

Удобно представить кривую равновесия лиганда не величиной  $Y_x$ , но в виде зависимости  $\ln [\bar{x}/(1-\bar{x})]$ , где  $\bar{x} = Y_x/q$ , от  $\ln x$  и ввести параметр  $n$ , определяемый так:

$$n = \frac{d \ln [\bar{x}/(1-\bar{x})]}{d \ln x} = \frac{1}{x(1-\bar{x})} \frac{dx}{d \ln x}. \quad (6.77)$$

Если все центры идентичны и независимы друг от друга, то график имеет вид прямой с  $n=1$ . При стабилизирующих взаимодействиях, т. е. при  $(\partial Y_x/\partial \ln x) > q$ , значение  $n > 1$ . Это соответствует уравнению Хилла (6.73), которое можно переписать в виде

$$\ln \frac{\bar{x}}{1-\bar{x}} = \ln K + n \ln x. \quad (6.78)$$

На рис. 6.24 приведен график (6.78), где  $x = p$ , для Hb лошади. Здесь  $n = 2,95 \pm 0,05$ , свободная энергия взаимодействия Hb с  $O_2$  равна 10,9 кДж/моль. С помощью теории Уаймена легко описать эффект Бора ( $X = O_2$ ,  $Y = H^+$ ).

Гемоглобин может связывать  $O_2$  и CO. При насыщении коэффициент распределения  $A$  не зависит от парциального давления обоих газов (*первый закон Холдейна*):

$$\frac{[Hb(CO)_4]}{[HbO_8]} = A \frac{p_{CO}}{p_{O_2}}. \quad (6.79)$$

*Второй закон* гласит, что насыщение при взаимодействии со смесью  $O_2$  и CO есть функция  $p_{O_2} + A p_{CO}$ . Этот закон следует из (6.79).

Свойства гемоглобина демонстрируют динамическое поведение белка. И третичная, и четвертичная структуры Hb быстро и непрерывно осциллируют между *окси-* и *дезоксид-*конформациями. Присоединение лиганда вызывает сдвиг конформационного равновесия. Это и есть ЭКВ.

## § 6.9. Бионеорганическая химия и биофизика

Гемоглобин и миоглобин — белки, содержащие соединение переходного металла, гем, в качестве простетической группы. Изучение такого рода веществ относится к области бионеорганической химии, о которой уже упоминалось выше (с. 50). Здесь уместно рассказать о проблемах бионеорганической химии в связи с биофизикой.

Бионеорганическая химия изучает биологически функциональные соединения металлов (а также некоторых неметаллов, например селена). Металлы необходимы для нормальной жизнедеятельности организмов. В табл. 6.5 приведены показательные цифры. В организме содержатся и другие металлы, но в гораздо меньших количествах.

Скелеты позвоночных, раковины моллюсков и т. д. построены в основном из солей кальция. Ионы  $Ca^{2+}$  играют важнейшую роль в механохимических процессах (мышечное сокращение,

Т а б л и ц а 6.5. Содержание металлов (в г) в теле человека весом 70 кг

Ca	1050	Na	105	Fe	4,25	Cu	0,15	Mo	0,015
K	245	Mg	35	Zn	1,9	Mn	0,020	Co	0,003

гл. 12) и в других биологических явлениях. Ионы щелочных металлов  $K^+$ ,  $Na^+$  определяют механизмы нервной проводимости (гл. 10 и 11). Ионы  $Mg^{2+}$  существенны как для мышечного сокращения, так и для двуспиральной структуры нуклеиновых кислот (гл. 7). Ионы железа  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  определяют свойства миоглобина и гемоглобина, а также других гемсодержащих белков, в частности цитохромов, участвующих в окислительно-восстановительных процессах в дыхательной цепи и в фотосинтезе (гл. 13 и 14). Ионы  $Zn^{2+}$  фигурируют в активных центрах ряда важнейших ферментов, в частности в ДНК- и РНК-полимеразах (гл. 7). Ионы  $Cu^{2+}$  содержатся в ряде важных белков, то же относится и к  $Mn^{2+}$ ,  $Mo^{2+}$  (нитрогеназа, см. далее). Ион  $Co^{2+}$  фигурирует в витамине  $B_{12}$  (кобаламин).

Почти всегда мы имеем дело не с металлоорганическими соединениями, содержащими связи металл — углерод, но с ионными координационными соединениями. Жизнь зарождалась, по-видимому, в водной среде (см. гл. 17), металлоорганические соединения не растворяются, а разлагаются водой, в то время как ионы металлов хорошо растворимы в воде. О роли водной среды свидетельствует и важное значение молибдена в биологии. Содержание этого элемента в земной коре незначительно. Крик в полупутливой форме писал, что наличие молибдена в организмах свидетельствует о том, что жизнь занесена на Землю инопланетянами. Однако в морской воде содержание  $Mo$  того же порядка, что  $Fe$  и  $Zn$ .

Ионы металлов, содержащие незаполненную  $d$ -оболочку (а также  $f$ -оболочку), являются переходными — способными иметь различную валентность и образовывать комплексные, координационные соединения. Изучение таких соединений является главной областью современной неорганической химии. Соответственно важный раздел бионеорганической химии занимается ферментами, содержащими атомы переходных металлов в качестве кофакторов или в составе простетических групп (гемсодержащие белки).

Современные представления о координационных соединениях переходных металлов основываются на так называемой *теории поля лигандов*. Это — квантовомеханическая теория соответствующих молекул, в которой рассматриваются как молекулярные орбитали центрального иона металла, так и его лигандов в координационной сфере. Связи металл — лиганд не характеристичны и лиганды сильно влияют друг на друга в химических реакциях. Координация лигандов определяет симметрию молекулы и расщепление энергетических уровней  $d$ -электронов. В отсут-

ствие лигандов все пять уровней  $d$ -электронов совпадают. Напомним, что обозначение  $d$  отвечает орбитальному квантовому числу  $l=2$ . Следовательно, возможны пять уровней: магнитное квантовое число может иметь значения от  $-l$  до  $l$ , т. е.  $-2, -1, 0, 1, 2$ . Согласно принципу Паули, на каждом уровне могут

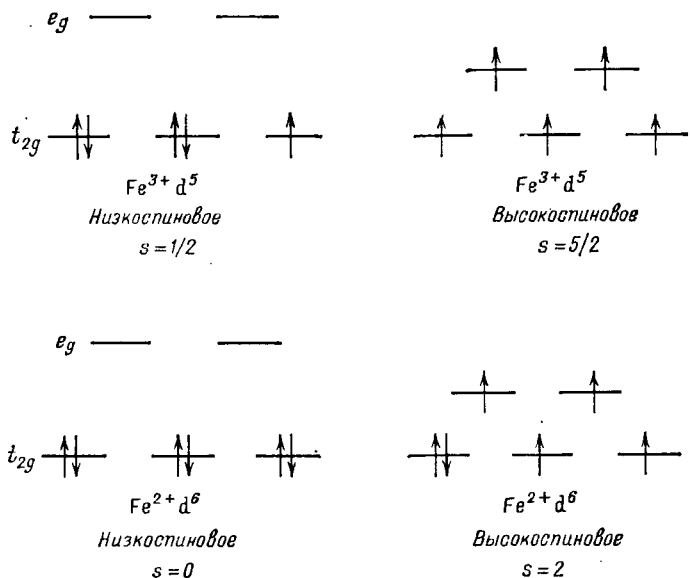


Рис. 6.25. Электронные структуры ионов  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$

находиться два электрона с антипараллельными спинами; всего на  $d$ -подоболочке может быть десять электронов. В поле лигандов  $d$ -уровни расщепляются в тем большей мере, чем ниже симметрия системы. Так, для плоского квадрата с ионом металла посередине имеются четыре  $d$ -уровня, для октаэдра и тетраэдра — два уровня, для икосаэдра расщепления нет вовсе. Взаимодействие электронных состояний с колебаниями комплекса приводит к дальнейшему понижению симметрии и расщеплению уровней. Это так называемый эффект Яна — Теллера, ярко проявляющийся в спектрах поглощения комплексов.

Металлы в комплексах фигурируют в двух типах соединений, в высокоспиновом и низкоспиновом состояниях. Соответствующие уровни для ионов  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  показаны на рис. 6.25. Правило Гунда говорит, что наименьшей энергии в многоэлектронном атоме отвечает параллельное расположение спинов, т. е. высокоспиновое состояние. Однако если поле лигандов сильнее и расщепление уровней значительно, то электроны поневоле вынуждены располагаться на самых низких уровнях и реализуется низкоспиновое состояние. Такова ситуация в  $MnO_2$  и  $HbO_a$ , где железо находится в ферроформе (ср. табл. 6.2).

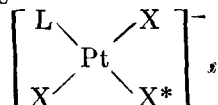
Комплексные соединения переходных металлов обладают особыми свойствами, удобными для их экспериментального исследования. Этими свойствами являются наличие полос поглощения в длинноволновой — видимой — области спектра, парамагнетизм и наличие спектров ЭПР (за немногими исключениями, такими как  $\text{MnO}_2$  и  $\text{NbO}_3$ ). Как уже сказано, симметричные комплексы характеризуются выразительными спектрами магнитного вращения и магнитного кругового дихроизма.

Среди ферментов, содержащих ионы переходных металлов, важное место принадлежит нитрогеназе. Ряд видов бактерий (в частности, находящихся в симбиозе с бобовыми растениями) и водорослей обладает способностью восстанавливать азот воздуха до аммиака. В конечном счете именно этим способом в организмы доставляется азот, необходимый как для белков, так и для нуклеиновых кислот. Такая реакция, как  $\text{N}_2 + 3\text{H}_2 \rightarrow 2\text{NH}_3$ , в газе требует гетерогенного катализатора, давления порядка 250 атм и температуры до  $450^\circ\text{C}$  (процесс Габера — Боша). В бактериях эта реакция идет с участием нитрогеназы — комплекса двух белков, один из которых содержит молибден и железо, а другой — только железо. Роль Mo является определяющей. Несмотря на то, что структура нитрогеназы пока еще мало изучена, с помощью качественных методов квантовой химии, основанных на теории поля лигандов, удалось выявить роль молибдена. Активация молекулярного азота  $\text{N}_2$  происходит, по видимому, в комплексе  $\text{Me} - \text{N} \equiv \text{N} - \text{Me}$  ( $\text{Me}$  — металл). При этом связь  $\text{NN}$  в  $\text{N}_2$  из тройной превращается практически в единичную. Рентгеноструктурный анализ показал, что в модельных комплексах  $\text{N}_2$  с металлами длина связи  $\text{NN}$  равна 0,137 нм (длина связи  $\text{N} \equiv \text{N}$  0,110 нм,  $\text{N} = \text{N}$  0,123 нм,  $\text{N} - \text{N}$  0,144 нм).

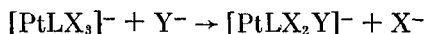
Изучение металлоферментов важно для дальнейшего проникновения в физику ферментативного катализа. Область белка, взаимодействующая с ионом металла в активном центре, представляет собой полидентатный лиганд, образуя несколько координационных связей с металлом. Это справедливо для кофакторов — ионов металлов, но не для простетической группы гема в  $\text{Hb}$  и  $\text{Mb}$ , в которой такая связь одна. Благодаря «мягкости»  $d$ -электронной оболочки, ее большей деформируемости, чем  $s$ - и  $p$ -оболочки, она приобретает напряженное, «энгатиическое» состояние в активном центре (Уильямс и Валли). Это проявляется в отличии электронных свойств переходных металлов в ферментах от этих свойств в модельных низкомолекулярных соединениях. Разнятся спектры ЭПР, спектры поглощения и т. д.

В химии комплексных соединений известны два явления, существенные для понимания свойств металлоферментов. Первое явление — *дисторсионная изомерия*. В ряде случаев в комплексе происходят изменения длин связей при сохранении общей структуры. Так, октаэдр  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_2\text{Br}_4$  известен в двух формах — более и менее сплюсненной. Второе явление — *транс-влияние*, открытое Черняевым у квадратных комплексов платины.

Рассмотрим комплекс



$L$ ,  $X$  — лиганды. При замещении одного из лигандов  $X$  на  $L$ , лиганд  $X^*$ , находящийся в *транс*-положении по отношению к заместителю  $L$ , обретает повышенную подвижность. В реакциях



по способности стимулировать *транс*-замещение лиганды  $L$  образуют ряд



Напряжение  $d$ -оболочки металла приводит к изменению конформации полидентатного лиганда — совокупности аминокислотных остатков в активном центре, координационно связанных с металлом и с ним соседствующих. Если к металлу присоединен низкомолекулярный лиганд, т. е. субстрат, то на его состоянии непосредственно сказываются эти конформационные события. Возникает ситуация, схематически изображенная на рис. 6.26: посредством *транс*-влияния субстрат воздействует на связи металл — белок, что влечет за собой изменение связей субстрат — белок вследствие ЭКВ и изменение состояния субстрата. Эти особенности делают металлоферменты особенно удобными объектами для изучения ЭКВ. При этом, как уже сказано, ион переходного металла является своего рода меткой, позволяющей исследовать ЭКВ в видимой области спектра методом ЭПР и т. д. Мы уже видели, что конформационные свойства белка сказываются на электронных свойствах гема, что находит свое выражение в магнитной спектродипольметрии гемсодержащих белков. Вопросы эти еще мало изучены.

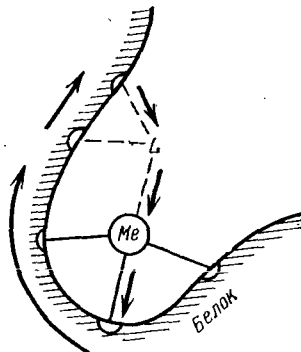


Рис. 6.26. Схема электронно-конформационных взаимодействий в металлоферменте:  $Me$  — металл,  $L$  — лиганд (субстрат)

Бионеорганическая химия важна для медицины, фармакологии и сельского хозяйства. Избыток или недостаток металлов влечет за собой патологические последствия и для человека, и для сельскохозяйственных культур. По-видимому, значительна роль металлов — прежде всего  $Zn$  — в канцерогенезе. Металлы фигурируют в ряде медикаментов.

Металлы важны для белковой инженерии — для искусственного получения белков с заранее заданными свойствами. Пока что это дело будущего.