

УДК 541.128

АКТИВАЦИЯ КИСЛОРОДА МЕТАЛЛОФЕРМЕНТАМИ И ИХ МОДЕЛЯМИ

Козлова Н. Б., Скурлатов Ю. И.

Приведен обзор работ по изучению активации молекулярного кислорода металлоферментами и их моделями.

Библиография — 105 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	234
II. Особенности реакций внутрисферного переноса электрона и промежуточных комплексов с частичным переносом заряда	235
III. Лигандные свойства молекулярного кислорода и реакционная способность металлкислородных комплексов	239
IV. Активация кислорода металлосодержащими ферментами	242

1. ВВЕДЕНИЕ

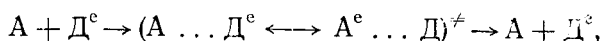
Описание биологических окислительно-восстановительных процессов на уровне элементарного акта практически неосуществимо из-за сложности белковых объектов исследования. На помощь приходят различные рода модельные системы, которые в упрощенном виде воспроизводят те или иные функциональные особенности биологических систем.

В обзоре мы ограничимся рассмотрением вопросов моделирования элементарных механизмов действия металлоферментов — катализаторов процессов с участием O_2 [1]. К этим процессам традиционно приковано внимание вследствие большой важности O_2 для жизнедеятельности организмов, в связи с перспективой использования O_2 как экологически чистого окислителя, а также распространенностью процессов с участием O_2 в окружающей среде.

При рассмотрении металлоферментных систем и их моделей следует учитывать химическую и биологическую характеристику каждого элементарного акта. Химическая характеристика для многих ферментных систем имеет общий характер, тогда как биологическая определяет специфичность данной системы, обусловленную структурной особенностью активного центра и всей белковой молекулы металлофермента, динамическими свойствами макромолекул с их многоточечными внутримолекулярными взаимодействиями. Для таких сложных систем делать какие-либо обобщения представляется преждевременным. Химическая же характеристика элементарного акта позволяет с общих позиций рассмотреть механизмы окислительно-восстановительных превращений и в ферментативных, и в модельных системах. Эта посылка и лежит в основе обзора. Его цель — попытка представления биологических окислительно-восстановительных процессов в терминах акта электронного переноса.

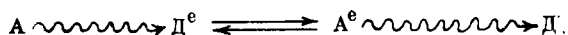
Теория внешнесферного переноса электрона развита в работе [2], а количественный аспект применения теории в работе [3].

Внешнесферный электронный перенос осуществляется в столкновительном (неориентированном и нестабилизированном) комплексе вследствие флуктуаций диполей среды, выравнивающих уровни энергий начальных и конечных состояний [2, 3]:



где А — акцептор электрона, D^{\bullet} — одноэлектронный донор. Энергия реорганизации растворителя при внешнесферном электронном переносе зависит от числа переносимых электронов квадратично. В силу этого перенос двух электронов по внешнесферному механизму, хотя в ряде случаев и зарегистрирован, осуществляется малоэффективно. В ферментных же системах, если говорить о реакциях с участием O_2 , его восстановление происходит двухэлектронно с образованием O_2^{2-} (H_2O_2), или эффективно четырехэлектронно с образованием O^{2-} (H_2O). Эти реакции осуществляются большей частью в результате образования комплексов O_2 с восстановленными ионами металлов переменной валентности, чаще всего меди и железа. Обобщенно можно назвать такие реакции реакциями внутрисферного электронного переноса.

Часто под внутрисферным подразумевают и внутримолекулярный перенос электрона:



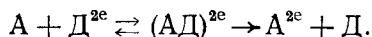
Такой перенос обычно осуществляется либо при наличии в молекуле моستيковых электронпроводящих групп (при «жесткой» молекулярной структуре), либо за счет внутримолекулярных соударений донорно-акцепторных функциональных групп (гибкая динамичная структура).

Рассматривая комплексы электронодонорных частиц с электронакцепторными, Малликен ввел понятие комплексов с переносом заряда (КПЗ) [4, 5]. Роли таких комплексов в окислительно-восстановительных превращениях посвящены работы одного из авторов обзора [6, 7]. Последующее рассмотрение окислительно-восстановительных превращений с участием O_2 в модельных и ферментативных системах проведено с позиций представлений о внутримолекулярном электронном переносе как химическом акте, в котором образование продуктов результирующего переноса электрона осуществляется при распаде промежуточного донорно-акцепторного комплекса с *частичным* переносом заряда (КЧПЗ):



где $(AD)^{\bullet}$ — комплекс ЧПЗ с одноэлектронным внутрисферным переносом.

Аналогичным образом можно представить и результирующий двухэлектронный перенос:

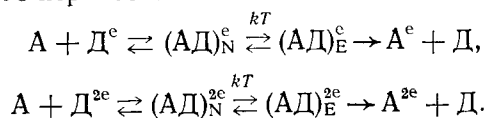


Принципиальное различие между «активированным» столкновительным комплексом и комплексом ЧПЗ заключается во взаимной ориентации и расстоянии между донором и акцептором, точнее — в величине электронно-обменного взаимодействия (V) донорно-акцепторных орбиталей. Во внешнесферном случае реагенты сближаются на расстояние $\geq 4 \text{ \AA}$ и $V < kT$; во внутрисферном случае расстояние между реагирующими частицами меньше суммы их ван-дер-ваальсовых или ионных радиусов, но больше суммы ковалентных радиусов контактирующих атомов, а обменное донорно-акцепторное взаимодействие превышает энергию теплового движения: $kT < V \leq 10 kT$. Очевидно, в зависимости от значений V внутримолекулярный перенос может осуществляться либо по «внешнесферному» механизму, либо по «внутрисферному» (реализуется состояние ЧПЗ). Внутримолекулярный перенос электрона на большие расстояния — наиболее типичное свойство биологических электронно-транспортных систем.

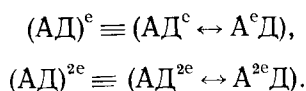
II. ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ ВНУТРИСФЕРНОГО ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНА И ПРОМЕЖУТОЧНЫХ КОМПЛЕКСОВ С ЧАСТИЧНЫМ ПЕРЕНОСОМ ЗАРЯДА

Остановимся на отличительных особенностях донорно-акцепторных комплексов ЧПЗ, благодаря которым они играют важную роль в металлокомплексном и, в частности, металлоферментном катализе. Главная

их особенность — существование быстроустанавливающегося (теплого) равновесия между основным (N) и электронно-возбужденным (E) состояниями. В настоящее время о такого рода комплексах говорят как о примерах редокс-изомерии. Из основного состояния комплекс распадается на исходные реагенты, а из электронно-возбужденного — на продукты электронного переноса:



Благодаря этому комплекс ЧПЗ может вступать во взаимодействие с любой «третьей» частицей, находясь одновременно в двух (основном и электронно-возбужденном) состояниях, может проявлять свойства как исходных реагирующих частиц, так и продуктов электронного переноса. Такая «двойственность» свойств комплексов ЧПЗ имеет наглядную интерпретацию в представлении резонансной теории Малликена [4, 5], согласно которой комплекс ЧПЗ можно представить в виде «суперпозиции» состояний без переноса и с полным переносом заряда:



Одинаковый «вес» предельных структур реализуется при равенстве энергий донорно-акцепторной пары без переноса (i) и с полным переносом (f) заряда в отсутствие электронно-обменного взаимодействия [6, 8]. Разность энергий этих состояний (ΔH_e) можно оценить из термодинамических соображений [5]:

$$\Delta H_e \approx \Delta \sigma_{эл}^0 + RT \ln (K_{c,i}/K_{c,f}),$$

где $\Delta \sigma_{эл}$ — разность редокс-потенциалов донора и акцептора, K_c — константа устойчивости гипотетических комплексов начального и конечных состояний. В случае близости значений $K_{c,i}$, $K_{c,f}$ условие $\Delta H_e \approx \Delta \sigma_{эл}^0 \approx 0$ означает примерное равенство редокс-потенциалов партнеров по связи:

$$\varphi_0 (A/A^{e,2e}) \approx \varphi_0 (D^{e,2e}/D).$$

При наличии значений $K_{c,i}$, $K_{c,f}$ или способов их оценки может быть учтен и вклад эффекта комплексообразования в величину ΔH_e .

Термодинамический фактор определяет не только свойства комплексов ЧПЗ (степень переноса заряда в основном и электронно-возбужденном состоянии зависит от величины ΔH_e), но и относительную вероятность его распада на продукты электронного переноса.

Скорость результирующего переноса электрона при внутрисферном механизме зависит от природы промежуточного комплекса ЧПЗ и термодинамики процесса. Можно выделить два крайних случая [8]: либо скорость электронного переноса определяется скоростью образования комплекса ЧПЗ (как правило, при $\Delta \sigma_{эл}^0 < 0$), либо скоростью распада его на продукты электронного переноса (обычно при $\Delta \sigma_{эл}^0 > 0$).

Поскольку свойства комплексов ЧПЗ и вероятность их распада на продукты электронного переноса зависят от таких параметров как ΔH_e , $\Delta \sigma_{эл}^0$ возможно осуществление нескольких «внешних» механизмов воздействия на эти параметры.

В случае участия в реакциях ионных и сильно полярных реагентов значения $\Delta \sigma_{эл}^0$ зависят от полярности среды. Эффекты сольватации приводят к уменьшению ΔH_e и соответственно к увеличению степени переноса заряда в донорно-акцепторном комплексе. Значительные изменения полярности среды происходят обычно на границе раздела вода — неполярная фаза, в силу чего именно в таких пограничных областях следует ожидать эффективного переноса заряда, индуцированного отно-

сительно небольшими движениями реагирующих частиц в среде с градиентом полярности.

Другой путь осуществления результирующего переноса электрона в комплексах ЧПЗ связан с эффектами сопряжения окислительно-восстановительных и кислотно-основных превращений. Механизм поставки протона к акцептору может быть различным: протон может черпаться из водной среды или от других близлежащих протонных доноров. Переход реакции от ионной к электронейтральной приводит к резкому изменению величин $\Delta\sigma_{3,7}^0$, ΔH_e . Фактически, такое энергетическое сопряжение электронного и протонного переноса выглядит как перенос атома Н при одноэлектронном процессе или гидрид-иона — при двухэлектронном. В белковых макромолекулах существует взаимосвязь между небольшими локальными изменениями относительного расположения атомов в активном центре с изменением структуры всей макромолекулы [9]. В силу этого открывается возможность энергетического сопряжения структурных и электронно-структурных характеристик, сопровождающихся изменением величин V , $\Delta\sigma_{3,7}^0$. Тем самым динамические конформационные свойства макромолекулы определяют и функциональные возможности ее в осуществлении электронного переноса. Любое сопряжение лишь «проявляет» то или иное свойство, присущее ЧПЗ, суть же внутрисферного переноса электрона остается неизменной.

Собственно понятие «внутрисферный» относится обычно к реакциям переноса электрона, протекающим во внутренней координационной сфере ионов переходных металлов.

В отличие от межмолекулярной донорно-акцепторной (валентной) связи, в случае ионов металлов координационная связь носит *коллективный* характер. Благодаря этой особенности, значительные изменения геометрической и электронной структуры комплекса могут происходить без больших энергетических затрат [11]. Два следствия такого коллективного связывания имеют большое значение для осуществления «истинно» внутрисферных реакций электронного переноса.

Первое — касается динамического характера связи металл—лиганд: несмотря на высокую прочность каждой отдельно взятой связи в отсутствие стерических ограничений или хелатообразования, комплексный ион пребывает постоянно в состоянии лигандного обмена. Происходит это либо в результате конформационной нестабильности (динамический эффект Яна — Теплера) [12], либо в результате переходов между близкорасположенными конформационно-возбужденными состояниями комплекса, отличающимися симметрией лигандного окружения и как следствие — электронно-структурными характеристиками центрального иона [9]. У ионов переходных металлов могут быть три типа конформационно-возбужденных состояний:

- 1) При неизменном координационном числе (КЧ) меняется лишь симметрия лигандного окружения, что может повлечь за собой изменение спинового состояния и заселенности d -орбиталей центрального иона.
- 2) При конформационном возбуждении КЧ возрастает на 1 или 2 — в координационной сфере появляются *вакантные* места для вхождения дополнительно одного или двух лигандов.
- 3) При конформационном возбуждении КЧ уменьшается на 1 или 2 — происходит диссоциация (одного или двух) лигандов.

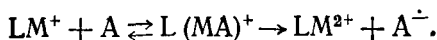
Второе следствие связано с возможностью выделения в качестве «валентной» донорно-акцепторной связи иона металла с редокс-лигандом. Учитывая ограничения на прочность такой связи ($V \leq 10$ кТ) и приведенные выше типы конформационно-возбужденных состояний металлокомплексного иона, можно априори судить о наличии или отсутствии у иона металла мест в координационной сфере, потенциально вакантных для связывания редокс-лиганда с образованием координационного комплекса ЧПЗ [9].

Ионы металлов переменной валентности в окисленном состоянии (M^{2+}) обычно координационно максимально насыщены. В этом случае вхождение редокс-лигандов — двухэлектронного донора (D^{2-}) во внут-

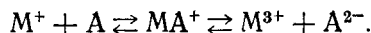
ренную координационную сферу возможно лишь по механизму лигандного замещения:



Напротив, в восстановленной форме металлы зачастую имеют потенциально вакантные места для связывания редокс-лиганда. Вхождение лиганда во внутреннюю координационную сферу осуществляется в этом случае по механизму типа окислительного присоединения:



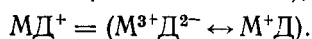
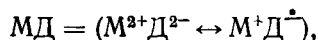
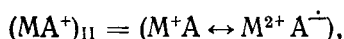
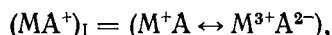
Если A — двухэлектронный акцептор, возможно осуществление внутрисферного двухэлектронного переноса с образованием иона металла в сверхокисленном состоянии M^{3+} :



Аналогичным образом возможно осуществление внутрисферной двухэлектронной реакции и при взаимодействии иона M^{3+} с двухэлектронным донором D^{2-} :

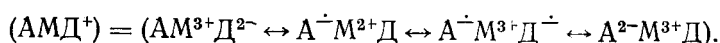
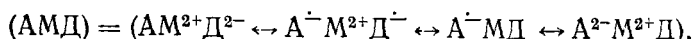
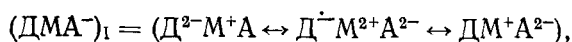


В каждом из рассмотренных примеров одно-, двухэлектронного внутрисферного переноса промежуточный комплекс сосуществует в основном и электронно-возбужденном состояниях, распадаясь соответственно на исходные реагенты, либо на продукты электронного переноса. Чтобы иметь более наглядное представление о природе КЧПЗ, из каких исходных реагентов он образуется и на какие продукты распадается, при описании КЧПЗ удобно воспользоваться символикой Малликена [5], понимая под «предельными структурами» соответственно исходные реагенты и продукты результирующего электронного переноса. В этом случае промежуточные бинарные комплексы ЧПЗ с внутрисферным одно- или двухэлектронным переносом могут быть представлены в виде «суперпозиции» структур без переноса и с полным переносом заряда:



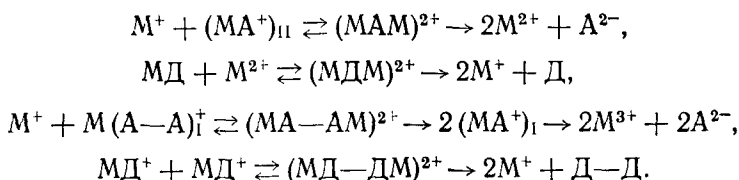
При этом двойная стрелка между состояниями без переноса (исходные реагенты) и с полным переносом заряда (продукты) отражает смешение этих двух состояний при образовании КЧПЗ.

Тройные комплексы ЧПЗ могут включать либо один, либо два иона металла. В первом случае внутрисферный электронный перенос осуществляется в координационной сфере одного иона металла. Образование таких комплексов происходит при взаимодействии бинарных комплексов ЧПЗ с редокс-лигандом. Соответственно могут образовываться четыре типа тройных комплексов:

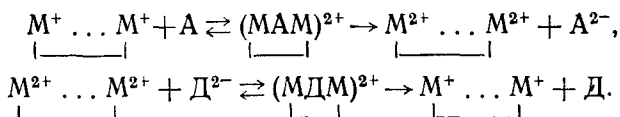


Распад этих комплексов на те или иные продукты электронного переноса определяется соответствующими величинами $\Delta\sigma_{\text{эл}}^0$ и может управляться эффектами энергетического сопряжения, проявляющимися те или иные «предельные» структуры.

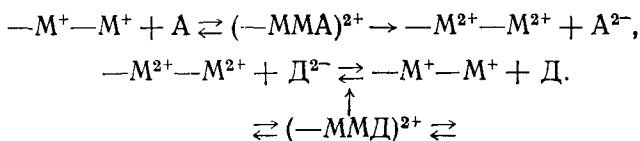
В роли редокс-партнера бинарного комплекса ЧПЗ может выступать и второй ион металла, в результате могут образовываться биядерные мостиковые комплексы ЧПЗ:



Биядерные мостиковые комплексы ЧПЗ могут образовываться и при взаимодействии исходного биядерного металлокомплексного иона (пары) с соответствующим редокс-лигандом:



В осуществлении эффектов энергетического сопряжения могут участвовать и полиядерные кластерные комплексы с сильной связью металл—металл:



Приведенные схемы описывают в общем виде практически все случаи образования молекулярных и координационных комплексов ЧПЗ в окислительно-восстановительных превращениях.

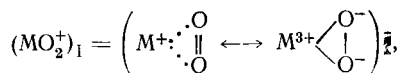
Предложенная классификация КЧПЗ полезна при рассмотрении природы, свойств и реакционной способности промежуточных комплексов, образующихся при осуществлении каталитических редокс-превращений. Фактически, зная структурные и энергетические характеристики иона металла и редокс-лиганда, можно предсказывать возможность образования КЧПЗ, его реакционную способность в отношении «третьих» частиц, преимущественные каналы распада и константу скорости результирующего электронного переноса [7, 10]. Представления о КЧПЗ оказываются весьма продуктивными при анализе как общих вопросов, так и конкретных примеров активации молекулярного кислорода ионами металлов переменной валентности [7].

III. ЛИГАНДНЫЕ СВОЙСТВА МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ МЕТАЛЛКИСЛОРОДНЫХ КОМПЛЕКСОВ

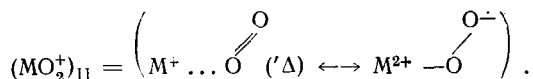
Молекулярный кислород является редокс-лигандом, не обладающим неподеленными парами электронов для образования обычной (σ -донорной) координационной связи. В силу этого обстоятельства вхождение O_2 в координационную сферу иона металла возможно лишь по потенциально вакантному месту конформационно-возбужденного комплекса. Образование донорно-акцепторной металл-кислородной связи осуществляется при частичном переносе одного или двух электронов с t_{2g} -орбитали иона металла, находящегося исходно в восстановленной форме, на разрыхляющие орбитали молекулы O_2 .

Вопрос этот подробно изучен [9, 13, 14] и мы остановимся лишь на геометрической структуре металл-кислородных комплексов. Из соображений симметрии следует, что комбинация орбиталей $\pi^*(O_2)$ и $t_{2g}(M^+)$ может осуществляться двояким образом — с сохранением или нарушением эквивалентности атомов O. В первом случае образуется комплекс ЧПЗ с внутрисферным двухэлектронным переносом с образованием ком-

плекса перекисного типа (кислород как бидентный лиганд):



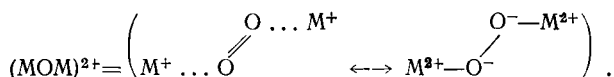
во втором случае — с одноэлектронным, с образованием комплекса супероксидного типа (кислород как монодентный лиганд) «линейной» структуры:



Реализация электронной конфигурации синглетного кислорода (sp^2 -гибридизация атомных орбит) в комплексе «супероксидного» типа подтверждается результатами квантовохимических расчетов [15] и прямым измерением методами ИК-спектроскопии [16]. Наряду со структурой синглетного кислорода, в комплексах «линейной» структуры регистрируется присутствие супероксидного радикала [17, 18].

Комплексы «супероксидного» типа выделены в твердом виде на примере ионов Co^{2+} (d^7) и Fe^{2+} (d^6) [16] в плоском лигандном окружении: салицилиденимины, порфирины и др. макроциклические лиганды. Многие такие комплексы охарактеризованы в растворе методом ЭПР. Это $(\text{OH}^-)\text{Ti}^{4+}\text{O}_2^-$ [19], $\text{Mn}^{3+}(\text{порфирин})\text{O}_2^-$ [20], $\text{Co}^{3+}(\text{коррин})\text{O}_2^-$, витамин B_{12} [21], $\text{Sn}^{4+}\text{O}_2^-$ [22] и др. Аналогичные металл-кислородные комплексы образуются при взаимодействии HO_2 с Ti^{4+} [23] и другими d^0 -элементами (V^{5+} , Zr^{4+} , U^{6+} , Th^{4+} , Mo^{6+}) [23–25], а также при взаимодействии витамина B_{12} в окисленной форме с O_2^- -радикалом [26].

Эквивалентность атомов O в комплексе «линейной» структуры достигается лишь при образовании двукядерных μ -пероксокомплексов:



Комплексы такого типа наиболее характерны для ионов с d^7 -электронной конфигурацией — Co^{2+} [27, 28], а также с электронной конфигурацией d^5 : Mn^{2+} (фталоцианин) в присутствии пиридина [29] и $\text{Ru}^{2+} + \text{ЭДТА}$ в щелочной среде [30, 31]. Аналогичные комплексы образуются при взаимодействии Ru^{3+} ЭДТА с H_2O_2 [31]. Возможно образование двукядерных μ -пероксокомплексов и в случае ионов M^+ с электронной конфигурацией d^9 , d^{10} .

Преимущественное образование того или иного типа кислородного комплекса зависит от наличия одного или двух потенциально вакантных мест в координационной сфере иона металла и от величины $\Delta\sigma_{\text{эл}}^0$ соответствующей реакции электронного переноса.

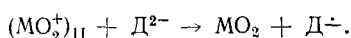
Само по себе связывание O_2 в комплекс с металлами переменной валентности хоть и представляет интерес в плане исследования природных переносчиков O_2 [14], но более существенен вопрос об активации O_2 как окислителя. К активации O_2 приводит полное или частичное восстановление O_2 до таких реакционноспособных продуктов как HO_2 , OH . Следует обратить внимание на то обстоятельство, что чем выше реакционная способность промежуточной частицы, тем меньше шансов ее зарегистрировать или выделить в твердом виде. Поэтому «ненаблюдаемые» кислородные комплексы могут играть роль в активации O_2 .

С точки зрения концепции ЧПЗ реакционная способность координированного кислорода определяется природой кислородного комплекса и возможностью вхождения окисляемого субстрата во внутреннюю координационную сферу иона металла.

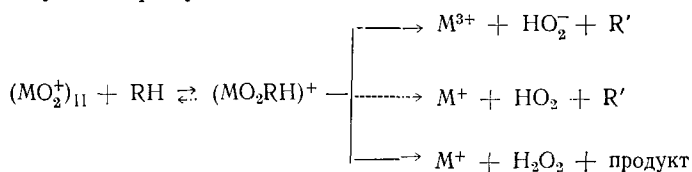
В случае комплексов «супероксидного» типа наиболее характерны реакции трех видов.

1) Реакции внешнесферного переноса электрона подобные реакциям супероксидного радикала [32], но протекающие гораздо более эффективно вследствие увеличения редокс-потенциала кислорода, координи-

рованного высокозарядным центральным ионом:



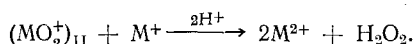
2) Внутрисферные редокс-превращения при *цис*-координации окисляемого субстрата: при этом вхождение субстрата во внутреннюю координационную сферу возможно либо по потенциально вакантному месту, либо по механизму лигандного замещения в *цис*-положении к координированному кислороду.



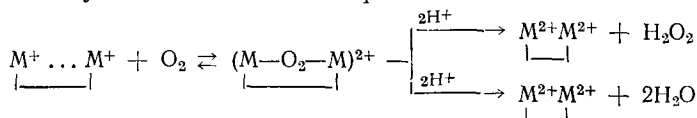
Последняя реакция представляет наибольший интерес, так как в ней происходит двухэлектронное окисление субстрата во внутренней координационной сфере иона металла с образованием в качестве продукта восстановления O_2 пероксида водорода и без результирующего изменения (восстановленного) состояния окисления иона металла. Такая реакция обнаружена на примере окисления аскорбиновой кислоты ионами меди [7, 33—36] и при окислении метанола комплексами $\text{L}_2\text{Cu}^+\text{O}_2$ (L — 2,2'-дипиридил) [37].

При наличии у субстрата восстановительных (ДН^-) и лигандных свойств возможно образование тройного комплекса ЧПЗ, причем субстрат может быть связан с металлом и до взаимодействия с O_2 .

3) Внутрисферные редокс-превращения при взаимодействии со вторым ионом металла. Это — распространенная реакция в процессах автоокисления:



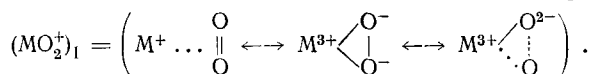
Два иона M^+ могут находиться и в «паре»:



Реакционная способность моноядерных кислородных комплексов перекисного типа обусловлена двумя факторами.

1) Проявление ими реакционноспособных свойств ионов металлов в сверхокисленном состоянии как одно-, двухэлектронных акцепторов. Образование сверхокисленного состояния иона металла может сопровождаться полным или частичным окислением координированных лигандов. Например, автоокисление комплексов Fe^{2+} с 1-гидразинфалазином [38], фосфинами [39] и ЭДТА сопровождается внутрисферным окислением этих лигандов. Вхождение редокс-лиганда в координационную сферу возможно как до взаимодействия M^+ с O_2 , так и после связывания O_2 в комплекс с металлом. Для комплексов перекисного типа характерна высокая реакционная способность в отношении H^+ , OH^- с «проявлением» соответственно координированной перекиси водорода или сверхокисленного иона металла.

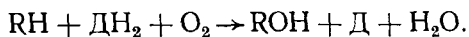
2) В комплексах с сильным двухэлектронным переносом заряда в силу увеличения эффективного заряда центрального иона металла, особенно, в слабополярных средах, вместо структуры пероксида водорода, может оказаться более выгоден разрыв связи $\text{O}-\text{O}$ за счет стабилизации O^{2-} с (частичным) образованием атомарного кислорода [40]:



Соответственно комплексы перекисного типа с сильным переносом заряда могут проявлять реакционную способность, свойственную сверх-

окисленному иону металла, участвовать, подобно атомарному кислороду в реакциях гидроксилирования и эпоксилирования субстратов.

Из модельных гидроксилирующих систем на базе O_2 наиболее широко изучена открытая в 1954 г. Уденфрендом [41] система Fe^{3+}/Fe^{2+} —ЭДТА-аскорбиновая кислота ($ДН_2$), катализирующая реакции типа:



Роль электронного донора в этой реакции сводится к регенерации восстановленной формы этилендиамина-тетраацетатного комплекса железа, участвующего в активации O_2 с образованием кислородного комплекса перекисного типа.

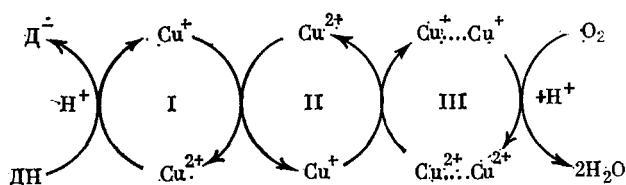
IV. АКТИВАЦИЯ КИСЛОРОДА МЕТАЛЛОСОДЕРЖАЩИМИ ФЕРМЕНТАМИ

Биологические катализаторы процессов окисления молекулярным кислородом широко распространены в природе. Обращаясь к приведенным выше представлениям и характерным механизмам активации O_2 , рассмотрим металлосодержащие ферменты — оксидазы и оксигеназы. Первые используют кислород как электронный акцептор, вторые — как донор атома O [42].

Наиболее изученными являются оксидазы — катализаторы 4-электронного восстановления O_2 до воды: лакказы, аскорбатоксидаза, цитохром *c*-оксидаза. Особенностью всех этих ферментов является пространственное разделение центров трансформации субстрата и восстановления O_2 .

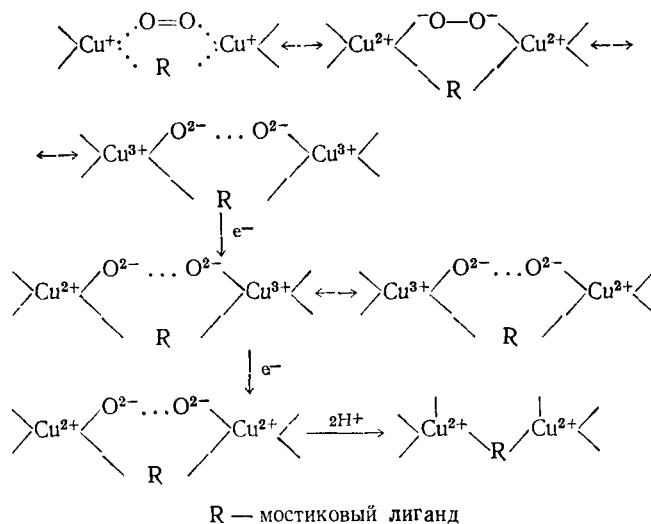
«Голубые оксидазы» (лакказы, аскорбатоксидаза) содержат ионы меди трех типов: ЭПР-детектируемые «синий» (тип (I)) и «несиний» ионы Cu^{2+} (тип (II)), а также пару не детектируемых методов ЭПР ионов Cu^{2+} (тип (III)) [43]. В этих оксидазах осуществляется прямой перенос электрона между ионами меди типа (I) и (II), (II) и (III) [44]. Фактически для этой группы ферментов активация O_2 в процессе окисления субстрата не происходит. Роль O_2 заключается в регенерации окисленной формы фермента. Скорость ферментативной реакции лимитируется взаимодействием субстрата с «синим» ионом Cu^{2+} , тогда как регенерация окисленной формы оксидазы — взаимодействием O_2 с восстановленными ионами типа (III).

Механизм действия лакказы и аскорбатоксидазы однотипен и включает обычную циклическую схему попеременного окисления субстрата — восстановления O_2 :



Окисление восстановленного фермента осуществляется через промежуточное образование дивалентного μ -пероксокомплекса, аналогичного комплексам O_2 с Cu -содержащим переносчиком O_2 (гемоцианином) и церулоплазмином [42]. Восстановление мостикового пероксида водорода в таком комплексе до воды требует передачи двух дополнительных электронов от центра связывания субстрата. Такой электронный транспорт в случае лакказы и аскорбатоксидазы осуществляется через «несиний» ион меди.

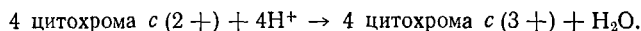
В рамках представления о КЧПЗ механизм 4-электронного восстановления O_2 в «голубых» оксидазах может быть представлен через последовательность следующих внутрисферных превращений ионов типа (III):



Внутрисферное двухэлектронное окисление каждого из ионов меди в двудерном комплексе призвано играть стабилизирующую роль в силу инертности Cu^{2+} в реакциях лигандного замещения. При связывании O_2 скорость внутримолекулярного переноса электрона от центра I к центру III возрастает на два порядка [42], что, по-видимому, и обеспечивает возможность 4-электронного восстановления O_2 до того, как комплекс распадается на H_2O_2 через состояние μ -перокомплекса.

Функциональной моделью аскорбатоксидазы является медь-полимерный комплекс (Cu^{2+} -поливинилпиридин) [44, 45]: в его присутствии аскорбат-анионы окисляются одноэлектронно, а выхода O_2^- -радикалов за пределы макромолекулярного клубка не происходит из-за высокой локальной концентрации ионов меди в металл-полимерном комплексе.

Цитохром *c*-оксидаза — фермент, играющий важную роль в процессах дыхания, катализирует окисление цитохрома *c*:

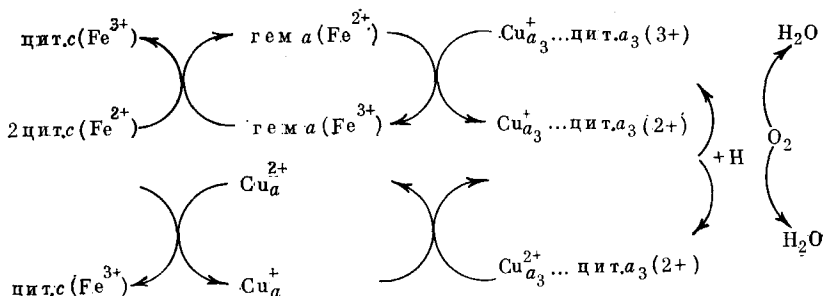


Методом ЭПР установлено, что в состав фермента входят два магнитно-изолированных центра — низкоспиновый цитохром *a* и Cu_a ($S=1/2$; $\varphi_0=0,25$ В), а также центр $S=2$, обусловленный антиферромагнитным сопряжением цитохрома a_3 ($S=5/2$) и Cu_{a_3} ($S=1/2$), находящимися на расстоянии 5 Å друг от друга ($\varphi_0=0,35$ В) [46]. Эти два центра, по-видимому, связаны через мостик общим лигандом — кислородом (цитохром $a_3\text{—O—Cu}^{2+}$), имидазолом или серой [47—52]. Однако при исследовании различных синтетических имидазолмостиковых димеров при измерении магнитной восприимчивости между 4 и 300 К было показано, что антиферромагнитное сопряжение не соответствует обнаруженному в цитохром *c*-оксидазе ($-J > 200$ см $^{-1}$) [52]. Наиболее вероятно, что в окисленном ферменте центры цитохрома a_3 и Cu_{a_3} связаны между собой через атомы кислорода или серы [49]. Лигандами в Cu_a служат остатки цистеина и гистидина [53]. Между цитохромами *a* и a_3 существует гем-гемовое взаимодействие, сопровождающееся изменением от высоко- к низкоспиновому состоянию железа в цитохроме a_3 при изменении молекулярного окружения гема *a* [54]. Исследование частично восстановленных форм цитохром *c*-оксидазы показало присутствие восстановленного низкоспинового гемового железа, ионов меди типа (I) в восстановленной форме и высокоспинового ферригема a_3 . Как окисленный, так и одноэлектронно восстановленный фермент окисляет цитохром *c* и в отсутствие O_2 . Двухэлектронное восстановление окисленной формы цитохром *c*-оксидазы переводит ее в активную форму. Дальнейшее восстановление для проявления каталитической активности не существенно.

Активация фермента связана, по-видимому, с восстановлением биядерного центра гема a_3 —Cu, в результате чего создается возможность вхождения O_2 в координационную сферу ионов меди и железа в качестве мостикового лиганда.

При функционировании фермента гем a и Cu_a являются независимыми акцепторами электронов при контакте с субстратом, тогда как гем a_3 и Cu_{a_3} вместе образуют биядерный центр связывания O_2 [53, 55]. Опыты с поперечносшивающими реагентами позволили установить, что перенос электрона от гема ферроцитохрома c к гему a цитохром c -оксидазы происходит на большом расстоянии и осуществляется с константой скорости, близкой к диффузионной. Взаимодействие цитохрома c с центром Cu_a происходит независимо, но гораздо медленнее, чем с гемом a [53].

Структурные исследования показывают, что плоскость гема a располагается перпендикулярно плоскости фосфолипидной мембраны вблизи поверхности раздела вода — неполярная фаза, т. е. в области градиента диэлектрической проницаемости среды. Тем самым, для этого фермента, по-видимому, реализуется упомянутое ранее «содействие» электронному переходу за счет локальных изменений полярности среды. Существенное значение для функционирования фермента имеет также «протонное содействие» в стадии восстановления O_2 до воды [55, 56]. Механизм действия цитохром c -оксидазы может быть представлен схемой, аналогичной схеме, приведенной для аскорбатоксидазы:



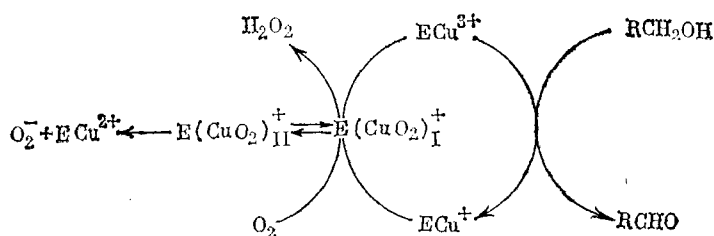
При восстановлении мостиковой молекулы кислорода до H_2O различают три промежуточных соединения: $[Fe_{a_3}-O-O-Cu_{a_3}]^{3+}$, $[Fe_{a_3}-O-O-Cu_{a_3}]^{2+}$ и $[Fe_{a_3}-O-O-Cu_{a_3}]^+$ [57]. Эти формы могут рассматриваться как биядерные комплексы ЧПЗ.

Из приведенных схем действия оксидаз следует, что в окислении субстрата — донора электрона (цитохром c) или атома H (аскорбат) участвует ион металла в окисленной форме (Cu^{2+} или Fe^{3+}), тогда как в восстановлении O_2 до H_2O участвует пара ионов металла в восстановленной форме, образующих относительно устойчивый промежуточный μ -пероксокомплекс. При последующем восстановлении этого комплекса немаловажное значение имеет протонное содействие среды.

Металлоферменты, катализирующие восстановление O_2 до H_2O_2 , содержат в активном центре, как правило, один «несиний» ион меди (типа (II)). Представители этой группы «бесцветных» ферментов — некоторые аминоксидазы, галактозооксидаза, уриказа. Механизм действия ферментов этой группы может быть различным.

В случае галактозооксидазы каталитический цикл включает ферментные формы Cu (I) и Cu (III), т. е. взаимодействие Cu (I) с O_2 осуществляется по механизму внутрисферного двухэлектронного переноса. Для ионов меди Cu (I) характерно образование кислородных комплексов перекисного типа, но в отсутствие субстрата они легко трансформируются в комплексы супероксидного типа [58]. Образующийся при диссоциации этой формы фермента Cu (II), каталитически неактивен. Неактивная Cu (II) и активная Cu (III) формы фермента могут взаимопревращаться под влиянием одноэлектронных редокс-агентов [58]. В целом механизм действия галактозооксидазы может быть представлен циклической

схемой:

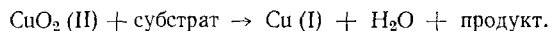
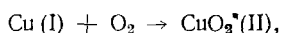


E — белковый лиганд.

Частицей-окислителем здесь служит ион меди в сверхокисленном состоянии.

Реакции такого типа моделированы на примере окисления аскорбиновой, дигидрооксифумаровой кислот и метанола при использовании в качестве катализаторов аква-ионов и 2,2'-дипиридилных комплексов меди [9].

Активация O_2 за счет образования металлокислородного комплекса супероксидного типа происходит в случае фермента уриказы:



Здесь частица-окислитель — металлокислородный комплекс «супероксидного» типа [59].

Ксантиноксидаза — фермент окисления гипоксантина в ксантин, а ксантина в мочевую кислоту [60]. Ксантиноксидазу часто применяют для генерации O_2 -радикалов. Активный центр включает ион молибдена, железосерные кластеры (восемь парных атомов Fe) и две молекулы ФАД. При удалении ФАД фермент теряет способность восстанавливать O_2 , но сохраняет способность к окислению ксантина. Функция Mo сводится, таким образом, к окислению субстрата, функция железосерных кластеров — к передаче электрона от восстановленного Mo к ФАД, который, собственно, и участвует в восстановлении O_2 . Восстановление O_2 , как и в случае других ФАД-зависимых оксидаз, происходит без образования металлокислородного комплекса.

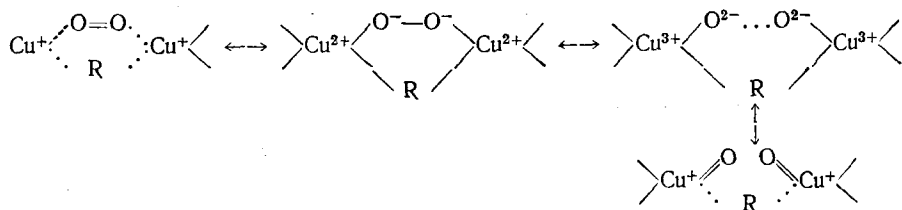
Оксигеназы могут быть разделены на медь и железосодержащие ферменты.

Наиболее типичными представителями медьсодержащих оксигеназ являются тирозиназы, характеризующиеся множественностью форм. Координационное окружение ионов меди в активном центре сходно для ферментов разного происхождения и формируется четырьмя гистидиновыми остатками. Ингибирование ферментативной активности тирозиназ окисью углерода указывает на участие восстановленной формы меди в механизме процесса [61].

Механизм активации O_2 тирозиназами не установлен.

Тирозиназа обладает как гидроксилирующей, так и оксидазной активностью [62]. В восстановленном состоянии фермент обладает способностью к обратимому связыванию O_2 , причем спектр окситирозиназы подобен спектру оксигемоглобина. Подобно ему окситирозиназа обратимо распадается на Cu^{2+} -фермент и H_2O_2 [63]. Предполагается [64, 65], что структура окситирозиназы подобна структуре оксигемоглобина, т. е. в активном центре этого фермента содержится два иона меди. Это заставляет предполагать наличие у двуядерного медь-кислородного комплекса выраженных окислительных свойств. Обнаружение электрофильных интермедиатов в механизме действия тирозиназы [66—68] свидетельствует о возможном разрыве связи $\text{O}-\text{O}$ в этом комплексе с образованием частиц типа ECuO^+ .

В рамках представления о КЧПЗ можно предположить сосуществование следующих состояний окситиросиназы:



R — мостиковый лиганд

В присутствии соответствующих субстратов (моно- и дифенолов) окситирозиназа проявляет либо свойства Cu^{3+} как акцептора электрона подобно двуядерному центру «голубых» оксидаз, либо свойства донора O как гидроксилирующей частицы.

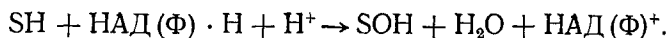
Другим представителем медьсодержащих монооксигеназ служит дофамин-β-гидроксилаза, содержащая в активном центре один или два иона Cu^{2+} [64]. Для активации апофермента требуются два иона меди [65]. Если тирозиназа не нуждается в постороннем доноре электрона, дофамин-β-гидроксилаза функционирует лишь в присутствии донора (аскорбата) [42], восстанавливающего Cu^{2+} -фермент в Cu^+ -форму.

Из железосодержащих оксигеназ можно выделить монооксигеназы ароматических аминокислот (фенилаланин-4-монооксигеназа, тирозин-монооксигеназа, триптофан-5-монооксигеназа) и гидроксилующие ферменты, содержащие цитохром Р-450.

Птеринзависимые монооксигеназы ароматических кислот содержат в активном центре один негемовый ион железа (Fe^{2+}).

Как и в случае медьсодержащих оксигеназ, механизм активации O_2 не установлен. Имеются лишь свидетельства образования многокомпонентного (фермент, субстрат, кофермент — донор электрона) комплекса переноса заряда [70], который при взаимодействии с O_2 может распасться несколькими путями. В частности, при окислении кофермента может образовываться пероксид водорода. Влияние на стехиометрию процесса добавок пероксидазы и каталазы [70] показывает, что активация O_2 в механизме действия железосодержащих монооксигеназ может осуществляться как за счет образования кислородного комплекса FeO_2 перекисного типа, так и за счет взаимодействия восстановленного фермент-субстратного комплекса с H_2O_2 .

На протяжении последних двадцати лет внимание исследователей приковано к изучению неспецифических гидроксилирующих ферментных систем, содержащих цитохром Р-450 [69, 71—77]. Эти ферменты широко распространены в природе, участвуют не только в процессах гидроксилирования эндогенных субстратов, но и в процессах детоксикации различных ксенобиотиков [78, 79]. В процессе гидроксилирования субстратов участвует O_2 и два восстановленных эквивалента, обычно НАД(Ф)·Н:



В активации O_2 участвует гем цитохрома P-450, восстановление которого осуществляется с помощью электронтранспортной (редуктазной) ферментной системы [42].

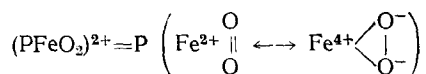
Бактериальный цитохром Р-450 выделен в кристаллическом виде и охарактеризован методом рентгеноструктурного анализа с разрешением 5,5 Å [75]. Гемовый ион железа в активном центре цитохромов Р-450 координирован по пятому месту остатками цистеина, по шестому — остатками гистидина или водой и сравнительно легко меняет валентность и спиновое состояние. В восстановленной форме фермент образует комплекс с СО с интенсивной полосой поглощения при 447 нм, что и определило название этой группы гемопротеидов. Окисленный цитохром Р-450 находится в низкоспиновом состоянии, а при связывании субстра-

га полностью или частично (в зависимости от температуры, рН, полярности среды и природы субстрата) переходит в высокоспиновую (пентакоординированную) форму. Структурные аспекты цитохрома Р-450 рассмотрены в обзорах [80—83], а также в [84—90]. В восстановленной форме цитохром Р-450 находится преимущественно в высокоспиновом состоянии и легко взаимодействует с O_2 [91].

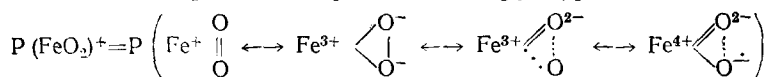
Микросомальная гидроксигирующая система печени содержит, помимо цитохрома Р-450, НАДФН — цитохром Р-450-редуктазу и фосфолипиды. Роль НАДФН — цитохром Р-450-редуктазы заключается в транспорте электронов от НАДФН к цитохрому Р-450. Роль фосфолипидов в процессе гидроксигирования до конца не ясна. Фазовый переход микросомальных фосфолипидов при 16—25°С приводит к резкому изменению активационных характеристик окисления субстратов, в ряде случаев к смене лимитирующей стадии процесса гидроксигирования. Не исключено, что воздействие фосфолипидов на процессы микросомального окисления связано с проявлением отмеченного выше влияния локальных изменений полярности среды на вероятность электронного переноса. Зарегистрировано влияние некоторых липидов на конформационные состояния и равновесие спиновых форм цитохрома Р-450 [92—97].

Механизм ферментативной реакции включает образование фермент-субстратного комплекса с окисленной формой цитохрома Р-450 за счет связывания субстрата по соседству с гемом. В результате локальных структурных изменений происходит изменение расстояния цистеиновый лиганд — ион железа и соответственно изменение симметрии лигандного окружения, спинового состояния и редокс-характеристик иона железа [98—100]. После одноэлектронного восстановления фермент-субстратного комплекса Fe^{2+} — гем взаимодействует с O_2 с образованием оксигенированного комплекса, который в ряде случаев удается выделить и спектрально охарактеризовать [101]. Гидроксигирование субстрата происходит при последующем одноэлектронном восстановлении оксигенированного комплекса и, по-видимому, осуществляется в результате образования в качестве гидроксигирующей частицы железокислородного комплекса перекисного типа с сильным переносом заряда.

В отличие от ионов меди, меняющих состояние окисления лишь в пределах $Cu^+—Cu^{2+}$, в случае гема диапазон возможных формальных валентных состояний варьирует от Fe^+ до Fe^{6+} . Правда, состояние Fe^+ практически нереализуемо, а в состоянии $Fe^{5+}, 6+$ происходит перенос заряда с порфиринового лиганда на центральный ион. Структурные особенности железо-порфиринов (PFe) позволяют предположить образование кислородного комплекса перекисного типа при взаимодействии PFe^{2+} с O_2 [6]:



Передача этому комплексу дополнительного заряда приведет формально либо к образованию кислородного комплекса PFe^+ , либо к разрыву связи $O—O$ в перекисной предельной структуре:



Последние два состояния при протонировании O^{2-} оказываются стехиометрически эквивалентными структуре соединения I пероксидазы [102].

Распределение по «предельным» структурам определяется структурно-энергетическими характеристиками фермент-субстратного комплекса и полярностью среды. Высокой гидроксигирующей способностью характеризуются состояния $PFe^{2+}O$, $PFe^{4+}O^-$, образование которых будет происходить при протонировании координированного дианиона кислорода, например путем передачи H^+ от близлежащей аминокислоты. От частиц типа $PFe^{3+}O$ следует ожидать оксеноидного механизма внедрения атома O по связи $C—N$, от частиц типа $PFe^{4+}O^-$ — внутримолекулярного

окисления субстратов по радикальному механизму [103]. С «двойственностью» реакционной способности частиц типа RFeO^{3+} , по-видимому и связана неоднозначность свидетельств осуществления радикального или оксеноидного механизма гидроксирования различных субстратов [42, 104, 105].

Интересно отметить, что окисление многих субстратов в микросомальной гидроксилирующей системе происходит идентичным образом и при участии, вместо O_2 , гидроперекисей. Это указывает на однотипность активных промежуточных частиц в обеих системах. Тем самым в случае цитохрома P-450 и в случае других оксигеназ, вопрос об активации O_2 неразрывно связан с вопросом об активации пероксида водорода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Malmström B. G. // *Annu. Rev. Biochem.* 1982. V. 51. P. 21.
2. Marcus R. A. // *J. Chem. Phys.* 1956. V. 24. P. 966.
3. Бердников В. М., Богданчиков Г. А. // *Журн. физ. химии.* 1979. Т. 53. С. 273.
4. Mulliken R. S. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1952. V. 74. P. 811.
5. Mulliken R. S., Person W. B. // *Molecular Complexes*. N. Y.: Wiley Intersci., 1969.
6. Скурлатов Ю. И. // *Успехи химии комплексов с переносом заряда и ион-радикальных солей* / Под ред. Хидекеля М. Л. и др. Черноголовка, 1986. С. 164.
7. Скурлатов Ю. И. Дис. ... докт. хим. наук. М.: ИХФ АН СССР, 1980.
8. Додоладзе Р. Р., Кузнецов А. М. *Кинетика химических реакций в полярных растворителях. Физ. химия, кинетика.* М.: Изд-во ВИНТИ, 1973.
9. Сычев А. Я., Травин С. О., Дука Г. Г., Скурлатов Ю. И. *Каталитические реакции и охрана окружающей среды.* Кишинев: Штиинца, 1983.
10. Маккинен М. // *Методы и достижения бионеорганической химии.* М.: Мир, 1978. С. 11.
11. Замаараев К. И. // *Кинетика и катализ.* 1980. Т. 21. С. 36.
12. Берсукер И. Б. *Строение и свойства координационных соединений.* Л.: Химия, 1975.
13. Стародуб В. А., Кривошей И. В. // *Успехи химии комплексов с переносом заряда и ион-радикальных солей* / Под ред. Хидекеля М. Л. и др. Черноголовка, 1986. С. 132.
14. Байер Е., Шретцман П. // *Структура и связь.* М.: Мир, 1969. С. 273.
15. Fukui K., Inagaki S. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1975. V. 97. P. 4445.
16. Collman J. P., Gange R. R., Reed C. A. et al. // *Ibid.* 1975. V. 97. P. 1427.
17. Bayston J. H., King N. K., Looney F. D. // *Ibid.* 1969. V. 91. P. 2775.
18. Wilkins R. J. // *Adv. Chem. Ser.* 1971. V. 100. P. 111.
19. Бердников В. М., Сиаствнев П. В. // *Кинетика и катализ.* 1975. Т. 16. С. 83.
20. Okubo K. O. // *Tetrahedron Lett.* 1971. № 39. P. 2899.
21. Bayston J. H., King N. K., Looney F. D., Winfield M. E. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1969. V. 91. P. 2775.
22. Моравский А. П. Дис. ... канд. хим. наук. М.: ИХФ АН СССР, 1975.
23. Dixon W. T., Norman R. C. // *Nature.* 1962. V. 196. P. 891.
24. Шувалов В. Ф., Бажин Н. М. // *Журн. структ. химии.* 1969. Т. 10. С. 548.
25. Samuni A., Czapski G. // *J. Phys. Chem.* 1970. V. 74. P. 4592.
26. Ellis J., Pratt J. M., Green M. // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1973. V. 70. P. 781.
27. Vaska L., Chen L. S., Senoff C. V. // *Science.* 1971. V. 174. P. 587.
28. Братушко Ю. И., Яцмирский К. Б. // *Успехи химии координационных соединений.* Киев: Наук. думка, 1975. С. 7.
29. Elvige J. A., Lever A. B. P. // *Proc. Chem. Soc.* 1959. P. 195.
30. Езерская Н. А., Соловых Т. П. // *Журн. неорган. химии.* 1966. Т. 11. С. 1462.
31. Езерская Н. А., Соловых Т. П. // *Там же.* 1967. Т. 12. С. 2922.
32. Berdnikov V. M., Makarshin L. L., Rykina L. S. // *React. Kinet. Catal. Lett.* 1978. V. 3. P. 275.
33. Горбунова Н. В., Пурмаль А. П., Скурлатов Ю. И. // *Журн. физ. химии.* 1975. Т. 49.
34. Горбунова Н. В., Скурлатов Ю. И. // *Там же.* 1977. Т. 51. № 4. С. 875.
35. Горбунова Н. В., Скурлатов Ю. И. // *Химическая кинетика и катализ.* М.: Наука, 1979. С. 89.
36. Травин С. О., Горбунова Н. В., Скурлатов Ю. И. // *Журн. физ. химии.* 1979. Т. 53. С. 213.
37. Травин С. О., Скурлатов Ю. И., Горбунова Н. В., Пурмаль А. П. // *Изв. АН СССР. Сер. хим.* 1979. № 7. С. 1480.
38. Walk D., Fallab S. // *Helv. Chim. Acts.* 1970. V. 44. № 1. P. 13.
39. Hanzlik R. P., Williamson D. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1976. V. 98. P. 6570.
40. Mason H. S. // *Adv. in Enzymol.* 1957. V. 19. P. 79.
41. Udenfriend S., Clark C. T., Axelrood J., Brodie B. B. // *J. Biol. Chem.* 1954. V. 208. P. 731.
42. Метелица Д. И. *Моделирование окислительно-восстановительных ферментов.* Минск: Наука и техника, 1984.
43. Molitoris H. P., Reinhammar B. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1975. V. 386. P. 493.
44. Малкин Р. // *Неорганическая биохимия* / Под ред. Эйхгорн Г. М.: Мир, 1978. Т. 2.
45. Skurlatov Yu. I., Kovner Ya., Travin S. O. // *Eur. Polym. J.* 1979. V. 15. P. 811.
46. Cass A. E., Knowles P. F. // *Inorg. Biochem.* 1981. V. 2. L.: The Royal Soc. Chem. Burl. House. P. 151.

47. Elliott C. M., Kozo A.//J. Amer. Chem. Soc. 1982. V. 100. P. 2671.
48. Palmer G., Babcock C. T., Vicker L. E.//Proc. Nat. Acad. Sci. 1976. V. 73. P. 2206.
49. Cynthia K. S., Kozo A., Elliott C. M., Oren P. A.//J. Amer. Chem. Soc. 1984. V. 106.
50. Maxwell J. G., Kevin J. B., Keith S. M.//Ibid. 1984. V. 106. P. 4227.
51. Dessens S. E., Merrill C. L., Saxton R. J. et al.//Ibid. 1982. V. 104. P. 4357.
52. Landrum J. T., Reed C. A.//Ibid. 1978. V. 100. P. 3232.
53. Capaldi R. A., Malatesta F., Darley U.//Biochim. Biophys. Acta. 1983. V. 726. P. 135.
54. Freedman J. A., Chan S. H. P.//J. Bioenerg. and Biomembr. 1984. V. 16. P. 75.
55. Malmström B. G.//Biochim. Biophys. Acta. 1985. V. 811. P. 1.
56. Malmström B. G.//Ibid. 1979. V. 549. P. 281.
57. Blair D. F., Witt S. N., Chan S. J.//J. Amer. Chem. Soc. 1985. V. 107. P. 7389.
58. Dyzkacz G. R., Libby R. D., Hamilton G. A.//Ibid. 1976. V. 98. P. 626.
59. Pitts O. M., Priest D. G., Fish W. W.//Biochemistry. 1974. V. 13. P. 888.
60. Hodgson E., Fridovich T.//Arch. Biochem. Biophys. 1976. V. 172. P. 202.
61. Kertsz D., Zito R.//Biochim. Biophys. Acta. 1965. V. 96. P. 447.
62. Hearing V. G., Ekel T. M., Montague P. A., Nicholson J. M.//Ibid. 1980. V. 611.
63. Jolley R. L., Evans L. H., Makino H., Mason U. S.//J. Biol. Chem. 1974. V. 249.
64. Villafrance J. J.//Copper Proteins/Ed. Spiro T. G. N. Y.: John Wills, 1981. P. 265.
65. Blakbarn N. Y., Mason H. S., Knowles P. F.//Biochem. Biophys. Res. Commun. 1980. V. 95. P. 1275.
66. Vanneste W. H., Zuberbuhler A.//Molecular Mechanism of Oxygen Activation/Ed. Hayaishi O. N. Y.—L.: Acad. Press, 1974. P. 371.
67. Ингрэм Л.//Механизмы биохимических реакций. М.: Мир, 1964. С. 100.
68. Метелуца Д. И.//Дис. ... докт. хим. наук. Черноголовка: ИХФ АН СССР, 1975.
69. Dolphin D., James B. R.//ACS Symp. Ser. 1983. P. 371.
70. Kaufman S., Fisher D. B.//Molecular Mechanisms of Oxygen Activation/Ed. Hayaishi O. N. Y.; L.: Acad. Press, 1974. P. 205.
71. Dawson J. H., Eble K. S.//Advances in Inorganic and Bioinorganic mechanisms/Ed. Sykes A. G. N. Y.: Acad. Press, 1986. P. 1.
72. Hieffanen E., Laitinen M., Hanninen O. Cytochrome P-450, Biochemistry, Biophysics and Environmental Implications. Amsterdam: Elsevier, 1982.
73. Alexander L. S., Golf H. M.//J. Chem. Educ. 1982. V. 59. P. 179.
74. Estabrook R. W.//Oxygenases and Oxygen Metabolism/Ed. Mitsuhiro N. N. Y.: Acad. Press, 1982. P. 37.
75. Gunsalus J. C.//Fifth International Symposium on Microsomes and Drug Oxidation. Abstracts. Tokyo, 1981. P. 2.
76. Mansay D.//The Coordination Chemistry of Metalloenzymes/Eds Bertini J. et al. Holland: Reidel. Dordrecht, 1983. P. 343.
77. Coon M. J.//Trans. N. Y. Acad. Sci. 1983. V. 41. P. 1.
78. Ishihara K., Yamakawa I., Kusinose E.//J. Biochem. 1979. V. 86. P. 139.
79. Guengerich F. P., McDonald T. L.//Ac. Chem. Res. 1984. V. 17. P. 9.
80. Scheidt W. R., Reed C. A.//Chem. Rev. 1981. V. 81. P. 543.
81. Hahn J. E., Hodgson K. O., Andersson L. A., Dawson J. H.//J. Biol. Chem. 1982. V. 257. P. 10934.
82. Andersson L. A., Sono M. N., Dawson J. H.//Biochim. Biophys. Acta. 1983. V. 746.
83. Dooley D. M., Dawson J. H.//Coord. Chem. Rev. 1984. V. 60. P. 1.
84. Champson P. M., Stallard B. R., Wagner G. C., Gunsalus J. C.//J. Amer. Chem. Soc. 1982. V. 104. P. 5469.
85. Dawson J. H., Andersson L. A., Sano M.//J. Biol. Chem. 1982. V. 257. P. 3606.
86. Peisach J., Mims W. B., Davis J. L.//Ibid. 1979. V. 254. P. 12379.
87. Groh S. E., Nagahisa A., Tan S. L., Orme-Johnson W. H.//J. Am. Chem. Soc. 1983. V. 105. P. 7445.
88. Janig G. R., Dettmer R., Usanov S. A., Ruckpae K.//FEBS Lett. 1983. V. 159. P. 58.
89. Janig G. R., Makower A., Rabe H.//Biochim. Biophys. Acta. 1984. V. 784. P. 8.
90. Dippelt O., Fiscer J., Weiss R.//J. Amer. Chem. Soc. 1984. V. 106. P. 5188.
91. Tamburini P. P., Gibson G. G., Backes W. L.//Biochemistry. 1984. V. 23. P. 4526.
92. Chiang Y. L., Coon M. J.//Arch. Biochem. Biophys. 1979. V. 195. P. 178.
93. Tsong T. Y., Yang C. S.//Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1978. V. 75. P. 5955.
94. Yang C. S., Tsong T. Y.//IV Intern. Symp. on Microsomes and Drug Oxidations. Abstracts. Ann. Arabr. University of Michigan. 1979. P. 79.
95. Ахрем А. А., Куселев П. А., Кусель М. А. и др.//Докл. АН СССР. 1979. Т. 254.
96. Gibson G. G., Cinti D. L., Sligar S. D., Schenkman J. B.//Biochem. Soc. Trans. 1979. V. 7. P. 1289.
97. Gibson G. G., Cinti D. L., Sligar S. D., Schenkman J. B.//J. Biol. Chem. 1980. V. 255.
98. Sligar S. D., Gunsalus J. C.//Biochemistry. 1979. V. 18. P. 2290.
99. Gibson G. G., Tamburini P. P.//Xenobiotica. 1984. V. 14. P. 27.
100. Sligar S. D., Cinto D. L., Gibson G., Schenkman J. B.//Biochem. Biophys. Res. Commun. 1979. V. 9. P. 925.
101. Dawson J. H., Cramer S. P.//FEBS Lett. 1979. V. 88. P. 127.
102. McCarthy M. B., White R. E.//J. Biol. Chem. 1983. V. 258. P. 9153.
103. Groves J. T., Subramanion D. V.//J. Amer. Chem. Soc. 1984. V. 106. P. 2177.
104. Sheldon R. A.//J. Mol. Catal. 1983. V. 20. P. 1.
105. Heinbrook E. C., Sligar S. D.//Biochem. Biophys. Res. Commun. 1981. V. 9. P. 530.