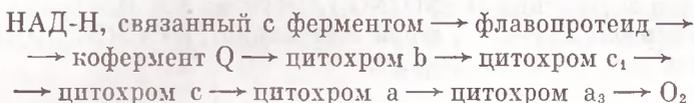


М. Е. ВОЛЬПИН, Г. Н. НОВОДАРОВА

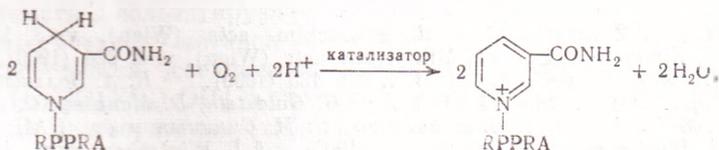
**КОМПЛЕКСЫ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ КАК КАТАЛИЗАТОРЫ  
ПРЯМОГО ОКИСЛЕНИЯ НАД-Н КИСЛОРОДОМ ВОЗДУХА**

(Представлено академиком А. Н. Несмеяновым 4 I 1974)

Пиридиновые коферменты, никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ) и их восстановленные формы НАД-Н и НАДФ-Н участвуют в большом числе ферментативных окислительно-восстановительных реакций. Важная биологическая функция пиридиновых коферментов состоит в их включении в электрон-транспортную систему живой клетки. В сопряженной цепи энзиматических реакций перенос электронов от НАД-Н на кислород протекает через ряд стадий (1):



Представляют интерес поиски неэнзиматических катализаторов, ведущих окисление НАД-Н непосредственно кислородом воздуха:



где RPPRA — остаток рибозаденилата.

Можно ожидать, что катализаторы, «шунтирующие» окисление НАД-Н непосредственно на кислород, будут обладать определенной физиологической активностью, конкурируя за НАД-Н с природными акцепторами электрона. В модельных системах в качестве такого «шунтирующего» агента применяют, например, метиленовую синь (2). В серии работ М. Л. Хидкеля и С. Н. Зеленина для каталитического окисления аналогов НАД-Н были предложены катализаторы флавиновой и хиноидной структуры (3). В настоящей работе в качестве катализаторов реакции прямого окисления НАД-Н кислородом воздуха исследованы комплексы переходных металлов. Представляло интерес начать поиск катализаторов с комплексов железа и меди — металлов, участвующих в системе ферментативного окисления НАД-Н. В качестве лигандов были взяты алифатические окси- и кетокислоты, полифенолы, алифатические амины и их производные,  $\alpha, \alpha$ -дипиридил, *o*-фенантролин. Для получения комплексов смешивали растворы соли металла и лиганда, молярное отношение 1 : 3, рН 9,0. Исходные молярные концентрации в смеси равнялись соответственно: НАД-Н —  $10^{-4}$  М, соли металла —  $10^{-6}$  М, лиганда —  $3 \cdot 10^{-6}$  М; реакцию вели в буферном растворе или в воде, насыщенном воздухом, рН 8,0–9,0. Молярная концентрация кислорода в воде при 20° составляет  $2,6 \cdot 10^{-4}$  М, при 37° —  $1,8 \cdot 10^{-4}$  М, что превышает молярную концентрацию НАД-Н примерно в 2 раза. Изменение концентрации НАД-Н определяли спектрофотометрически при  $\lambda$  340 нм ( $\epsilon=5080$ ).

Таблица 1

Окисление НАД-Н кислородом в присутствии комплексов железа и меди  
(% окисления НАД-Н за 18 час., температура комнатная)

| Лиганд                         | Без металла |    |     | Fe <sup>3+</sup> |    |     | Cu <sup>2+</sup> |    |     |
|--------------------------------|-------------|----|-----|------------------|----|-----|------------------|----|-----|
|                                | I           | II | III | I                | II | III | I                | II | III |
| Без лиганда                    | 0           | 7  | 6   | 5                | 14 | 7   | 5                | 14 | 7   |
| Молочная кислота               |             |    |     | 1                | 2  | 5   | 6                | 3  |     |
| Аскорбиновая к-та              |             |    |     | 0                | 0  | 11  | 5                | 9  |     |
| Яблочная к-та                  |             |    |     | 2                | 0  | 5   | 10               | 24 |     |
| Винная к-та                    |             |    |     | 4                | 1  | 1   | 3                | 10 |     |
| Лимонная к-та                  |             |    |     | 6                | 3  | 7   | 4                | 6  |     |
| Щавелевоуксусная к-та          |             |    |     | 4                | 0  | 10  | 7                | 9  |     |
| Глиоксалева к-та               |             |    |     | 6                | 0  | 5   | 8                | 10 |     |
| Пирокатехин                    | 0           |    | 8   | 52               | 19 | 32  | 43               | 29 | 65  |
| Пирогаллол                     |             |    |     | 6                | 10 |     | 22               | 26 |     |
| Глицин                         |             |    |     | 3                | 1  |     | 5                |    | 0   |
| ЭДТА                           |             |    |     | 0                | 0  |     | 17               |    | 8   |
| Этилендиамин                   |             |    |     | 3                | 2  |     | 5                |    | 4   |
| Триметилендиамин               |             |    |     | 3                | 0  |     | 6                |    | 13  |
| Тетраметилэтиленди-<br>амин    |             |    |     | 2                | 0  |     | 8                |    |     |
| <i>o</i> , <i>o</i> -Дициридил | 0           |    |     | 8                |    |     | 6                |    |     |
| <i>o</i> -Фенантролин          | 0           |    |     | 7                |    |     | 27               |    | 14  |

Примечание. I — вода, pH 9,0; II — фосфатный буфер, pH 8,0; III — трис-НСI буфер, pH 8,0.

Как видно из данных табл. 1, активными катализаторами реакции окисления НАД-Н кислородом являются пирокатехиновые комплексы железа и меди, менее активны комплексы меди с пирогаллолом, *o*-фенантролином и яблочной кислотой. Отмечается снижение активности комплексов в фосфатном буфере по сравнению с водой, что может быть связано с конкуренцией фосфат-иона за металл-комплексобразователь.

Учитывая высокую активность пирокатехина как лиганда, более детально изучалось каталитическое окисление НАД-Н кислородом в присутствии пирокатехиновых комплексов меди, железа, ванадия, молибдена, кобальта, никеля, хрома, марганца, цинка, кадмия, серебра, ртути, палладия, рутения, родия, осмия, самария, церия. Комплексы получали при смешивании растворов соли металла и пирокатехина (молярное соотношение 1:3, pH 9,0). Наиболее активными катализаторами окисления НАД-Н кислородом оказались пирокатехиновые комплексы меди и ванадия. Как видно из табл. 2, соли меди и ванадила не катализуют окисление НАД-Н кислородом, сам пирокатехин слабо ускоряет этот процесс, тогда как одновременное введение пирокатехина и соли меди или ванадила увеличивает начальную скорость окисления НАД-Н в 2—3 раза.

Следует отметить, что сходная система — *o*-нафтохинон+ион Cu<sup>2+</sup> является активным катализатором окисления 2,6-диметил-3,5-дикарбоэтоксид-1,4-дигидропиридина молекулярным кислородом (4).

Известно, что медь(II) может образовывать комплексы с пирокатехином, содержащие как одну, так и две молекулы лиганда на атом металла (5). В связи с этим мы изучили влияние молярного отношения [пирокатехин]: [CuCl<sub>2</sub>] в растворе на каталитическую активность системы. Оказалось, что увеличение молярного избытка пирокатехина заметно увеличивает скорость окисления НАД-Н кислородом (табл. 3).

Эти результаты могут быть объяснены тем, что наибольшей каталитической активностью обладает комплекс меди, содержащий не одну, а две (или более) молекулы лиганда. В связи с этим мы получили в кристаллическом виде по методу (6) индивидуальный комплекс меди с 2 молеку-

Таблица 2

Начальные скорости ( $V_{\text{нач}}$ ) окисления НАД-Н кислородом в присутствии различных катализаторов \*

| Катализатор  | $V_{\text{нач}} \cdot 10^{-7}$ ,<br>МОЛ · Л <sup>-1</sup> ·<br>· МИН <sup>-1</sup> |
|--|--|
| Без катализатора   | 0,17   |
| CuCl <sub>2</sub>  | 0,17   |
| VOSO <sub>4</sub>  | 0,17   |
| Пирокатехин  | 0,62   |
| Пирокатехин + CuCl <sub>2</sub>  | 1,21   |
| Пирокатехин + VOSO <sub>4</sub>  | 1,73   |
| [Cu(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ](NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 7,30   |
| [VO(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ]K <sub>2</sub>                  | 1,22   |
| Метиленовая синь   | 3,30   |

\* Исходные концентрации в смеси: НАД-Н —  $1 \cdot 10^{-4}$  М, соединения металла —  $1 \cdot 10^{-5}$  М, пирокатехин —  $3 \cdot 10^{-6}$  М, метиленовая синь —  $1 \cdot 10^{-8}$  М, трис-НСl буфер, 0,05 М, рН 8,0, температура 37°.

Таблица 3

Зависимость начальных скоростей ( $V_{\text{нач}}$ ) окисления НАД-Н кислородом от молярного отношения [пирокатехин] : [CuCl<sub>2</sub>] в растворе

| Концентрация компонентов реакции * |                                 | $V_{\text{нач}} \cdot 10^{-7}$ ,<br>МОЛ · Л <sup>-1</sup> ·<br>· МИН <sup>-1</sup> |
|------------------------------------|---------------------------------|--|
| Пирокатехин, $10^{-6}$ М           | CuCl <sub>2</sub> , $10^{-6}$ М |  |
| 1                                  | 1                               | 0,36   |
| 1                                  | —                               | 0,33   |
| 3                                  | 1                               | 1,21   |
| 3                                  | —                               | 0,62   |
| 6                                  | 1                               | 1,54   |
| 6                                  | —                               | 0,98   |
| 10                                 | 1                               | 2,23   |
| 10                                 | —                               | 1,18   |
| 20                                 | 1                               | 2,60   |
| 20                                 | —                               | 1,54   |

\* Другие компоненты реакции: [НАД-Н] =  $10^{-4}$  М, трис-НСl буфер, 0,05 М, рН 8,0; температура 37°.

лами пирокатехина — [Cu(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>](NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, а также индивидуальный комплекс ванадия с пирокатехином — [VO(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]K<sub>2</sub> по методу (6). Каталитическая активность индивидуального комплекса меди оказалась значительно выше, чем активность растворов, приготовленных смешением соответствующих количеств CuCl<sub>2</sub> и пирокатехина, а также заметно выше, чем активность метиленовой сини (табл. 2). Было найдено, что при концентрации НАД-Н  $1 \cdot 10^{-2}$  М и концентрации индивидуального комплекса меди с пирокатехином  $1 \cdot 10^{-5}$  М, одна молекула комплекса окисляет за час ~100 молекул субстрата при температуре 37°.

Полученные результаты показывают, что пирокатехиновые комплексы меди и ванадия являются эффективными катализаторами окисления НАД-Н кислородом воздуха.

Институт элементоорганических соединений  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
13 XI 1973

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. Ленинджер, Митохондрия, М., 1966. <sup>2</sup> G. F. Maley, J. Biol. Chem., v. 224, 1029 (1957). <sup>3</sup> С. Н. Зеленин, М. Л. Хидекель, Усп. хим., т. 39, 209 (1970). <sup>4</sup> С. Н. Зеленин, М. Л. Хидекель, В. Ф. Шувалов, ЖОХ, т. 39, 2746 (1969). <sup>5</sup> R. Weinland, E. Walten, Zs. anorg. Chem., v. 148, 25 (1925).