vivo*, при введении животным натриевой соли ГК, отмечается активация монооксигеназной системы, которая возможно связана с индукцией цит. P450. Возможно, данные различия связаны с использованием разных концентраций препарата.

В целом следует отметить, что ГК, как полифункциональное соединение, реализует антиоксидантные свойства посредством нескольких механизмов, среди которых увеличение содержания восстановленного GSH в клетках, неспецифического взаимодействия с рецепторами или компонентами сигнальных путей нейтрофилов, влияние на монооксигеназную систему.

Работа поддержана Центром Науки и Технологий Республики Узбекистан - грант Ф-4.1.36

ЛИТЕРАТУРА

1. Оболенцева Г.В., Литвиненко В.И., Аммосов А.С., Попова Т.П., Сампиев А.М. (1999) Хим. фарм. ж., №8, 24-29.
2. Учайкин В.Ф., Лучшие В.И., Жаров С.Н., Ковалев О.Б., Ипатов О.М., Тихонова Е.Г., Торховская Т.И., Княжев В.А., Дунаевский О.А., Арчаков А.И. (2000) Клиническая медицина, №5, 39-42.
3. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Шульц Э.Э., Покровский А.Г. (1997) Биоорг. химия, **23**, №9, 691-709.
4. Shiota G., Harada K., Ishida M., Tomie Y., Okubo M., Katayama S., Ito H., Kawasaki H. (1999) Carcinogenesis, **20**, 59-63.
5. Dai J.H., Iwatani Y., Ishida T., Terunuma H., Kasai H., Iwakura Y., Fujiwara H., Ito M. (2001) Immunology, **103**, 235-243.
6. Kato J., Kato N., Moriyama M., Goto T., Taniguchi H., Shiratori Y., Omata M. (2002) J. Infect. Dis., **186**, 155-163.
7. Wang Z., Nixon D. (2001) Nutr. Cancer, **39**, 1-11.
8. Van Duke K., Van Scott M.R., Castranova V. (1986) Methods Enzymol., **132**, 498-507.
9. Keelan J., Allen N., Antcliffe D., Pal S., Duchon M. (2001) J. Neurosci. Res., **66**, 873-884.
10. Abramov A.Y., Canevari L., Duchon M.R. (2003) J. Neurosci., **23**, 5088-5095.
11. Duchon M. (1999) J. Phys., **516**, 1-17.
12. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П. (1989) Итоги науки и техники. М: ВИНТИ, **24**, 176.
13. Glavind I. (1963) Acta Chem. Scand., **17**, 1635.
14. Починок Т.В., Тараховский М.Л., Портнягина В.А., Денисова М.Ф. (1985) Хим. Фарм. журн., **5**, 565-568.
15. Ali H., Haribabu B., Richardson, R.M., Snyderman, R. (1997) Med. Clin. North Am., **81**, 1-28.

16. *Abramov A.Y., Canevari L., Duchen M.R.* (2003) *J. Neurosci.*, **23**, 5088-5096.
17. *Vergun O., Sobolevsky A.I., Yelshansky M.V., Keelan J., Khodorov B.I., Duchen M.R.* (2001) *J. Physiol.*, **531**, 147-163.
18. *Горожанская Э.Г., Ларионова В.Б., Зубрихина Г.Н., Кормош Н.Г., Давыдова Т.В., Лактионов К.П.* (2001) *Биохимия*, **66**, 273-278.
19. *Башкатова В.Г., Раевский К.С.* (1998) *Биохимия*, **63**, 1020-1028.
20. *Dewald B., Thelen M., Baggiolini M.* (1988) *J. Biol. Chem.*, **263**, 16173-16179.
21. *Thelen M., Dewald B., Baggiolini M.* (1993) *Physiol. Rev.*, **73**, 793-799.
22. *Kimura M., Inoue H., Hirabayashi K., Natsume H., Ogihara M.* (2001) *Eur. J. Pharmacol.*, **431**, 151-161.
23. *Tamaya T., Sato S., Okada H.* (1986) *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **155**, N.5, 1134-1139.
24. *Абдугафурова М.А., Лу В.С., Шерстнев М.П., Атанаев Т.Б., Исамухамедов А.Ш., Бачманова Г.И.* (1990) *Вопр. мед. химии*, **36**, 29-31.
25. *Chan H.T., Chan C., Ho J.W.* (2003) *Toxicology*, **188**, 211-217.

Поступила: 12. 04. 2004

POSSIBLE MECHANISMS OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF GLYCYRRHIZIC ACID

*O.A. Beskina¹, A.Y. Abramov¹, A.G. Gabdulkhanova², A.V. Miller²,
V.G. Safronova², M.V. Zamaraeva¹*

¹National University of Uzbekistan, Biological and Soil Sciences Faculty, Department of Biophysics, VuzGorodok, Tashkent, 700174 Uzbekistan;
tel.: (988-71) 118-85-44; fax: (99-871) 1447728; e-mail: mzamaraev@mail.tps.uz.

²Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia; tel.: 7 (496) 73-93-14; fax: 7 (496) 733-05-09

Possible mechanisms of antioxidant activity of glycyrrhizic acid (GA) were studied.

GA did not exhibit antiradical properties at the range of concentrations 1-100 mM as was shown in the experiments with stable radical 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. These data were confirmed by the study of GA influence on chemiluminescence of luminol in cell-free system with hydrogen peroxide.

However, GA decreased generation of reactive oxygen species by PMA-FMLF-activated neutrophils. Addition of GA did not influence free radical level in neurons, however, cell preincubation with GA resulted in the decrease of free radicals production and the increase of intracellular glutathione level.

Key words: glycyrrhizic acid, antioxidant activity, glutathione, neutrophil oxidase activity.