

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТОВ МЕТОДОМ ИЗМЕРЕНИЯ КИНЕТИКИ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Измайлова Д.Ю., Демин Е.М., Владимиров Ю.А.

Факультет фундаментальной медицины  
Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова,  
Ломоносовский пр., д. 31, корп. 5, г. Москва, 119192, Россия  
тел.: +7(499)147-55-08, e-mail: dizm@mail.ru

*Методом хемилюминесценции исследовано действие ряда антиоксидантов на окисление люминола пероксидом водорода, катализируемое комплексом цитохрома с и кардиолипина. Показано, что действие антиоксидантов в организме может быть направлено не только на подавление цепных реакций липидной пероксидации, но и на снижение образования радикалов различных метаболитов и липидов биомембран при работе ферментов-пероксидаз, включая комплекс цитохрома с и кардиолипина.*

*Для уточнения механизма антиоксидантного действия и определения констант скоростей частных реакций осуществлялось математическое моделирование экспериментальной кинетики хемилюминесценции. Было показано, что для всех изученных веществ константа скорости реакции взаимодействия антиоксиданта со свободными радикалами может быть использована в качестве универсального параметра антиоксидантной активности.*

**Ключевые слова:** свободные радикалы, антиоксиданты, антиоксидантная активность, хемилюминесценция.

### Введение

Хемилюминесценция – процесс, в известном смысле, обратный фотохимической реакции. Первая стадия любого фотобиологического процесса состоит из поглощения света, образования возбужденной молекулы, поглотившей фотон, и первичной фотохимической реакции. Конечная стадия хемилюминесценции состоит из химической реакции (которую назовем хемилюминесцентной), образования возбужденной молекулы продукта реакции и высыпчивания фотона хемилюминесценции [1, 8]. Вместе с тем, измерение интенсивности хемилюминесценции часто применяют при изучении механизма фотобиологических процессов по той причине, что на ранних стадиях большинства из них первичные продукты – это свободные радикалы, а именно реакции свободных радикалов обычно сопровождаются хемилюминесценцией, сильной или слабой [3, 5].

С одной стороны, свободные радикалы, такие как супероксидный радикал, монооксид азота и семихиноны-переносчики электронов, необходимы для регуляции внутриклеточных процессов и нормальной жизнедеятельности организма. Но с другой стороны, их избыточное образование – первопричина большинства болезней пожилого

возраста [13, 14, 17, 23, 24] и преждевременной смерти людей и животных [18].

Один из главных регуляторов уровня свободных радикалов в нашем организме – это антиоксиданты: соединения, которые снижают образование свободных радикалов, предотвращая тем самым возможное повреждение клеток и тканей. Большинство антиоксидантов – это перехватчики радикалов, и именно на этом основаны существующие методы определения содержания антиоксидантов и антиоксидантной активности различных соединений.

Измерение интенсивности хемилюминесценции – это наиболее информативный метод для изучения действия антиоксидантов. Во-первых, в хемилюминесцентных методах осуществляется непосредственное детектирование свободных радикалов, а не продуктов окисления. Во-вторых, эти методы позволяют регистрировать кинетику взаимодействия антиоксидантов с радикалами, т. е. регистрировать развитие процесса во времени. Все хемилюминесцентные методы определения уровня антиоксидантов основаны на сравнении хемилюминесценции радикал-генерирующей системы в отсутствие и в присутствии антиоксидантов. При добавлении последних в радикал-генерирующую систему происходит

изменение кинетики свечения, вызванное изменением количества свободных радикалов.

В то же время, влияние антиоксидантов на кинетику хемилюминесценции существенно различается у разных групп веществ. Если одни антиоксиданты влияют только на интенсивность свечения, то другие оказывают действие преимущественно на временные характеристики хемилюминесценции. Такие разнообразные эффекты антиоксидантов до сих пор не получили объяснения, что в свою очередь затрудняет полноценное применение и дальнейшее развитие хемилюминесцентных методов их анализа.

Для практического применения антиоксидантов важным вопросом является тип радикалов, на которые они воздействуют. Наиболее значимая роль антиоксидантов заключается в подавлении образования липидных и липопероксильных радикалов, участвующих в цепных реакциях перекисного окисления липидов. Именно эти вторичные радикалы вызывают повреждение клеточных структур. В последнее время было показано, что особую роль в образовании вторичных радикалов, включая радикалы липидов, играет комплекс цитохрома *c* и кислых фосфолипидов: фосфатидилсерина в цитоплазматической мембране [16, 19, 22] и кардиолипина – во внутренней мембране митохондрий [15, 20, 21, 25].

В наших работах были изучены свойства комплекса цитохрома *c* и кардиолипина [4, 5, 6, 7, 9] и показано, что антиоксиданты-ловушки радикалов тормозят пероксидазную активность этого комплекса, а также его способность генерировать радикалы липидов в присутствии кислорода воздуха [2, 10]. Но при этом механизм этого действия не был детально изучен.

В данной работе изучалось действие антиоксидантов на реакцию окисления люминола пероксидом водорода, катализируемую комплексом цитохрома *c* и кардиолипина. Целью нашей работы являлось определение активности антиоксидантов в пероксидазных реакциях методом сравнения кинетики хемилюминесценции с результатом математического моделирования кинетики реакций, протекающих в системе.

### Материалы и методы

В работе использовали: 1,1',2,2'-тетраолеилькардиолипин (ТОКЛ, Na-соль); цитохром *c* из сердца лошади; 30% пероксид водорода; люминол; антиоксиданты: аскорбат, десферал, ионол, кверцетин, мексидол, рутин, токоферол и тролокс. Антиоксиданты и кардиолипин растворяли в метаноле, остальные растворы готовили на основе деионизированной воды. Концентрацию цитохро-

ма с определяли спектрофотометрически после восстановления аскорбиновой кислотой с использованием молярного коэффициента поглощения в максимуме полосы 550 нм ( $\varepsilon_{550} = 29400$  л/моль. см). Концентрацию пероксида водорода также определяли спектрофотометрически ( $\varepsilon_{230} = 72,1$  л/моль. см). Рабочим растворителем во всех экспериментах был 20 мМ фосфатный буферный раствор, pH 7,4. Все измерения проводили при комнатной температуре  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Измерения хемилюминесценции проводились на хемилюминометре Lum-5773 (ДИСофт, Россия). На дно его кюветы впрыскивали раствор ТОКЛ, водные растворы люминола, пероксида водорода, разбавляли смесь 20 мМ буферным раствором  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 7,4, и, проинкубировав в течение 3 минут в кюветном отделении хемилюминометра, добавляли водный раствор цитохрома *c*. В опытах с антиоксидантами выполняли ту же последовательность операций, но после добавления ТОКЛ в кювету также добавляли исследуемый антиоксидант. Конечные концентрации составляли: ТОКЛ – 120 мкМ, люминол – 25 мкМ, пероксид водорода – 10 мкМ и цитохром *c* – 3,75 мкМ. Концентрации антиоксидантов варьировали в широких пределах – от 0 до 100 мкМ.

Регистрацию кинетики хемилюминесценции осуществляли на персональном компьютере посредством программы PowerGraph (<http://www.powergraph.ru>). Математическое моделирование кинетики хемилюминесценции осуществляли посредством программы Kinetic Analyzer.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ.

### Результаты

Результаты экспериментальных исследований кинетики окисления люминола пероксидом водорода, катализируемого комплексом цитохрома *c* и кардиолипина (далее  $\text{H}_2\text{O}_2\text{-CytC}$ ), для трех антиоксидантов – мексидола, тролокса и токоферола – представлены на рис. 1, 2 и 3, соответственно. В отсутствии антиоксиданта (кривые «0» на рисунках) кинетика хемилюминесценции представляет собой двухфазную кривую, состоящую из быстрой фазы нарастания интенсивности свечения и медленной фазы снижения интенсивности свечения. При добавлении в систему антиоксиданта происходит дозозависимое изменение кинетики хемилюминесценции. Однако, характер влияния дозы на кинетику хемилюминесценции для исследованных антиоксидантов оказался различным.

Добавление антиоксиданта мексидола в систему  $\text{H}_2\text{O}_2\text{-CytC}$  (рис. 1) приводит к частичному

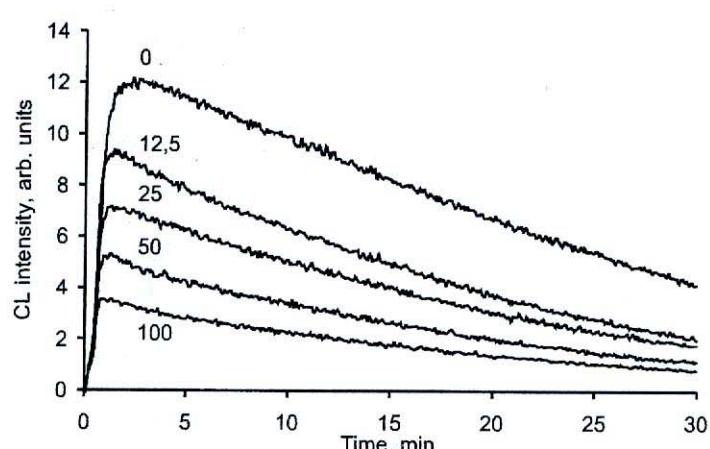


Рис. 1. Влияние метформина на кинетику хемилюминесценции в эксперименте. Цифры у кривых – начальная концентрация антиоксиданта (мкМ)

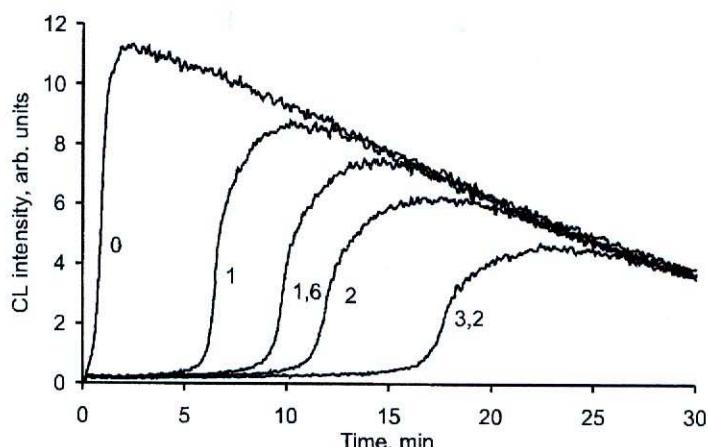


Рис. 2. Влияние тролокса на кинетику хемилюминесценции в эксперименте. Цифры у кривых – начальная концентрация антиоксиданта (мкМ)

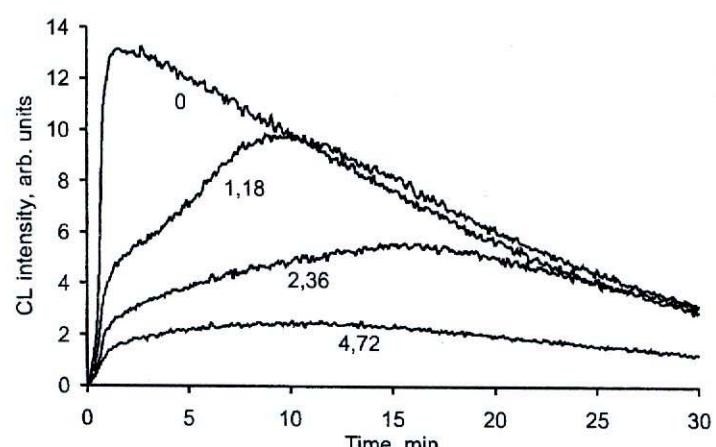


Рис. 3. Влияние токоферола на кинетику хемилюминесценции в эксперименте. Цифры у кривых – начальная концентрация антиоксиданта (мкМ)

снижению интенсивности свечения в течение всего периода измерения. Степень подавления интенсивности свечения пропорциональна начальной концентрации метформина. Такой характер влияния антиоксиданта на кинетику хемилюминесценции наблюдался также для ионола и десфераля.

Добавление антиоксиданта тролокса в систему  $H_2O_2$ -CytC (рис. 2) приводит к полному подавлению хемилюминесценции на начальном участке, т.е. к появлению латентного периода хемилюминесценции. Латентный период заканчивается быстрым ростом интенсивности свечения до уровня, соответствующего отсутствию антиоксиданта. Длительность латентного периода пропорциональна начальной концентрации тролокса. Такой характер влияния антиоксиданта на кинетику хемилюминесценции наблюдался также для аскорбата.

Влияние токоферола на кинетику хемилюминесценции системы  $H_2O_2$ -CytC (рис. 3) можно охарактеризовать как смешанный вариант двух предыдущих случаев. Для токоферола наблюдается частичное снижение интенсивности свечения, как это было у метформина, но это снижение происходит только на начальном участке, как у тролокса. Такой характер влияния антиоксиданта на кинетику хемилюминесценции наблюдался также для рутина и кверцетина.

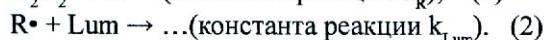
Различный характер влияния антиоксидантов на кинетику хемилюминесценции приводит к определенным сложностям при количественном определении активности этих веществ. В настоящее время в хемилюминесцентных методах для определения количества или активности антиоксидантов используются «геометрические» параметры хемилюминесценции, т. е. характеристики самой кинетической кривой – интенсивность свечения или длительность латентного периода. Однако наши исследования показывают, что ни один из этих параметров не может быть использован в качестве универсальной меры активности любых антиоксидантов. Измерение степени подавления интенсивности свечения не позволяет оценить активность антиоксидантов, влияющих

только на латентный период. И наоборот, измерение длительности латентного периода не позволяет оценить активность антиоксидантов, подавляющих интенсивность свечения.

На наш взгляд, наиболее адекватным методом анализа антиоксидантного действия различных веществ является математическое моделирование кинетики хемилюминесценции. Основы этого подхода были заложены в наших работах по изучению действия антиоксидантов в системе цепного перекисного окисления липидов [11, 12]. Суть метода математического моделирования заключается в подборе системы химических реакций, способных воспроизвести наблюдаемую в эксперименте кинетику хемилюминесценции. Математическое моделирование позволяет получить принципиально новую информацию об изучаемом процессе: во-первых, объяснить различное влияние антиоксидантов на кинетику хемилюминесценции и, во-вторых, использовать расчетные кинетические параметры в качестве количественных характеристик активности антиоксидантов.

Нами было проведено математическое моделирование действия антиоксидантов в системе  $H_2O_2$ -CytC. Результаты математического моделирования для трех антиоксидантов – мексидола, тролокса и токоферола – представлены на рис. 4, 5 и 6, соответственно. Удовлетворительное сходство экспериментальных данных и результатов математического моделирования для всех исследованных антиоксидантов было получено при использовании одной и той же схемы реакций.

Кинетика хемилюминесценции в отсутствии антиоксиданта моделируется двумя химическими реакциями, в которых происходит образование свободных радикалов ( $R\cdot$ ) из перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) и взаимодействие свободных радикалов с люминоном (Lum):



Кинетика хемилюминесценции в присутствии антиоксиданта моделируется путем добавления третьей реакции взаимодействия свободного радикала ( $R\cdot$ ) с антиоксидантом (In):



На первом этапе проводилось математическое моделирования кинетики хемилюминесценции в отсутствии антиоксиданта и были рассчитаны значения констант скоростей реакций (1) и (2):  $k_R = 0,04 \pm 0,01 \text{ мкМ/мин}$ ;  $k_{Lum} = 0,05 \pm 0,01 \text{ мкМ/мин}$ .

На втором этапе проводилось математическое моделирование действия антиоксидантов, в результате которого были рассчитаны значения константы скорости реакции (3) взаимодействия антиоксиданта с радикалом. Эти расчетные значения представлены в табл. 1.

Таблица 1  
**Значения константы скорости реакции взаимодействия антиоксиданта с радикалом**

Антиоксидант	$k_{In}$ , мкМ/мин
Тролокс	$60 \pm 10$
Токоферол	$2 \pm 0,5$
Мексидол	$0,04 \pm 0,01$

### Обсуждение

Одна из главных проблем хемилюминесцентного анализа антиоксидантов заключается в том, что последние оказывают разнообразное влияние на кинетику хемилюминесценции. Для одних антиоксидантов характерно преимущественное влияние на интенсивность свечения в течение длительного периода времени, а для других характерно появление задержки свечения на начальном этапе (латентный период). В связи с этим в хемилюминесцентных методах до сих пор не существует единых количественных характеристик антиоксидантного действия, применимых к любым веществам. Разнообразное влияние антиоксидантов на кинетику хемилюминесценции принято сводить к различиям в механизмах антиоксидантного действия. Но это объяснение вызывает серьезные сомнения при использовании простейших модельных систем генерации радикалов, в которых сложно предположить несколько механизмов антиоксидантного действия.

Как показывает наше исследование, влияние антиоксидантов на кинетику хемилюминесценции может быть описано одной общей реакцией взаимодействия антиоксидантов со свободными радикалами. Почему же тогда характер этого влияния отличается для разных антиоксидантов? Причиной разнообразного влияния является интенсивность процесса взаимодействия антиоксиданта с радикалами, а конкретнее – значение константы скорости этой реакции.

Вещества, способные взаимодействовать со свободными радикалами, можно условно разделить на «сильные» и «слабые» антиоксиданты: сильные обладают высокими значениями константы скорости реакции взаимодействия с радикалами, а слабые имеют низкие значения константы этой реакции. Для сильных антиоксидантов характерно полное подавление свечения

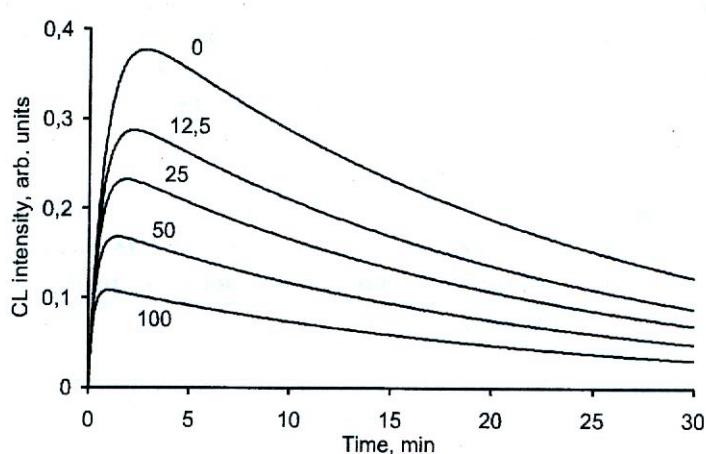


Рис. 4. Математическое моделирование действия мексидола на кинетику хемилюминесценции.  
Цифры у кривых – начальная концентрация антиоксиданта (мкМ)

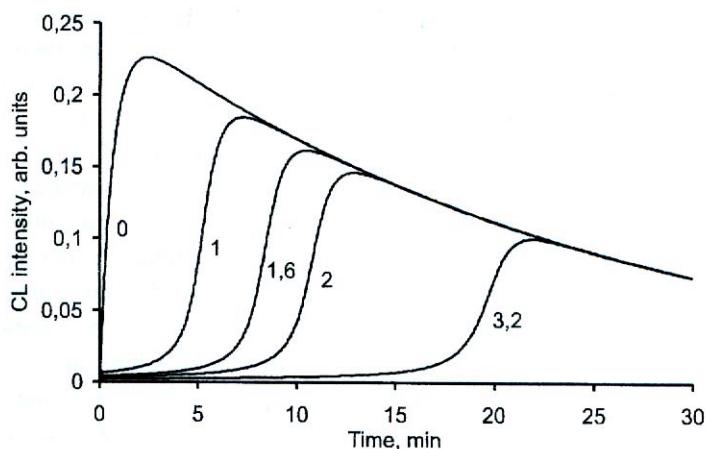


Рис. 5. Математическое моделирование действия тролокса на кинетику хемилюминесценции.  
Цифры у кривых – начальная концентрация антиоксиданта (мкМ)

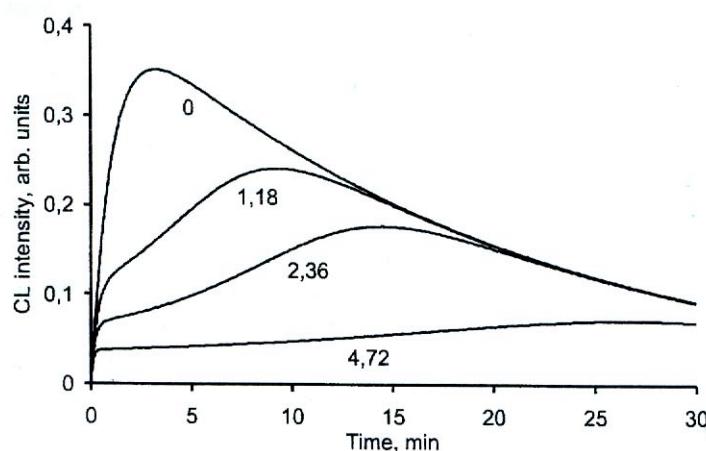


Рис. 6. Математическое моделирование действия токоферола на кинетику хемилюминесценции.  
Цифры у кривых – начальная концентрация антиоксиданта (мкМ)

на начальных этапах, т.е. характерно появление латентного периода. Для слабых антиоксидантов характерно частичное подавление интенсивности свечения в течение длительного периода времени.

Интенсивность свечения пропорциональна скорости процесса взаимодействия свободных радикалов с активатором хемилюминесценции. В отсутствии антиоксидантов свободные радикалы взаимодействуют только с активатором хемилюминесценции, поэтому интенсивность свечения максимальна. При добавлении антиоксидантов в системе возникает конкуренция за свободные радикалы между антиоксидантом и активатором хемилюминесценции. Результат этой конкурентной борьбы зависит от констант скоростей соответствующих реакций.

Сильные антиоксиданты с константой скорости реакции, превышающей константу скорости реакции активатора ( $k_{In} >> k_{Lum}$ ), успевают полностью «перехватить» все образующиеся свободные радикалы до того, как они успевают вступить в реакцию с активатором. При этом происходит полное подавление хемилюминесценции, т.е. появляется латентный период, который длится до тех пор, пока в системе присутствует антиоксидант. Длительность латентного периода пропорциональна начальной концентрации антиоксидантов. Когда весь антиоксидант прореагирует со свободными радикалами, латентный период сменяется быстрым ростом интенсивности свечения до исходного уровня.

Слабые антиоксиданты с константой скорости реакции, меньшей или близкой к константе скорости реакции активатора ( $k_{In} < k_{Lum}$ ), не способны «перехватывать» все образующиеся свободные радикалы, поэтому часть радикалов успевает вступить в реакцию с активатором хемилюминесценции. При этом происходит только частичное снижение интенсивности свечения, пропорциональное доле свободных радикалов, вступивших в

реакцию с антиоксидантами. Степень подавления интенсивности свечения зависит как от начальной концентрации антиоксиданта, так и от значения константы скорости реакции взаимодействия последнего со свободными радикалами. Так как слабые антиоксиданты взаимодействуют только с небольшой частью образующихся свободных радикалов, они потребляются медленнее и действуют в течение более длительного времени, чем сильные антиоксиданты.

Таким образом, проведенное нами математическое моделирование позволило объяснить характер влияния антиоксидантов на кинетику хемилюминесценции и предложить универсальный параметр для оценки и сравнения антиоксидантной активности различных веществ.

### Выводы

Полученные результаты позволяют предположить, что действие антиоксидантов в организме может быть направлено не только на подавление цепных реакций липидной пероксидации, но также и на снижение образования радикалов различных метаболитов и липидов биомембран при работе ферментов-пероксидаз, включая комплекс цитохрома с и кардиолипина.

### Литература

1. Владимиров Ю.А. Биофотоника и свободные радикалы // Наука в России.- 2011.- Т.184, №4.- С.4-11.
2. Владимиров Ю.А. Дигидрокверцетин (таксифолин) и другие флавоноиды как ингибиторы образования свободных радикалов на ключевых стадиях апоптоза // Биохимия.- 2009.- Т.74, №3.- С.372 - 379.
3. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция / Ю.А.Владимиров, Е.В.Прокурнина // Успехи биологической химии.- 2009.- №49.- С.341-388.
4. Владимиров Ю.А. Кардиолипин активирует пероксидазную активность цитохрома с, потому что увеличивает доступность железа гема для H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> // Биохимия.- 2006.- Т.71, №9.- С.1225-1233.
5. Владимиров Ю.А. Кинетическая хемилюминесценция как метод изучения реакций свободных радикалов / Ю.А.Владимиров, Е.В.Прокурнина, Д.Ю.Измайлов // Биофизика.- 2011.- Т.56, №6.- С.1081-1090.
6. Владимиров Ю.А. Механизм активации пероксидазной активности цитохрома с кардиолипином // Биохимия.- 2006.- Т.91, №9.- С.1215-1224.
7. Владимиров Ю.А. Образование липопероксидных радикалов при окислении кардиолипина в комплексе с цитохромом с // Биологические мембранны.- 2009.- Т.26, №6.- С.493-504.
8. Владимиров Ю.А. Физико-химические основы фотобиологических процессов / Ю.А.Владимиров, А.Я.Потапенко // М.: Дрофа, 2006.- 288 с.
9. Владимиров Ю.А. Хемилюминесценция как метод обнаружения и исследования свободных ради-
- калов в биологических системах / Ю.А.Владимиров, Е.В.Прокурнина, Д.Ю.Измайлов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.- 2007.- Т.144, №3.- С.390-396.
10. Демин Е.М. Антиоксидантное действие дигидрокверцетина и рутина в пероксидазных реакциях, катализируемых цитохромом с / Е.М.Демин, Е.В.Прокурнина, Ю.А.Владимиров // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия.- 2008.- Т.49, №5.- С.354-360.
11. Измайлов Д.Ю. Математическое моделирование кинетики цепного окисления липидов и хемилюминесценции в присутствии Fe<sup>2+</sup>. I. Основная модель / Д.Ю.Измайлов, Ю.А.Владимиров // Биологические мембранны.- 2002.- Т.19, №6.- С.507-515.
12. Измайлов Д.Ю. Математическое моделирование кинетики цепного окисления липидов и хемилюминесценции в присутствии Fe<sup>2+</sup>. II. Действие антиоксидантов / Д.Ю.Измайлов, Ю.А.Владимиров // Биологические мембранны.- 2003.- Т.20, №4. - С.349-358.
13. Abrescia P. Free radicals and antioxidants in cardiovascular diseases / P.Abrezia, P.Golino // Expert Review of Cardiovascular Therapy.- 2005.- Vol.3, №1.- P.159-171.
14. Agarwal A. Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction /A.Agarwal, S.S.Allamaneni // Reproductive Biomedicine Online.- 2004.- Vol.9, №3.- P.338-47.
15. Belikova N.A. Heterolytic reduction of fatty acid hydroperoxides by cytochrome c/cardiolipin complexes: antioxidant function in mitochondria // J. Amer. Chem. Soc.- 2009.- Vol.131, №32.- P.11288-11289.

16. Borisenko G.G. Milk fat globule epidermal growth factor 8 (MFG-E8) binds to oxidized phosphatidylserine: implications for macrophage clearance of apoptotic cells // Cell Death Differ.- 2004.- Vol.11.- P.943–945.
17. Fletcher A.E. Free radicals, antioxidants and eye diseases: evidence from epidemiological studies on cataract and age-related macular degeneration // Ophthalmic Research.- 2010.- Vol.44, №3.- P.191-198.
18. Harman D. Aging: overview // Ann. N. Y. Acad Sci.- 2001.- №928.- P.1-21.
19. Kagan V.E. Appetizing rancidity of apoptotic cells for macrophages: oxidation, externalization, and recognition of phosphatidylserine // Amer. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.- 2003.- №285.- P.1-17.
20. Kagan V.E. Cytochrome c acts as a cardiolipin oxygenase required for release of proapoptotic factors // Nature Chem. Biol.- 2005.- №1.- P.223-232.
21. Kagan V.E. Cytochrome c/cardiolipin relations in mitochondria: a kiss of death // Free Radic. Biol. Med.- 2009.- Vol.46, №11.- P.1439-1453.
22. Kagan V.E. Oxidative lipidomics of apoptosis: redox catalytic interactions of cytochrome c with cardiolipin and phosphatidylserine // Free Radic. Biol. Med.- 2004.- Vol.37, №12.- P.1963-1985.
23. O'Donovan D.J. Free radicals and diseases in premature infants / D.J. O'Donovan, C.J.Fernandes // Antioxidants & Redox Signaling.-2004.- Vol.6, №1.- P.169-176.
24. Spiteller G. Peroxyl radicals: inducers of neurodegenerative and other inflammatory diseases // Free Radic. Biol. Med.- 2006.- Vol.41, №3.- P.362-387.
25. Vladimirov Y.A. Lipoperoxide radical production during oxidation of cardiolipin in the complex with cytochrome c // Biochemistry.- 2009.- Vol.3, №4.- P.479-489.

**ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТІВ  
МЕТОДОМ ВИМІРЮВАННЯ КІНЕТИКИ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ**

Ізмайлів Д.Ю., Дємін Є.М., Владімиров Ю.А.

Факультет фундаментальної медицини

Московського державного університету ім. М.В.Ломоносова,

Ломоносовський пр., б. 31, корп. 5, м. Москва, 119192 Росія

тел.: +7(499)147-55-08, e-mail: dizm@mail.ru

Методом хемілюмінесценції досліджувалась дія низки антиоксидантів на окислення люмінола пероксидом водню, катализоване комплексом цитохрома с з кардіоліпіном. Показано, що дія антиоксидантів в організмі може бути направлена не тільки на подавлення ланцюгових реакцій ліпідної пероксидації, але також і на зниження утворення радикалів різних метаболітів та ліпідів біомембрани при роботі ферментів-пероксидаз, включаючи комплекс цитохрома с з кардіоліпіном.

Задля уточнення механізму антиоксидантної дії та визначення констант швидкостей реакцій здійснювалось математичне моделювання експериментальної кінетики хемілюмінесценції. Показано, що для усіх досліджених речовин константа швидкості реакції взаємодії антиоксидантів з вільними радикалами може бути використана в якості універсального параметра антиоксидантної активності.

**Ключові слова:** вільні радикали, антиоксиданти, антиоксидантна активність, хемілюмінесценція.

**THE DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANTS ACTIVITY  
BY MEASURING OF THE CHEMILUMINESCENCE KINETICS**

Izmailov D.Yu., Demin E.M., Vladimirov Yu.A.

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Basic Medicine

The action of several antioxidants on the oxidation of luminol by hydrogen peroxide, which catalyzed by a complex of cytochrome c and cardiolipin was investigated by chemiluminescence method. It was shown that the action of antioxidants in the organism can be directed not only to suppress the chain reactions of lipid peroxidation, but also to reduce the formation of radicals of different metabolites and lipids of biomembranes at work enzymes- peroxidase, including a complex of cytochrome c and cardiolipin.

To clarify of the mechanism of antioxidant action and to determine the constants of rate reactions was carried out mathematical modeling of the kinetics of chemiluminescence. It was shown, that for all studied compounds the constant of rate reaction an antioxidant with free radicals can be used as a universal parameter of antioxidant activity.

**Keywords:** free radicals, antioxidants, activity of antioxidants, chemiluminescence.