

УДК 547.984-546.21-546.41-546.47

© Коллектив авторов

ДЕЙСТВИЕ КАТИОНОВ КАЛЬЦИЯ НА КИСЛОТНО-ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ДОФАМИНА И ПИРОКАТЕХИНА

А.В. Лебедев, М.В. Иванова, А.А. Тимошин, Э.К. Рууге*

Федеральное государственное учреждение Российский кардиологический научно-производственный комплекс Росздрава, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., д. 15а; тел.: 414-6746; факс: 414-6699; эл. почта: avleb@cardio.ru

Ускорение автоокисления пирокатехина и дофамина под действием катионов кальция и кислотно-основные свойства *орто*-гидрохинонов изучены методами УФ/видимой спектрофотометрии, ЭПР-спектроскопии, кислородометрии и потенциометрического титрования. Обнаруженное Ca^{2+} -индуцируемое ускорение свободнорадикальных реакций автоокисления *орто*-гидрохинонов может быть объяснено (1) их дополнительным депротонированием (снижением pK_{ai}) при формировании комплексов с Ca^{2+} , что ускоряет перенос электрона на кислород, и (2) образованием комплексов Ca^{2+} -*орто*-семихинон, участвующих в продолжении цепи окисления. Ca^{2+} -зависимое окислительное превращение катехолов *in vitro* может указывать на то, что функции кальция в клетке опосредованы и его участием в свободнорадикальных редокс-реакциях катехоламинов при $\text{pH} > \text{pK}_{\text{ai}}$.

Ключевые слова: катехолаты, комплексообразование, автоокисление, константы диссоциации, спиновая стабилизация.

ВВЕДЕНИЕ. В последние годы интенсивно изучают взаимосвязь клеточных кальций и редокс-зависимых сигнальных систем. Установлено влияние различных окислителей, в том числе активных форм кислорода (АФК) и SH модифицирующих агентов, на редокс состояние Ca каналов и трансмембранный перенос кальция [1]. С другой стороны, показано, что кальций является необходимым медиатором продукции АФК: увеличение внутриклеточной концентрации кальция приводит к активации ферментных систем, генерирующих АФК [2]. Изучая роль кальция в функционировании диоксигеназ, Sato et al. [3] впервые обнаружили, что связывание кальция с пирокатехином (PQQ), содержащим *орто*-гидроксильные группы, приводит к снижению их электронного окислительно-восстановительного потенциала и к стабилизации семихиноновой формы PQQ. Ранее нами было показано, что автоокисление полигидроксилированного 1,4-нафтохинона эхинохрома – основного пигмента целомической жидкости, панциря и игл морских ежей существенно возрастает под действием кальция [4]. Многократное ускорение окисления эхинохрома в присутствии кальция мы связали с дополнительным депротонированием (сдвигом pK_{ai}) *орто*-гидроксильных групп и с формированием комплексов кальция с 2,3-семихинонами. Аналогичное влияние ионов кальция на редокс-свойства можно предположить и для других *орто*-хиноидных соединений, в том числе пирокатехина и дофамина.

* - адресат для переписки

ИОНЫ КАЛЬЦИЯ И ОКИСЛЕНИЕ КАТЕХОЛОВ

Для катехолов характерно образование комплексов с ионами металлов в различных метастабильных редокс состояниях, таких как катехолат (Cat), семихинон (SQ) и хинон (Q) [5]. Особое внимание исследователями уделялось комплексам катехолов с катионами металлов с переменной валентностью, в которых наблюдается внутримолекулярный перенос электрона между ионом металла и диоксоленовыми лигандами (валентный таутамеризм). В частности, хорошо изучены свойства Fe^{3+} -катехолатных систем, моделирующих функционирование интрадиол диоксигеназ. Высокая реакционная способность молекулярного кислорода с Fe^{3+} -катехолатными комплексами объяснена смещением электронной плотности от координированного катехолата к иону металла и приобретением комплексом частично Fe^{2+} -семихинонатного характера, который, как полагают, и обеспечивает активность. Вместе с тем, в комплексах с Zn^{2+} , Mg^{2+} и другими катионами металлов II группы реакционная способность *o*-семихинонов снижена и наблюдается увеличение равновесной концентрации семихинонов при ферментативном окислении катехолов (спиновая стабилизация) [6]. Например, константа скорости реакции диспропорционирования для *орто*-семихинонатов цинка в 400 раз меньше, чем для свободных *орто*-семихинонов. В связи с вышеизложенным, изучение действия редокс инертного кальция и других металлов II группы на автоокисление дофамина и пирокатехина представляется актуальным.

В настоящей работе влияние кальция на редокс свойства пирокатехина и дофамина (схема 1) исследовали методами ЭПР-спектроскопии, кислородометрии, UV/VIS спектрофотометрии и потенциометрического титрования.



Схема 1.
Исследуемые катехолы.

МЕТОДИКА. В работе использовали пирокатехин (1,2-дигидроксибензол), дофамин (3,4-дигидроксифенэтиламин), 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил радикал (ДФПГ), Hepes, Tris, EDTA, H_2O_2 , $ZnCl_2$, супероксиддисмутазу (“Sigma”, США), этанол, KOH, NaOH, $CaCl_2$, $MgCl_2$, $SrCl_2$, $BaCl_2$ (“BDH”, Великобритания). Все растворы готовили на бидистиллированной воде. В буферные растворы для связывания примесей переходных металлов добавляли 0,1 мМ ЭДТА. pH буферных растворов варьировали изменением соотношения 50 мМ Hepes и 50 мМ Tris.

Скорость автоокисления дофамина и пирокатехина оценивали по поглощению кислорода в диапазоне pH 7-10 и спектрофотометрически. Спектры регистрировали в области 200-700 нм на спектрофотометре Shimadzu UV-260 (Япония) в стандартных 1-см кварцевых кюветах. Поглощение кислорода измеряли с помощью электрода Кларка и оксиметра YSI model 53 oxygen monitor (“Yellow Spring Instrument Co.”, США).

Константы кислотной диссоциации (pK_a) определяли кислотно-щелочным титрованием 20 мМ водных растворов дофамина и пирокатехина в диапазоне pH от 4,0 до 12,0 в атмосфере N_2 . Использовали pH-метр Radelkis (Венгрия) со стеклянным рабочим электродом и каломельным электродом сравнения. Расчет k_1 (pK_a) проводили, аппроксимируя экспериментальную pH-зависимость буферной

ёмкости $\beta = \alpha[KOH] / \alpha(pH)$ теоретической кривой $\beta = 2,302C \sum \frac{k_1[H^+]}{(k_1 + [H^+])^2}$ [7],

где k_i - константы ионизации, C – концентрация катехолов. При определении констант диссоциации в присутствии Ca^{2+} концентрация CaCl_2 (200 мМ) была на порядок выше концентрации катехолов.

Сигнал ЭПР регистрировали при комнатной температуре на спектрометре Varian 109E (США), оснащенным системой стабилизации магнитного поля и частоты СВЧ поля E-272В. В качестве стандарта использовали ДФПГ радикал ($g=2,0036$). ЭПР спектры записывали через 120 с после приготовления образца. Для этого 100 мкл 2-5 мМ раствора катехола в стеклянном капилляре ($d = 0,8-1,1$ мм) помещали в кварцевую трубку ($d = 4$ мм) и затем - в резонатор спектрометра. Амплитуда высокочастотной модуляции магнитного поля 0,05–0,1 мТл, СВЧ-частота 9,15 ГГц, СВЧ-мощность 1-10 мВт.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В аэробных условиях в бескальциевом буфере при $\text{pH} < 7,0$ растворы пирокатехина и дофамина были стабильны в течение суток. До $\text{pH} 8,5$ поглощение кислорода было слабым и возрастало с повышением pH раствора. Добавление катионов кальция (табл. 1) или других щелочно-земельных металлов (табл. 2) заметно увеличивало скорость поглощения кислорода растворами этих катехолатов при щелочных pH . Сравнение начальных скоростей поглощения кислорода в присутствии катионов металлов II группы, (табл. 2) показывает, что Ca^{2+} и Mg^{2+} оказывали более сильное действие, чем Sr^{2+} или Ba^{2+} , в то время как катионы цинка тормозили окисление дофамина и пирокатехина.

Таблица 1. Влияние катионов Ca^{2+} на скорость автоокисления дофамина и пирокатехина при различных pH .

Катехолаты		Скорость поглощения кислорода* $\Delta[\text{O}_2]/\Delta t$, мкмоль/мин			
		Пирокатехин		Дофамин	
CaCl_2		–	+	–	+
pH	7,5	0,5±0,1	0,5±0,1	<0,1	<0,1
	8,0	0,8±0,1	1,5±0,1	0,5±0,1	0,6±0,1
	8,5	1,0±0,1	6,3±0,2	2,0±0,1	2,6±0,3
	9,0	3,8±0,1	24,4±1,9	6,4±0,7	12,3±0,8
	9,5	15,4±1,5	30,9±3,2	24,7±3,1	40,5±4,0

Примечание: * - Приведено среднее значение начальных скоростей поглощения кислорода ± ст. ош. среднего ($n = 3$). Исходные концентрации катехолатов = 1 мМ, хлоридов металлов $[\text{MCl}_2] = 10$ мМ. В опытах использован аэрированный 50 мМ Tris-Нерес буфер, 24°C.

Таблица 2. Влияние катионов металлов II группы на скорость автоокисления дофамина и пирокатехина при $\text{pH} 8,8$.

Хлориды металлов	$\Delta[\text{O}_2]/\Delta t$, мкмоль/мин	
	Пирокатехин	Дофамин
- MCl_2	1,2 ± 0,2	5,1 ± 0,3
+ MgCl_2	16,2 ± 1,4	8,0 ± 0,6
+ CaCl_2	18,3 ± 1,4	8,5 ± 0,6
+ SrCl_2	11,0 ± 0,7	-*
+ BaCl_2	9,8 ± 0,6	5,9 ± 0,4
+ ZnCl_2	< 0,2	< 0,2

Примечание: Приведено среднее значение начальных скоростей поглощения кислорода ± ст. ош. среднего ($n = 3$). Исходные концентрации катехолатов = 1 мМ, хлоридов металлов $[\text{MCl}_2] = 10$ мМ. В опытах использован аэрированный 50 мМ Tris-Нерес буфер, $\text{pH} 8,8$, 24°C.

* - малорастворимый комплекс.

ИОНЫ КАЛЬЦИЯ И ОКИСЛЕНИЕ КАТЕХОЛОВ

Катионы кальция и магния ускоряли спектральные изменения, происходящие при окислении катехолов в щелочных условиях, как показано на рисунке 1 для дофамина и Ca^{2+} . В УФ-видимой области исходный спектр дофамина характеризует полоса 287 нм. Во время автоокисления дофамина оптическая плотность этой полосы растет, появляется широкая полоса 450 нм, по литературным данным относящаяся к дофаминохрому, одному из продуктов окисления дофамина [8]. В условиях нашего эксперимента (Hepes/Tris буфер, pH 9,0) полоса промежуточного *o*-хинона дофамина (386 нм) отчетливо не регистрировалась, хотя другие исследователи при автоокислении дофамина в глициновом буфере при pH 9,0 наблюдали образование *o*-хинона [9]. В присутствии катионов кальция скорость окисления дофамина существенно увеличивалась (рис. 1 Б). При этом на начальных стадиях автоокисления в электронном спектре не было новых полос. На поздней стадии окисления дофамина в кальциевой среде появляется широкая полоса в области 600 нм и квази-изобестические точки 285 и 305 нм. Отсутствие истинных изобестических точек в серии спектров указывает на образование нескольких продуктов окисления дофамина. Известно, что в многостадийном процессе автоокисления дофамина кроме дофаминохинона и продукта его внутримолекулярной циклизации лейкодофаминохрома образуются дофаминохром, 5,6-дигидроксииндол и далее полимерные меланиноподобные соединения [10]. Спектральные изменения при окислении пирокатехина (не показано) были сходны с трансформацией спектров, наблюдаемых на начальных стадиях окисления дофамина.

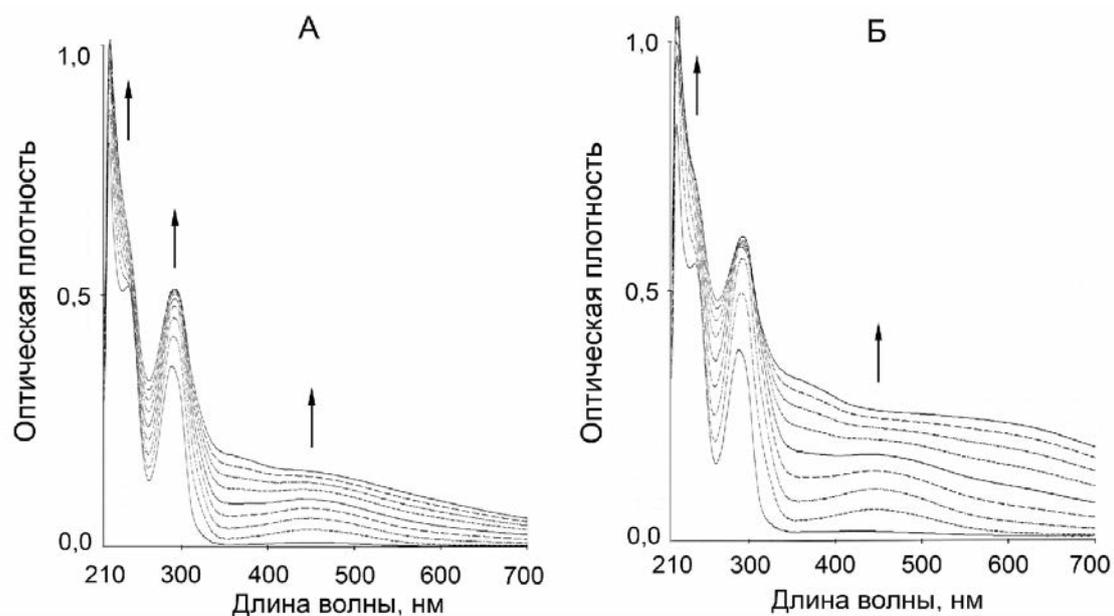


Рисунок 1.

Изменения спектров при автоокислении 100 мкМ дофамина без MCl_2 (А) и в присутствии 1 мМ CaCl_2 (Б) при pH 9,0. Реакцию запускали добавлением дофамина в буферный раствор.

Нижние кривые – исходный спектр 100 мкМ дофамина. Далее спектры регистрировали через равные промежутки времени - 5 мин. Стрелками указано направление изменений оптической плотности со временем.

Следует отметить, что при образовании комплексов переходных металлов с катехолатами в анаэробных условиях наблюдается полоса с высоким коэффициентом экстинкции в области 500-700 нм, которая характеризует внутримолекулярный перенос заряда [11]. В начальный период времени в спектрах комплекса Ca^{2+} -пирокатехин и Ca^{2+} - дофамин подобных дополнительных полос не было. По литературным данным, из-за отсутствия d-d взаимодействий в электронных спектрах катехолатов нет изменений и при комплексообразовании с Zn^{2+} [11].

Супероксиддисмутаза слегка ингибировала кальций- или магний-индуцированное окисление пирокатехина и дофамина (не показано), что является непрямым доказательством образования супероксид-радикала. Вовлечение $O_2^{\cdot -}$ в цепной процесс окисления дофамина ранее продемонстрировано другими исследователями с помощью люцигенин-зависимой хемилюминесценции [9].

Рисунок 2 иллюстрирует “прооксидантный” эффект кальция и “антиоксидантное” действие цинка на примере дофамина при pH 9,0. Разнонаправленные действия Ca^{2+} и Zn^{2+} сопровождалась стабилизацией орто-семихиноновых интермедиатов окисления (рис. 2 А и Б). В первые минуты окисления дофамина в отсутствие катионов металлов II группы наблюдали слабый ЭПР сигнал его семихинона с $g = 2,0044$ (верхняя кривая на рис. 2А), который исчезал в течение 8-10 минут. Если Ca^{2+} или Zn^{2+} были включены в реакцию смесь, в первые минуты регистрировались мощные ЭПР сигналы семихинонатов кальция с $g = 2,0043$ и цинка с $g = 2,0039$ (нижние кривые на рис. 2А). ЭПР сигнал после добавления Ca^{2+} (или других ионов щелочно-земельных металлов) пропадал через несколько минут, но в случае Zn^{2+} оставался неизменным более 30 минут. Таким образом, в присутствии Zn^{2+} наблюдалась лучшая (устойчивая) спиновая стабилизация, а g фактор ЭПР спектров (2,0039) был меньше g фактора свободного семихинона. Снижение сигнала семихинонов со временем может быть связано с быстрым окислением катехолов под действием Ca^{2+} (Mg^{2+} , Str^{2+}) и соответственным исчерпанием O_2 в среде в этих условиях. Автоокисление пирокатехина в присутствии цинка и кальция сопровождалось аналогичными изменениями интенсивности ЭПР сигнала (не показано) и g фактора: без M^{2+} - $g = 2,0045$, + Ca^{2+} - $g = 2,0043$, + Zn^{2+} - $g = 2,0039$. Полученные нами значения g фактора для свободных и комплексованных семихинонов совпадают с известными из литературы данными для пирокатехина, дофамина и родственных катехоламинов [12].

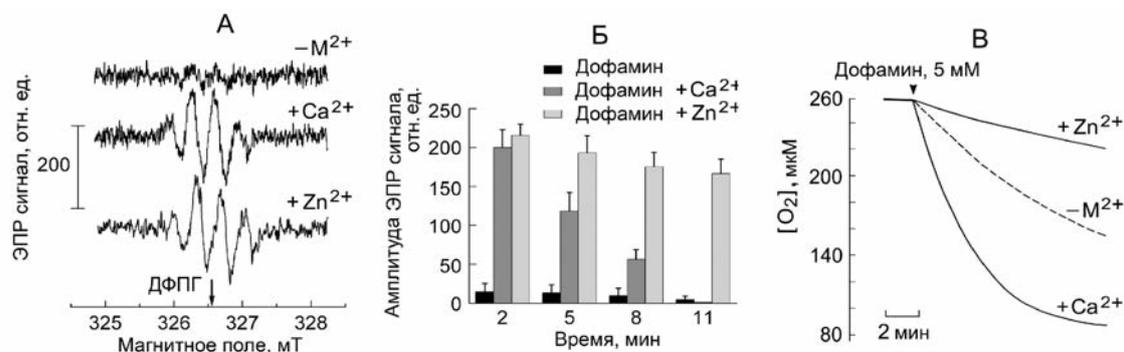


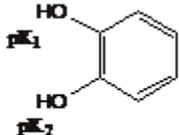
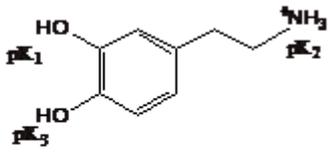
Рисунок 2.

Стабилизация *o*-семихинонов дофамина катионами кальция и цинка, и разнонаправленное действие этих катионов на скорость автоокисления дофамина. (А) - ЭПР спектры *o*-семихинона дофамина, регистрируемые в первые минуты окисления 5 мМ дофамина в отсутствие MCl_2 и при добавлении 100 мМ $CaCl_2$ или $ZnCl_2$ (pH 9,0). (Б) - изменение амплитуды ЭПР-сигналов со временем в этих условиях. Амплитуду измеряли по второму пику в ЭПР спектре. (В) – скорость поглощения кислорода при автоокислении 5 мМ дофамина (pH 9,0) без MCl_2 и в присутствии 100 мМ $CaCl_2$ или $ZnCl_2$.

Известно, что комплексообразование приводит к повышению констант диссоциации слабых кислот (снижению pK_{ai}) [13]. Потенциометрическое титрование показало, что ионы кальция вызывают понижение pK_{ai} гидроксильных групп пирокатехина и дофамина (табл. 3). Титрование в присутствии Zn^{2+} было невозможно из-за плохой растворимости солей цинка при pH > 5,0.

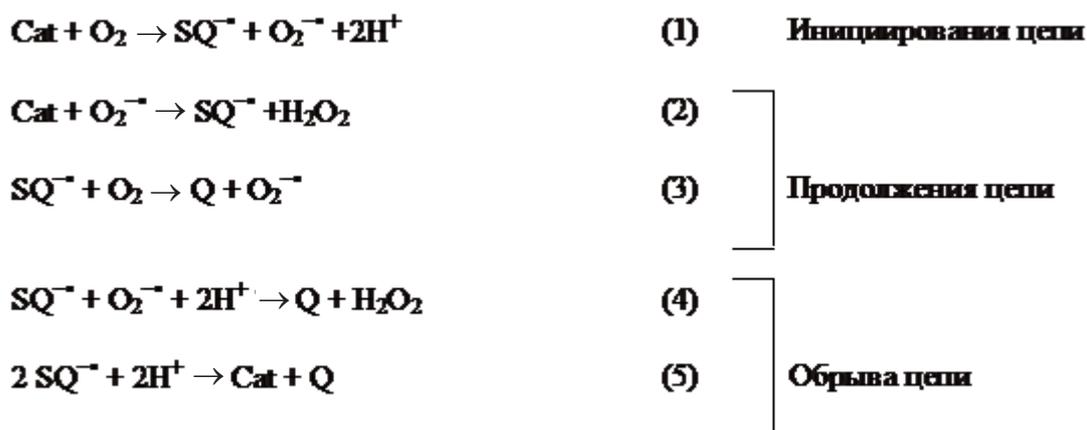
ИОНЫ КАЛЬЦИЯ И ОКИСЛЕНИЕ КАТЕХОЛОВ

Таблица 3. Влияние катионов кальция на слабо-кислотные свойства пирокатехина и дофамина.

Катехолаты				
	пирокатехин		дофамин	
CaCl₂	–	+	–	+
pK₁	9,55±0,05	9,04±0,05	9,15±0,04	8,95±0,10
pK₂	12,6±0,15	10,68±0,08	10,82±0,10	10,36±0,12
pK₃	–	–	> 12	11,39±0,15

Примечание: приведено среднее значение ± ст. ош. среднего (n = 5).

Общепринятая схема автоокисления катехола (Cat) включает следующие реакции:



Для дофаминохинона (QA) характерна необратимая нуклеофильная циклизация с образованием лейкоформы (лейко-QA), и его окисление включает дополнительные стадии: QA → лейко-QA → дофаминохром → → меланин-подобные продукты.

Способность гидрохинонов к автоокислению зависит от следующих химических свойств соединений [14]: а) стандартный окислительно-восстановительный потенциал хиноидных групп должен быть не слишком высок, чтобы он не уменьшал скорость переноса электронов от гидро- и семихинонов на кислород; б) важна величина pK, поскольку скорость переноса электрона на порядки выше для анионной формы восстановителя, и, таким образом, более высокие значения pK предотвращают автоокисление. Известные pK семихинонов низки [14], поэтому уже при нейтральных pH семихиноны находятся в анионной форме и скорости переноса электрона на кислород максимальны. Другой важный

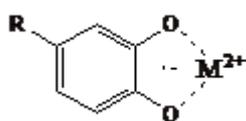
параметр, влияющий на скорость автоокисления, – это константа равновесия реакции диспропорционирования (5), определяющая стационарный уровень семихинонов и стабильность гидрохинонов.

Скорость (W) цепного свободнорадикального процесса равна произведению длины цепи (ν) и скорости образования активных свободных радикалов (в нашем случае, V_1): $W = \nu \cdot V_1$ [15]. Кинетическая длина цепи в реакциях окисления прямо пропорциональна скоростям реакций продолжения цепи радикалами (реакции (2) и (3)) и обратно пропорциональна скоростям обрыва цепи (реакции (4) - (5)) [15].

Сброс электрона на кислород и образование активных радикальных интермедиатов (реакция (1)) является ключевой в процессе автоокисления. Ускорение автоокисления под действием Ca^{2+} , наблюдаемое при $pH > 8,5$, связано с диссоциацией катехолов и быстрым окислением их анионных форм. Изменение стандартного электрохимического потенциала (E°) катехолов при связывании с катионами металлов может быть главной причиной ускорения переноса электронов на кислород. Мы не нашли данных о влиянии катионов металлов II группы на окислительно-восстановительный потенциал пирокатехина или дофамина. Но известно, что 2-х электронный потенциал *орто*-хиноидного соединения PQQ в комплексе с кальцием снижается на 26,5 мВ и при этом ускоряется его окисление [3]. Возможно, что комплексообразование катехолов с Ca^{2+} также приводит к перераспределению электронной плотности в молекуле и соответствующему изменению E° пары семихинон/катехол.

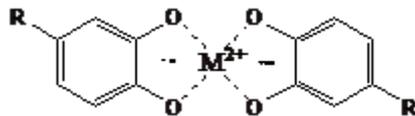
С другой стороны, известно, что константы устойчивости комплексов фенольных соединений с Zn^{2+} на несколько порядков больше чем с Ca^{2+} [13]. Увеличение энергии взаимодействия в комплексах цинк-диоксолен может привести к повышению степени ковалентности связи кислородных лигандов с ионами цинка, к блокированию атома кислорода фенольной группы и снижению его реакционной способности (окисления молекулярным кислородом). Этим можно объяснить замедление окисления пирокатехина и дофамина в присутствии катионов цинка. Однако, нельзя исключить, что снижение автоокисления в присутствии $ZnCl_2$ может быть связано с образованием коллоидного раствора $(ZnOH)^+$ из-за плохой растворимости солей цинка при щелочных pH.

Сдвиг g фактора катехолатных парамагнитных аддуктов с Ca^{2+} и Zn^{2+} , увеличение интенсивности ЭПР сигнала свидетельствуют о стабилизации семихинонов в этих условиях. M^{2+} -семихинонаты могут представлять собой комплексы со стехиометрией 1:1



MSQ

или 1:2.



$(SQ)M(SQ)$

Спиновая стабилизация, т.е. увеличение стационарной концентрации ферментативно генерируемых анион-радикалов дофамина и других катехоламинов катионами диамагнитных металлов, описана многими исследователями [6, 12, 16]. Существование стабильных радикальных пар, содержащих Zn^{2+} и два семихиноната показано ранее [17].

Снижение реакционной способности (стабилизация) семихинонов в комплексах с M^{2+} может приводить к замедлению как реакций обрыва цепи, так и реакций продолжения цепи в различной степени под действием различных катионов M^{2+} . В итоге, длина цепи (ν) может расти, не изменяться или уменьшаться. Стадией, определяющей общую скорость процесса окисления (W) может оставаться реакция (1), ускорение которой за счет дополнительного депротонирования катехолов под действием катионов кальция и возможного замедления из-за сильного связывания в комплексах цинк-катехолат было рассмотрено выше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Таким образом, Ca^{2+} -зависимое ускорение свободнорадикальных реакций можно объяснить (1) дополнительным депротонированием катехолов (снижением их pK_{ai}), что ускоряет транспорт электронов на кислород, а также (2) ростом концентрации *орто*-семихиноната кальция, участвующих в продолжении цепи окисления.

Сдвиг pK_{ai} *орто*-гидроксильных групп в более кислую область и стабилизацию парамагнитного комплекса Ca^{2+} -*орто*-семихинон, ускорение автоокисления *орто*-гидрохиноидных соединений под действием Ca^{2+} мы наблюдали ранее для гидроксильированного нафтохинона эхинохрома [4]. Обобщая эти данные с результатами настоящего исследования по окислению катехолов, можно предположить, что комплексообразование с Ca^{2+} будет приводить к изменению кислотно-основных свойств и редокс-конверсии (как неферментативной, так и ферментативной) других соединений с *орто*-гидрохиноидной структурой, включая катехоламины и широко распространенные в природе биофлавоноиды.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 05-04-49854, 05-04-49751).

ЛИТЕРАТУРА

1. Hool L.C., Corry B. (2007) *Antioxid. Redox Signal*, **9**, 409-435.
2. Гордеева А.В., Звягильская А.В., Лабас Ю.А. (2003) *Биохимия*, **68**, 1077-1080.
3. Sato, A., Takagi K., Kano K., Kato N., Duine J.A., Ikeda T. (2001) *Biochem. J.*, **357**, 893-898.
4. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Ruuge E.K. (2003) *Arch. Biochem. Biophys.*, **413**, 191-198.
5. Dei A., Gatteschi D., Sangregorio C., Sorace L. (2004) *Acc. Chem. Res.*, **37**, 827-835.
6. Kalyanaraman B., Sealy R.C. (1982) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **106**, 1119-1125.
7. Маршелл Э. (1981) *Биофизическая химия: Принципы, техника и приложения*, Мир, М., с. 80-95.
8. Segura-Aguilar J., Lind C. (1989) *Chem. Biol. Interact.*, **72**, 309-324.
9. Klegeris A., Korkina L.G., Greenfield S.A. (1995) *Free Radic. Biol. Med.*, **18**, 215-222.
10. Ferrari R.P., Laurenti E., Gbibaudi E.M., Casella L. (1997) *J. Inorg. Biochem.*, **68**, 61-69.
11. Sever M.J., Wilker J.J. (2004) *Dalton. Trans.*, **7**, 1061-1072.
12. Sealy R. C., Puzyna W., Kalyanaraman B., Felix C.C. (1984) *Biochim. Biophys. Acta*, **800**, 269-276.
13. Дятлова Н.М., Темкина В.Я., Колпакова И.Д. (1970) *Комплексоны*, Химия, М.
14. Ollinger K., Brunmark A. (1991) *J. Biol. Chem.*, **266**, 21496-21503.
15. Эммануэль Н.М. (1974) В кн.: *Теория и практика жидкофазного окисления*, Наука, М., с. 7-33.
16. Ferrari R.P., Laurenti E. (1995) *J. Inorg. Biochem.*, **59**, 811-825.
17. Tipikin D.S., Lebedev A.V., Rieker A. (1997) *Chem. Phys. Lett.*, **272**, 399-404.

Поступила: 24. 05. 2007.

**EFFECT OF CALCIUM CATIONS ON ACID-BASE PROPERTIES AND FREE RADICAL
OXIDATION OF DOPAMINE AND PYROCATECHOL**

A.V. Lebedev, M.V. Ivanova, A.A. Timoshin, E.K. Ruuge

Cardiology Research Center, 3rd Cherepkovskaya Street 15A, Moscow, 121552 Russia;
tel.: +7(495)414-6746; fax: +7(495)414-6699; e-mail: avleb@cardio.ru

Ca²⁺-induced increase in the rate of pyrocatechol and dopamine oxidation by dioxygen and Ca²⁺-dependent acid-base properties of the catechols were studied by potentiometric titration, UV/Vis-spectrophotometry, EPR-spectroscopy, and by measurement of oxygen consumption. The effect of Ca²⁺ on the chain reactions of oxidation can be explained by additional deprotonation (decrease in pK_{ai}) of the catechols that accelerates one electron transport to dioxygen and formation of calcium semiquinonate, undergoing further oxidation. The described Ca²⁺-dependent redox-conversion of *ortho*-phenols proposes that an additional function of calcium in the cell can be its involvement in free radical oxidoreductive reactions at pH > pK_{ai}.

Key words: catecholates, metal complexation, autoxidation, dissociation constants, spin stabilization.