

УДК 615.21.26

АНТИОКСИДАНТНОЕ ДЕЙСТВИЕ α -ЛИПОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА ОКИСЛЕНИЕ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА, ИНИЦИИРОВАННОЕ РЕАКЦИЕЙ ФЕНТОНА

С.О. Алясева¹, Н.Ю. Лотош^{2*}, А.В. Камаев², А.И. Кулебякина², А.А. Селищева^{2,3}

(¹ Российский технологический университет, институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносов (МИРЭА); ² НИЦ «Курчатовский институт»; ³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет; *e-mail: natalotosh@gmail.ru)

Методом масс-спектрометрии с ионизацией электроспреем в режиме негативной ионизации установлено существование в водной фазе не только мономеров, но и димеров, и тримеров α -липоевой кислоты (ЛК). При инкубации с ионами двухвалентного железа (0,1 мМ) в режиме позитивной ионизации наблюдается появление новых масс-ионов (261, 467, 727), а в режиме негативной ионизации – масс-иона (671). Эти масс-ионы представляют собой комплексы ЛК с ионами двухвалентного железа, образованные за счет координационных связей. Наличие комплексов зависит от концентрации ЛК. При концентрации в интервале 0,25–4,00 мМ наблюдается присутствие четырех комплексов. Показано, что 4 мМ ЛК (максимальная концентрация, которую можно достичь при растворении ЛК в воде) в присутствии 1 мМ пероксида водорода и 0,1 мМ Fe^{2+} ингибируют окисление фосфолипида на 25%. При концентрациях ниже 4 мМ такого эффекта не наблюдалось. При концентрации 0,06 мМ образуется только один комплекс с ионами железа (261). Методом ИК-спектроскопии установлено, что в присутствии ионов железа и пероксида водорода происходит окисление гидроксил-радикалом одного или обоих атомов серы в молекуле ЛК. Полученные результаты позволяют рассматривать два механизма реализации антиоксидантных свойств ЛК – окисление гидроксил-радикалом и хелатирование ионов двухвалентного железа.

Ключевые слова: α -липоевая кислота, антиоксидант, комплексообразование, ИК-спектрометрия, ионы двухвалентного железа, перекисное окисление липидов, хелатирование.

Список сокращений: ДГЛК – дигидролипоевая кислота; ЛК – α -липоевая кислота; МДА – малоновый диальдегид; МЛВ – мультламеллярные везикулы; ПОЛ – перекисное окисление липидов; ТБК – тиобарбитуровая кислота; ФХ – фосфатидилхолин.

При заболеваниях, развитие которых связано с окислительным стрессом (диабетической нейропатией, ишемией и инсультом) в качестве лекарственного препарата широко используется α -липоевая кислота (ЛК). Считается, что ее фармакологическое действие обусловлено антиоксидантными свойствами.

ЛК входит в состав лекарственного средства «Берлитион», которое широко применяют при диабете, сердечно-сосудистых нарушениях, нейродегенеративных, аутоиммунных, онкологических заболеваниях и СПИДе [1]. Поскольку ЛК плохо растворима (максимальная концентрация 1 мг/мл), ее используют в комплексе с этилендиамином, что позволяет существенно повысить растворимость.

Установлено, что при вышеперечисленных заболеваниях усиливается образование активных форм кислорода и снижается активность ряда

ферментов антиоксидантной защиты. Поэтому фармакологическое действие ЛК связывают с ее антиоксидантными свойствами, которые, вероятно, обусловлены взаимодействием этого вещества с гидроксил-радикалом. Однако продукты окисления не идентифицированы. Можно предположить, что в клетках протекает другой механизм: ЛК превращается в восстановленную форму – дигидролипоевую кислоту (ДГЛК), которая и оказывает антиоксидантное действие [1].

Ранее при изучении действия ЛК на процесс распада азосоединений, способных к образованию в водной фазе липидных радикалов, было четко показано, что ЛК не взаимодействует с липидными радикалами [2]. ДГЛК, в отличие от ЛК, эффективно нейтрализует липидные радикалы, образуя комплексы с железом.

Предположение о способности ЛК хелатировать ионы железа базируется не на прямых

исследованиях, доказывающих образование комплекса, а на клинических данных по снижению у пациентов сывороточного железа после применения ЛК [3]. Аналогичные результаты были получены в экспериментах на животных [4]. Опубликованные данные экспериментальных работ по взаимодействию ЛК с ионами железа относятся либо к ее восстановленной форме, либо к воздействию ЛК на сывороточное железо в организме человека и животных.

Цель настоящей работы состояла в изучении механизмов антиоксидантного действия ЛК на перекисное окисление липидов (ПОЛ) в присутствии пероксида водорода и ионов железа (реакция Фентона).

Условия эксперимента

В работе использовали соевый фосфатидилхолин (Lipoid S-100) 94%-й чистоты, («Lipoid GmbH», Германия), липоевую кислоту («Sigma-Aldrich», США), семиводный сульфат железа («Химмед», Россия), пероксид водорода («ЮжФарм», Россия), трифторуксусную кислоту («БиоХимМак», Россия), тиобарбитуровую кислоту («ДИАЭМ», Россия) и деионизованную воду (Milli-Q 18.2 MΩ·cm), которую получали с помощью очистительной системы «Millipore Integral 10».

Мультиламеллярные везикулы (МЛВ) получали путем диспергирования 40 мг ФХ в 1 мл деионизованной воды.

Малоновый диальдегид (МДА) определяли по методике, приведенной в [5]. В реакции Фентона концентрация Fe^{2+} варьировала от 0,004 до 0,500 мМ, концентрация пероксида водорода и фосфатидилхолина (ФХ) составляла соответственно 1,0 и 12,5 мМ (10 мг/мл). Концентрация ЛК варьировала от 0,06 до 4,00 мМ. Окисление МЛВ из ФХ проводили в течение 3 ч при 37 °С в деионизованной воде без удаления кислорода. После окисления к 0,25 мл реакционной смеси добавляли 1,5 мл тиобарбитуровой кислоты (7 мг/мл) в 10%-й трифторуксусной кислоте и инкубировали 30 мин при 99 °С. Оптическую плотность анализируемого образца измеряли при 580 и 530 нм на спектрофотометре «Cary 50 UV-Vis» («Varian», Австралия).

Комплекс ЛК с ионами железа получали следующим образом: раствор ЛК в воде (0,06–4,00 мМ) и Fe^{2+} (0,1 мМ) инкубировали в течение 30 мин при 37 °С.

Способность ЛК к образованию комплексов с железом исследовали методом масс-спектрометрии. Способность ЛК окисляться изучали путем окисления 4 мМ ЛК с помощью

реакции Фентона в течение 3 ч при 37 °С. В работе использовали жидкостной хромато-масс-спектрометр «6410 Triple Quadrupole LC/MS» («Agilent Technologies Inc», США) с автосамплером модели G1377. Источник ионов в виде электроспрея работал в позитивном и отрицательном режимах энергии ионизации. Температура осушающего газа составляла 300 °С, расход газа (азота) небулайзера – 10 л/мин, давление на небулайзере – 15 psi. В качестве элюента использовали смесь воды с ацетонитрилом в соотношении 70:30 с добавлением 0,1%-й муравьиной кислоты. В прибор вводили 2 мкл образца с помощью автосамплера без предварительного хроматографического разделения на колонке в концентрациях, указанных выше. Анализы проводили при сканировании в следующих диапазонах: 50–250, 400–500 и 600–750 m/z . На рис. 1, а представлена реконструированная хроматограмма. Ошибка определения масс-иона составила $\pm 0,5 m/z$.

Окисление ЛК исследовали методом ИК-спектроскопии. Для получения соответствующих образцов 4 мМ ЛК инкубировали в воде в присутствии либо 1,0 мМ пероксида водорода, либо 0,1 мМ Fe^{2+} , либо совместно ионов 0,1 мМ Fe^{2+} и 1,0 мМ пероксида водорода (т.е. окисляли с помощью реакции Фентона) в течение 3 ч при 37 °С. Затем образцы замораживали и лиофилизировали. ИК-спектры образцов снимали на спектрофотометре «Termo Scientific Nicolet iS5» (США) с использованием приставки нарушенного полного внутреннего отражения (кристалл – алмаз, разрешение 4 см^{-1} , 32 скана) в диапазоне длин волн от 550 до 4000 см^{-1} .

Результаты и обсуждение

Окисление МЛВ из ФХ пероксидом водорода в присутствии Fe^{2+} и ЛК в разной концентрации. Определено образование ТБК-чувствительных продуктов при окислении МЛВ из соевого ФХ (12,5 мМ) в присутствии пероксида водорода (1 мМ) в зависимости от концентрации ионов железа. Согласно данным, приведенным на рис. 2, снижение более чем в 10 раз концентрации ионов железа существенно уменьшает образование ТБК-чувствительных продуктов.

Ингибирующее действие ЛК на ПОЛ (в диапазоне концентраций 0,06–4,00 мМ) наблюдалось только при самой большой концентрации ЛК (4 мМ). При низкой концентрации ЛК не влияет на окисление ФХ (рис. 3). Следует учесть, что смесь ФХ + ЛК + H_2O_2 + Fe^{2+} представляет собой сложную неоднородную многокомпонентную систему (эмульсия масло/вода), в которой

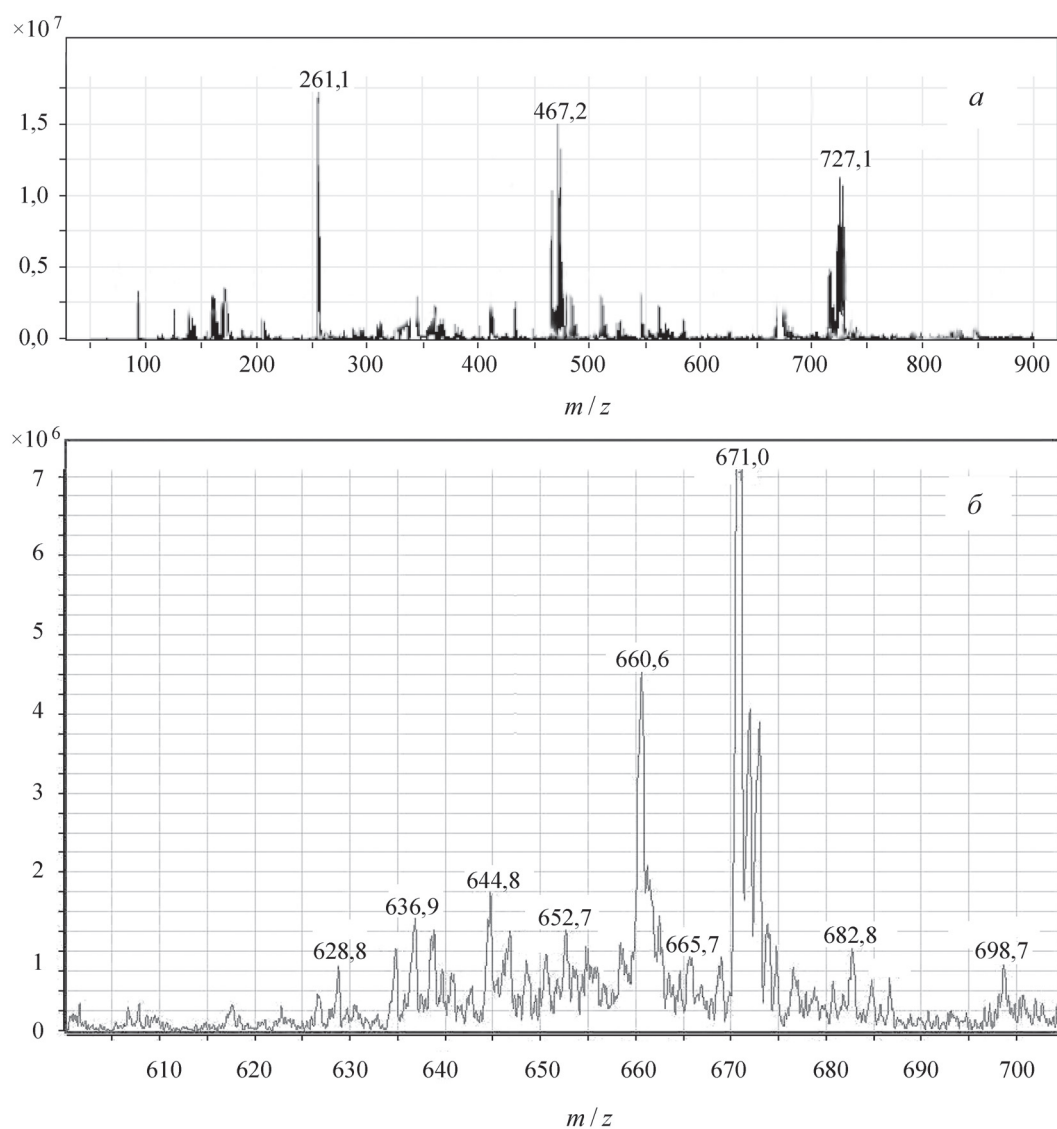


Рис. 1. Масс-спектр водного раствора ЛК (4 мМ), инкубированного (37 °С, 30 мин) с ионами двухвалентного железа (0,1 мМ), при ионизации: *а* – положительной (реконструированная хроматограмма), *б* – отрицательной

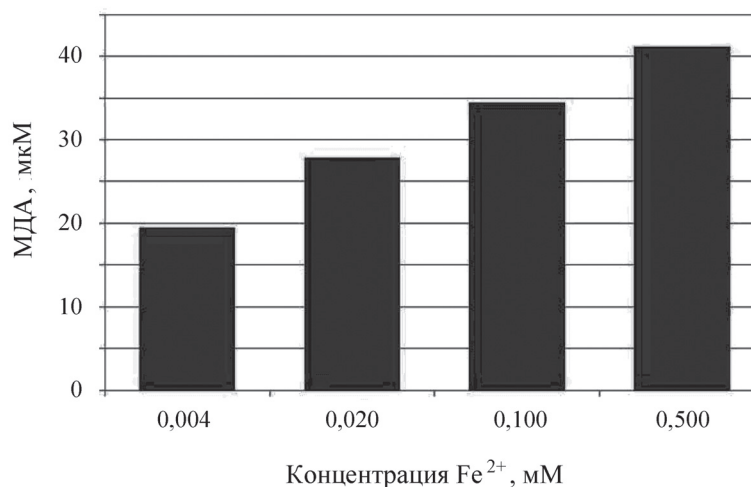


Рис. 2. Образование МДА при окислении ФХ пероксидом водорода в присутствии ионов двухвалентного железа в разной концентрации. Условия эксперимента: 1,0 мМ H₂O₂; 0,004–0,5 мМ Fe²⁺; 12,5 мМ (10 мг/мл) ФХ. Окисление МЛВ проводили в течение 3 ч при 37 °С в деионизованной воде

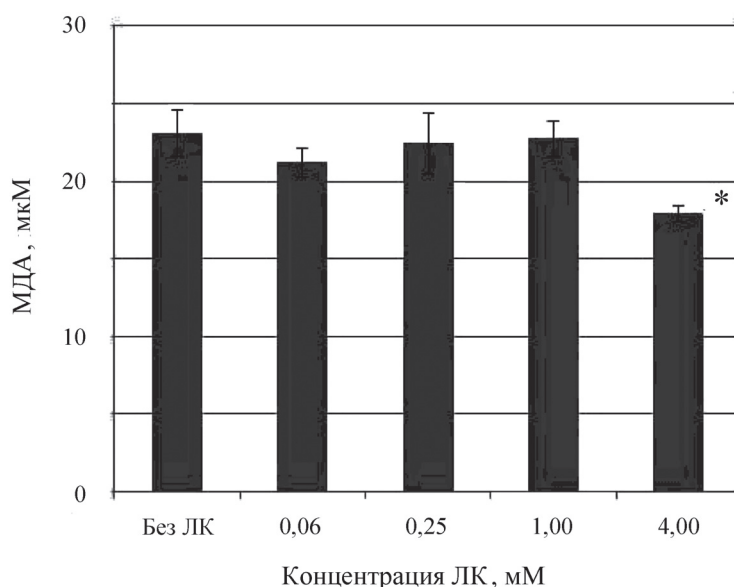


Рис. 3. Образование МДА при окислении ФХ пероксидом водорода в присутствии ионов двухвалентного железа при разной концентрации ЛК. Условия эксперимента: 1,0 мМ H_2O_2 ; 0,1 мМ Fe^{2+} ; 12,5 мМ (10 мг/мл) ФХ; 0,06–4 мМ ЛК. Окисление МЛВ проводили в течение 3 ч при 37 °С в деионизованной воде (* $p < 0,05$)

одновременно происходят несколько процессов: распределение ЛК между липидной и водной фазами, окисление ионов двухвалентного железа пероксидом водорода, образование гидроксил-радикала, окисление ФХ и ЛК гидроксил-радикалом. Кроме того, нами высказано предположение об образовании комплексов между ионами двухвалентного железа и ЛК.

Ранее было установлено, что доля включения ЛК в липидный бислой составляет $70 \pm 5\%$ [6]. Следовательно, при добавлении 4 мМ ЛК к МЛВ в водной фазе остается только 1,0–1,4 мМ ЛК, а при меньших концентрациях остается минимальное количество ЛК, которого, вероятно, недостаточно для проявления антиоксидантных свойств. Этим можно объяснить необходимость присутствия ЛК в большой концентрации для ингибирования ПОЛ.

Взаимодействие ЛК с ионами двухвалентного железа изучено методом масс-спектрометрии. Получены масс-спектры образцов, инкубированных в течение 30 мин при 37 °С:

1) водный раствора ЛК с концентрацией 0,06; 0,25; 1,00 и 4,00 мМ;

2) ЛК в тех же концентрациях в присутствии 0,1 мМ Fe^{2+} .

В этих условиях в отсутствие ионов железа на масс-спектрах водных растворов ЛК (концентрации указаны выше) в режиме отрицательной ионизации обнаружены следующие масс-ионы:

205 – анион ЛК в виде мономера, имеющего один отрицательный заряд (LA^-);

411 – анион димера, состоящий из аниона ЛК и неионизированной формы ЛК (LA^-LAN);

433 – димер, состоящий из двух анионов с натрием ($LA^-LA^-Na^+$);

655 – анион тримера с калием, состоящий из двух анионов ЛК и одной молекулы неионизированной ЛК [$(LA^-)_2LAN \cdot K^+$];

638 – анион тримера с натрием, состоящий из двух анионов ЛК и одной молекулы неионизированной ЛК [$(LA^-)_2LAN \cdot Na^+$];

660 – анион тримера с двумя ионами натрия: [$(LA^-)_3(Na^+)_2$].

В режиме позитивной ионизации обнаружены катионы, соответствующие перечисленным выше анионам:

245 – ионизированный мономер ЛК с калием и протоном ($LA^-K^+H^+$);

413 – димер из двух неионизированных молекул ЛК с протоном ($LAN \cdot LAN \cdot H^+$);

451 – димер из двух молекул ЛК (одна из которых неионизирована) с калием и протоном ($LAN \cdot LA^-K^+H^+$).

Наличие солевых форм ЛК может быть обусловлено как содержанием в исходном препарате ионов Na^+ и K^+ , так и содержанием следового количества этих ионов в деионизованной воде. Полученные данные свидетельствуют о том, что при растворении в деионизованной воде ЛК в

концентрации ниже произведения растворимости образуется неидеальный раствор, в котором наряду с мономерами присутствуют свободные и связанные с ионами натрия и калия димеры и тримеры.

При исследовании методом масс-спектрометрии раствора ЛК в присутствии 0,1 мМ Fe²⁺ в режиме позитивной ионизации наряду с вышеперечисленными масс-ионами обнаружены дополнительные масс-ионы, отсутствующие в исходном спектре ЛК (261, 467, 727) (рис. 1, а), а в режиме отрицательной ионизации найден масс-ион 671 (рис. 1, б).

Сделано предположение, что ранее обнаруженные масс-ионы мономера ЛК, а также димеров и тримеров ЛК взаимодействуют с ионами двухвалентного железа. При этом образуются новые соединения, состав которых рассчитан по величине соответствующих масс-ионов с учетом того, что все вновь образованные масс-ионы заряжены положительно, кроме масс-иона 671, заряженного отрицательно. В таблице приведены предполагаемые формулы, составленные на основании того, что вновь образованные соединения содержат как ионизированную, так и нейтральную формы ЛК. Их присутствие в растворе, содержащем ЛК и ионы железа, отмечено в таблице знаком «+». Видно, что образование новых положительно и отрицательно заряженных ионов зависит от концентрации ЛК – они присутствуют при высокой концентрации ЛК (4 мМ) и, как правило, отсутствуют при низкой концентрации (0,06 мМ).

Исследование ЛК методом ИК-спектроскопии. В настоящей работе рассмотрены два возможных механизма антиоксидантного действия ЛК:

1) взаимодействие с гидроксил-радикалом (рассматривалось ранее);

2) снижение содержания ионов железа ввиду образования с ними комплекса ЛК (предложено в настоящей работе).

По поводу первого предположения следует отметить следующее. В многочисленных работах было установлено, что гидроксил-радикал окисляет ЛК до сульфокислот, однако природа конечного продукта не определена до сих пор [1, 7, 8]. Для идентификации продуктов окисления ЛК изучены ИК-спектры порошков, полученных после лиофилизации следующих образцов (концентрация ЛК во всех образцах составляла 4 мМ):

1) водного раствора ЛК;

2) ЛК, инкубированной в присутствии 1,0 мМ пероксида водорода;

3) ЛК, инкубированной в присутствии 0,1 мМ Fe²⁺;

4) ЛК, инкубированной в присутствии 1,0 мМ пероксида водорода и 0,1 мМ Fe²⁺.

Как следует из рис. 4, на ИК-спектрах ЛК, инкубированной с Fe²⁺, а также окисленной в реакции Фентона, обнаружено появление новой полосы при 1589 см⁻¹. В случае, когда ЛК инкубировали с Fe²⁺, интенсивность полосы была гораздо менее выражена, чем в ИК-спектре ЛК, окисленной в реакции Фентона. Вероятно, появление этой полосы поглощения связано с асимметричными деформационными колебаниями карбоксильной группы в солевой форме –CO₂⁻ [9]. Диссоциация карбоксильной группы приводит к образованию ионных комплексов ЛК с ионами железа (рис. 5). Кроме того, при окислении ЛК в реакции Фентона было обнаружено появление полосы при 1027 см⁻¹, что служит доказательством окисления S–S-связей до сульфоксида >S=O (с сохранением S–S-связи) [9].

Исследование ЛК при окислении в реакции Фентона методом масс-спектрометрии. Методом масс-спектрометрии сделана попытка идентификации продуктов окисления ЛК, водный раствор которой в концентрации 4,0 мМ инкубировали с 1,0 мМ пероксида водорода и 0,1 мМ Fe²⁺ в течение 30 мин при 37 °С. В режиме отрицательной ионизации обнаружены масс-ионы, которые

Масс-ионы ЛК в водном растворе в присутствии ионов двухвалентного железа

Позитивная ионизация		Негативная ионизация		Наличие ионов при разных концентрациях ЛА, мМ			
соединение	масс-ион	соединение	масс-ион	4,00	1,00	0,25	0,06
LA ⁻ Fe ²⁺	261			+	+	+	+
LA ⁻ LAN Fe ²⁺	467			+	+	+	–
		(LA ⁻) ₃ Fe ²⁺	671	+	+	+	–
LA ₃ (Fe ²⁺) ₂	727			+	+	+	–

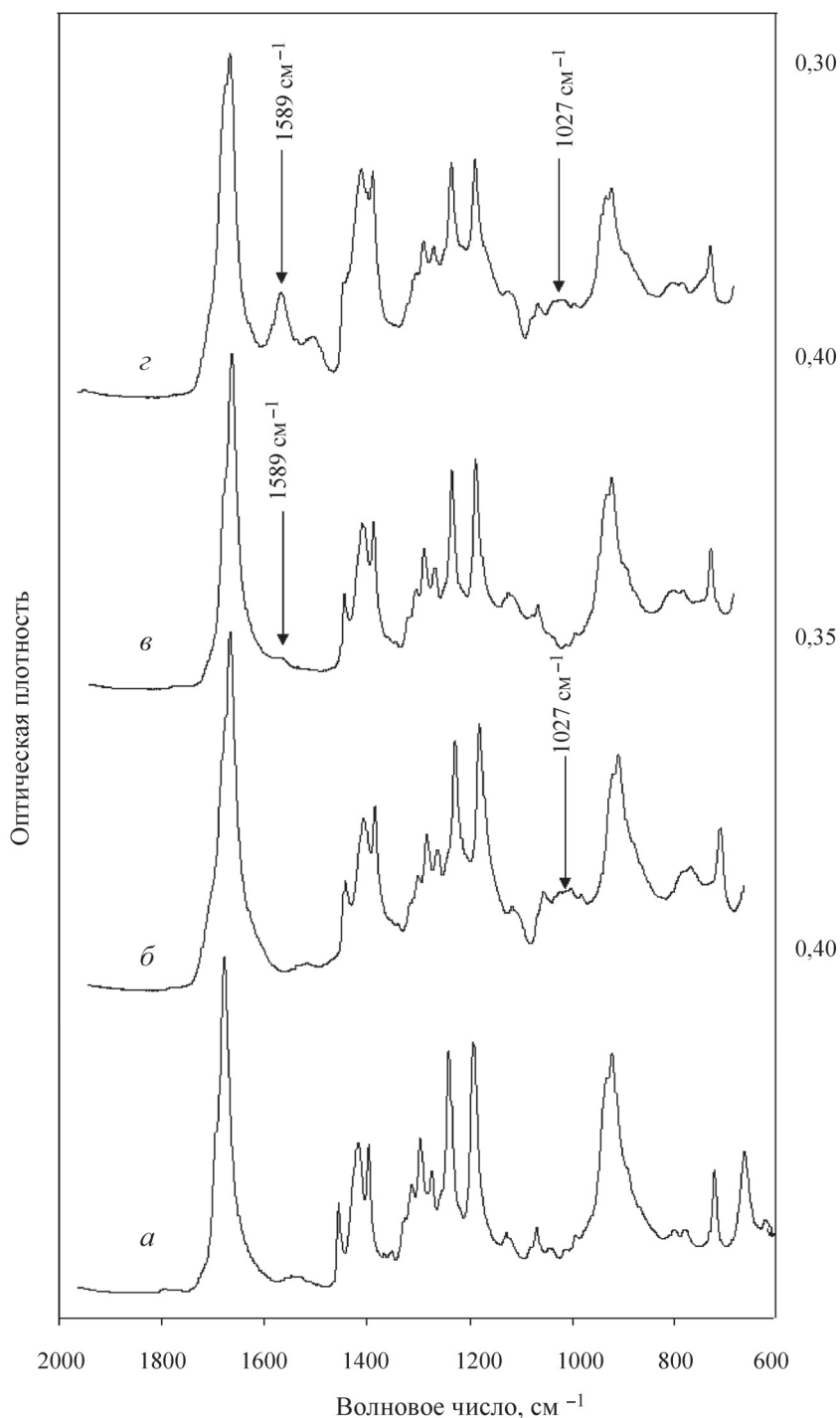


Рис. 4. ИК-спектры порошков, полученных после лиофилизации: *а* – водного раствора ЛК; *б* – ЛК, инкубированной в присутствии 1 мМ пероксида водорода; *в* – ЛК, инкубированной в присутствии 0,1 мМ Fe²⁺; *г* – ЛК, инкубированной в присутствии 1 мМ пероксида водорода и 0,1 мМ Fe²⁺. Концентрация ЛК во всех образцах составляла 4 мМ (образцы инкубировали при 37 °С в течение 3 ч)

идентифицированы как перечисленные выше мономеры, димеры и тримеры, окисленные в реакции Фентона:

221 – анион ЛК в виде мономера (изначально 205 + 16), в молекуле которого окислен один из атомов серы, т.е. при окислении образовался сульфоксид >S=O;

427 – анион димера (изначально 411 + 16), в котором в одной из молекул ЛК окислен один атом серы с образованием сульфоксида;

443 – димер анионов (изначально 411 + 32), содержащий два атома кислорода;

464 – димер анионов с натрием (изначально 433 + 32), в молекуле которого окислены два

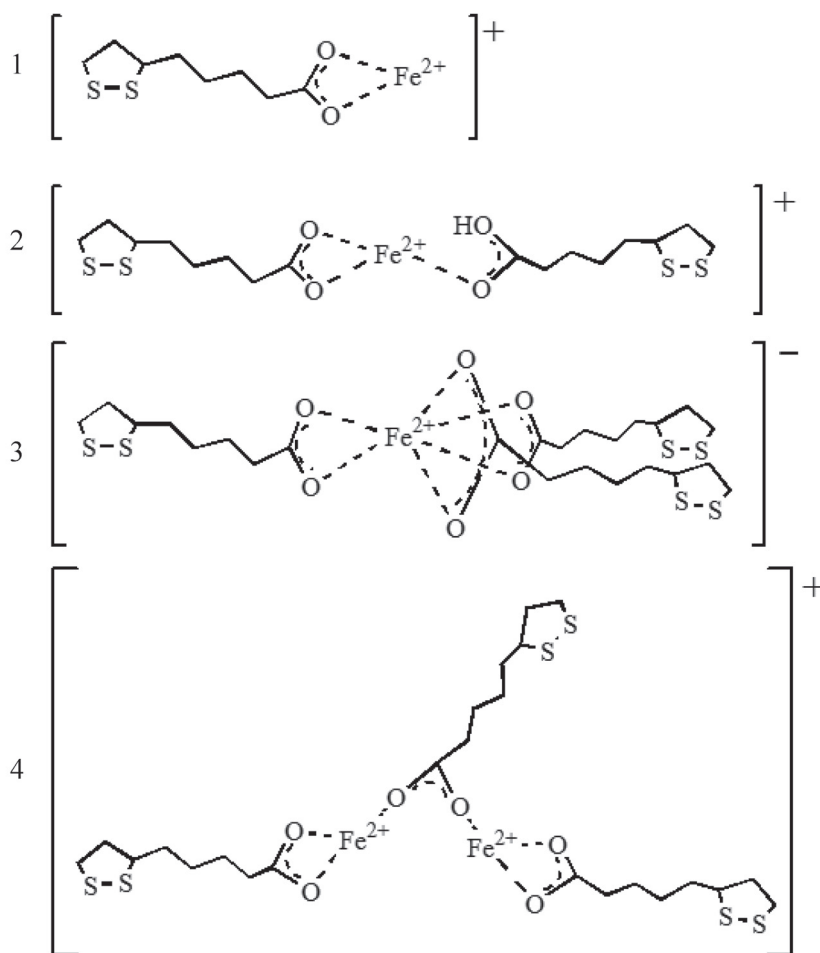


Рис. 5. Структура комплексов ЛК с ионами двухвалентного железа, масс-ионы которых приведены в таблице (1 – 261, 2 – 467, 3 – 671, 4 – 727)

атома серы, т.е. при окислении образовались два сульфоксида. Можно предположить два варианта окисления: 1) оба атома кислорода находятся в одной молекуле ЛК; 2) в каждой молекуле ЛК находится по одному атому кислорода.

В позитивной ионизации были обнаружены масс-ионы 483 и 743, что можно объяснить окислением ЛК в комплексе с железом (изначальные масс-ионы 467 и 727).

Выводы

В данной работе изучали механизмы антиоксидантного действия ЛК в водном растворе на окисление ФХ, инициированное реакцией Фентона, где при взаимодействии двухвалентного железа и пероксида водорода образуется одна из активных форм кислорода – гидроксил-радикал. Исследование накопления МДА в присутствии ЛК в широком диапазоне концентраций показало, что при концентрации 4,0 мМ ЛК эффективно ингибирует образование МДА, а при

меньшей концентрации не действует, поскольку большая часть ЛК встраивается в липидный бислой из водной фазы. Анализ литературы показал, что предложено несколько механизмов подавления ПОЛ с помощью ЛК:

окисление ЛК под действием пероксида водорода [10];

взаимодействие с гидроксильным радикалом [8];

хелатирование ионов железа [3].

В работе [3] высказано предположение о механизме хелатирования ионов железа, но этот механизм не был доказан.

В настоящей работе получило прямое подтверждение образование комплексов разного состава при взаимодействии ЛК с ионами двухвалентного железа. Методом масс-спектрометрии установлено, что ЛК способна к образованию различных комплексов с ионами железа (рис. 5), а с помощью метода ИК-спектроскопии обнаружено появление но-

вой полосы, ответственной за солевую форму карбоксильной группы ЛК (рис. 4), что подтверждает предположение о связи ионов двухвалентного железа в комплексах именно с карбоксильной группой (рис. 5).

Величины новых масс-ионов после инкубирования раствора ЛК с двухвалентным железом свидетельствуют, что ионы железа взаимодействуют с различными формами ЛК (от мономера до тримера). В зависимости от того, какие заряды имеют масс-ионы новых соединений ионов железа и ЛК, можно предположить, что в комплексах 1, 3 и 4 ионы двухвалентного железа связаны координационной связью с ионизированной формой ЛК. Ситуация с димером другая. В данном комплексе Fe^{2+} взаимодействует с молекулами ЛК с помощью координационных связей, однако одна из молекул находится в неионизированной форме. Благодаря этому комплексы 1, 2 и 4 имеют положительный заряд, а комплекс 3 – отрицательный.

Образование комплексов разного состава ЛК с Fe^{2+} позволяет объяснить ингибирование ПОЛ в реакции Фентона при больших концентрациях ЛК, так как при низкой концентрации ЛК

(0,06 мМ) образуется только один комплекс с ионами железа – LA^-Fe^{2+} (261), а в этих условиях ЛК не ингибирует ПОЛ.

Впервые были идентифицированы продукты окисления ЛК пероксидом водорода и гидроксил-радикалом. Использование методов ИК- и масс-спектрологии позволило установить появление в молекуле ЛК (мономере и димере) одного или двух атомов кислорода и наличие сульфоксидной группы.

В организме присутствует система белков и ферментов для связывания свободных ионов железа (ферритин, трансферин). В случае патологий, при которых необходимо регулярное проведение гемодиализа, происходит гибель эритроцитов, распад гемоглобина и накопление несвязанного (свободного) железа, индуцирующего образование активных форм кислорода [11]. Таким образом, реакция Фентона может протекать и в условиях *in vivo*.

Работа проведена в рамках Госзадания НИЦ «Курчатовский институт».

Конфликта интересов нет.

Дополнительной информации нет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J. // *FreeRadic. Biol. Med.* 1995. Vol. 19. N 2. P. 227.
2. Kagan V.E., Shvedova A., Serbinova E., Khan S., Swanson C., Powell R., Packer L. // *Biochem. Pharmacol.* 1992. Vol. 44. N 8. P. 1637.
3. Mendes P.R., Fülxidos S., Silva P.C., Pereira G.H., Simxes M.O. // *Nutr. Hosp.* 2015. Vol. 31. N 2. P. 883.
4. Suh J.H., Moreau R., Heath S.-H.D., Hagen T.M. // *Redox Report.* 2005. Vol. 10. N 1. P. 52.
5. Uchiyama M., Mihara M. // *Analyt. Biochemia.* 1978. Vol. 86. P. 271.
6. Щелконогов В.А., Сорокоумова Г.М., Баранова О.А., Чеканов А.В. и др. // *Биомед. Химия.* 2016, Т. 62. № 5, С. 577.
7. Perricone N., Nagy K., Horvarth F., Dajkor G., Uray I., Zs.-Nagy I. // *Arch. Gerontol. Geriatr.* 1999. Vol. 29. P. 45.
8. Smith A.R., Shenvi S.V., Widlansky M., Suh, J.H., Hagen T.M. // *Curr. Med. Chem.* 2004. Vol. 11. N 9. P. 1135.
9. Socrates G. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts.* England, 2004. P. 362.
10. Muhammad M.T., Khan M.N. // *Journal of Saudi Chemical Society.* 2017. Vol. 21. N 2. P. 123.
11. Bonom F., Pagan S. // *Eur. J. Biochem.* 1991. Vol. 199. N 1. P. 181.

Поступила в редакцию 05.03.2019

Получена после доработки 12.05.2019

Принята к публикации 14.10.2019

ANTIOXIDANT EFFECT OF A-LIPOIC ACID ON PHOSPHATIDYLCHOLINE OXIDATION CAUSED BY FENTON REACTION

S.O. Alyaseva¹, N.Y. Lotosh^{2*}, A.V. Kamaev, A.I. Kulebyakina², A.A. Selischeva^{2,3}

(¹MIREA – Russian Technological University, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies; ²NRC «Kurchatov Institute»; ³M.V. Lomonosov MSU, faculty of biology; *e-mail: natalotosh@gmail.ru)

By the method of mass spectrometry with the negative electrospray ionization mode the presence of both monomers and dimers and also trimers of LA was established in the aqueous phase. At incubation of LA with ferrous ions (0.1 mM) in the positive electrospray ionization mode the appearance of new mass-ions – 261, 467, 727 – was

found; in the negative electrospray ionization mode the mass-ion 671 was detected. These ions are complexes of LA with ferrous ions formed by the coordination bonds. The presence of the complexes depended on the LA concentration: at 0.25–4 mM the presence of all four complexes was observed. At 0.06 mM only 261 complex was formed. By IR spectroscopy it was established that in Fenton reaction one or both sulfur atoms in the LA molecule are oxidized by the hydroxyl radical. These results allow to consider two mechanisms of antioxidants properties of LA: the oxidation by the hydroxyl radical and ferrous ions chelation.

Key words: α -lipoic acid, antioxidant, complexation, IR spectroscopy, lipid peroxidation, iron chelation, ferrous ions.

Сведения об авторах: *Алясева Светлана Олеговна* – магистр кафедры биотехнологии и промышленной фармации Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «Российский технологический университет» (sveta.ya70@mail.ru); *Лотош Наталья Юрьевна* – лаборант-исследователь ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт», канд. хим. наук (natalotosh@gmail.ru); *Камаев Андрей Владимирович* – вед. исследователь ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт» (Камаев_AV@nrcki.ru); *Кулебякина Алевтина Игоревна* – науч. сотр. ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт», канд. хим. наук (alya.kulebyakina@gmail.com); *Селищева Алла Анатольевна* – инженер-исследователь ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт», вед. науч. сотр. ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук (aselo@yandex.ru).