

## ПРОБЛЕМЫ ЭВОЛЮЦИИ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ

*Л. А. Николаев*

## ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение . . . . .	313
II. Особенности процессов, ускоряемых биокатализаторами . . . . .	320
III. Характерные структуры важнейших биокатализаторов и возможные пути их образования . . . . .	323
IX. Ионы металлов и биокатализ. Модельные структуры . . . . .	331
V. Этапы организации и ее особенности . . . . .	337
VI. Общие закономерности . . . . .	341

## I. ВВЕДЕНИЕ

Проблема эволюции биологических катализаторов имеет несколько аспектов, представляющих интерес для широких кругов химиков. Первый из них заключается в сопоставлении эффектов, достигаемых при помощи наших обычных катализаторов и почти безграничных возможностей высокоорганизованных ферментных систем клетки.

Воображение химика, знающего, что представляет собою труд по подбору надлежащего катализатора и привыкшего применять катализаторы в условиях повышенного давления и высоких температур, невольно поражается, когда он узнает, что биологические катализаторы окисляют серу при низкой температуре непосредственно в серную кислоту, связывают азот при атмосферном давлении, легко синтезируют метан, окисляют нафталин, вызывают соединение водорода с кислородом, образуют пенициллин, строят полипептиды и белки и, наконец, поддерживают и обуславливают сложнейшую совокупность процессов, связывающуюся в нашем представлении со словом «жизнь».

В то же время между ферментологией и учением о катализе всегда чувствовался разрыв, особенно там, где речь шла о разработке общих теоретических принципов. Поэтому исследование действия биокатализаторов с теоретических позиций заслуживает пристального внимания.

В этом отношении органические катализаторы и «модели» ферментов являются, очевидно, менее трудными объектами и успехи в исследовании ряда моделей подготавливают почву для развития теоретических концепций. Эти концепции, по-видимому, будут отличаться от тех, которые объединили материал неферментного катализа; следует иметь в виду, в частности, что теоретический анализ действия систем катализаторов, наличие которых характерно для клетки, находится еще в зачаточном состоянии.

Второй аспект имеет непосредственное отношение к биохимической эволюции. Те катализаторы, которые столь эффективно функционируют в природе, представляют собой результат определенного «отбора», механизм которого нам почти неизвестен. Поэтому мы должны внимательно сравнивать вещества, похожие по своим свойствам на биологические катализаторы с ферментами. При этом можно сразу обнаружить, что «похожих» веществ существует очень много, а типов строения, присущих ферментам, значительно меньше.

Целью настоящего обзора является не столько описание разнообразных более или менее правдоподобных путей химической эволюции соединений, игравших роль биокатализаторов, сколько анализ физико-химических особенностей тех из них, которым суждено было оказаться в числе относительно немногих «избранных» и сделаться основой каталитических механизмов жизни.

Мы попытаемся охарактеризовать возможные каталитические реакции, относящиеся к абиогенной стадии — те процессы, которые подготовили органические вещества к высшей форме их организации, означавшей переход к стадии собственно биологической эволюции. Затем рассмотрим особенности каталитических процессов в биологических объектах, так как мы их наблюдаем в настоящее время. После краткого описания важнейших видов биокатализаторов белковой природы, мы остановимся на тех многочисленных соединениях, которые могут моделировать функции белков и ферментов — в частности на комплексных соединениях металлов; сопоставление свойств тех и других поможет отметить черты, сыгравшие роль в действии факторов отбора.

В заключение мы проанализируем общие тенденции в развитии каталитических систем, объединенных разнообразными видами связи и их термодинамический аспект.

Сведения о реальных путях синтеза биокатализаторов очень неполны и еще меньше имеется материала для суждения о том, как изменялись эти пути с течением времени.

Поскольку развитие жизни на земле идет уже около  $10^9$  лет<sup>1</sup>, можно считать, что структуры биокатализаторов, выработанные в ходе эволюции, отражают закономерности, которым подчиняется совокупность процессов в открытой системе — системе, находящейся в «потоке» энергии в течение длительного периода ее существования. Следует обратить внимание на то, что термодинамика не дает средств для решения в общей форме вопроса о том, как будет эволюционировать система, поставленная в условия такой связи с внешним миром, при которой она непрерывно подвергается энергетическим воздействиям, переменным по величине и изменяет свою массу. Изучение биологических объектов и дает тот экспериментальный материал (полученный без участия экспериментатора), на основании которого мы можем судить, что же собственно происходит в такой системе. Здесь, очевидно, возникает вопрос, почему следует говорить только о ферментах? Дело в том, что все процессы в клетках, при помощи которых клетка поддерживает существование, т. е. с точки зрения химика, обеспечивает надлежащий уровень стабильности, являются каталитическими; по выражению И. П. Павлова, ферменты — истинные «возбудители жизни». Развитие каталитических и автокаталитических функций в процессе биохимической эволюции есть один из характернейших признаков этого процесса. Если в обычных изолированных термодинамических системах равновесию отвечают экстремальные значения характеристических функций, то для постоянно развивающейся системы аналогом будет появление устойчивых и воспроизводящихся структур с низкой энтропией, но способных создавать энтропию посредством каталитических механизмов. Таким образом, квази-равновесию в открытой системе свойственна репродукция и развитие структуры, обеспеченной от хаотизирующего распада системами согласованно действующих катализаторов.

Кальвин в докладе на симпозиуме по происхождению жизни<sup>1</sup> указал, что фактором отбора, действовавшим на протяжении периода химической эволюции, являлся автокатализ. В качестве примера он привел систему, состоящую из ионов двухвалентной меди и молекулярного водорода; эта система устойчива до тех пор, пока в результате каких-либо случайных причин в ней не появится ион одновалентной меди. Этот ион катализирует восстановление двухвалентной меди водородом.

В итоге произойдет практически полное превращение двухвалентной меди в одновалентную. Несомненно, автокатализ — одно из наиболее очевидных средств отбора.

Тем не менее, автокаталитические процессы несравненно менее распространены, чем каталитические и можно представить себе иной вариант первичного процесса, объясняющий сохранение некоторых видов молекул. Из множества реакций, протекающих в смеси веществ, вещество А не подвергается влиянию именно того процесса, которые оно катализирует (этот процесс не меняет состава А). Если А катализирует несколько реакций, то оно устойчиво и по отношению к ним. Таким образом, наименьшим изменениям подвергаются в общем потоке реакций те молекулы, которые катализируют наибольшее число процессов; они «выживают» дольше других и, в конце концов, образуют систему, способную отражать практически все химические атаки, свойственные данной среде, т. е. систему, совместимую с максимальным числом реакций.

В этом отношении характерно развитие ферментов типа оксидаз, устойчивых к воздействию кислорода и направляющих это воздействие на синтез веществ, необходимых для репродукции всей системы.

Обратим внимание на то, что организмы хорошо приспособлены именно к той среде, где факторы автокатализа и «совместимости» положили начало их развитию. Помещенные в совершенно чуждую среду они гибнут в результате процессов некаталитического характера.

Организмы могут уцелеть, если окажутся в состоянии создать новые типы катализаторов, устраняющих разрушительные воздействия. Так, насекомые погибают под влиянием некоторых хлорпроизводных, например, известного ДДТ, но виды, устойчивые к этому яду, способны вырабатывать фермент, разрушающий ДДТ с отщеплением хлористого водорода, т. е. они сохраняют устойчивость посредством каталитического механизма. На том же принципе основаны вообще все защитные процессы, при помощи которых организмы поддерживают неизменной свою структуру и обезвреживают опасные для них вещества.

Начало химической эволюции характеризовалось действием иных факторов и катализ, по-видимому, играл в те времена подчиненную роль. Этими факторами, главным образом, были радиация и электрические разряды, а распространение реакций, вероятно, было связано с диффузией радикалов. Кальвин относит начало процесса химической эволюции ко времени, которое отделено от нашей эпохи приблизительно на 2,5 млрд. лет<sup>1</sup>.

Первичная атмосфера земли, по Руби, состояла из углекислого газа, азота, окиси углерода, паров воды; по Опарину, весьма вероятно, что земля на ранних стадиях развития имела атмосферу восстановительного характера, содержащую метан, аммиак, воду, сероводород и водород<sup>2, 3</sup>.

Ответить на вопрос о том, какие реакции могли развиваться в атмосфере земли и на ее поверхности в добиологические периоды весьма затруднительно. Единственным критерием является термодинамическая возможность того или другого процесса; однако использование этого критерия ограничивается тем, что далеко не всегда известны температуры и давления, господствовавшие в те времена. Тем не менее можно сопоставить число наиболее вероятных реакций некаталитического характера с процессами, в которых весьма вероятно участие катализатора.

К процессам, идущим без катализатора и несомненно игравшим важную роль в добиологический период, относятся следующие: 1) фотохимическое разложение воды с последующим окислением аммиака до азота, а углеводов до спиртов, альдегидов и кислот; 2) фотохимическое разложение аммиака с образованием свободных радикалов, ве-

дущее к появлению гидразина и, вероятно, ряда азотсодержащих органических соединений; 3) фотохимическое разложение метана и превращение его в другие углеводороды, в частности, олефины; 4) фотохимическое образование формальдегида из углекислого газа и воды; 5) образование метиламина из метана и аммиака (при температуре  $500^{\circ}$ ); 6) конденсация ацетилена с формальдегидом, а также с другими органическими веществами: спиртами, эфирами и т. п.; 7) реакции метана с окисью углерода в электрическом разряде, а также реакции этилена с окисью углерода в тех же условиях, приводящие к образованию альдегидов; 8) взаимодействие азота с ацетиленом в электрическом разряде, приводящее к образованию цианистого водорода; 9) реакция между цианистым водородом и ацетиленом, дающая пиридин; 10) взаимодействие окиси углерода с аммиаком в электрическом разряде, дающее мочевины; 11) образование меркаптанов за счет соединения олефинов с сероводородом; 12) образование фосфорных кислот в результате цепного окисления фосфина; 13) образование цианамидов; 14) образование фосфогуанидина из цианамидов и аммонийфосфита<sup>3</sup>.

Миллер произвел ряд опытов, вызвавших большой интерес. Он подверг действию электрического разряда, полученного при помощи высокочастотной установки Тесла, смесь водорода, метана, аммиака и паров воды. В отдельных опытах применялся также тихий разряд. Анализ полученных продуктов показал, что в условиях опытов Миллера получается заметное количество глицина, аланина, саркозина, аспарагиновой, глютаминовой, муравьиной кислот и ряд других органических соединений. Добавление к системе железоаммонийных квасцов не привело к существенному изменению количественного и качественного состава продуктов реакции<sup>4</sup>.

Павловская и Пасынский, проверяя точку зрения Опарина о том, что среди различных источников энергии в добиологический период основное значение имело ультрафиолетовое излучение солнца, поставили опыты по облучению лампой ПРК-2 смеси растворов формальдегида, нитратов и хлорида аммония и обнаружили, что 20-часовое облучение приводит к образованию ряда аминокислот<sup>5</sup>.

По мнению Юри, органические соединения образовывались в атмосфере за счет действия ультрафиолетовой радиации и электрических разрядов<sup>6</sup>. Миллер полагает, что в результате фотолиза метана, аммиака или воды образовались атомы водорода, которые, взаимодействуя с окисью углерода, дали формальдегид и глиоксаль; активирование азота обусловило его реакцию с метаном и другими углеводородами, приводящее к образованию синильной кислоты. По-видимому, в этом процессе участвуют радикалы Н и  $\text{NH}_2$ . Действие радиации высокой энергии, вероятно, играло меньшую роль. В 1951—1952 годах был проведен синтез органических соединений из углекислоты и воды, причем применялся циклотрон, на 40 MeV, в котором ускорялись  $\alpha$ -частицы. В небольшом количестве была получена муравьиная кислота; формальдегид образовывался только в присутствии ионов железа, которые, по мнению Миллера, служили восстановителями; по-видимому, окислительные условия не способствуют синтезу органических веществ<sup>7</sup>.

Не останавливаясь на рассмотрении других возможных процессов более сложного характера, некаталитический характер которых может вызвать сомнение, назовем несколько реакций, протекающих с участием катализаторов.

Гидратация этилена и ацетилена катализируется окислами алюминия, вольфрама, ртути и другими катализаторами. Взаимодействие ацетилена с сероводородом или водой дает гетероциклы. Так, при каталитическом действии окиси алюминия можно получить фуран. Эта реакция идет при  $425^{\circ}$ , но термодинамически возможна до  $800^{\circ}$ ; образование тиафена возможно до  $250^{\circ}$ .

Оксиды алюминия (боксит) катализируют конденсацию ацетилена с аммиаком; оксиды алюминия, хрома и железа при 300° катализируют образование из ацетилена и аммиака пиррола, а также пиридина.

Бахадур показал, что при действии солнечного света на смесь растворов параформальдегида с нитратом калия и хлоридом железа, получают валин, лизин, серин и другие аминокислоты<sup>8</sup>.

Таким образом, ионы железа могли играть некоторую каталитическую роль в фотохимических процессах. Этот же автор обнаружил, что коллоидная окись молибдена может катализировать образование аминокислот при действии света электролампы на смесь, состоящую из воды и параформальдегида. Источником азота в этих опытах был атмосферный воздух.

В наших работах с Баршевским<sup>9</sup> было доказано, что окись цинка, содержащая примеси меди, свинца и других тяжелых металлов, является активным фотокатализатором для процесса переноса водорода\*.

Опарин высказал мнение, что горные породы и минералы<sup>3</sup> могли играть роль катализаторов, способствовавших полимеризации ацетилена — одного из первых продуктов, образовавшихся в период охлаждения земли (из воды и карбидов).

Акабори в 1955 г. высказал предположение, что вещества, предшествовавшие белкам, могли образоваться посредством реакции между формальдегидом, аммиаком и цианистым водородом, дающей аминокетонитрил, с последующей полимеризацией и гидролизом, идущими на поверхности глин. Дальнейшие реакции связаны с сведением боковых цепей в молекулы образовавшегося полиглицина. Акабори<sup>11</sup> показал, что нагревание аминокетонитрила с кислой глиной дает продукт с положительной биуретовой реакцией; с другой стороны, обработка полиглицина, нанесенного на каолинит, формальдегидом или ацетальдегидом в присутствии основного катализатора (пиридин) приводит к образованию остатков серина и треонина. Автор считает, что метиленовые группы полиглицина, адсорбированного на каолините, более восприимчивы к реакции конденсации с альдегидом, чем эти же группы в условиях, когда носитель не применяется. Следует подчеркнуть, что по мнению Бернала, жизнь могла возникнуть на поверхности глины в результате накопления на ней органических веществ<sup>12</sup>. Силикаты, сульфиды и оксиды в восстановительной атмосфере могли катализировать реакции полимеризации и ряд других процессов, связанных с превращением углеводородов.

Интересные модельные опыты в этой области были проведены Фростом, построившим оригинальную теорию происхождения нефти, в которой значительная роль в генезисе этого продукта отводилась каталитическому действию глин<sup>13</sup>.

Следует иметь в виду, что ионы металлов меди, марганца, железа и других способны катализировать процессы переноса водорода от доноров, претерпевающих окисление, к акцепторам, к числу которых, кроме кислорода, надо отнести обратимо восстанавливающиеся соединения типа красителей.

Процессы этого типа получили развитие в более поздний период и привели к созданию систем металлофлавопротеинов. Мы убедились недавно, что перенос водорода от цистеина и аскорбиновой кислоты к красителям катализируется ионами меди<sup>14</sup>; можно допустить, что перенос водорода осуществлялся и в условиях восстановительной атмосферы при каталитическом участии ионов металлов.

---

\* По данным Шуб, Тюрикова и Веселовского, фотовозбуждение полупроводника — окиси железа делает его инициатором химической реакции — разложения перекиси водорода.

Характерной чертой биокатализа является образование фосфорсодержащих соединений, богатых энергией, и последующее использование этих соединений для целей синтеза.

Некоторым предшественником высокосоввершенных механизмов, действующих в организмах, Кальвин считает систему орто-пиро-фосфат, содержащую железо<sup>1</sup>. Кальвин подчеркнул, что гидролиз пирофосфатов вообще идет очень медленно и организмы постепенно развили системы катализаторов, ускоряющие этот процесс и обеспечивающие эффективное использование освобождающейся энергии. Участие ионов металлов в процессах окислительного фосфорилирования доказано. Переход ортофосфата двухвалентного железа в пирофосфат трехвалентного приводит к освобождению электрона, который может переходить к кислороду; при этом имеет место сопряжение процессов окисления иона железа (процесса, идущего с выделением энергии) и превращения ортофосфата в пирофосфат (процесса, поглощающего энергию). По мнению Кальвина, эффективность этого процесса увеличилась, когда железо вступило в соединение со специфически действующей органической молекулой. Организмы, содержащие такие эффективно действующие комплексы, имели больше шансов на выживание по сравнению с организмами, не располагавшими железом в каталитически активной форме.

Подводя итог этому краткому обзору функций катализаторов в ранние периоды начала химической эволюции, приходится констатировать, что первичное накопление простых соединений совершалось главным образом под влиянием некаталитических факторов. Катализ вступил в действие довольно вяло в некоторых фотохимических реакциях, процессах образования углеводов и гетероциклов, процессах образования и полимеризации оксинитрилов и превращениях аминокислот и др. Зато в последующие периоды роль катализа в эволюции органических соединений начала возрастать с фантастической быстротой.

Вновь возникшие во множестве частицы обладали каталитическими функциями; ионы металлов, находившиеся в водах океанов и морей, действовали как катализаторы во все возрастающем количестве различных химических процессов; сравнительно простые органические соединения также были способны проявлять каталитические функции. Амины могут катализировать разложение (декарбоксилирование) кетокислот, причем некоторые из них, как доказал в известных работах Лаугенбек, обладают высоким уровнем активности<sup>15</sup>, амины и аминокислоты, по нашим данным<sup>16</sup>, ускоряют окисление полифенолов.

Известно, что аминокислоты могут дегидрироваться в присутствии акцепторов водорода (кислород, красители) под влиянием изатина и его производных<sup>17</sup>; ацетальдегид ускоряет превращение дициана в оксамид; конденсация бензальдегида в бензоин катализируется цианионами; многие превращения, связанные с присоединением или потерей протона, катализируются кислотами и основаниями. С развитием окислительной атмосферы большое значение приобрели каталитические процессы окисления, ускоряемые ионами металлов переменной валентности и т. д.

Для образования веществ, сыгравших важную роль в биологической эволюции, предлагались и предлагаются различные более или менее обоснованные схемы. Так, для образования углеводов несомненно имело значение то, что альдегиды способны к полимеризации и реакциям конденсации в присутствии катализаторов — гидратов оксидов кальция или бария, а также карбоната кальция. Г. Эйлер и А. Эйлер<sup>18</sup> доказали возможность образования гликолевого альдегида и пентоз из формальдегида в присутствии карбоната кальция. Гексозы могли получиться в результате конденсации глицеринового альдегида с промежуточным образованием диоксиацетона, причем катализаторами служили гидроокиси кальция или бария.

Весьма вероятно, что такого рода процессы протекали в абиогенную эпоху. Липоиды, по Берналу, возникли значительно позже<sup>19</sup>; однако Опарин допускает их образование в периоды, предшествующие появлению жизни<sup>3</sup>.

Аминокислоты могли быть продуктом различных реакций. В дополнение к упоминавшейся работе Бахадура назовем еще исследования Фокса и др.<sup>20</sup>, показавших, что аминокислоты образуются в присутствии солей кальция из яблочной кислоты и мочевины в слабо щелочной среде.

С того времени, когда вступил в действие механизм «отбора», эволюция катализаторов в природе пошла по двум существенно различным путям. Металлы, окислы, сульфиды, алюмосиликаты образовали устойчивые кристаллические решетки, причем с течением времени, несомненно, имела место стабилизация свежеполученных кристаллических форм, связанная с устранением некоторых дефектов, развитием более регулярных структур и понижением каталитической активности.

Различие в каталитической активности между свежеполученными и «старыми» неорганическими катализаторами — общеизвестный факт. Следовательно, неорганическая ветвь природных катализаторов, содержащая окислы соли, сульфиды и т. п., эволюционировала скорее в сторону ослабления каталитической активности, чем в направлении формирования активных веществ. Это могло привести к частичному выключению названных катализаторов из тех процессов, в которых они ранее проявляли себя как активные ускорители.

На смену им пришли катализаторы другого типа, образовавшие другую ветвь, которую мы назовем *биохимической* ветвью.

Со времени начала процесса накопления органических веществ и до периода появления первых форм жизни прошло ~2 миллиардов лет. Эта часть химической истории земной поверхности одна из наиболее загадочных и самых важных для понимания дальнейшего хода биохимической эволюции. За это время органические вещества не накапливаются во все возрастающем количестве — они появляются и разлагаются, участвуя в процессах саморепродукции особых аperiodических структур.

Поразительно то, что когда период «химической подготовки» — период интенсивных и разнообразных превращений, о которых можно строить лишь осторожные гипотезы, после своего завершения сменился периодом биологической эволюции, химическая эволюция словно затормозилась. Развитие организмов в общем очень слабо отразилось на основных чертах строения белков и ферментов. Пролоне произвел анализ гемоглобина кистеперой рыбы и нашел, что аминокислотный состав и в этом случае не представляет чего-либо необычного и близок к составу гемоглобина позвоночных. Синг считает, что химическая эволюция происходила в далеком прошлом и выжили лишь организмы, достигшие «стандартного» химического состава<sup>21</sup>.

В действительности небольшие вариации в аминокислотном составе белков, сохраняющие основной план строения, по-видимому, могут обусловить видовые различия организмов. Мы не можем здесь останавливаться на этом интересном вопросе, поскольку нас интересует именно основной план структур наиболее распространенных биокатализаторов.

Можно прийти к заключению, что в период, о котором только что шла речь, какие-то факторы осуществляли отбор систем, сделавшихся в дальнейшем структурными элементами бесконечного разнообразия живых существ. Большинство других систем, в которых совершались реакции с участием органических веществ, закончили свое существование. В настоящее время число органических реакций в природе, протекающих без участия биокатализаторов, так мало, что заблуждение пионеров в области органической химии, напоминанием о котором служит название этой науки, было вполне естественным.

## II. ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ, УСКОРЯЕМЫХ БИОКАТАЛИЗАТОРАМИ

Внимательный анализ позволяет предположить, что все колоссальное разнообразие процессов метаболизма, в которых участвуют биокатализаторы, охватывается небольшим числом реакций, осуществляемых с различными субстратами, но имеющих совершенно отчетливые общие признаки. Самым общим признаком биокаталитических процессов является то, что они представляют собой процессы переноса.

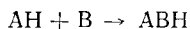
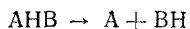
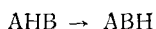
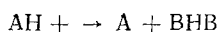
Ферменты группы фераз способны переносить остатки фосфорной кислоты, ацетил, метильные группы, сульфгидрильные группы и даже крупные остатки, например, остаток глицина, переносимый с какого-либо пептида на аминокислоту. Этим путем из глицилглицина и триптофана получается глицилтриптофан, из глицилглицина и фенилаланина — глицилфенилаланин и т. д.

Несомненно разнообразие продуктов биосинтеза белков связано с функциями ферментов этого типа. Есть основания предполагать, что феразные функции свойственны гидролитическим ферментам, так, перенос остатков аминокислот катализируется папаином и химотрипсином, т. е. типичными гидролитическими ферментами.

Нельзя указать аналогов этих биокатализаторов в области обычного катализа, но несомненно феразы сыграли огромную роль в процессах приспособления, отбора и усовершенствования ферментных систем, поскольку их деятельность обусловила образование различных материалов для синтеза белков и сахаров, т. е. в конечном счете для синтеза самих ферментов.

Феразы играют важную роль и в процессах биосинтеза сахаров, в частности, они участвуют во взаимных превращениях полифруктозидов и сахарозы. В клубнях артишока содержится фермент, катализирующий перенос остатков фруктозы с инулина на сахарозу и свободную фруктозу<sup>22</sup>.

Исключительное место среди процессов переноса занимает перенос водорода. По-видимому, механизм переноса водорода в большинстве случаев заключается в переносе электрона по цепи доноров и акцепторов, причем молекула, получившая в конечном счете отрицательный заряд, присоединяет ион водорода из окружающей среды и, таким образом, завершается реакция, которую Клейвер<sup>23</sup> предлагает называть трансгидрированием. Имеются данные, говорящие в пользу возможности и прямого переноса атомов водорода<sup>24</sup>. Значение переноса водорода настолько велико, что Клейвер<sup>23</sup> считает возможным утверждать, что реакции переноса занимают доминирующее положение среди элементарных реакций «составляющих биохимию». Схематически эти процессы можно представить уравнениями:



Роль белка в процессах, связанных с электронным переносом, разъясняется отчасти в тех работах, в которых показано, что электроны могут переходить от одной полипептидной цепи к другой по водородным мостикам (Гейсман, Блюменфельд<sup>25</sup>).

Все катализируемые процессы уже на ранних стадиях биоэволюции, очевидно, можно разделить на два класса. К одному мы отнесем все те превращения, которые позволяют использовать существующую в при-



роде разность химических потенциалов для синтеза веществ, богатых энергией, т. е. содержащих макроэргические связи, а к другой — процессы, в которых эта энергия используется для создания сложной самовоспроизводящейся организации, т. е. живого вещества.

При наличии постоянной разности потенциалов из всех путей переноса энергии выбирается такой, который отвечает наименьшим скачкам в промежуточных превращениях. Таким образом, разность уровней стремится разбиться на мелкие постоянные подуровни за счет развития ряда специальных катализаторов.

Большое число промежуточных этапов в ходе, например, процесса брожения и сходного с ним во многих отношениях процесса дыхания отчетливо видно в схеме, данной Эмбденом и Мейергофом.

Важнейшим путем, который доставляет энергию для синтеза белка, является путь окисления глюкозы. Смысл цепи каталитических реакций при этом сводится к тому, что глюкоза фосфорилируется, и в дальнейших превращениях получают молекулы АТФ, содержащие макроэргические связи, энергия которых используется в синтетических процессах. В действительности, энергетическое сопряжение этих реакций необычайно сложно и совершается через множество этапов. Относительно некоторых из них наши сведения весьма ограничены.

Получившаяся при окислении глюкозы пировиноградная кислота вовлекается в сложный цикл трикарбоновых кислот — цикл Кребса. Водород, отданный пировиноградной кислотой, начинает новое длинное путешествие вдоль цепи катализаторов, пока, наконец, не вступит во взаимодействие с кислородом или иным конечным акцептором. Цепь начинается с того, что субстрат отдает водород ди- или трифосфопиридиннуклеотиду, являющемуся активной группой (коферментом) дегидразы. Восстановленная форма кофермента передает водород флавопротенну и сама при этом регенерируется. Восстановленный флавопротенн взаимодействует с цитохромом, отдавая ему электрон и восстанавливая железо цитохрома в двухвалентную форму. Водород переходит в раствор в виде иона. Цитохром восстанавливает цитохромоксидазу, передавая ей электрон. Наконец, цитохромоксидаза переносит электрон к атому кислорода и ионы кислорода образуют с ионами водорода воду.

Липман<sup>26</sup>, рассматривая путь перехода водорода от метаболита к кислороду, указывает, что при этом образуются три фосфатные связи, содержащие в среднем 12 ккал на связь, что эквивалентно 0,25 V для двухэлектронной системы. Разность потенциалов между кислородом и «средним» донором водорода составляет ~1,2 V. Следовательно, она может дать энергию, достаточную для четырех фосфатных связей. Перенос водорода от метаболита к кислороду проходит через каталитические механизмы, в которых участвуют последовательно пиридиннуклеотиды, флавопротеины и цитохромы. На потенциальных уровнях 0,1, 0,5 и 0,9 V (по отношению к водородному электроду при pH 7) катализаторы превращают порции энергии 0,25 V в макроэргические фосфатные связи.

Липман далее подчеркивает, что эти трансформаторные системы, стоящие на пути переноса электронов, отнятых от водорода, очень мало зависят от природы доноров водорода. Он полагает, что богатые энергией фосфатные связи могут возникать при самых разнообразных окислительных процессах. С точки зрения законов биохимической эволюции должен был сохраниться тот механизм трансформации энергии, который совместим с наибольшим числом реакций и в этом отношении преимущество фосфорных соединений кажется очевидным.

Фундаментальный процесс биосинтеза аминокислот, освещенный в известных работах Браунштейна, также тесно связан с реакциями переноса<sup>27</sup>.

Углеродный скелет аминокислот создается из фосфоглицериновой и пировиноградной кислот и других продуктов биосинтеза сахаров. Аминогруппа входит в молекулу либо в результате гидрирующего аминирования, либо на ранней стадии генезиса, затем остается в ней в то время, как молекула усложняется. Браунштейн указывает, что из глутаминовой кислоты может получиться пролин, оксипролин, орнитин, аргинин; из серина образуется цистеин, триптофан, аланин и др.

Биосинтез аминокислот идет с участием катализаторов, относящихся к группе пиридоксальных ферментов.

Только кетоглутаровая кислота подвергается, по утверждению Браунштейна, прямому восстановительному аминированию,— все другие аминокислоты получают за счет транспереаминирования, иногда в сочетании с перестройкой углеродного скелета кислоты. Таким образом, первый органический продукт усвоения азота есть глутаминовая кислота.

Перейдем теперь к важнейшей группе синтетических реакций, катализируемых биокатализаторами.

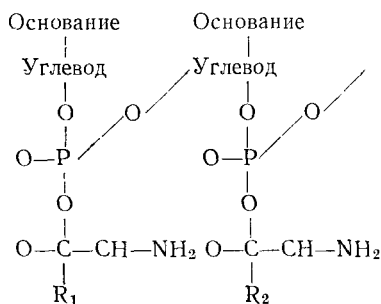
Проблема биосинтеза белков вызвала множество работ и в последние годы является одной из центральных в биохимии. Борсук<sup>28</sup> выдвинул концепцию, согласно которой синтез белка разделяется на три этапа: активацию карбоксильных групп аминокислот, перенос аминокислот к нуклеиновой кислоте, играющей роль «матрицы», где аминокислоты располагаются в определенной последовательности и соединяются пептидными связями и, наконец, удаление с матрицы готовой белковой молекулы. После этого белковая молекула скручивается в характерную «спираль».

Борсук указывает, что активация карбоксила достигается в основном за счет взаимодействия с аденозинтрифосфорной кислотой (АТФ). Последняя, отщепляя минеральный фосфат или переходя в АДФ, является источником свободной энергии для синтеза.

Механизм образования пептидов, по-видимому, сводится к тому, что фермент взаимодействует с аминокислотой, например, с глутаминовой и с АТФ, причем получается тройной комплекс, в котором глутаминовая не фосфорилирована; затем этот комплекс реагирует с аммиаком, причем получается глутамин и АДФ, фосфат и фермент. Ионы магния катализируют процесс синтеза.

Борсук полагает, что на матрицу переносятся активированные (за счет связывания с АТФ) аминокислоты, а не пептиды. Он ссылается при этом на работы Уорка с сотрудниками<sup>29</sup>, показавшими, что синтез казеина совершается непосредственно из аминокислот.

Активированная аминокислота переносится на матрицу посредством активирующего фермента или нуклеотида, о природе которого нет точных данных. Закрепленные на нуклеиновой матрице аминокислоты схематически можно представить так:



По мнению Гауровитца<sup>30</sup>, при синтезе белка сначала из аминокислот образуется видоспецифичный пептидный шаблон, а затем он свертывается-

ся в трехмерную глобулярную молекулу. Функция рибонуклеиновой кислоты состоит в том, что она растягивает эту белковую матрицу и поддерживает ее в растянутом состоянии.

Хаммарстен<sup>31</sup> считает, что синтез белка является вторичным по сравнению с синтезом РНК. По мнению Браше<sup>32</sup>, нуклеопротеиды или РНК действуют как специфический каркас, на котором совершается формирование ферментных систем; он же направляет синтез в сторону прироста РНК. Здесь, следовательно, мы имеем дело с автокатализом по отношению к РНК.

Гипотеза матриц, по-видимому, одна из наиболее обоснованных, и ей предстоит сыграть значительную роль при изучении проблем биохимической эволюции. Действительно, мы должны представить себе некоторую цепь превращений, ведущих от весьма несовершенных механизмов связывания аминокислот друг с другом, вроде действия глины или облучения в гомогенной среде, к высокоспециализированному воспроизводству белковых молекул на матрицах из фосфорилированных частиц рибонуклеиновой кислоты.

Вероятно, были и гораздо более простые механизмы этого типа — они производили некоторые предельки на основе предшественника РНК и непрерывно видоизменялись до тех пор, пока не были нейтрализованы все те факторы, которые вызывали изменение.

Процесс синтеза белка протекает крайне медленно — его скорость в сотни и даже тысячи раз меньше скорости обычных ферментных реакций, но процесс сопровождается формированием катализатора, обеспечивающего воспроизводство тонких деталей белковой молекулы.

Итак, характерными чертами процессов, ускоряемых и регулируемых биокатализаторами, являются: 1) сопряжение реакций диссимиляции (разложение пищевых веществ) с процессами синтеза, осуществляемое посредством включения между теми и другими соединений с макроэргическими связями; 2) дробление общего процесса на отдельные стадии, отвечающие небольшим изменениям потенциала; 3) изменение структур посредством переноса электронов, атомов водорода и более крупных частиц; 4) воспроизведение по «матричному механизму» молекул белка и ферментов, т. е. той структуры, которая обеспечивает все отмеченные стадии и, наконец, 5) сопряжение реакций, которые способны к использованию разности химических потенциалов в значительной степени независимо от того, между какими веществами она создается.

Данные, относящиеся к метаболизму бактерий (см. Стефенсон<sup>33</sup>) могут породить уверенность, что какова бы ни была разность потенциалов, между какими бы веществами она ни возникала, мы почти всегда обнаруживаем организм, способный использовать эту разность для целей развития и воспроизводства. Необыкновенная универсальность систем биокатализаторов в этом отношении не только свидетельство формирующего воздействия факторов отбора, но и указание на важность развития низкоэнтропийных структур, обеспечивающих рост энтропии в окружающей среде. К этому вопросу мы еще вернемся. Вполне понятно, что обе группы каталитических реакций должны быть связаны друг с другом и иметь механизм регулирования.

### III. ХАРАКТЕРНЫЕ СТРУКТУРЫ ВАЖНЕЙШИХ БИОКАТАЛИЗАТОРОВ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ИХ ОБРАЗОВАНИЯ

Для понимания особенностей биохимической эволюции катализаторов следует обратить внимание на современную стадию их развития, т. е. посмотреть «что получилось» за два миллиарда лет действия факторов отбора. Опасения оказаться перед картиной необозримого множества типов катализа у различных форм, которые приняла жизнь на

земле, быстро рассеиваются. Удивительным и многозначительным следует считать бесспорно доказанное единство биохимического плана строения организмов.

Известный биохимик Флоркэн<sup>34</sup>, занимавшийся проблемами биохимической эволюции, приводит результаты анализа сухого остатка различных организмов; некоторые из этих данных приведены в табл. 1.

Сходство отнюдь не ограничивается количественным составом.

Синг в своем докладе на Симпозиуме в 1957 г. в Москве подчеркнул, что белки, содержащиеся в значительных количествах во всех изученных живых организмах, представляют удивительно компактную химическую группу. Одни и те же аминокислоты встречаются в белках гри-

ТАБЛИЦА 1

Организм	Белки, %	Жиры, %	Углево- ды, %
Личинка морского ежа	63,7	19,5	5,4
Устрица	51,2	11,1	28,2
Яйцо шелковичного червя	56,0	19,2	7,0
Личинка шелкович- ного червя	55,5	13,3	1,8

бов, высших растений, водорослей, вирусов, гетеротрофных бактерий и, по-видимому, автотрофов. Одни и те же ферментные системы неизменно встречаются в организмах самой различной природы и находящихся на различных уровнях развития<sup>35</sup>.

Одни и те же инструменты, предназначенные для выполнения тех или иных химических операций — окисления кислородом, переноса водорода, аккумуляирования энергии и др. имеются у бактерий,

растений, вирусов, позвоночных. Сходство ферментных механизмов у разнообразных форм жизни так велико, что характерные отличия кажутся на первый взгляд второстепенными.

В ходе биохимической эволюции катализаторов образование белка или гипотетических «предбелков» занимает совершенно особое место. По выражению Опарина, «белок обладает громадными химическими возможностями»<sup>3</sup>. Действительно, в белках сочетаются свойства, сделавшие их необходимым компонентом всех важнейших биокаталитических систем.

Проблемы строения белков многократно освещались в литературе и не являются объектом рассмотрения в данной статье. Мы должны обратить внимание на те особенности белков, которые непосредственно связаны с катализом и с этой точки зрения истолковать некоторые физико-химические свойства, общие для белков различной природы.

Белки сами по себе являются катализаторами множества реакций. Можно считать установленным, что для проявления их каталитических функций необходима не вся макромолекула, а лишь некоторые определенные группировки, которые можно назвать аналогами «активных центров» гетерогенного катализа<sup>36</sup>.

Портер приводит следующие данные, обобщающие результаты исследований ряда авторов, изучавших природу групп, необходимых для проявления биологической активности белков (см. табл. 2).

Сангер<sup>37</sup> показал, что инсулины различного происхождения, значительно отличающиеся друг от друга по строению, могут тем не менее обладать одинаковыми физиологическими свойствами, для проявления которых, по-видимому, необходима определенная структура лишь небольшой части молекулы.

Даже денатурация, приводящая к глубоким изменениям в структуре белка и необратимым снижениям растворимости, в отдельных случаях, как доказал Самнер<sup>38</sup> для уреазы, не сопровождается полной потерей активности.

Мы наблюдали резко выраженный каталитический эффект белков (казеина и альбумина) на реакцию окисления индиго-кармина пере-

кисью водорода, причем денатурация не уничтожала полностью каталитические функции белка<sup>39</sup>.

Первичные белки могли образоваться по механизмам, описанным Акабори и Берналом, из простых азотистых соединений на поверхности частиц глин или аналогичных пород. Высокий молекулярный вес, способность к гидратации, повышенная вязкость облегчали сосредоточивание их в ограниченном пространстве и возникновение фазовых границ.

Несомненно гидролитические процессы приводили к частичному разрушению полипептидных цепей, но они, возможно, обусловили и большее разнообразие продуктов синтеза, поскольку аминокислоты, получившиеся в результате гидролиза, могли стать в иных условиях материалом для синтеза.

ТАБЛИЦА 2

Фермент	Группы, имеющие существенное значение для каталитической активности	Фермент	Группы, имеющие существенное значение для каталитической активности
Амилаза поджелудочной железы	амино-	Папаин	фенольная, сульфгидрильная
Бета-амилаза	фенольная, дисульфидная	Пепсин	фенольная
Химотрипсин	то же	Фосфатаза	амино-
Лизоцим	амино-, карбоксильная, амидная гуанидиновая, гидроксильная, дисульфидная	Рибонуклеаза	то же
		Трипсин	индольная, амидная

Можно думать, что белки различной природы были первыми типами биокатализаторов, причем функции активной группы выполнялись сравнительно простыми сочетаниями атомов, включенными в пептидные цепи.

Протобелки, вероятно, не обладали разнообразными каталитическими функциями, но наиболее активные из них были отобраны в процессе эволюции. Важнейшее свойство, которое сделало в дальнейшем белки носителями ферментных функций, заключается в том, что белки обладают «внутренней связанностью». Это значит, что в их молекулах имеются такие совокупности атомов, по которым энергия может передаваться на большие расстояния (см. далее, гл. IV).

Полупроводниковые свойства белков обусловили развитие частицы белка как целого. Если химический процесс, развивающийся в одной точке молекулы, совсем не сказывается на других ее частях, то молекулу в сущности можно рассматривать как состоящую из двух автономных частей и свойства одной из них (например масса) могут вообще не влиять на функции другой.

В белках дело обстоит иначе и для проявления биологических функций оказывается необходимой огромная масса белковых молекул.

Трактуя белок как «единую» систему, можно объяснить его опорную роль в клетке и тот факт, что белковые частицы в ходе эволюции не подверглись дезагрегации, а наоборот, усложнились.

Другое свойство белков, делающее их основой огромного большинства биокатализаторов — это способность резко повышать каталитическую активность и селективность ионов металлов, комплексных соединений металлов и некоторых органических соединений, обладающих каталитическими свойствами.

Несмотря на наличие определенных каталитических функций у белков, характерной чертой большинства биокатализаторов является двой-

ственность строения. Она выражается в том, что фермент содержит, кроме белка, еще небелковую часть, часто именуемую коферментом или активной группой, более или менее прочно связанную с белком. В отдельных случаях прочность связи так мала, что фермент практически полностью диссоциирует на белковый «носитель» и активную группу.

В процессе действия фермента субстрат подвергается влиянию и активной группы и белка,—они, таким образом, объединяются в промежуточном комплексе.

Активные группы ферментов были следующим структурным элементом, сформировавшимся за длительный период, отделяющий момент возникновения жизни от времени появления первых органических веществ.

Нет сомнения в том, что ионы металлов играли и играют выдающуюся роль в образовании и действии даже тех ферментов, активные группы которых считаются несодержащими металл.

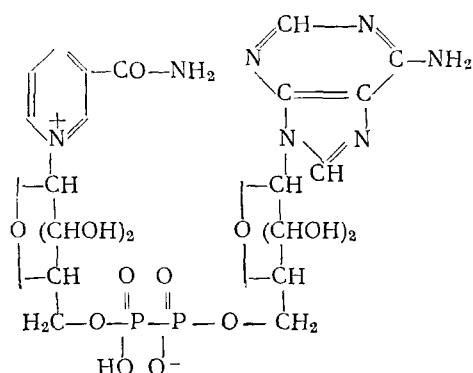
Каждый год приносит новые открытия таинственных зависимостей между активностью ферментов и содержанием в них малых количеств того или иного металла. Редуктаза нитратов содержит молибден; карбонангидраза — цинк; для действия флавопротеинов необходима медь. Пиридоксальные ферменты, по-видимому, нуждаются в железе и меди и т. д.<sup>40</sup>.

Область проявления каталитических функций ионов металлов простирается от самых слабых взаимодействий, когда нельзя утверждать, что металл вступил в соединение с ферментом или его субстратом, до случаев, в которых металл прочно связан с протопорфириновым ядром, фиксированным на белке. Поэтому роль металлов в генезисе сложных активных групп ферментов нельзя недооценивать. Уже в ранних стадиях биоэволюции металл (ион) играл роль того центра, к которому тяготели группы атомов в органических молекулах, способные образовывать комплексы. Результатом этого было: во-первых, сближение различных молекул, во-вторых, изменение их электронного состояния, затем разнообразные редокс-процессы с участием центрального иона и, наконец, синтез новых типов биокатализаторов с высокой активностью, в которых ион оставался включенным в прочный комплекс. Ниже мы подробнее рассмотрим типы действия ионов металлов. Сейчас обратим внимание на особенности строения важнейших активных групп.

В ранние периоды развития жизни атмосфера имела восстановительный характер и биокатализаторы, регулирующие перенос водорода, играли несомненно важную роль. Таким образом, анаэробные дегидразы представляют собой древние типы биокатализаторов.

Окислительная атмосфера, сформировавшаяся около 800 млн. лет назад, открыла новые возможности в синтезе катализаторов. Разность химических потенциалов между кислородом и окисляемыми веществами, с одной стороны, и продуктами окисления, с другой,—была использована при помощи механизмов аэробного дегидрирования и переноса электронов, причем наиболее эффективными оказались белково-порфириновые комплексы.

Металлопорфириновые комплексы, содержащие железо, ванадий, медь включились в процессы переноса, образовав активные группы оксидаз. Они вошли в состав каталазы, разлагающей перекись водорода, гемоглобина и гемоцианина, обратимо связывающих кислород, полифенолоксидазы, цитохромов и, вероятно, ряда других биокатализаторов. Если относительно каталазы еще возникают споры по поводу механизма действия, то характер функций цитохромов (*a*, *b*, *c*) не вызывает сомнений—они играют роль переносчиков электронов в цепи переноса водорода. Эти же комплексы сыграли решающую роль и в развитии средств фотосинтеза.

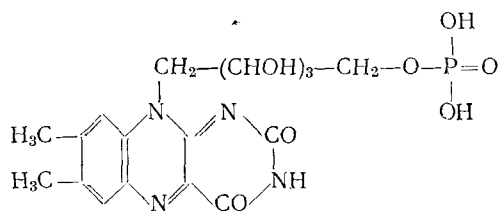


Активная группа анаэробных дегидраз представляет собой сложное соединение дифосфопиридиннуклеотид (кодегидраза I). Эти дегидразы отдают водород не кислороду, а другим акцепторам. Их характерной особенностью является высокая активность и легкость диссоциации на активную группу и носитель — белок. Природой этого белка и определяется специфичность действия дегидразы. Схема строения активной группы показана ниже.

Активная группа ряда дегидраз состоит из трифосфопиридиннуклеотида (кодегидраза II), отличающегося от ДФН тем, что он содержит на один остаток фосфорной кислоты больше.

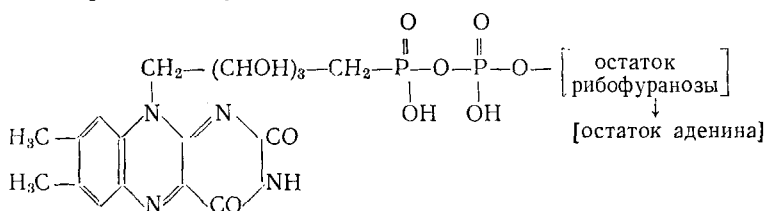
При аэробном дыхании водород, отнятый у субстрата этими дегидразами, передается флавиновым ферментам, цитохромной системе или «дыхательным пигментам». Субстратом действия этих дегидраз являются кислоты: молочная, яблочная, янтарная, глутаминовая, а также глюкоза, гексозомонофосфат и др.

В состав активной группы флавиновых ферментов — аэробных дегидраз — входит рибофлавин. Строение активной группы показано ниже:



Флавиновые ферменты могут передавать водород непосредственно кислороду. При этом обратимое окисление и восстановление фермента сопровождается изменением желтой окраски, свойственной окисленной форме, в бесцветную — гидрированную. К этой группе ферментов относится известный желтый дыхательный фермент, среди различных субстратов которого имеется гексозомонофосфат, играющий исключительно важную роль в процессах обмена.

Окисление аминокислот катализируется дегидразой с активной группой — аденинфлавидинуклеотидом:

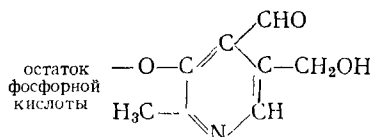


Несмотря на относительную сложность строения, различные дегидразы, приспособленные для воздействия на субстраты, вовлекаемые в

обмен веществ, удивительно однообразны по типу структуры активной группы. То же можно сказать о катализаторах порфириновой группы, которые регулируют процессы окисления и переноса электронов.

Создается уверенность, что функции «приспособления» к особенностям субстратов неизменно выполняет белок.

Активная группа аминотрансфераз, переносящих аминокислоты, состоит из фосфопиридоксала:



С этим веществом аминокислота образует комплекс. Комплекс затем разлагается, давая кетокислоту и продукт, отличающийся от пиридоксала тем, что альдегидная группа заменена группой  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ . Эта фосфопиридоксаминальная форма аминотрансферазы реагирует с кетокислотой, причем возникший таким путем комплекс, распадаясь регенерирует исходный фермент—пиридоксальную форму аминотрансферазы, а кетокислота превращается в соответствующую аминокислоту, содержащую аминокислотную группу в новом положении.

Соображения, касающиеся возможных химических путей образования тех или иных биокатализаторов, представляют значительный интерес с точки зрения эволюционной теории происхождения жизни. Не меньший интерес вызывает вопрос о том, почему именно эти, а не иные катализаторы стали универсальными инструментами для решения задач метаболизма у разнообразных организмов.

По-видимому, первичными каталитическими механизмами были те, которые обеспечивали течение процессов переноса водорода и процессов гидролиза. Металлопорфирины, столь важные для окислительных процессов с участием кислорода, включились в биокатализ позже и вполне возможно, что они были присоединены к белкам как наиболее эффективно действующие комплексные катализаторы. Действительно, в то время как структурные элементы дегидраз обладают вполне определенным сходством с дезоксирибонуклеиновой кислотой, а активные группы белков-катализаторов часто являются просто частями молекул аминокислот, образующих данный белок, металлопорфирины, как и хлорофилл, отличаются особым своеобразием строения и вовсе не похожи на полипептидные структуры. То же относится, по-видимому, и к сложным, специфически действующим биокатализаторам типа кобаламина, возникшим позже в период значительного усложнения форм жизни.

Эволюция от иона железа до железо-порфиринового комплекса, по Кальвину, происходила в период, который он называет химической эволюцией (около двух миллиардов лет). Синтез порфирина, по мнению Кальвина, происходил через следующие этапы: радиация, действуя на воду и углекислый газ, вызвала образование муравьиной и щавелевой кислот. Двухуглеродные соединения при облучении дают четырехуглеродные, в частности получается янтарная кислота. Образование аминокислот при действии ультрафиолетового излучения на растворы нитратов, содержащие формальдегид и соли железа, является бесспорным экспериментально установленным фактом. Возникший таким путем глицин, реагируя с янтарной кислотой, и образовал порфириновые циклы<sup>1</sup>.

Присоединение белка и образование гемопротейнов относится к началу эпохи биологической эволюции.

Граник, изучавший биосинтез хлорофилла<sup>41</sup> считает, что сходство гема и хлорофилла обусловлено тем, что оба эти вещества до стадии протопорфирина образуются одинаковым путем и лишь затем начинают-



ся разветвление пути на «железную» и «магниевую» ветви. Автор предполагает, что цепь биосинтетических реакций повторяет стадии, через которые шло эволюционное развитие пигментной системы.

По Красновскому, первичными фотосенсибилизаторами были, вероятно, порфирины. У наиболее древних автотрофов обнаружено наличие свободных порфиринов; они действовали в восстановительной атмосфере и содержали восстановленную форму порфирина. Свободные порфирины в силу особенностей их спектра не могут обеспечить достаточно полного использования видимой части солнечного спектра<sup>42</sup>. Далее эволюция привела к образованию хлорофилла, причем внедрение магния в структуру порфирина привело к повышению активности и, видимо, обусловило связь комплекса с гистидином белка-носителя. Красновский полагает, что белковые соединения каротиноидов являются менее древними фоторецепторами, чем порфириновые молекулы.

Более сложны пути синтеза таких продуктов, как порфирины, пурины, полипептиды, нуклеиновые кислоты.

Бьюкенен и Вильсон указывают, что биосинтез пуринов и пиримидинов<sup>43</sup> проходит через промежуточные продукты типа щавелево-уксусной, уреидо-янтарной и оротовой кислоты; муравьиная кислота,  $\text{CO}_2$  и глицин могут включаться в пуриновое основание инозиновой кислоты.

Из этого, конечно, не следует, что именно так происходил синтез тех предшественников органических оснований, которые требовались для образования простейших аналогов нуклеиновых кислот. Относительная простота этих соединений и возможность образования подобных им веществ при действии радиации на первичные неорганические продукты заставляют думать, что предполагаемые прообразы РНК, ДНК и связанных с ними протобелков могли возникнуть на поверхности земли сходным путем.

По Шемину, для синтеза пуринов исходными веществами служили гликокол и янтарная кислота. Аммиак, гликокол, формильный остаток, по-видимому, необходимы для образования пуриновых и пиримидиновых соединений<sup>44</sup>. Однако, как правильно указал Опарин, для осуществления этих сложных процессов, состоящих из ряда последовательно совершающихся превращений, необходима организация, определяющая временные и пространственные соотношения отдельных реакций<sup>3</sup>.

Еще в большей степени это относится к синтезу нуклеиновых кислот, который, как считает Рока, идет через следующие этапы<sup>45</sup>. Полифосфорная кислота, образование которой постулируется уже в ранние эпохи развития жизни, дает с глицериновым альдегидом полиглицеринальдегидфосфат. Эта сложная молекула, последовательно реагируя с ацетальдегидом, аммиаком, щавелево-уксусной кислотой, гликоколом и остатком формила —  $\text{CHO}$ , образует дезоксирибонуклеиновую кислоту. Вполне очевидно, что требуется особое сочетание специфических условий для накопления в одном месте таких продуктов.

Образование полипептидов из аминокислот соответствует затрате свободной энергии (от 400 до 3000 кал/моль). Для объяснения хода реакции предполагается, что источником энергии могут быть реакции с участием аденозинтрифосфорной кислоты. С другой стороны Акабори прямыми опытами доказал возможность образования полипептидов за счет поликонденсации аминонитрилов, катализируемой частицами глины.

Таким образом, любое предположение, объясняющее возникновение типичных для биологических систем соединений должно включать допущение о действии некоторой организации будь то механизм сопряжения экзо- и эндоэргонических процессов, адсорбент, обладающий каталитическими свойствами, или коацерватная капля как предполагает Опарин.

На основании этих соображений мы можем себе представить отдельные этапы эволюции биокатализаторов в виде следующей приближительной схемы.

1. Образование аминокислот на поверхности глин и частично в гомогенной среде под влиянием радиации и каталитического воздействия вития поверхностей раздела.

2. Процесс образования полипептидных цепей, протекающий в сопряжении с реакцией разрушения макроэргических связей — возможно простых соединений фосфора типа фосфатов железа. Вариантом этого этапа является возникновение особого механизма, в котором аминокислоты активируются и соединяются в прототип белка, причем постепенно формируется шаблон для воспроизводства определенных сочетаний аминокислот.

Остается открытым вопрос, является ли шаблон собственно белком или фосфорилированным сочетанием оснований и углеводов прообразом РНК. Во всяком случае синтез первичных шаблонов из полифосфатов и, вероятно, альдегидов мог привести к их успешному функционированию лишь при наличии определенной организации. Первичная организация состоит просто в образовании коллоидных частиц и развитии поверхностей раздела.

Несомненно структуры типа коацерватов играли важнейшую роль в действии первичных мало эффективных катализаторов. Вероятно, отбор привел к тому, что сохранились те механизмы, которые обеспечивали использование имеющихся разностей химических потенциалов и при этом самовоспроизводились. Дегидразы и феразы типа пиридоксальных ферментов, возможно, являются одними из самых древних биокатализаторов.

3. Отбор тех катализаторов, которые активируются на белках, был важным этапом в развитии ферментов. Из возникающих белков преимущество имели белки, обладавшие широким спектром каталитических функций. Таким образом закрепились те виды белков, в которых сейчас обнаруживаются, по выражению Болдуина, «вмонтированные» активные группы — прочно связанные с основным каркасом белковой молекулы. Но вместе с тем происходило соединение белков с теми низкомолекулярными веществами, которые обладали каталитическими свойствами и повышали уровень активности за счет этого соединения.

Исследование множества моделей активных групп показывает, как трудно найти такую группу, которая бы активировалась на произвольно выбранном белке. При этом прочность соединения с белком не имеет решающего значения. Во многих случаях сочетание белок (активная группа) — субстрат возникает при участии ионов металлов, выполняющих роль «сцепки» в момент каталитической реакции.

4. Развитие кислородной атмосферы открыло новый источник энергии и вызвало синтез новых типов ферментов, структура которых резко отличается от структур дегидраз. Вместе с тем получил развитие и фотосинтез. Одни и те же порфириновые комплексы оказались подходящими для формирования катализаторов типа оксидаз и для образования хлорофилла.

Из множества различных металлсодержащих комплексов были выбраны именно порфириновые по причинам, которые мы рассмотрим ниже.

Таким образом, завершилось развитие цепи катализаторов, ныне переносящих водород от окисляемого вещества к кислороду воздуха.

5. Усложнение структур катализаторов и их носителей происходило так, что каждая новая реакция, присоединяющаяся к тем, которые ведут воспроизводство данной структуры, могла либо разрушить структуру, либо подвергнуться с ее стороны регулированию. Последнее мы

и наблюдаем в сохранившихся структурах. За счет развития механизмов регулирования структура развивалась и создавались те «обратные связи», которые ныне достигли высокой степени совершенства.

#### IV. ИОНЫ МЕТАЛЛОВ И БИОКАТАЛИЗ. МОДЕЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ

Роль ионов металлов, особенно переходного типа, в ходе эволюции биокатализаторов весьма значительна. В настоящее время имеются доказательства того, что ионы металлов способны катализировать процессы гидрирования молекулярным водородом, декарбоксилирование, процессы разложения бикарбонатов, гидролитические реакции.

Каталитическими свойствами обладают не только ионы металлов переходного типа, но и ионы калия или натрия, действующие подобно ионам водорода, и способные, например, ускорять процессы конденсации в гомогенной среде<sup>46</sup>.

Ионы металлов играют роль активаторов ряда ферментов, например, аминопептидаз (ионы марганца и ионы магния). Наконец, ионы металлов образуют высокоактивные комплексные соединения, входящие в состав активных групп некоторых ферментов.

Характерные черты действия ионов и вероятные этапы развития металлосодержащих биокаталитических систем могут быть поняты из наблюдений над действием металлов в доступных нам объектах и обобщения результатов исследований моделей биокатализаторов.

По-видимому, ни один способ действия ионов металлов в биологических системах на разных ступенях их развития в настоящее время не потерял полностью своего значения. Поэтому, изучая эффекты, характеризующие каталитические свойства ионов, мы можем надеяться правильно истолковать формы их участия в эволюции биокатализаторов.

Рассмотрим последовательно эти свойства, начав со случаев, когда ион является только инициатором цепного процесса.

Одним из самых распространенных и наименее специфических эффектов надо считать возбуждение цепных процессов ионами переменной валентности (железо, медь, кобальт и др.). Вопрос о том, насколько распространены в биологических системах каталитические эффекты, связанные с цепными реакциями, т. е. с действием свободных радикалов, очень сложен. По-видимому, действие ряда ферментов, в частности каталазы, обусловлено образованием промежуточных продуктов, а не развитием цепей. Однако, как указывает Михлин, вопрос о цепном механизме действия липоксидазы до сих пор остается открытым<sup>47</sup>.

На ранних ступенях развития биокатализа генерация свободных радикалов несомненно могла играть значительную роль (см. выше, глава I). Термином «ориентация» целесообразно обозначить очень слабое взаимодействие ион — субстрат, когда не удается доказать наличия определенных соединений, и каталитический эффект по отношению к иону не строго специфичен. Правда, тщательное исследование в ряде случаев ориентационного действия, вероятно, обнаружит лабильные соединения, но все же, например, наблюдавшийся нами эффект ускорения реакции окисления индигокармина перекисью водорода на границе раздела бензол — вода, содержащей ионы марганца в слабо кислой среде, трудно связать с определенными промежуточными соединениями.

В клетках растений возможна общая или частичная замена элементов кальция на стронций, молибдена на вольфрам, ванадий, калия на рубидий и т. д. Это обстоятельство несомненно связано с активирующим действием ионов металлов на различные ферменты. Неспецифическое действие ионов на активность ферментов, описанное, напри-

мер, в монографии Кальвина и Мэртела, возможно, отчасти базируется на таких явлениях<sup>46</sup>.

Более тесное взаимодействие иона и субстрата приводит к новым эффектам. Это прежде всего многочисленные редокс-процессы, в которых ион меняет валентность и служит передатчиком электронов.

Окисление аскорбиновой кислоты, цистеина, глутатиона и т. п. под влиянием ионов меди может служить примером этой распространенной формы каталитических функций металлов<sup>46</sup>. Сюда, вероятно, следует отнести интересные явления ускорения ионами меди процессов переноса водорода. Дегидразы, считавшиеся до недавнего времени ферментами, не содержащими металла, в действительности нуждаются в ионах переходных металлов для проявления активности.

Малер указывает, что лишь недавно стало известно о существовании флавопротеинов, содержащих металл, способных окисляться цитохромами. Автор отмечает, что металл при флавопротеиновом катализе увеличивает устойчивость промежуточного семихинона; с другой стороны,— металл обеспечивает прямую связь между флавином и двумя молекулами акцептора в пределах одного комплекса—это создает возможность переноса электронов в пределах молекулы. Наличие иона металла, играющего роль «сцепки» между донором и акцептором обеспечивает реагирующей системе необходимую внутреннюю «гибкость». В флавопротеинах содержатся медь, железо или молибден (возможны также и другие металлы), в зависимости от природы фермента<sup>48</sup>.

Мы предприняли исследование реакций переноса водорода от аскорбиновой кислоты к метиленовой сини. Эта реакция совершается чрезвычайно быстро под действием света; в темноте она также проходит, но значительно медленнее. Чтобы выяснить не играют ли роль ускорителей в этой реакции какие-либо примеси солей металлов, мы добавили к раствору метиленовой сини небольшое количество вещества, способного образовывать прочные и плохо растворимые комплексы с ионами тяжелых металлов. Для этой цели особенно подходит трилон, т. е. этилендиаминтетрауксусная кислота, обычно применяемая в составе оксидантов для удаления следов металлов, катализирующих окислительные процессы. Другим веществом, пригодным для указанной цели, является купферон, также дающий прочные комплексы, не обладающие каталитической активностью.

Опыты показали, что добавление к метиленовой сини трилона или купферона резко тормозит скорость обесцвечивания красителя под влиянием аскорбиновой кислоты; торможению подвергается и световая и темновая реакции. Это наводит на мысль, что реакция переноса водорода от аскорбиновой кислоты к метиленовой сини катализируется следами каких-то металлов, имеющихся в красителе.

Мы попытались ускорить реакцию между метиленовой синью и аскорбиновой кислотой, добавляя к раствору соли различные металлы. Были исследованы соли алюминия, натрия, магния, меди, железа, кобальта, никеля, титана, хрома. Отчетливое ускорение реакции наблюдалось только в присутствии меди. Таким образом, медь способна катализировать перенос водорода не только в металлофлавопротеинах, но и в гораздо менее сложных системах, обуславливая эффекты, которые обычно приписывались непосредственно взаимодействию окислителя и восстановителя<sup>49</sup>.

Металлы, не способные изменять валентность, могут производить каталитические эффекты, вызывая сильную поляризацию молекулы, которая связана с этим металлом. В связи с этим следует упомянуть о действии ионов алюминия, изученном в работах Корнберга с сотрудниками<sup>50</sup>. Процессы совершаются в зоне, которая охватывает ион и

имеет больший или меньший радиус, в зависимости от природы участвующих в процессе веществ.

Гудо полагает, что и в этих случаях имеют место электронные переходы. Она рассмотрела различные случаи взаимодействия в системе фермент — металл — субстрат<sup>51, 52</sup> и отметила следующие характерные особенности, зависящие от природы иона и адденда.

Окислительно-восстановительный потенциал катиона поляризующего молекулу субстрата должен быть достаточно высок, чтобы субстрат мог окисляться; необходимо наличие такого количества донорных групп, которое соответствовало бы числу валентных электронов, принимаемых ионом металла. Это условие объясняет неудачу попыток декарбоксиллировать щавелево-уксусную кислоту при помощи свободного иона магния. Действительно, этот катион дает октаэдрические комплексы с тремя молекулами указанной кислоты, но может принять только два электрона. В этом случае не может происходить каталитическая реакция между двухвалентным ионом металла и тремя молекулами субстрата: чтобы мог реализоваться переход электронов связующие группы комплексообразователя не должны иметь вполне равных зарядов. Так, например, ион алюминия не катализирует декарбоксиллирование ацетоуксусной кислоты, так как все шесть связующих групп, образованные тремя хелатирующими агентами, имеют существенно равный отрицательный заряд.

Следующий тип активных сочетаний, включающих ион металла, это комплексы, в которых повышение активности иона достигается посредством связывания его с определенными аддендами, не являющимися субстратом реакции.

Исследование каталитической активности сравнительно просто построенных комплексов открывает интересные перспективы. Действительно, количество прочных соединений, содержащих металл и являющихся активными группами ферментов, очень ограничено и, что особенно интересно, одна и та же структура, именно протопорфириновое ядро, лежит в основе строения совершенно различных биокатализаторов. В то же время число каталитически активных комплексов металлов очень велико.

Вопрос о том, почему оказались непригодными все остальные комплексы едва ли может быть разрешен ответом, что все они просто не были достаточно активны. Мы далее покажем, что многие из них фактически обладают очень большой активностью, приближающейся к уровню активности фермента. Очевидно, те каталитически активные типы, которые были отобраны в процессе эволюции, обладали особым сочетанием свойств, необходимым для функционирования в рамках всей химической системы клетки.

Комплексные соединения меди, изучавшиеся в нашей лаборатории в течение ряда лет, с точки зрения катализа представляют собой благодарный материал для исследования проблем моделирования активных групп ферментов — особенно каталазы. Активность этих «медных моделей» настолько высока, что она почти в миллион раз превышает активность простого иона меди.

Мы исследовали каталазную активность комплексов меди, содержащих в качестве аддендов аминокислоты, амиды кислот, амины, диамины, ди- и трипептиды, биурет, триурет, гетероциклические соединения и некоторые виды белков<sup>53–55</sup>.

Исследование этих моделей позволило обнаружить ряд закономерностей, имеющих общее значение. Прежде всего для проявления высокой активности оказалось необходимым наличие четырех координационно связанных атомов азота около иона меди. Введение атомов кислорода в координационную сферу приводит к резкому снижению активности. Далее, хелатирование, т. е. образование «клетшеобразных»

структур, получающихся когда адденд закрепляется в координационной сфере по крайней мере двумя полярными группами, как правило, приводит к росту активности. Природа адденда имеет существенное значение. Особенно активны комплексы с аммиаком, биуретом, триметилендиамином и пропилендиамином.

Активные комплексы легко разлагаются концентрированными растворами перекиси. Для исследования их активности необходимо применять 0,05—0,1 молярные растворы перекиси и поддерживать в растворе небольшой избыток свободного амина.

При большом избытке амина активность падает; это связано с образованием комплексов с координационным числом 6. В таких комплексах нет «реакционного пространства» около иона, в которое должна войти молекула перекиси или анион  $\text{HO}_2$ . Обычные акцепторы свободных радикалов, например метилметакрилат, не влияют на скорость каталитической реакции, ускоряемой комплексными ионами, — этим катализ комплексами существенно отличается от катализа простыми ионами, действующими по радикально-цепному механизму. Мы предполагаем поэтому, что катализ идет в этом случае через образование промежуточных продуктов.

Гудо проанализировала вопрос о том, почему определенные виды аддендов, исследованных нами, дают с медью особенно активные комплексы. При помощи метода молекулярных орбит Гудо рассчитала заряды на атомах аддендов в комплексе. Ее представления о механизме реакции в общих чертах совпадают с нашими — реакция совершается внутри промежуточного комплекса, состоящего из комплексного соединения меди и двух молекул перекиси (или молекулы и иона  $\text{HO}_2$ ). Ион металла является посредником при переносе электронов. Гудо считает, что диамагнитный ион меди, образуя комплексы с гибридизацией  $sp^2$  (как у железа в каталазе), имеет мало шансов притянуть электроны на единственную ненасыщенную орбиту. Необходимо, чтобы комплекс адденд — металл соответствовал гибридизации  $dsp^2$ , оставляющей свободной одну из орбит  $p$ ; это позволило бы иону металла осуществить связь с первой молекулой субстрата. Для связи со второй необходимо, чтобы адденды делокализовали пару электронов у иона металла.

Адденды должны быть «донорами» и содержать значительное число  $\pi$ -электронов (как, например, в случае биурета, дающего очень активный комплекс). При наличии определенной делокализации электронов в пределах адденда, те его атомы, которые образуют связь с ионом, должны иметь повышенный ионизационный потенциал<sup>56</sup>.

Перекрытие волновых функций, весьма вероятно, имеет место и в тех случаях, когда речь идет о дальнейшей активации комплекса в результате адсорбции.

Другой важной особенностью действия медных моделей каталазы следует считать неизменность энергии активации реакции. Несмотря на громадное ускорение процесса разложения перекиси, вызываемое действием комплексов, энергия активации остается практически без изменений<sup>57</sup>. Следовательно, ускорение приходится отнести за счет энтропийного множителя. У порфириновых комплексов, в частности у гемина, есть важное свойство — он способен к дальнейшей активации. Как показал Лангенбек<sup>15</sup>, активность гемина можно увеличить присоединяя к нему имидазол и пиридин. При этом выясняется, что в то время, как сам гемин не является вполне специфичным катализатором, — он ускоряет реакцию разложения перекиси водорода и реакции окисления перекисью водорода, соединение гемина с имидазол-сульфоновокислым натрием ускоряет именно эту последнюю реакцию и при том в 12 раз сильнее, чем гемин. Таким образом, присоединяя новые адденды, удается повысить и активность и специфичность ката-

лизатора комплексного типа. По мысли Лангенбека, в этом направлении и надо искать объяснение исключительного влияния белка-носителя на свойства активной группы.

Повышение активности за счет комплексообразования не исчерпывает всех средств активации действующих при синтезе биокатализаторов. Активация и увеличение избирательности достигается, как правило, путем фиксации активной группы (например, металлопорфиринового комплекса) на белке. В свое время блестящие исследования Лангенбека показали, что идя путем моделирования, можно раскрыть истинную структуру активной группы фермента. Имеются попытки применить тот же прием и при изучении роли носителя. Работы Лаутша с сотрудниками<sup>58</sup> показали, что, фиксируя различные порфириновые соединения на полимерах, можно не только увеличить активность, но и получить изменение спектра поглощения, сходное с тем, которое наблюдается при фиксации порфиринов на белках.

Комплексные соединения железа (гемин) сильно активируются при адсорбции на угле. Надо заметить, что если сравнить порядок, в котором повышается активность гемина вследствие адсорбции на различных углях с порядком повышения активности иона железа на тех же углях, то окажется, что порядок расположения углей одинаков и для иона железа и для гемина<sup>59</sup>. Таким образом, способность к адсорбционной активации, свойственная иону сохраняется и у комплекса.

Все эти особенности порфириновых соединений железа поставили их в исключительное положение по сравнению с другими комплексами. Ионы меди на угле не активируются и подбор активирующих носителей для этого иона сопряжен с большими трудностями.

Наконец, все попытки активировать «медные модели» каталазы путем адсорбции приводили к обратному результату — к потере каталазной активности. Следовательно, неустойчивость активных комплексов меди к действию перекиси, отсутствие у комплексов склонности к активации при адсорбции, необходимость поддержания избытка адденда в растворе при катализе сделало соединения меди мало подходящими для создания ферментов типа каталазы.

Обратимся теперь к моделям окислительных ферментов. Мы изучали окисление аскорбиновой кислоты и пирогаллола соединениями меди. Из всех испытанных комплексов только медногистидиновый комплекс и комплекс медь — инсулин оказались более активными, чем сами ионы меди. При этом адсорбция медногистидинового комплекса на инсулине позволила еще больше повысить активность<sup>60</sup>.

Более детально было исследовано Корпусовой и мной<sup>61</sup> окисление пирогаллола кислородом. Комплексные соединения меди оказались весьма активными катализаторами, причем наибольшей активностью обладали комплексы с моноэтаноламином, этилендиамином и пропилендиамином. Энергия активации обнаруживает в этой реакции заметную зависимость от природы адденда, хотя в общем и здесь энтропийный фактор играет решающую роль. В этой реакции, как мы установили, и сами по себе адденды обладают каталитической активностью; их активность повышается при связывании с ионом меди. Особенно интересно то обстоятельство, что аминные комплексы меди в этой реакции могут быть активированы при фиксации на белках.

Подводя итог рассмотрению различных случаев каталитического действия ионов металлов, которые могли иметь или имеют значение в биологических объектах, мы суммируем их в виде следующей таблицы (табл. 3).

Какие же свойства представляются важными для того, чтобы то или иное соединение могло быть использовано при формировании биологического катализатора? Мы можем с известной долей осторожно-

ТАБЛИЦА 3

Характер действия иона	Пример
Инициирование цепной реакции	Окисление бензальдегида в присутствии ионов кобальта
Слабое ориентирующее действие: «сцепка»	Ускорение ионами марганца катализа окисления индиго-кармина перекисью водорода в эмульсии бензола. Возможна активация ионами марганца и магния лейцинаминопептидазы
Редокс-процессы	Окислительный катализ в присутствии ионов меди, железа и др.
Образуются лабильные комплексы иона с субстратом	Перенос водорода, катализируемый ионами меди
Поляризационное действие	Декарбоксилирование кетокислот в присутствии ионов алюминия
Катализ комплексами металл — адденд	Разложение перекиси водорода аминными комплексами меди. Катализ порфириновыми комплексами
Катализ комплексами, фиксированными на носителях	Окисление пирогаллола комплексами меди — этаноламин на альбумине
Катализ комплексами на специфических белках	Действие ферментов типа каталазы

сти указать следующие физико-химические характеристики как критерий биохимической ценности катализатора:

1. Активность.
2. Активируемость, т. е. способность при относительно небольших изменениях структуры сильно изменять активность.
3. Способность к адсорбционной активации — это по существу крайнее выражение свойства 2. Активация при адсорбции выражает способность менять активность при слабых воздействиях на молекулу катализатора.
4. Способность снижать энергию активации катализируемой реакции и усиливать этот эффект при адсорбции на специфическом носителе.
5. При усложнении структуры способность сохранять связи между отдельными элементами структуры — «внутренняя связанность».

Комплексные соединения, обладающие каталитической активностью, должны иметь планарную структуру, соответствовать координационному числу 4, и поскольку речь идет о катализе окислительно-восстановительных процессов, содержать хелатные структуры, связанные с центральным ионом металла атомом азота. Только те из них, которые активируются при адсорбции и действуют, снижая энергию активации, имели преимущество в ходе биохимической эволюции. Вполне вероятно требование, чтобы комплекс был способен к адсорбционной активности и функционировал не за счет энтропийного фактора, а за счет снижения энергии активации, равносильно требованию, чтобы этот комплекс находился с активирующим носителем в энергетической связи.

Эта связь может, по-видимому, осуществляться через зоны проводимости или «проводниковые пути» по терминологии, примененной автором в его ранних работах<sup>62</sup>.

Сцент-Дьерди<sup>63</sup> подчеркивает в качестве характерной особенности биологических структур их внутреннюю связанность. Имеющийся экспериментальный материал, по мнению этого автора, дает основание утверждать, что миграция энергии по белковой молекуле есть бесспорный факт. Правда, вопрос о механизме переноса энергии он оставляет открытым. В предисловии к этой книге А. Н. Теренин указывает на возможность и правдоподобность переноса энергии по триплетным и синглетным уровням в белке. Сцент-Дьерди считает, что «вся молекула белка



составляет одну единую систему и энергия, сообщенная ей, будет принадлежать всей системе в целом» (<sup>63</sup>, стр. 26).

В связи с этим полезно отметить, что включение в биологически активные вещества таких цепей, по которым взаимное влияние атомных групп передается сравнительно слабо, создает новые и более жесткие условия для отбора. Это, в частности, относится к цепям типа  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ . В интересных работах Шорыгина и Алауне, касающихся оптических свойств молекул в связи с вопросом взаимного влияния атомных групп, авторы пришли к заключению, что мостики  $\text{CH}_2$  разобщают изученные ими группы фенила, амино- и  $\text{C}=\text{C}$  <sup>64</sup>. Наличие таких цепей-«изоляторов» приводит к тому, что молекула АТФ, имеющая пуриновый и «фосфатный» концы, должна свертываться таким образом, чтобы ее концы пришли в тесное соприкосновение. Тогда создаются условия для передачи энергии от фосфатного конца к пуриновому. Эта удивительная способность АТФ проявляется в присутствии иона магния, который, по-видимому, играет роль «моста» для переноса электронов от фосфата к пурину. Следовательно, ионы металла позволяют преодолевать те препятствия для внутреннего энергетического объединения отдельных частей биологической системы, которые возникают как результат включения в систему цепей-«изоляторов». Крайне интересны в том же аспекте случаи, когда в биологических системах можно без существенного нарушения каталитических функций разрушать значительные части сложной макромолекулы. Так, уреазы может быть подвергнута значительному разрушению ее белковой части, причем ферментная активность почти не страдает.

Молекула папаина состоит из 180 остатков аминокислот. Энгельгардт в своем докладе на VIII Менделеевском съезде подчеркнул значение того факта, что из структуры этого фермента можно удалить 120 остатков аминокислот и исходная ферментная активность все же сохранится на 99% <sup>65</sup>.

Трудно объяснить эти явления, но одно из возможных толкований заключается в предположении, что между активной группой и удаляемыми частями энергетическая связь слаба. Возможно, что в ходе эволюции биологически активные вещества сохраняют некоторые «рудиментарные» части, когда-то игравшие роль, а затем отделившиеся от эволюционирующих участков своеобразным изолирующим энергетическим барьером.

## V. ЭТАПЫ ОРГАНИЗАЦИИ И ЕЕ ОСОБЕННОСТИ

Вопрос, поставленный Берналом Опарину о том, что появилось раньше — белки или нуклеиновые кислоты <sup>3</sup>, Опарин считает неправомерным. По-видимому, оба компонента этого воспроизводящего сочетания развивались совместно, хотя мы, к сожалению, не можем указать их первичных форм и уверенно проследить ход их эволюции. Первичный синтез аминокислот, когда он совершался в гомогенной среде, например, под влиянием радиации, не требовал сложной специальной организации. Но уже появление полипептидов, а также синтез протобелков нуждался в ней.

Сам Бернал разделил процесс возникновения жизни на семь стадий: первая характеризовалась отсутствием взаимодействий и вся гидросфера была местом развития микромолекулярных процессов; на второй имела место фиксация минеральными агрегатами «субвитальных» единиц; третья стадия — это стадия коацерватов, на четвертой появились нуклеопротеиновые системы, способные к некоторому обмену веществ; пятая и шестая связаны с появлением липопротеиновых мембран и возникновением клетки, содержащей митохондрии и на

седьмой стадии появляется ядро<sup>66</sup>. К этому следует добавить стадии отбора коацерватных систем, которые содержали вещества, способные повышать каталитическую активность посредством адсорбции, развитие связей, обусловленных переносом электронов, организацию пространственного расположения частей сопряженной системы, обеспечивающего использование микроэргических связей и соответствующий перенос групп атомов, появление шаблонов и аппарата саморепродукции.

Вопрос о том, каким образом постепенно создавались все более сложные формы организации и почему дело шло именно «так», а не иначе, необычайно труден. В настоящее время мы еще не знаем тех общих принципов, туманной иллюстрацией которых является доступная нам картина биохимической эволюции.

Однако кажется очевидным, что любая реакция оставляет в окружающей среде некоторые изменения, не отмеченные ее уравнением — это температурные, диффузионные, радиационные и другие изменения; появление фазовых границ; эффекты, связанные с детонацией и т. п. По отношению к данной реакции эти последствия могут быть благоприятными, т. е. облегчать развитие определенного процесса, или наоборот задерживать, блокировать его. Первый тип процессов имеет больше шансов на длительное существование, так как он сам для себя создал надлежащую «организацию». С другой стороны, если созданная реакцией «организация» облегчает — катализирует реакцию, то мы уже имеем дело с саморепродукцией и в то же время с тем, что в кибернетике называют «обратной связью».

Этот термин обозначает такое влияние данного процесса на среду, в результате которого среда начинает изменять течение процесса. Обычными примерами обратной связи в механических устройствах служат центробежные регуляторы; в химических системах примером процесса с обратной связью может служить горение топлива, создающее поток воздуха, усиливающий горение.

Усиление или ослабление, достигаемое при помощи обратной связи, лежит в основе деления ее на положительную и отрицательную связь.

Особенностью обратной связи в физико-химических и, следовательно, биологических объектах является чрезвычайное многообразие форм ее осуществления. Действительно, процесс в данной среде может влиять на свое собственное развитие многими способами. В частности, образование катализаторов самовоспроизведения есть также вид обратной связи в биохимических системах. Вполне понятно, что этот случай соответствует наиболее устойчивой системе и, таким образом, необходимым условием устойчивости должно быть наличие связей в широком смысле этого слова.

Следовательно, в ходе эволюции отбирались те формы организации, которые обеспечивали наиболее совершенные виды связи и регулирования. Простейшей организацией были, по-видимому, различные фазовые границы. На них происходила адсорбция, вносящая определенные закономерности во взаимное расположение и относительную концентрацию молекул. Адсорбция, конечно, приводила и к каталитическим эффектам. Как мы упоминали, даже адсорбция на границе раздела вода — углеводород является причиной ускорения некоторых реакций. Алумосиликаты обладали в этом отношении еще гораздо большими возможностями. Из всех продуктов полимеризации на поверхности этих адсорбентов дальнейшему развитию подверглись те вещества, которые будучи сами катализаторами, обеспечивали некоторые формы связи.

Вероятно, это были формы, основанные на действии зон проводимости в образовавшихся протобелках. Возникшие соединения были

сначала только катализаторами и сохранялись именно благодаря тому, что катализ играл роль защиты от тех химических влияний, которые могли разрушить образовавшуюся структуру.

Еще в 1941 г. Липман<sup>67</sup> показал, что энергия, освобождающаяся в процессах переноса водорода, в клетках не рассеивается и не переходит в теплоту благодаря сопряженному фосфорилированию, приводящему к образованию макроэргических связей, т. е. к повышению химической активности определенных веществ. Здесь системы биокатализаторов предотвращают рост энтропии и хаотизацию структур и способствуют сохранению организации. Первая стадия эволюции и заключалась, вероятно, в отборе каталитически активных веществ.

Коацерватные капли, которым придает такое большое значение Опарин, были, по-видимому, наиболее подходящей и перспективной формой сохранения отбора и развития катализаторов в эпоху, когда организация носила зачаточный характер. Указанные Опариным замечательные свойства коацерватов, в частности их способность к селективной адсорбции, делает теоретические основы его взглядов убедительными<sup>3</sup>. Так, некоторые из коацерватных капель могли избирательно поглощать из окружающего раствора активные соединения, в частности, порфирины. Порфирины вступают в соединение с железом, повышая его каталитическую активность. Если такого рода ускорение, подчеркивает далее Опарин, было бы полезно для биологической устойчивости этих капель, то в процессе отбора эти капли получали бы значительное преимущество по сравнению с другими аналогичными системами.

Заметим, что эффективный катализ включает разделение сложного процесса на ряд стадий, соответствующих небольшим изменениям химического потенциала и энергии активации. Уже здесь потребовался механизм переноса электронов и, вероятно, атомов водорода по цепи донор — акцептор и, следовательно, катализаторы не только должны были развиты надлежащий аппарат, но и пространственно расположиться определенным образом. Здесь мы встречаемся со своеобразной «геометрией» биокатализа.

Талмуд еще 20 лет назад предложил в общих чертах модель «обмена веществ». Он считал, что молекула белка, имеющая форму замкнутой поверхности — глобулы, должна обладать рядом отверстий, размеры которых приблизительно соответствуют площади бензольного кольца. Через эти отверстия в полость глобулы могут проникать простейшие аминокислоты и образовывать там более крупные фрагменты белковых частиц, уже не способные выйти обратно. При этом предполагалось, что среда внутри глобулы благоприятствует конденсации, а внешняя среда содержит фермент, разрушающий полипептиды. Талмуд произвел ряд опытов, показавших, что белки захватывают из раствора этиловый эфир гликоля, который при небольшом повышении температуры легко превращается в продукт конденсации — дикетопиперазин, причем часть этого вещества, удержанная белком, остается в растворе<sup>68</sup>.

Известные исследования Крамера и др.<sup>69</sup> над соединениями включения, когда одна молекула («гость») поглощается полостью, имеющейся в другой — «хозяине» (или в кристалле «хозяина»), показали, что такое поглощение способно привести к значительным изменениям состояния молекулы — гостя, в частности, наблюдаются сдвиги окислительно-восстановительного потенциала, изменения окраски, каталитические эффекты и т. д.; отсюда можно заключить, что процессы, совершающиеся внутри полостей макромолекул, несомненно играли роль в эволюции биокатализаторов и должны рассматриваться как один из сложных случаев действия пограничных поверхностей.

Тем не менее этот механизм совершенно недостаточен для объяснения развития белковых структур — его необходимо дополнить такими формами организации, которые допускают энергетическое сопряжение. Они должны обеспечивать использование макроэнергетических связей богатых энергией соединений, или, если речь идет о синтезе белковоподобных веществ, играть роль первичного шаблона типа РНК, возможно ориентирующего аминокислоты или растягивающего соответствующий шаблон. Вполне возможно, что уже на уровне сложных коацерватов появились зародыши такой организации.

Мысль о существовании «первичной матрицы», образование которой связано с полифосфатами, была выдвинута Рока, но не получила экспериментального обоснования. Энергетическое сопряжение при соответствующих пространственных условиях могло означать переход к синтетической стадии действия первичных катализаторов. Разумеется, те синтезируемые вещества, которые в силу своей природы или формы, в которой они выделялись, могли разрушить систему катализаторов (в коацервате или комплексе типа соединений включения), именно это и делали, а потому крайне медленный отбор зафиксировал лишь те случаи, когда синтез приводил к укреплению и воспроизведению синтезирующей системы.

Интересные модельные опыты были выполнены Воробьевым и Шапот<sup>70</sup>, изучавших взаимодействие глобулярных белков с высокополимерными ДНК и РНК. При этом были получены комплексы, имевшие характер искусственных структур, очень похожих по свойствам на протоплазматические структуры. Структуры состоят из нуклеопротеидов и в соответствии с этим разрушаются под действием дезоксирибонуклеазы, активированной ионами магния. При соединении глобулярных белков с ДНК получающийся продукт приобретает эластичность, типичную для протоплазматических структур. Автор придает важное значение этим образованиям, полагая, что вещества такого типа служат физико-химической основой структуры протоплазмы. В действительности на современной стадии синтез сложных белков требует не только РНК, но и весьма развитой организации. Как полагают, образование богатых энергией соединений совершается на митохондриях, обладающих своеобразной тонкой структурой и содержащих ряд ферментов, определенным способом расположенных друг относительно друга.

Собственно синтез белка сосредоточивается на других цитоплазматических частицах — микросомах.

Для выяснения вопроса, какой «уровень» организации необходим для синтеза белка и ферментов интересны результаты работ Хесина и Гейла и Фолкса. Хесин<sup>71</sup> изолировал секреторные гранулы из клеток поджелудочной железы и показал, что в них идет синтез амилазы.

Гейл и Фолкс<sup>72</sup> разрушали бактериальные клетки действием ультразвука; после тщательного удаления уцелевших клеток добавляли к суспензии полную смесь аминокислот, нуклеиновые кислоты и источник энергии, состоящий из гексозодифосфата и аденозинтрифосфорной кислоты. После этого в смеси происходил синтез белка и возрастала ферментативная активность суспензии. Особенно важно, что рибонуклеиновая кислота в опытах синтеза ферментов может быть заменена смесью пуриновых и пиримидиновых оснований, нужных для ее синтеза.

В соответствии с точкой зрения Опарина, трудно допустить, что на ранних стадиях биохимической эволюции сразу образовалась такая сложная структура, как рибонуклеиновая кислота. Однако вполне вероятно, что менее сложные соединения, способные к саморедукции, могли возникнуть там, где имелись аминокислоты, органические основания и, наконец, источник энергии, сопряженный с ними.

## VI. ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ

Для понимания смысла процессов развития сложных органических структур, предшествовавших образованию живого вещества первичных организмов, необходимо принять во внимание, что эти процессы происходили в открытых системах.

Опарин подчеркивает, что длительное существование протоплазмы, постоянство ее форм связано не с неизменностью, не с покоем, а с постоянством движения<sup>3</sup>. Поэтому протоплазма является не статичной, а стационарной или поточной системой.

За последние годы уделяется значительное внимание разработке термодинамики открытых систем. Крупный исследователь в этой области — Пригожин разделил все ограниченные системы на открытые, закрытые и изолированные<sup>73</sup>. К первым он отнес системы, в которых осуществляется постоянный обмен со средой как в отношении вещества, так и энергии; в закрытых системах обмен ограничивается только энергией, обмен веществом не имеет места. Изолированные системы не обмениваются с внешней средой ни веществом, ни энергией. Процессы, протекающие в открытых системах, существенно отличаются от тех, с которыми мы привыкли иметь дело в обычной термодинамике.

Такие системы, содержащие катализатор, способны смещать положение равновесия. Пасынский подчеркивает, что в открытой системе могут протекать процессы с уменьшением энтропии за счет их термодинамического сопряжения с процессами увеличения энтропии в окружающей среде<sup>74</sup>.

Это важное обстоятельство наглядно иллюстрируется характерными свойствами любого живого организма, вся деятельность которого состоит в процессах развития, связанных с локальным уменьшением энтропии и с процессами роста энтропии, поскольку организм переводит вещества, обладающие высоким значением обобщенного потенциала в продукты с пониженным потенциалом.

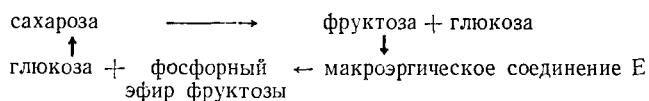
Прингл<sup>75</sup> отметил, что для живых веществ характерно сопряжение химических реакций в открытых системах, связанное с понижением энтропии за счет увеличения ее в окружающей среде. Автор считает, что указанное выше обстоятельство имеет фундаментальное значение. Он сопоставляет это локализованное снижение энтропии в процессах, совершающихся в живых организмах, с процессами «аутокаталитического» синтеза. Последний термин должен означать, как указывает Опарин, лишь динамическую непрерывность эволюции всей живой системы. Согласно взглядам Прингла, первоначально возникшая открытая система не обладала определенными реальными границами, а представляла собой некоторое увеличение концентрации реагирующих веществ в различных точках первичного океана.

Японский ученый Сугита считает, что молекулярные рои и флуктуации, возникновение которых в конце концов привело к образованию коацерватных структур, также оказались результатом развития необратимых процессов в открытых системах<sup>76</sup>.

Хотя, по мнению Франка<sup>77</sup>, способность всего живого к самовоспроизведению должна быть присуща достаточно сложным органическим молекулам, мы не располагаем удовлетворительными моделями, которые могли бы послужить для изучения таких явлений. Представляет большой интерес вопрос, является ли развитие самовоспроизводящихся систем необходимостью в определенных условиях. Классическая термодинамика этого не требует, но и не находится в противоречии с биологическими фактами.

Суть дела в том, что термодинамика оставляет открытым вопрос о способах перехода системы в состояние, отвечающее равновесию. Рассматривая биохимическую эволюцию, мы, конечно, не можем говорить о равновесии в том смысле, в каком о нем говорят, когда речь идет об изолированной системе. Однако, рассматривая частные процессы в биологических объектах, мы склонны искать в них черты, свойственные самопроизвольным превращениям и оценивать возможность процесса по знаку прироста величины соответствующей характеристической функции. Вот тут-то мы и убеждаемся, что понятие частного процесса весьма расплывчато. Наряду с самопроизвольными превращениями, идущими, например, в сторону роста энтропии и вполне удовлетворяющими требованиям термодинамики, обнаруживаются многочисленные «активные реакции»<sup>78</sup>, когда вещество переносится против градиента концентрации, когда возникают устойчивые соотношения концентраций продуктов синтеза и распада, совершенно не соответствующие равновесию и т. д. Внимательный анализ открывает во всех этих случаях механизм сопряжения, причем энергия, нужная для его функционирования, черпается из запаса макроэргических связей, а сами эти связи получаются, например, при окислении глюкозы «законным» термодинамическим путем.

Афанасьева<sup>79</sup> проанализировала причины возникновения соотношений концентрации отклоняющихся от термодинамически допустимых и предложила следующий цикл, в котором пути синтеза и распада различны. Различие получается за счет энергии макроэргических связей, доставляемой другими циклами:



При постоянной концентрации соединения E отношение концентрации сахарозы к сумме концентраций продуктов ее распада поддерживается на одном и том же уровне и только при  $E=0$  сахароза полностью разлагается на глюкозу и фруктозу.

Литература по «активным реакциям» довольно обширна<sup>77</sup>, но конечно, во всех случаях постулируется некоторый механизм сопряжения, в результате чего термодинамика не нарушается, но оказывается перед картиной совокупности процессов, которые она не могла предвидеть. Имеем ли мы право заключить, что именно это появление механизма сопряжения и есть та общая закономерность, которую надо добавить к постулатам термодинамики, для увеличения эффективности ее прогнозов относительно биологических систем?

Если проследить за ходом эволюции биокатализаторов, то создается впечатление, что относительно небольшое число характерных структур, свойственных живым существам всех известных нам видов, создает необозримое множество механизмов, обеспечивающих развитие огромного числа высших форм жизни. Поскольку, например, кистеперая рыба не особенно сильно отличается по составу своих биокатализаторов от человека, различие между ними должно быть приписано различию в степени сложности механизмов сопряжения, дающим возможность человеку создавать в своей творческой деятельности структуру с весьма низкой энтропией. Отсюда следует, что эволюция шла именно в направлении развития и усложнения этих механизмов. С точки зрения кибернетики это, конечно, механизмы с обратной связью.

По-видимому, нет оснований отказаться от взгляда, что развитие таких каталитических сопряженных механизмов есть общая закономерность, включение которой в термодинамику было бы вполне естествен-

ным, хотя и потребовало бы преодоления трудностей, связанных с отысканием строгой формулировки. Названная закономерность носит статистический характер в том смысле, что из всех возможных путей выравнивания постоянно существующих разностей химических потенциалов в конце концов отбираются те, которые связаны с развитием самовоспроизводящихся структур. Это значит, что если в данный момент производится один опыт, то появление такой структуры есть событие практически невероятное. Даже если одновременно производится огромное число опытов в различных условиях, то и тогда вероятность ее появления очень мала. Но при многократном повторении в течение длительного времени окажется, что все остальные пути выравнивания разностей потенциалов отступают на второй план, так как они не имеют шансов быть пройденными много раз и только путь, ведущий через образование самовоспроизводящихся структур, остается наиболее надежным. Такой путь, как это фактически имеет место в клетке, связан с преодолением наименьших активационных барьеров и организован так, что реакции, освобождающие энергию, не имеют возможности хаотизировать структуру и увеличить ее энтропию; «противоэнтропийная защита» осуществляется посредством образования богатых энергией соединений, переноса групп, а также, по-видимому, посредством передачи энергии возбуждения на значительные расстояния по каналам или путем проводимости.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. М. Кальвин, Возникновение жизни на земле, Сб. докладов, Изд. АН СССР, 1957, стр. 342.
2. W. Rubey, The Geol. Soc. Amer. Special Paper, **62**, 631 (1955).
3. А. И. Опарин, Возникновение жизни на земле, Изд. АН СССР, 1957.
4. S. L. Miller, Science, **117**, 528 (1953); J. Am. Chem. Soc., **77**, 2351 (1955).
5. Т. Е. Павловская, А. Г. Пасынский, Возникновение жизни на земле. Сб., докладов, Изд. АН СССР, 1957, стр. 102.
6. H. C. Urey, The Planets. Yale Univ. Press. N. Y., (1952).
7. W. M. Garrison, G. K. Rollefson, Disc. Faraday Soc., **12**, 155 (1952).
8. К. Бахадур, Возникновение жизни на земле, Сб. докладов, Изд. АН СССР, 1957, стр. 90.
9. Л. А. Николаев, И. Н. Барщевский, ЖФХ, **28**, 265 (1954); Сб. Проблемы кинетики и катализа, Изд. АН СССР, **8**, 61 (1955).
10. Д. М. Шуб, Г. С. Тюрикова, В. И. Веселовский, ЖФХ, **34**, 2245 (1960).
11. Ш. Акабори, Возникновение жизни на земле, Сб. докладов, Изд. АН СССР, 1957, стр. 119.
12. J. D. Bernal, Physical Basis of Life, London, 1954.
13. А. В. Фрост, Нефть, хоз., **24**, 39 (1946); Сб. Происхождение нефти и природных газов, под ред. А. В. Топчиева и др., Изд. ЦИМТ нефти, М., 1947.
14. Л. А. Николаев, Кинетика и катализ, **1**, 94 (1960).
15. N. Langenbeck, Die organische Katalysatoren, Berlin, 1938.
16. Р. Д. Корпусова, Л. А. Николаев, Сб. Кинетика и катализ, Изд. АН СССР, 1960, стр. 244.
17. W. Frankenburg, Katalytische Umsetzungen, Leipzig, 1937, стр. 293.
18. H. Euler, A. Euler, Ber., **39**, 45 (1906).
19. J. D. Bernal, Science a. Culture, **19**, 228 (1953).
20. S. Fox, J. Johnson, A. Vegotsky, Science, **124**, 923 (1956).
21. Р. Л. Синг, Возникновение жизни на земле, Сб. докладов на симпози., Изд. АН СССР, 1957, стр. 175.
22. В. Л. Кротович, Основы биохимии растений, Изд. «Сов. наука», 1956, стр. 332.
23. А. Клуйвер, К. Ван-Ниль, Вклад микробов в биологию, ИЛ, 1959, стр. 35.
24. F. Westheimer, J. Biol. Chem., **202**, 687 (1953).
25. T. Geissman, Quart. Rev. Biol., **24**, 309 (1949); Л. А. Блюменфельд, Изв. АН СССР, сер. биол., 1957, 285.
26. Ф. Липман, Проблемы биохимии, ИЛ, 1948, стр. 55.
27. А. Е. Браунштейн, Возникновение жизни на земле; Сб. докладов на симпози., Изд. АН СССР, 1957, стр. 28.
28. Г. Борсук, Сб. Современные проблемы биохимии, ИЛ, 1957, стр. 7.
29. B. Askones, P. Campbell, T. Work, Biochem. J., **56**, 4 (1954).
30. Ф. Гауровитц, Цит. по Браше, Сб. Нуклеиновые кислоты, ИЛ, 1959, стр. 344.

31. Е. Хаммарстен, там же, стр. 344.
32. Ж. Браше, там же, стр. 345.
33. М. Стефенсон, Метаболизм бактерий, ИЛ, 1951.
34. М. Флоркэн, Биохимическая эволюция, ИЛ, 1947.
35. Р. Л. Синг, Происхождение жизни на земле; Сб. докладов, Изд. АН СССР, 1957, стр. 178.
36. Р. Портер, Сб. Белки, под ред. Г. Нейрата и К. Бэйли, ИЛ, 1958, т. III, стр. 7.
37. F. Sanger, Nature, **164**, 529 (1949).
38. J. Sumner, Science, **108**, 410 (1948).
39. Л. С. Киценко, Л. А. Николаев, Сб. Кинетика и катализ, Изд. АН СССР, 1960, стр. 239.
40. Д. Нейландс, П. Штупф, Очерки по химии ферментов, ИЛ, 1958.
41. Chem. a. Engng. News, **31**, 748 (1953).
42. А. А. Красновский, Происхождение жизни на земле, Сб. докладов на симпозиуме, Изд. АН СССР, 1957, стр. 358.
43. J. Buchanan, D. Wilson, Federat. Proc., **1953**, № 12, 646.
44. D. Chemin, Conf. et rapp. du 3-ème Congress intern. de biochimie, Bruxell, Liege, 1956, стр. 197.
45. L. Roka, Vergl. biochemische fragen, Springer verl., 1956.
46. A. Martel, M. Calvin, Chemistry of the Metal Chelate Compounds, Prentice Hill, 1952.
47. Д. М. Михлин, Биологическое окисление, Изд. АН СССР, 1958.
48. Г. Малер, Сб. Современные проблемы биохимии, ИЛ, 1957, стр. 319.
49. Л. А. Николаев, Кинетика и катализ, **1**, 94 (1960).
50. Kornberg, Oscho, Mehler, J. Biol. Chem., **174**, 159 (1948).
51. A. Goudot, C. r., **244**, 1949 (1952).
52. А. Гудо, ЖФХ, **31**, 1203 (1957); **34**, 2137 (1960).
53. Л. А. Николаев, ЖФХ, **25**, 712 (1951); **31**, 923 (1957).
54. Л. А. Николаев, Chim. Phys., **51**, 752 (1954).
55. Л. А. Николаев, Вестник АН СССР, 1960, № 3, 13.
56. А. Гудо, ЖФХ, **34**, 2137 (1960).
57. Л. А. Николаев, А. П. Сычев, Научн. докл. Высш. школы, 1958, № 1.
58. W. Lautsch, W. Broser, W. Bidermann, H. Grichtel, Angew. Chem., **66**, 5, 123 (1954).
59. Л. А. Николаев, Сообщ. о работах об-ва им. Д. И. Менделеева, 1950, № 4, 17.
60. Л. А. Николаев, Вестн. МГУ, 1947, № 1, 71.
61. Р. Д. Карпусова, Л. А. Николаев, Докл. Высшей школы, 1958, № 2, 233.
62. Л. А. Николаев, Сб. Гетерогенный катализ, Изд. АН СССР, 1949, т. VI.
63. Спент Дьерди, «Биоэнергетика», Госфиз.-мат. лит., М., 1960.
64. П. П. Шорыгин, З. Б. Алауне, ЖФХ, **34**, 2299 (1960).
65. В. А. Энгельгардт, Усп. химии, **28**, 1028 (1959).
66. Д. Бернал, Возникновение жизни на земле. Сб. докладов, на симпозиуме, Изд. АН СССР, 1957, стр. 37.
67. F. Lirshapp, Advances Enzymol., **1**, 99 (1941).
68. Д. Л. Талмуд, Строение белка, Изд. АН СССР, 1940.
69. Ф. Крамер, Соединения включения, ИЛ, 1958.
70. В. И. Воробьев, В. С. Шапот, Биохимия, **18**, 603 (1953).
71. Р. Б. Хесин, там же, **18**, 4462 (1953).
72. E. Gale, J. Folkes, Nature, **173**, 1223 (1954).
73. G. Prigogine, Introduction to thermodyn. of irrevers. processes, Springfield, U. S., 1955.
74. А. Г. Пасынский, Биохимия, **18**, 644 (1955).
75. J. Pringl, New Biology, **16**, 54 (1953).
76. M. Sugita, Bull. Kobagasi Inst., **5**, 171 (1955).
77. F. Frank, Biochem. et biophys. acta, **11**, 459 (1953).
78. А. Гизе, Физиология клетки, ИЛ, 1959, стр. 138.
79. П. В. Афанасьева, Изв. АН СССР; сер. биол., 1953, № 3, 64.

Моск. институт инженеров  
железнодорожного транспорта  
им. И. В. Сталина