

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 металлокислородных комплексов	239
IV. Активация кислорода металлосодержащими ферментами	242

## I. ВВЕДЕНИЕ

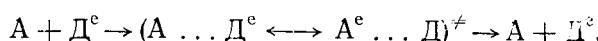
Описание биологических окислительно-восстановительных процессов на уровне элементарного акта практически неосуществимо из-за сложности белковых объектов исследования. На помощь приходят различного рода модельные системы, которые в упрощенном виде воспроизводят те или иные функциональные особенности биологических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

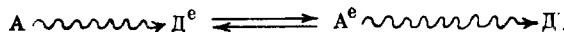
Теория внешнесферного переноса электрона развита в работе [2], а количественный аспект применения теории в работе [3].

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



где  $A$  — акцептор электрона,  $D^e$  — 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 реакции-ми внутрисферного электронного переноса.

Часто под внутрисферным подразумевают и внутримолекулярный перенос электрона:



Такой перенос обычно осуществляется либо при наличии в молекуле мономолекулярных 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  $(AD)^e$  — комплекс ЧПЗ с одноэлектронным внутрисферным переносом.

Аналогичным образом можно представить и результирующий двухэлектронный перенос:

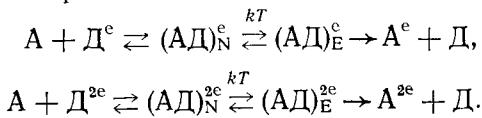


Принципиальное различие между «активированным» столкновительным комплексом и комплексом ЧПЗ заключается во взаимной ориентации и расстоянии между донором и акцептором, точнее — в величине электронно-обменного взаимодействия ( $V$ ) донорно-акцепторных орбиталей. Во внешнесферном случае реагенты сближаются 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 (теплового) 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 представлениях резонансной теории Малликена [4, 5], согласно которой комплекс ЧПЗ можно представить в виде «суперпозиции» состояний без переноса и с полным переносом заряда:

$$(AD)^e \equiv (AD^e \leftrightarrow A^e D),$$

$$(AD)^{2e} \equiv (AD^{2e} \leftrightarrow A^{2e} D).$$

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 ( $\Delta H_e$ ) можно оценить из термодинамических соображений [5]:

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

где  $\Delta\sigma_{\text{эл}}$  — 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  $\Delta H_e \approx \Delta\sigma_{\text{эл}}^0 \approx 0$  означает примерное равенство редокс-потенциалов партнеров по связи:

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

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

Термодинамический фактор определяет не только свойства комплексов ЧПЗ (степень переноса заряда в основном и электронно-возбужденном состоянии зависит от величины  $\Delta H_e$ ), 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  $\Delta\sigma_{\text{эл}}^0 < 0$ ), либо скоростью распада его на продукты электронного переноса (обычно при  $\Delta\sigma_{\text{эл}}^0 > 0$ ).

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

В случае участия в реакциях ионных и сильно полярных реагентов значения  $\Delta\sigma_{\text{эл}}^0$  зависят от полярности среды. Эффекты сольватации приводят к уменьшению  $\Delta H_e$  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  $\Delta\sigma_{\text{эл}}^0$ ,  $\Delta H_e$ . 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  $V$ ,  $\Delta\sigma_{\text{эл}}^0$ . 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 металла — лиганда: несмотря на высокую прочность каждой отдельно взятой связи в отсутствие стерических ограничений или хелатообразования, комплексный ион пребывает постоянно в состоянии лигандиного 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 лигандиного 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 лигандиного окружения, что может повлечь за собой изменение спинового состояния и заселенности *d*-орбиталей центрального иона.

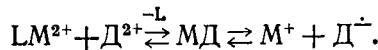
2) При конформационном возбуждении КЧ возрастает на 1 или 2 — в координационной сфере появляются *вакантные* места для вхождения дополнительно одного или двух лигандов.

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 ( $V \leq 10 \text{ kT}$ ) 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-

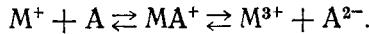
реннюю координационную сферу возможно лишь по механизму лигандного замещения:



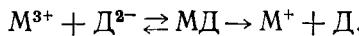
Напротив, в восстановленной форме металлы зачастую имеют потенциально вакантные места для связывания редокс-лигандов. Вхождение лиганда во внутреннюю координационную сферу осуществляется в этом случае по механизму типа окислительного присоединения:



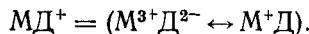
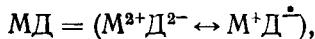
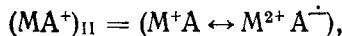
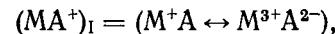
Если  $A$  — двухэлектронный акцептор, возможно осуществление внутрисферного двухэлектронного переноса с образованием иона металла в сверхокисленном состоянии  $M^{3+}$ :



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

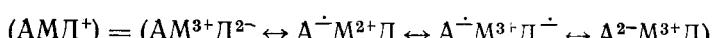
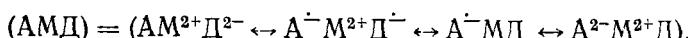
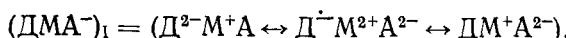


В каждом из рассмотренных примеров одно-, двухэлектронного внутрисферного переноса промежуточный комплекс существует в основном и электронно-возбужденном состояниях, распадаясь соответственно на исходные реагенты, либо на продукты электронного переноса. Чтобы иметь более наглядное представление о природе 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:



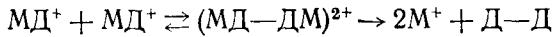
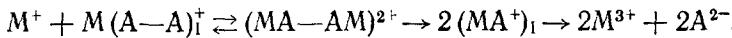
При этом двойная стрелка между состояниями без переноса (исходные реагенты) и с полным переносом заряда (продукты) отражает смешение этих двух состояний при образовании КЧПЗ.

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:

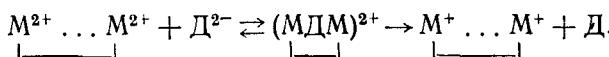
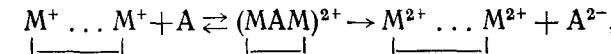


Распад этих комплексов на те или иные продукты электронного переноса определяется соответствующими величинами  $\Delta\sigma_{\text{эл}}^0$  и может управляться эффектами энергетического сопряжения, проявляющими те или иные «предельные» структуры.

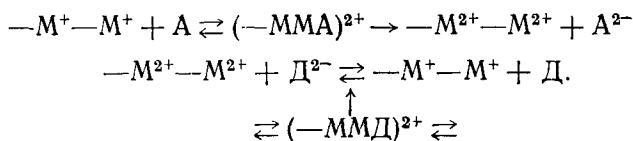
В роли редокс-партнера бинарного комплекса ЧПЗ может выступать и второй ион металла, в результате могут образовываться биядерные мостиковые комплексы ЧПЗ:



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 металлов-металл:



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

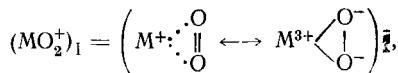
Предложенная классификация КЧПЗ полезна при рассмотрении природы, свойств и реакционной способности промежуточных комплексов, образующихся при осуществлении катализитических редокс-превращений. Фактически, зная структурные и энергетические характеристики иона металла и редокс-лиганда, можно предсказывать 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

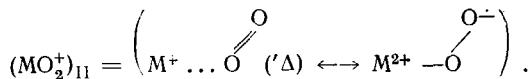
Молекулярный кислород является редокс-лигандом, не обладающим неподеленными парами электронов для образования обычной ( $\sigma$ -донорной) координационной связи. В силу этого обстоятельства вхождение  $O_2$  в координационную сферу иона металла возможно лишь по потенциально вакантному месту конформационно-возбужденного 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 разыгравшие орбитали  $O_2$ .

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):



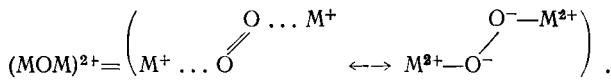
во втором случае — с одноэлектронным, с образованием комплекса супероксидного типа (кислород как монодентный лиганд) «линейной» структуры:



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  $\text{Co}^{2+}$  ( $d^7$ ) и  $\text{Fe}^{2+}$  ( $d^6$ ) [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],  $\text{Mn}^{3+}$ (порфирин) $\text{O}_2^-$  [20],  $\text{Co}^{3+}$ (коррин) $\text{O}_2^-$ , витамин  $\text{B}_{12}$  [21],  $\text{Sn}^{4+}\text{O}_2^-$  [22] и др. Аналогичные металл-кислородные комплексы образуются при взаимодействии  $\text{HO}_2$  с  $\text{Ti}^{4+}$  [23] и другими  $d^9$ -элементами ( $\text{V}^{5+}$ ,  $\text{Zr}^{4+}$ ,  $\text{U}^{6+}$ ,  $\text{Th}^{4+}$ ,  $\text{Mo}^{6+}$ ) [23—25], а также при взаимодействии витамина  $\text{B}_{12}$  в окисленной форме с  $\text{O}_2^-$ -радикалом [26].

Эквивалентность атомов О в комплексе «линейной» структуры достигается лишь при образовании двуядерных  $\mu$ -пероксокомплексов:



Комплексы такого типа наиболее характерны для ионов с  $d^7$ -электронной конфигурацией —  $\text{Co}^{2+}$  [27, 28], а также с электронной конфигурацией  $d^5$ :  $\text{Mn}^{2+}$  (фталоцианин) в присутствии пиридина [29] и  $\text{Ru}^{2+} + \text{ЭДТА}$  в щелочной среде [30, 31]. Аналогичные комплексы образуются при взаимодействии  $\text{Ru}^{3+}$  ЭДТА с  $\text{H}_2\text{O}_2$  [31]. Возможно образование двуядерных  $\mu$ -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  $\Delta_{\text{эл}}^0$  соответствующей реакции электронного переноса.

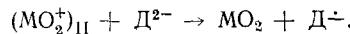
Само по себе связывание  $\text{O}_2$  в комплекс с металлами переменной валентности хоть и представляет интерес в плане исследования природных переносчиков  $\text{O}_2$  [14], но более существенен вопрос об активации  $\text{O}_2$  как окислителя. К активации  $\text{O}_2$  приводит полное или частичное восстановление  $\text{O}_2$  до таких реакционноспособных продуктов как  $\text{HO}_2$ ,  $\text{OH}$ . 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  $\text{O}_2$ .

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

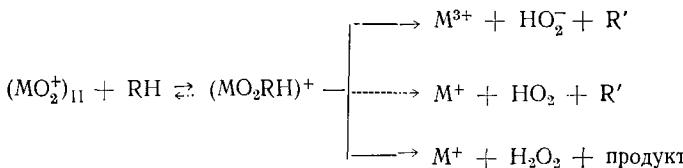
В случае комплексов «супероксидного» типа наиболее характерны реакции трех видов.

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:



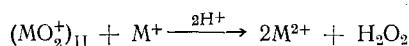
2) Внутрисферные редокс-превращения при *цис*-координации окисляемого субстрата: при этом вхождение субстрата во внутреннюю координационную сферу возможно либо по потенциальному вакантному месту, либо по механизму лигандного замещения в *цис*-положении к координированному кислороду.



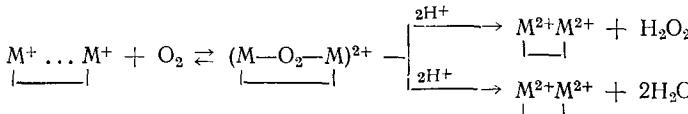
Последняя реакция представляет наибольший интерес, так как в ней происходит двухэлектронное окисление субстрата во внутренней координационной сфере иона металла с образованием в качестве продукта восстановления  $\text{O}_2$  пероксида водорода и без результирующего изменения (восстановленного) состояния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

При наличии у субстрата восстановительных ( $\text{DH}^-$ ) и лигандных свойств возможно образование тройного комплекса ЧПЗ, причем субстрат может быть связан с металлом и до взаимодействия с  $\text{O}_2$ .

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



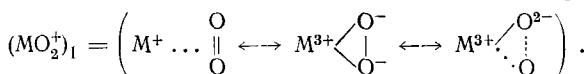
Два иона  $\text{M}^+$  могут находиться и в «паре»:



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, автокоисление комплексов  $\text{Fe}^{2+}$  с 1-гидразинфталазином [38], фосфинами [39] и ЭДТА сопровождается внутрисферным окислением этих лигандов. Вхождение редокс-лиганда в координационную сферу возможно как до взаимодействия  $\text{M}^+$  с  $\text{O}_2$ , так и после связывания  $\text{O}_2$  в комплекс с металлом. Для комплексов перекисного типа характерна высокая реакционная способность в отношении  $\text{H}^+$ ,  $\text{OH}^-$  с «проявлением» соответственно координированной перокси 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  $\text{O}^{2-}$  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 эпоксидирования 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 ( $DH_2$ ), катализирующая реакции типа:



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

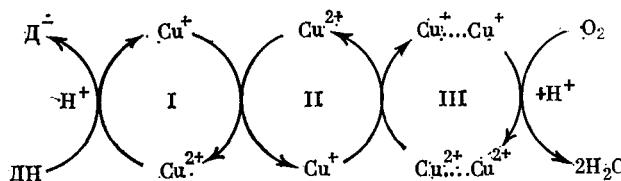
#### IV. АКТИВАЦИЯ КИСЛОРОДА МЕТАЛЛОСОДЕРЖАЩИМИ ФЕРМЕНТАМИ

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 О [42].

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

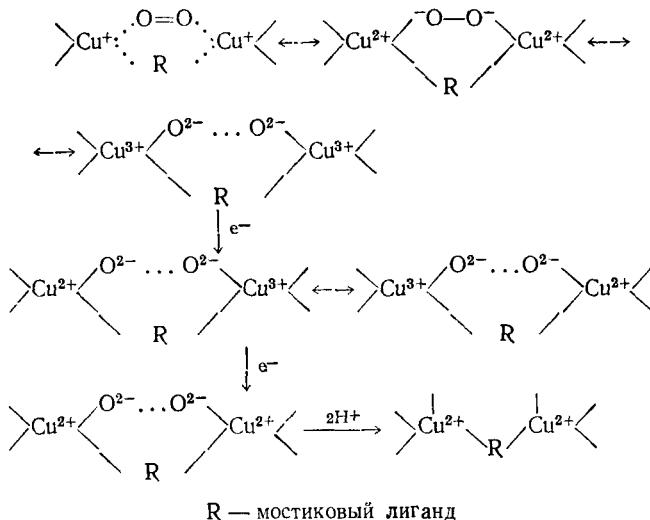
«Голубые оксидазы» (лакказа, аскорбатоксидаза) содержат ионы меди трех типов: ЭПР-детектируемые «синий» (тип (I)) и «несиний» ионы  $Cu^{2+}$  (тип (II)), а также пару не детектируемых методов ЭПР ионов  $Cu^{2+}$  (тип (III)) [43]. В этих оксидазах осуществляется прямой перенос электрона между ионами 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 двуядерного  $\mu$ -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.

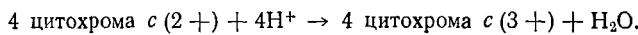
В рамках представления о КЧПЗ механизм 4-электронного восстановления  $O_2$  в «голубых» оксидазах может быть представлен через последовательность следующих внутрисферных превращений ионов типа (III):



Внутрисферное двухэлектронное окисление каждого из ионов меди в двуядерном комплексе призвано играть стабилизирующую роль в силу инертности Cu<sup>2+</sup> в реакциях лигандного замещения. При связывании O<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> до того, как комплекс распадается на H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> через состояние  $\mu$ -перокомплекса.

Функциональной моделью аскорбатоксидазы является медь-полимерный комплекс (Cu<sup>2+</sup>-поливинилпиридин) [44, 45]: в его присутствии аскорбат-анионы окисляются одноэлектронно, а выхода O<sub>2</sub><sup>-</sup>-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*:

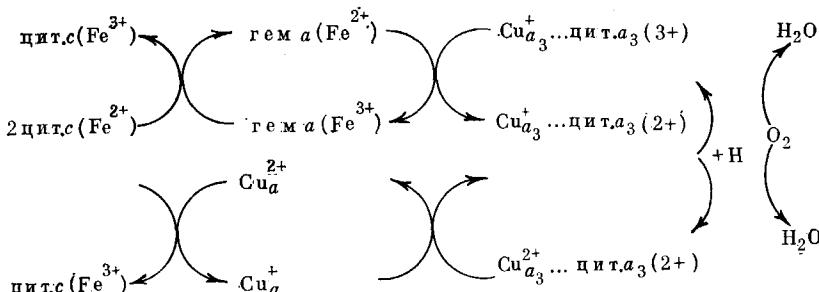


Методом ЭПР установлено, что в состав фермента входят два магнитно-изолированных центра — низкоспиновый цитохром *a* и Cu<sub>*a*</sub> ( $S = 1/2$ ;  $\phi_0 = 0,25$  В), а также центр  $S = 2$ , обусловленный антиферромагнитным сопряжением цитохрома *a*<sub>3</sub> ( $S = 5/2$ ) и Cu<sub>*a*<sub>3</sub></sub> ( $S = 1/2$ ), находящимися на расстоянии 5 Å друг от друга ( $\phi_0 = 0,35$  В) [46]. Эти два центра, по-видимому, связаны через мостик общим лигандом — кислородом (цитохром *a*<sub>3</sub>—O—Cu<sup>2+</sup>), 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<sup>-1</sup>) [52]. Наиболее вероятно, что в окисленном ферменте центры цитохрома *a*<sub>3</sub> и Cu<sub>*a*<sub>3</sub></sub> связаны между собой через атомы кислорода или серы [49]. Лигандами в Cu<sub>*a*</sub> служат остатки цистеина и гистидина [53]. Между цитохромами *a* и *a*<sub>3</sub> существует гем-гемовое взаимодействие, сопровождающееся изменением от высоко- к низкоспиновому состоянию железа в цитохроме *a*<sub>3</sub> 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*<sub>3</sub>. Как окисленный, так и одноэлектронно восстановленный фермент окисляет цитохром *c* и в отсутствие O<sub>2</sub>. Двухэлектронное восстановление окисленной формы цитохром *c*-оксидазы переводит ее в активную форму. Дальнейшее восстановление для проявления катализитической активности не существенно.

Активация фермента связана, по-видимому, с восстановлением биядерного центра гема  $a_3$ —Си, 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 диффузии. 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:



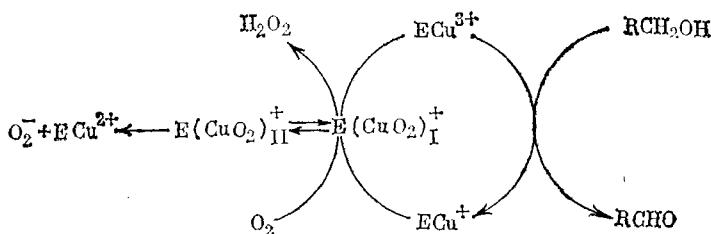
При восстановлении мостиковой молекулы кислорода до  $H_2O$  различают три промежуточных соединения:  $[Fe_{a_3}—O—O—Cu_{a_3}]^{3+}$ ,  $[Fe_{a_3}—O—O—Cu_{a_3}]^{2+}$  и  $[Fe_{a_3}—O—O—Cu_{a_3}]^+$  [57]. Эти формы могут рассматриваться как биядерные комплексы ЧПЗ.

Из приведенных схем действия оксидаз следует, что в окислении субстрата — донора электрона (цитохром  $c$ ) или атома Н (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  $\mu$ -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 аминооксидазы, галактозооксидаза, уриказа. Механизм действия ферментов этой группы может быть различным.

В случае галактозооксидазы катализитический цикл включает ферментные формы Си (I) и Си (III), т. е. взаимодействие Си (I) с  $O_2$  осуществляется по механизму внутрисферного двухэлектронного переноса. Для ионов меди Си (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 Си (II), катализически неактивен. Неактивная Си (II) и активная Си (III) формы фермента могут взаимопревращаться под влиянием одноэлектронных редокс-агентов [58]. В целом механизм действия галактозооксидазы может быть представлен циклической

схемой:

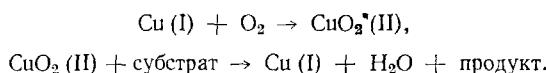


**Би-белковый хиганд.**

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'-дипиридильных 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].

*Ксантинооксидаза* — фермент окисления гипоксантина в ксантин, а ксантина в мочевую кислоту [60]. Ксантинооксидазу 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.

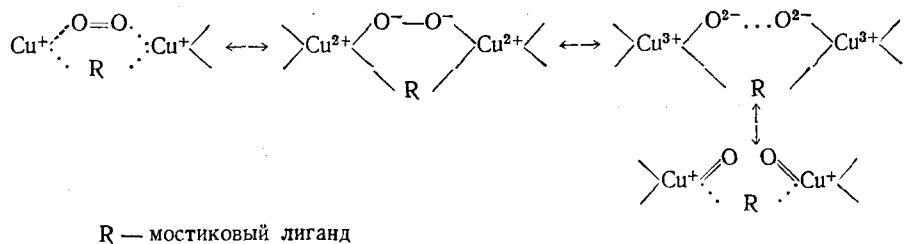
*Оксигеназы* могут быть разделены на медь и железосодержащие ферменты.

Наиболее типичными представителями меди-содержащих оксигеназ являются тирозиназы, характеризующиеся множественностью форм. Координационное окружение ионов меди в активном центре сходно для ферментов разного происхождения и формируется четырьмя гистидиновыми остатками. Ингибиция 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 оксигемоцианина. Подобно ему окситирозиназа обратимо распадается на  $Cu^{2+}$ -фермент и  $H_2O_2$  [63]. Предполагается [64, 65], что структура окситирозиназы подобна структуре оксигемоцианина, 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 O—O в этом комплексе с образованием частиц типа  $ECuO^+$ .

В рамках представления о КЧПЗ можно предположить существование следующих состояний окситирозиназы:



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

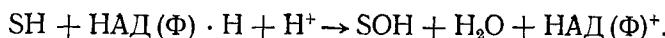
Другим представителем медиодержащих монооксигеназ служит дофамин- $\beta$ -гидроксилаза, содержащая в активном центре один или два иона  $\text{Cu}^{2+}$  [64]. Для активации апофермента требуются два иона меди [65]. Если тирозиназа не нуждается в постороннем доноре электрона, дофамин- $\beta$ -гидроксилаза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

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

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

Как и в случае медиодержащих оксигеназ, механизм активации  $\text{O}_2$  не установлен. Имеются лишь свидетельства образования многокомпонентного (фермент, субстрат, кофермент — донор электрона) комплекса переноса заряда [70], который при взаимодействии с  $\text{O}_2$  может распадаться несколькими путями. В частности, при окислении кофермента может образовываться пероксид водорода. Влияние на стехиометрию процесса добавок пероксидазы и катализы [70] показывает, что активация  $\text{O}_2$  в механизме действия железодержащих монооксигеназ может осуществляться как за счет образования кислородного комплекса  $\text{FeO}_2$  перекисного типа, так и за счет взаимодействия восстановленного фермент-субстратного комплекса с  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

На протяжении последних двадцати лет внимание исследователей привовано 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  $\text{O}_2$  и два восстановленных эквивалента, обычно НАД(Ф)·Н:



В активации  $\text{O}_2$  участвует гем цитохрома Р-450, восстановление которого осуществляется с помощью электронтранспортной (редуктазной) ферментной системы [42].

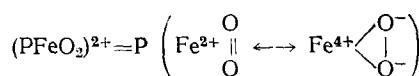
Бактериальный цитохром Р-450 выделен в кристаллическом виде и охарактеризован методом рентгеноструктурного анализа с разрешением 5,5 Å [75]. Гемовый ион железа в активном центре цитохромов Р-450 координирован по пятому месту остатками цистеина, по шестому — остатками гистидина или водой и сравнительно 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-

та 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 обзора [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].

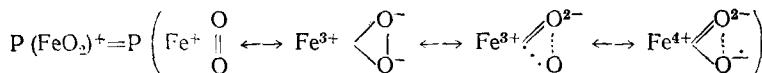
Микросомальная гидроксилирующая система печени содержит, помимо цитохрома Р-450, НАДФН — цитохром Р-450-редуктазу и фосфолипиды. Роль НАДФН — цитохром Р-450-редуктазы заключается в транспорте электронов от НАДФН к цитохрому Р-450. Роль фосфолипидов в процессе гидроксилирования до конца не ясна. Фазовый переход микросомальных фосфолипидов при 16–25°C приводит к резкому изменению активационных характеристик окисления субстратов, в ряде случаев к смене лимитирующей стадии процесса гидроксилирования. 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]. Гидроксилирование субстрата происходит при последующем одноэлектронном восстановлении оксигенированного комплекса и, по-видимому, осуществляется в результате образования в качестве гидроксилирующей частицы железокислородного комплекса перекисного типа с сильным переносом заряда.

В отличие от ионов меди, меняющих состояние окисления лишь в пределах  $Cu^+—Cu^{3+}$ , 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 О—О 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 гидроксилирующей способностью характеризуются состояния  $PFe^{3+}O$ ,  $PFe^{4+}O^-$ , 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 О по связи С—Н, от частиц типа  $PFe^{4+}O^-$  — внутримолекулярного

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

Интересно отметить, что окисление многих субстратов в микросомальной гидроксилирующей системе происходит идентичным образом и при участии, вместо  $\text{O}_2$ , гидроперекисей. Это указывает на однотипность активных промежуточных частиц в обоих системах. Тем самым в случае цитохрома P-450 и в случае других оксигеназ, вопрос об активации  $\text{O}_2$  неразрывно связан с вопросом об активации пероксида водорода.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Malmström B. G.*//*Ann. 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. *Догонадзе 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. *Замараев 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., Счастнев П. В.*//*Кинетика и катализ.* 1975. Т. 16. С. 83.
20. *Ohkubo 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., Яцимирский 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., Rytkina 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. Acta.* 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.*//*Europ. 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. Villafranca 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. Методы 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. Hietanen 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 I. 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. Ishihare 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., Sano 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., Ruckpane 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., Fischer 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. Arbor. University of Michigan. 1979. P. 79.
95. Ахрем А. А., Киселев П. А., Кисель 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., Cinti 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., Subramanian 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.