

*СОВРЕМЕННЫЕ
ПРОБЛЕМЫ
ФИЗИКИ*

А. СЕНТ-ДЬЕРДЫ

***В*ВЕДЕНИЕ
В СУБМОЛЕКУЛЯРНУЮ
БИОЛОГИЮ**

АЛЬБЕРТ СЕНТ-ДЬЕРДЫ

СОВРЕМЕННЫЕ
ПРОБЛЕМЫ
ФИЗИКИ

*Серия выпускается под общим руководством
редакционной коллегии журнала
«Успехи физических наук»*

ВВЕДЕНИЕ
В СУБМОЛЕКУЛЯРНУЮ
БИОЛОГИЮ

ПЕРЕВОД С АНГЛИЙСКОГО
Л. А. ТУМЕРМАНА

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
МОСКВА 1964

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
МОСКВА 1964

INTRODUCTION to a SUBMOLECULAR BIOLOGY

ALBERT SZENT-GYÖRGYI

ACADEMIC PRESS INC.
NEW YORK AND LONDON 1960

СОДЕРЖАНИЕ

Список принятых сокращений	6
Предисловие переводчика	7

ЧАСТЬ I

ОБЩИЕ СООБРАЖЕНИЯ

I. Введение	15
II. Для чего нужна субмолекулярная биология? Постановка проблемы	20
III. Энергетический цикл жизни	26
IV. Единицы и меры	34
Окислительно-восстановительные потенциалы	34
Ионизационный потенциал и электронное сродство	38
Величины энергетических уровней	42
V. Подвижность электронов	52
Электромагнитная связь. Резонансная миграция энергии	53
Полупроводимость	55
VI. Комплексы с переносом заряда	59
Проблемы переноса заряда	68
VII. Три примера переноса заряда	75
Хинон-гидрохинон	76
Рибофлавин (ФМН) и серотонин	80
Кортизон I ₂	86
VIII. Отдельные замечания	90
Вода	90
Ионы	92
Метахромазия	95

ЧАСТЬ II

ПРОБЛЕМЫ И ПОДХОДЫ

IX. О механизме действия лекарственных средств	102
X. Об аденозинтрифосфате	108
XI. О химии тимуса	114
XII. Живое состояние	116
Литература	125
Приложение: Р. Вюрмсер. Альберт Сент-Дьердьи и современная биохимия	131
Литература	139

СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

А	— акцептор
АДФ	— аденозиндифосфат
АМФ	— аденозинмонофосфат
АТФ	— аденозинтрифосфат
Д	— донор
ДПН	— дифосфопиридиннуклеотид
ИК	— инфракрасный
ИП	— ионизационный потенциал
ТПН	— трифосфопиридиннуклеотид
УФ	— ультрафиолетовый
ФАД	— флавинадениндинуклеотид
ФМН	— флавинмононуклеотид
эв	— электрон-вольт
ЭПР	— электронный парамагнитный резонанс
ЭС	— электронное сродство

ПРЕДИСЛОВИЕ ПЕРЕВОДЧИКА

Три года назад Государственное издательство физико-математической литературы дало советскому читателю возможность познакомиться в русском переводе с книгой Альберта Сент-Дьердьи «Биоэнергетика». Эта книга кончалась утверждением: «Я не сомневаюсь в том, что наш век будет свидетелем глубокой революции в развитии биологии, установления квантовомеханической биохимии, построенной над зданием лукрецианской биохимии».

Прошло очень немного времени, и мы видим, как сбывается это предсказание Сент-Дьердьи, сбывается значительно быстрее, чем он сам предполагал. Наш век еще не окончился, а мы уже являемся свидетелями все более широкого проникновения идей современной квантовой физики в теорию механизмов фундаментальных процессов жизнедеятельности. Квантовомеханическая биохимия и квантовомеханическая биология — это науки, быть может, еще не окончательно сложившиеся, не вполне оформившие свое содержание и свои пути, науки, несомненно находящиеся в интереснейшей фазе своего становления, но уже властно диктующие новые подходы и новые пути решения ряда важнейших проблем.

С особой ясностью виден этот прогресс при чтении недавно вышедшего в США сборника статей под названием «Горизонты биохимии» («Horizons in bioche-

mistry», Academic Press, N. Y., 1962), выпущенного в ознаменование 70-летнего юбилея А. Сент-Дьердьи и содержащего ряд статей, написанных крупнейшими специалистами в различных областях биохимии, биофизики и биологии. Хотя авторы, по-видимому, и не сговаривались между собой и были свободны в выборе тем и подхода к проблемам, однако все статьи сборника по существу подчинены одной задаче: показать, как в рамках той или иной частной проблемы развивается общая мысль, провозвестником которой уже много лет является Сент-Дьердьи, мысль о том, что понимание биологической функции невозможно без перехода в новое «измерение», мир субмолекулярных и супрамолекулярных электронных явлений, управляемых не законами классической, а законами квантовой физики.

Новая книга Сент-Дьердьи «Введение в субмолекулярную биологию», которую мы сейчас рекомендуем вниманию советского читателя, представляет собой, как отмечает автор, новое «воплощение» его «Биоэнергетики». Сент-Дьердьи считает, что это «воплощение» — последнее, но мы будем надеяться, что он в этом ошибается и что мы не раз еще будем иметь счастье следить за изумительной логикой его рассуждений и вдохновляющим полетом его фантазии. В этой новой книге основные мысли автора развиваются с еще более неотразимой последовательностью и иллюстрируются на новом материале и с совершенно иных, чем прежде, конкретных физических позиций.

История развития биохимии, как говорит Сент-Дьердьи, проста и логична. Если мы хотим от описания структуры химических соединений и изменений этих структур, происходящих при простых реакциях, перейти к пониманию функций живого орга-

низма, то неизбежно придется отказаться от наивного, «лукрецианского», как называет его Сент-Дьердьи, представления об атомах как о неделимых «кирпичиках» 92 различных видов, символически изображаемых буквами латинского алфавита, и о молекулах как об агрегатах таких кирпичиков, связи между которыми символизируются черточками, соединяющими эти буквы. Подобный подход был закономерен в конце прошлого века, когда создавалась современная биохимия, и до поры до времени он обеспечивал ее блестящие успехи и достижения, темп накопления которых еще и сейчас очень высок. Однако теперь уже видны рубежи, за которыми этот подход бессилен. Биохимия должна пойти по пути породившей ее науки — химии — и исходить из современного представления об атоме, т. е. считать, что он состоит из ядра и облака электронов переменчивой и причудливой формы. Путь к пониманию тонких биологических функций лежит в учете явлений, происходящих в этом электронном, субмолекулярном или субатомном мире, законы которого диктуются квантовой механикой.

Как все новое, «квантовомеханическая биология» прокладывает себе путь не без борьбы и сопротивления. Это естественно, но мне кажется, что, по крайней мере частично, сопротивление, которое встречают новые идеи Сент-Дьердьи среди представителей «классической» науки, связано с известным недоразумением. При словах «квантовая механика» или «квантовомеханический подход к биологическим проблемам» в воображении некоторых, более далеко стоящих от физики исследователей возникают картины сложнейших математических формул, головолomных расчетов и мало знакомой, очень абстрактной символики.

Им кажется, что речь идет о «квантовомеханической математизации» биохимии и биологии. Однако это неверно. Число проблем, которые поддаются сегодня хотя бы приближенному математическому расчету, еще очень невелико, и когда мы говорим о «квантовомеханической биологии», мы совсем не их имеем в виду. Речь идет лишь о том, что при изучении биологических феноменов необходимо учитывать те специфические явления, которые можно понять или предсказать лишь с позиций квантовой физики.

По сути дела мы никуда уйти от этих явлений не можем. Ни один химик или биолог не испытывает никаких сомнений, когда говорит о молекуле O_2 или H_2 . Но ведь существование гомеополярной связи вообще нельзя понять вне представлений квантовой химии. По существу, новый подход к выяснению механизмов биологических функций требует только того, чтобы мы перестали уподобляться молюеровскому господину Журдену, который был крайне изумлен, узнав, что он всю свою жизнь изъяснялся прозой. Нужно правильно оценить роль, которую играют в биологии такие специфически квантовофизические процессы, как, например, переходы между электронными уровнями разных типов, резонансная миграция энергии возбуждения, процессы экситонного возбуждения, образование комплексов с переносом заряда или же такие типичные для «физики твердых тел» процессы, как миграция делокализованных электронов в биологических структурах, сходных в известном отношении с примесными молекулярными кристаллами, и т. п. Учет этих явлений — пока еще в большинстве случаев только качественный — «быть может, сообщит, как пишет Сент-Дьердьи, нашему мышлению ту пластичность, которая необходима, чтобы постичь жизнь и смысл той

уникальной системы, которую мы называем клеткой». Сент-Дьердьи не только пророк этой революции в биологии, но и ее активный участник.

Он не только высказывал и обосновывал изложенные выше общие соображения, но и пытался найти те конкретные квантовофизические механизмы, которые играют наиболее существенную роль в фундаментальных биологических процессах. Еще в 1941 г. в связи со своими работами по изучению мышечного сокращения он высказал предположение о том, что в этих процессах, как и в ряде других, может играть роль миграция электронов по «зонам проводимости» белковых структур, имеющих свойства, аналогичные свойствам полупроводниковых кристаллов. В чистом виде, вернее для идеализированной белковой молекулы, такое представление встретило известные трудности и не получило развития и признания. Мне лично думается, что причиной этого была именно излишняя идеализация представления о «молекуле белка» как об идеальной полипептидной цепи с аминокислотами в боковых цепях. Не учитывалось, что в реальной биологической среде такая идеализированная структура отягощена всевозможными простетическими группами, коферментами, активными центрами, нарушениями регулярности структуры. В ряде случаев реальной рабочей структурой является не белок и не нуклеиновые кислоты сами по себе, а нуклеопротеиды. Если искать физических аналогий, то работающую белковую структуру следует уподоблять не идеальному чистому молекулярному кристаллу, а примесному. Возможно, что при таком подходе «полупроводниковые концепции» Сент-Дьердьи приобретут новую жизнь.

Во всяком случае, исходя из убеждения, что «теории, не приносящие плодов, бесполезны», Сент-Дьердьи

не развивал дальше свою полупроводниковую концепцию, хотя и не отказался от нее. В «Биоэнергетике» он перенес свое внимание на другой класс явлений: электронное возбуждение сложных молекул (преимущественно ароматических) и переходы их в долгоживущее (триpletное) состояние. В этих долгоживущих электронно-возбужденных состояниях, связанных с наличием структурированной воды на биополимерах, Сент-Дьердьи со свойственным ему увлечением увидел ключ к пониманию ряда очень разнообразных биологических феноменов.

Однако оказалось, что люминесцентные явления, которые наблюдаются при замораживании водных растворов флуоресцирующих красителей и в которых Сент-Дьердьи видел надежное экспериментальное обоснование своей концепции, связаны не с синглет-триpletными переходами, а с димеризацией красителя. Ряд других фактов также показывает, что мы, по-видимому, были склонны переоценивать роль триpletных состояний в биологических процессах и что вообще в вопросе о роли электронных возбужденных состояний, если не говорить о явлениях фото-биологических (фотосинтез, зрение, биолюминесценция и т. п.), требуется проявлять большую осторожность.

В новой книге Сент-Дьердьи не развивает дальше эту «триpletную» концепцию. С той же увлеченностью он освещает вопрос о возможной роли образования «комплексов с переносом заряда». Книга дает как достаточно ясное представление о физической сущности этого явления, так и ряд прекрасных иллюстраций его возможного биологического значения.

По всему, что нам сейчас известно, можно думать, что эта новая концепция является чрезвычайно пер-

спективной. Но если даже окажется, что нас и здесь ждет некоторое разочарование, и роль комплексов с переносом заряда не столь велика, как мы сейчас думаем, не следует этим смущаться. «Неизвестное, — писал Сент-Дьердьи в своей предыдущей книжке, — это мало надежная почва, и тот, кто сюда вступает, не может рассчитывать на большее, чем на то, что его ошибки окажутся почетными».

Какая бы судьба ни ждала последнюю концепцию Сент-Дьердьи, очень широкие круги советских читателей, заинтересованных в развитии современной физико-химической биологии, несомненно прочтут предлагаемую им книгу с огромным интересом. В небольшой мере этому будет способствовать исключительно яркая, смелая и остроумная форма изложения, характеризующая стиль автора.

Особенный интерес представляет книга Сент-Дьердьи для физиков. Она укажет им, по крайней мере, некоторые из тех путей, на которых физика может найти подходы к интерпретации элементарных биологических процессов.

Мне хотелось бы в заключение отметить еще чрезвычайно вдохновляющее и стимулирующее значение, которое настоящая книга может иметь для молодых людей, начинающих свой путь в науке, — студентов, аспирантов и молодых научных работников. Ее значение связано не только с содержанием книги, но и с той «подтекстовой» мыслью, которая красной нитью проходит через все научное творчество и все книги Сент-Дьердьи. Это мысль о том, что всегда следует ставить перед собой большие задачи, не смущаясь возможностью неудач и ошибок при их решении. В очень остроумной форме высказал ее Сент-Дьердьи в одной из своих популярных статей. «Когда я

переехал в Вудс-Холл и начал ходить на рыбалку, — пишет он, — я всегда носил с собой огромный крючок. Я знал, что все равно ничего не поймаю, но ведь приятнее не поймать большую рыбу, чем маленькую». Мы знаем, как много «больших рыб» поймал Сент-Дьердьи в науке. Но этот его завет, призыв к бестрашию и стремлению к большим проблемам, кажется мне, будет весьма благотворен для начинающих свой путь в науке.

В приложении к книге мы даем краткий очерк жизненного пути Сент-Дьердьи и места его в современной биохимии, написанный Рене Вюрмсером и заимствованный нами из упомянутой книги «Горизонты биохимии».

Л. А. Тумерман

ЧАСТЬ I

ОБЩИЕ СООБРАЖЕНИЯ

I. Введение

Основная ткань исследования — это фантазия, в которую вплетены нити рассуждения, измерения и вычисления.

Эта небольшая книжка представляет собой новое воплощение моей «Биоэнергетики»*), которая вряд ли была чем-нибудь большим, чем фантазия. Поэтому я был очень удивлен, узнав, что «Биоэнергетика» переведена на русский язык и издана Академией наук СССР**) и что предисловие к ней написал А. Н. Теренин, один из ведущих советских ученых. Двумя годами позже, в конце 1959 г., Комитет по атомной энергии организовал в Брукхейвене симпозиум***) по вопросам биоэнергетики, который придал этой проблеме характер точно определенной области исследовательской работы.

С 1957 г. мои представления приобрели несколько более определенную форму, и если я сейчас все еще не могу сформулировать окончательные решения, то я уже в состоянии по крайней мере поставить несколько вопросов более разумно, вплетая в них

*) А. Сент-Дьердьи. Биоэнергетика, М., 1960. В подлиннике эта книга вышла в 1957 г. — *Прим. перев.*

**) Это не точно. Русский перевод этой книги выпущен в свет Физматгизом. — *Прим. перев.*

***) Материалы этого симпозиума опубликованы в виде второго приложения (Supplement II) к журналу «Radiation Research» за 1960 г. — *Прим. перев.*

некоторые нити измерения, рассуждения и расчета. Тем не менее не без серьезных опасений решился я на публикацию этой книжки, которая должна служить последним мазком в повторяющейся картине моих вторжений в области, в которых я не являюсь специалистом. Я начал свои исследования в области гистологии. Не удовлетворившись той информацией о жизни, какой могла снабдить меня морфология клетки, я обратился к физиологии. Найдя физиологию слишком сложной, я занялся фармакологией, где по крайней мере один из партнеров — лекарственное средство — прост по своей природе. Убедившись, что рассматриваемая ситуация все еще слишком сложна, я обратился к бактериологии. Найдя и бактерии слишком сложными, я спустился на молекулярный уровень, занявшись химией и физической химией. Вооруженный приобретенным опытом, я принялся за изучение мышц. После 20 лет работы я пришел к заключению, что для понимания мышцы необходимо спуститься на электронный уровень, законы которого регулируются волновой механикой. Таким образом, я снова оказался вовлеченным в область, в которой я был полным профаном. На прежних этапах, переходя к новой области, я всегда надеялся овладеть интересующим меня предметом. В случае квантовой механики я даже не надеюсь на это. Отсюда и мои опасения.

Я обратился к моей собственной истории не потому, что сама по себе она имеет какое-нибудь значение, а потому, что она связана с более важным вопросом: должны ли биологи допускать, чтобы их вытесняли из этого мира электронных явлений только из-за того, что они не знакомы с тонкостями квантовой механики? Сейчас число исследователей, овладевших обеими науками — биологией и квантовой механикой, очень мало. Учитывая ограниченные возможности ума человека и ограниченную продолжительность его жизни, можно думать, что это число никогда и не будет очень большим. Каждая из этих наук требует всего ума человека и всей его жизни. Таким образом, по крайней мере в настоящее время, для развития науки необходима некая гибридизация разных специальностей.

По моему мнению, во всяком случае сейчас, наилучшее решение заключается не в превращении биологов в физиков и наоборот, а в их сотрудничестве. Для этого не обязательно, чтобы биологи сами проникали во все тонкости квантовой механики. Им достаточно найти общий язык с физиками и интуитивно овладеть основными идеями и ограничениями квантовой механики, чтобы быть в состоянии наметить для физика проблемы и понять смысл его ответов. Точно так же физику лучше оставаться на своей стороне пропасти, чем превратиться в, быть может, второразрядного биолога. Если, например, я как биолог интересуюсь энергетическими уровнями какого-нибудь вещества и если мне говорят, что его наивысший уровень характеризуется определенным значением коэффициента k , равным, скажем, 0,5 то я могу исходить из этих данных. Мне достаточно знать, что означает k , равное 0,5, и мне нет нужды точно знать, как было получено это значение. В обмен я могу указать физику, для каких веществ вычисление коэффициента k может представлять особый интерес.

Я хотел бы сделать только одно предостережение биологам, которые отваживаются вступать в область физических проблем. Между физикой и биологией есть существенное различие. Физика — это наука о вероятностях. Если какой-либо процесс 999 раз происходит одним путем и только 1 раз другим, то физик, не колеблясь, скажет, что первый путь и есть истинный. Биология — это наука о невероятном, и я думаю, что в принципе для организма существенны только статистически невероятные реакции. Если бы метаболизм осуществлялся в результате ряда вероятных и термодинамически спонтанных реакций, то мы сгорели бы и вся машина остановилась бы, подобно часам, лишенным регулятора. Реакции контролируются тем, что они статистически невероятны и могут происходить только благодаря специфическим механизмам, способным обеспечить их регулирование. Таким образом, в живом организме становятся возможными реакции, которые кажутся физику невозможными или, во всяком случае, невероятными. Когда была

вскрыта гробница Тутанхамона, оказалось, что за 3000 лет его завтрак не окислился. Такова физическая вероятность. Но если бы фараон воскрес и сам съел свой завтрак, то последний сгорел бы очень быстро. Такова биологическая вероятность. Сам фараон должен был бы представлять собой очень сложную и высоко организованную структуру ядер и электронов, статистическая вероятность которой близка к нулю. Я не хочу этим сказать, что биологические реакции не подчиняются законам физики. В конечном счете объяснить их должна именно физика, но только окольным путем, который на первый взгляд может показаться совершенно неправдоподобным. Когда природа хочет достичь чего-нибудь, она всегда находит пути для этого, если только нет противоречия с ее основными законами. У нее хватает для этого времени *).

Все это делает взаимоотношения физиков и биологов очень сложными. Биолог зависит от суждения физиков, но вместе с тем он должен быть очень осторожен, когда ему говорят, что то или иное событие или явление невероятно. Если бы я всегда соглашался с вердиктом физиков, то мне пришлось бы бросить это направление моих исследований. Я счастлив, что не сделал этого. Хорошую теорию можно отличить от плохой по тому признаку, что первая ведет к новым перспективам и увлекательным экспериментам, тогда как вторая большей частью рождает только новые теории, цель которых — спасти порочившие их теории.

С тех пор как я начал работать в моем теперешнем направлении, все кажется мне более красочным, и я с большим нетерпением, чем когда бы то ни было прежде, спешу по утрам в свою лабораторию.

Биолог, вступающий в эту область, не лишен помощи и ободряющих примеров. Колсон поместил в первом томе ежегодного издания «Успехи в иссле-

*) В живой природе часто «работают» системы, более сложные, чем те, какими пользуются физики для проверки своих теорий.

довании рака» (Advances in Cancer Research, Academic Press, N. Y., 1953) изумительно ясный, освобожденный от математического аппарата обзор основных концепций квантовой механики. Для третьего тома того же издания (1955) А. и Б. Пюльманы написали столь же ясную статью о комплексных величинах. Лица, владеющие французским языком, могут обратиться к написанному теми же авторами более широкому обзору в книге «Канцерогенное действие химических веществ и молекулярная структура» (B. et A. Pullman, Cancérisation par les substances chimiques et structure moléculaire, Masson, Paris, 1955). Больше подробностей и некоторый математический аппарат можно найти в книге Б. и А. Пюльманов «Электронные теории и органическая химия» (B. et A. Pullman, Les théories électroniques de la chimie organique, Masson, Paris, 1952). Вместе с тем очень краткую и популярную сводку представляет собой книжка Б. Пюльмана «Молекулярная структура» (B. Pullman, La Structure moléculaire, Presses Universitaires, Paris, 1957). Конечно, книга Паулинга «Природа химической связи» *) должна постоянно находиться на письменном столе всякого работающего в этой области, так же как и книга Ферстера «Флуоресценция органических соединений» (Th. Förster, Fluoreszenz Organischer Verbindungen, Göttingen, 1951), последнее английское издание которой выйдет в свет в ближайшем будущем **).

Ободряющим примером плодотворности исследований в этой области служат смелые работы А. и Б. Пюльманов, начавших с изучения электронной структуры канцерогенных углеродов. Для этих соединений удалось установить корреляцию между их

*) Русский перевод книги Л. Паулинга «Природа химической связи» опубликован в 1947 г. (Госхимиздат). Последнее английское издание вышло в издательстве Cornell University Press в 1960 г. — Прим. перев.

**) Несмотря на наличие перечисленных выше прекрасных книг, нельзя, конечно, отрицать очень острой потребности в полном и современном изложении этих вопросов, написанном специально для биологов и, по возможности, не затрудненным математическими выкладками.

электронной структурой и канцерогенными свойствами, что, быть может, является одним из первых крупных шагов на пути к пониманию природы рака.

Те же авторы заложили основы других областей квантовохимической биологии, установив электронные характеристики многих биологически важных катализаторов [1—3] и отважившись даже на вторжение в область ферментов [4] и высоко энергетических, или макроэргических, фосфатных связей [5]*).

Наряду с этими примерами следует отметить исследования Б. Коммонера и его сотрудников [6—9] по применению метода электронного парамагнитного резонанса, которые стимулируют интерес биологов к субмолекулярным явлениям. В этих работах впервые были получены экспериментальные данные, подтверждающие участие свободных радикалов в одноэлектронных процессах переноса электрона, предсказанных классическими работами Михаэлиса [10].

II. Для чего нужна субмолекулярная биология? Постановка проблемы

История биохимии, если посмотреть на нее ретроспективно, представляется рядом поразительных достижений, блестящих успехов. Темпы прогресса не замедляются, и создается впечатление, что скоро мы сможем вообще исключить из нашей речи фразу: «Этого мы не знаем». К чему же тогда говорить о «субмолекулярной биологии», если молекулярная биохимия еще находится в полном расцвете?

Нет оснований ставить под сомнение эти успехи. Но все же, если не дать им ослепить себя и посмотреть на биохимию глазами, привыкшими к тьме, то становятся ясными огромные пробелы в наших знаниях. Рассмотрим некоторые из основных проблем химической биологии, начиная с метаболизма. Биохимия

позволила выявить сложные циклы промежуточного метаболизма и показать, что главной его целью является подготовка питательных веществ к окончательному окислению, в котором их энергия используется для присоединения одной молекулы фосфата к АДФ с образованием АТФ (см. рис. 16). В этом процессе энергия питательных веществ трансформируется в энергию концевой «макроэргической фосфатной связи» некоторой совершенно специфической молекулы. Только в такой форме энергия питательных веществ и может служить «топливом» для живой машины и приводить ее в действие. Этот процесс «окислительного фосфорилирования» является центральным событием во всей цепи процессов обмена веществ. Его механизм совершенно неизвестен.

Столь же мало мы знаем и об обратном процессе, об освобождении энергии из макроэргической фосфатной связи в АТФ. Мы не знаем, как энергия этих связей управляет жизнедеятельностью, как она превращается в различные формы работы w — будь то работа механическая, электрическая или осмотическая, — хотя вопрос о таких превращениях представляет, вероятно, самую важную проблему биологии. Мы знаем жизнь только по ее проявлениям, и то, что мы называем «жизнью», в большей своей части есть только упорядоченное взаимодействие работ различных форм; с возникновения человечества смерть усугублявали главным образом по отсутствию одной из этих форм работы, выражающейся в движении. Мы не знаем, как создается движение, как химическая энергия преобразуется в механическую работу.

Физиология позволила установить, что различные функции нашего тела регулируются и координируются гормонами, и биохимик может с гордостью показать ряды склянок, содержащих эти загадочные гормоны. Большой частью они имеют вид тонких, кристаллических порошков, часть которых можно синтезировать в лаборатории. То же относится и к различным витаминам, список которых, по-видимому, близок к завершению. Биохимик может дать нам структурную формулу большинства этих веществ. Однако наибольший

*) В книге А. и Б. Пюльманов «Quantum biochemistry» (N. J., 1963) дано очень ясное изложение основ квантовой биохимии и обзор работ авторов; русский перевод сейчас готовится в Издательстве иностранной литературы. — *Прим. перев.*

интерес представляет не вопрос об их составе, а вопрос о том, *что* они делают, *как* они функционируют на молекулярном уровне, как они осуществляют свои функции. На этот вопрос мы ответа не имеем. То же справедливо и для большинства лекарственных средств.

Что касается самой живой машины, то биохимик скажет вам, что основной ее частью служат белки, нуклеиновые кислоты и нуклеопротеиды. Он отметит большие успехи, достигнутые в структурном анализе этих веществ, укажет их структурные единицы (аминокислоты и нуклеотиды), их связи и относительное расположение, будет говорить об углах между связями и о расстояниях между атомами, о различных спиральных, которые они образуют. Но если мы спросим, почему природа собрала вместе столь большое число атомов и расположила их столь специфическим образом, какие свойства она хотела получить, то наш биохимик умолкнет. Одним из основных принципов жизни является «организация»; мы понимаем под этим, что при объединении двух вещей рождается нечто новое, качества которого не аддитивны и не могут быть выражены через качества составляющих его компонент. Это относится ко всей гамме форм организации, к объединению электронов и ядер, образующих атом, к соединению атомов в молекулы, аминокислот в пептиды, пептидов в белки, белков и нуклеиновых кислот в нуклеопротеиды и т. д. Сейчас мы не в состоянии даже строить какие бы то ни было догадки о том, что имела в виду природа, осуществляя эти формы организации. Следовательно, и здесь дверь к центральной проблеме оказывается закрытой.

Ряд обстоятельств делает такую ситуацию очень тревожной. Во-первых, эти вопросы, на которые мы не можем ответить, относятся к центральным и наиболее интересным проблемам биологии. Во-вторых, провалам в основах наших знаний соответствуют и провалы в медицине, и поэтому множество «эндогенных» или «дегенеративных» болезней все еще беспрестанно терзает человечество, причиняя ему бесчисленные страдания. Однако больше всего нас беспокоит то, что хотя биохимия все еще успешно про-

грессирует в тех областях, где она уже имеет достижения, практически нет никакого успеха в решении упоминавшихся выше проблем. Создается впечатление, что проблемы биологии можно разделить на два класса: такие, которые современная биохимия в состоянии решить, и такие, в отношении которых она бессильна. По-видимому, в нашем теперешнем складе мышления отсутствует что-то очень важное, целое измерение, без которого нельзя найти подход к этим проблемам.

По мнению автора, нет никаких сомнений в том, что именно представляет собой это недостающее измерение. История развития биохимии проста и логична. Биохимия расцвела в конце прошлого столетия. В то время считали, что материя построена из очень маленьких неделимых частиц — атомов. Молекулы считали агрегатами таких атомов. Существовало около 90 различных сортов атомов, которые обозначали разными буквами, а связи между ними изображали черточками. Несомненно, этот язык букв и черточек является одним из величайших достижений человеческого ума и лежит в основе всех изумительных успехов биохимии. Просматривая список перечисленных выше проблем, мы увидим, что те проблемы, с которыми биохимия успешно справляется, это проблемы структуры или ее изменений, происходящих в простых реакциях, которые можно воспроизвести главным образом в гомогенных растворах; кроме того, эти проблемы можно выразить и решить в виде сочетаний букв и черточек. Напротив, проблемы, остающиеся нерешенными, это проблемы функционирования сложных систем, которые нельзя сформулировать на языке букв и черточек. Каким образом можно было бы выразить в этих терминах такую реакцию, как мышечное сокращение, основным продуктом которой является не вещество, а работа *ш*?

Современная биохимия по-прежнему пользуется языком букв и черточек, а отсюда следует, что эта наука все еще развивается в том же молекулярном измерении, в каком она развивалась при своем зарождении в прошлом веке. Но с тех пор породившая

ее наука, химия, сливаясь все больше с физикой и математикой, перешла в новое измерение, в субмолекулярное и субатомное электронное измерение. События в этом мире нельзя уже описывать языком классической химии, а его законами служат законы квантовой, или волновой, механики. В свете этой новой науки атом уже не представляет собой неделимую единицу, а состоит из ядра, окруженного электронными облаками разнообразных и фантастических

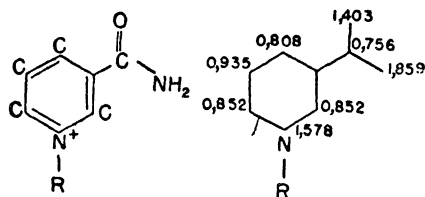


Рис. 1. Классическая формула и «молекулярная диаграмма» пиридинового конца молекулы ДПН.

форм. По-видимому, более тонкие явления жизни заключаются в изменении формы и в перераспределении таких облаков.

Биохимия не последовала за химией в это новое субатомное измерение, в котором, быть может, лежит ключ к пониманию более тонких биологических функций. Один пример пояснит наше утверждение. В левой части рис. 1 показана классическая формула пиридинового конца молекулы ДПН, записанная в классических символах. Она говорит нам, что пиридиновое кольцо состоит из пяти одинаковых атомов С и одного положительно заряженного атома N. В правой части рисунка изображена «молекулярная диаграмма» того же вещества в том виде, в каком она была установлена в недавней работе Пюльманов [2]. Числа у каждого атома обозначают его электрический заряд. Они говорят нам о том, что все атомы имеют различные заряды и, следовательно, молекула окружена электронным облаком очень сложной структуры. Положительный заряд неравномерно распределен между одним

атомом N и пятью атомами С в кольце, а отрицательный заряд смещен в боковую цепь. Эту диаграмму следовало бы дополнить еще тремя наборами чисел: один из них сообщает информацию о том, что называется «свободной валентностью» каждого атома в кольце, другой описывает «порядок связей», а третий дает значения «энергии локализации». Классическая формула позволяет установить только общую форму всей молекулы и ее дипольный момент, тогда как в молекулярной диаграмме каждый атом кольца получает свою индивидуальность, свой профиль, высокую степень специфичности, а вся структура в целом начинает приобретать ту мобильность, которой можно было бы ожидать от любого образования, участвующего в биологических реакциях.

Хотя атом и молекула представляются нам теперь маленькими сложными вселенными, их резко выраженная индивидуальность стирается в «физике твердого состояния». Когда множество атомов образует регулярную и плотно упакованную систему, то проявляются новые их качества. Когда, например, большое число атомов меди или железа располагается в определенном порядке, то можно говорить об электропроводности, представляющей собой коллективное свойство этой системы, обусловленное взаимодействием квантовомеханических свойств отдельных частиц. Даже отдельные макромолекулы могут обладать свойствами твердого тела. Поэтому, чтобы найти подход к центральным проблемам биологии, мы должны расширить свои представления в двух направлениях — в субмолекулярном и в супрамолекулярном. Оба направления, в некотором смысле, тождественны, ибо супрамолекулярные свойства являются лишь выражением коллективных действий субмолекулярных факторов. Это еще один пример «организации». Равным образом мы можем ожидать возникновения совершенно новых свойств при взаимодействии таких молекул или молекулярных агрегатов с общей матрицей жизни, водой, с которой они образуют новую и единственную в своем роде систему. Выяснение всех этих взаимоотношений, быть может, сообщит нашему мышлению

пластичность, необходимую, чтобы постичь жизнь и смысл той уникальной системы, которую мы называем «клеткой».

Подход к этим новым измерениям очень труден, и многие из предлагаемых ниже идей могут показаться странными и сомнительными. Неизвестное — это мало надежная почва. Но мне кажется несомненным, что Создатель должен был хорошо знать волновую механику и физику твердого тела и применять их. Конечно, создавая жизнь, он не ограничивал себя молекулярным уровнем только для того, чтобы облегчить биохимикам ее понимание.

III. Энергетический цикл жизни

При первом подходе к проблеме полезно рассмотреть ее в очень широком аспекте. Наиболее широкий из тех аспектов, в которых мы можем рассматривать энергетику жизни, заключается в рассмотрении всего живого мира в целом и в попытках понять, как энергия управляет им. Общеизвестно, что в конечном счете источником этой энергии служит солнечное излучение. Когда фотон, эмиттированный Солнцем, взаимодействует с материальной частицей на нашей планете, то он переводит один из электронов пары, находящейся в основном состоянии, на более высокий незаполненный уровень; на рис. 2, А это схематически показано стрелкой, направленной вверх. Как правило, через очень короткое время электрон падает обратно на свой основной уровень (см. на рисунке стрелку, направленную вниз). Жизнь проявляет себя между этими двумя процессами, и при посредстве своих механизмов заставляет электрон вернуться на исходный уровень по пути, изображенному дугой на рис. 2, Б. Для того чтобы эффективно осуществлять это, она должна связать электрон со специально организованным веществом (обычно с хлорофиллом), а затем связать последнее с системой, в которой происходит конверсия очень лабильной энергии электронного возбуждения в более стабильный химический потенциал, в химическую энергию, т. е. в энергию си-

стемы электронов стабильного вещества. Насколько мы теперь можем судить об этом, подобный процесс осуществляется главным образом путем использования энергии возбуждения электрона для разделения элементов воды, H_2O *). Как показали работы, проведенные в лаборатории Арнона [11] и других лабораториях, кислород выделяется в виде молекул O_2 в атмосферу, тогда как водород связывается с пиридиннуклеотидами, ДПН⁺ или ТПН⁺, которые восстанавливаются до ДПН-Н или ТПН-Н. Одновременно

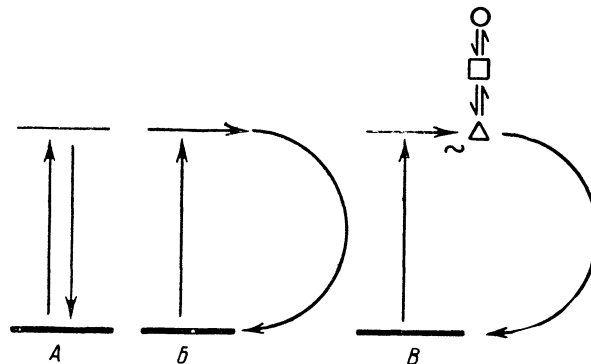


Рис. 2. Схематическое изображение процесса фотосинтеза.

из АДФ и неорганического фосфата образуется АТФ, причем часть энергии аккумулируется в концевой макроэргической связи АТФ. На рис. 2, В пиридиннуклеотид символически изображен в виде треугольника, а находящиеся над ним квадрат и круг выражают то обстоятельство, что пиридиннуклеотиды и АТФ не пригодны для запасаания больших количеств энергии

*) Я рассматриваю здесь только классический, «открытый», цикл фотосинтеза. Вопрос о более простых «замкнутых» формах рассмотрен Арноном [11]. (Более подробное и развернутое изложение представлений Арнона о роли процессов «циклического» и «нециклического» фосфорилирования в фотосинтезе можно найти в его докладе на V Международном биохимическом конгрессе в Москве в 1961 г., а также в его обзоре в книге «Структура и функция фотосинтетического аппарата» (ИЛ, 1962). — Прим. перев.)

и, следовательно, их энергия должна быть превращена в другие формы, более приспособленные для запасаения. Это осуществляется путем поглощения из атмосферы углекислого газа (CO_2) и его восстановления до углеводов и жиров (рис. 3). На этом рисунке треугольники обозначают ДПН и ТПН, квадраты — углеводы, кружки — жиры, символ $\sim$ — макроэнергическую связь.

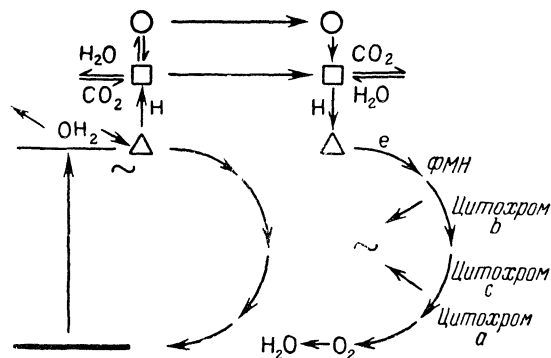


Рис. 3. Более развернутое схематическое изображение процесса фотосинтеза.

Все это требует длительного времени и сложного аппарата. Поэтому мы предоставляем растениям выполнять такую работу, а затем едим растения или коров, которые их съели. На рис. 3 способ нашего питания символически изображен в виде горизонтальных стрелок, а в правой части рисунка я попытался показать в самой схематической форме, что наш организм делает с этими веществами. Большей частью он переносит атомы водорода углеводов обратно к пиридиннуклеотиду, выделяя углерод в виде CO_2 . Веннесланду, Вестгеймеру и их сотрудникам [12, 13] удалось, пользуясь изотопной методикой, отождествить атомы Н, выделенные из метаболитов, с атомами Н, связываемыми пиридиннуклеотидами. ДПН-Н или ТПН-Н в свою очередь восстанавливают флавиннуклеотиды (ФМН), но атомы водорода, обнаруживаемые в ФМН-Н₂, уже нельзя отождествить с атомами водо-

рода в ДПН-Н или ТПН-Н. Поэтому кажется вероятным, что от этих веществ переносятся к ФМН не атомы водорода, а электроны, и что атомы водорода в ФМН-Н₂, обнаруживаемые в наших опытах в пробирках, получены от универсального растворителя, воды, от молекул которой отрицательно заряженные молекулы ФМН⁻ отбирают протоны. Козовер и его сотрудники [14] показали, что ДПН служит хорошим донором электронов.

Для восстановления ДПН⁺ до ДПН-Н требуется один атом водорода и один электрон. Эта молекула может, следовательно, легко присоединять (и легко отдавать) как атомы Н, так и электроны. Она представляет собой, образно говоря, как бы обменную контору, в которой атомы Н питательных веществ обмениваются на электроны, направляемые затем в окислительную цепь через ФМН. От ФМН электроны передаются другим веществам *), из которых на рис. 3 указаны в качестве примеров цитохромы *b*, *c* и *a*. В конечном счете электроны захватываются молекулами O_2 , которые затем связывают ионы Н и восстанавливаются таким образом до воды. В H_2O электроны, отдающие порциями свою энергию, достигают низшего энергетического уровня. Отданная ими энергия превращается с некоторыми потерями в энергию макроэнергических связей АТФ.

Я хотел бы особенно подчеркнуть то обстоятельство, что если говорить о процессе возбуждения (вертикальные стрелки), то левая и правая части рис. 3 по существу тождественны. Будучи разделены только горизонтальными стрелками, изображающими не интересующий нас (теоретически) способ нашего питания, они могут быть совмещены, как это сделано на рис. 4. Так как углеводы и жиры также служат звеньями побочных цепей, то мы можем опустить и их и

*) Электроны могут также направляться в окислительную цепь через сукцинат, служащий посредником между данной цепью и циклом лимонной кислоты. Для простоты на рисунке не показаны ни этот путь, ни катализаторы других путей, например фермент Q и свободные атомы Fe, которые по Грину [15] также могут играть важную роль в процессе переноса электронов.

дополнить нашу схему главным действующим лицом этого спектакля — добрым старым Солнцем, как это сделано на рис. 5. Здесь мы имеем, следовательно, все существенные элементы энергетического цикла жизни, который состоит в том, что электроны сначала поднимаются на более высокий энергетический уровень фотонами, а затем в живых системах падают обратно

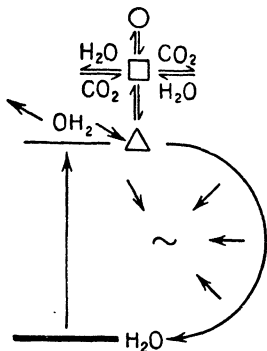


Рис. 4. Символическое изображение процесса фотосинтеза.

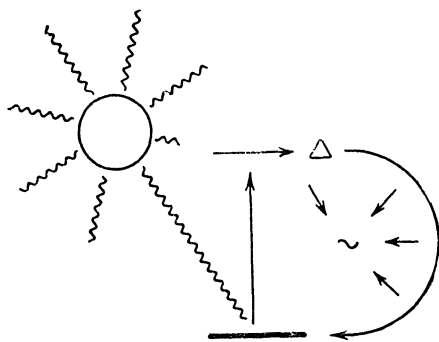


Рис. 5. Символическое изображение процесса фотосинтеза.

на свой основной уровень, отдавая при этом порциями свою избыточную энергию, которая и приводит в действие всю машину жизни.

На рис. 5 показаны только общеизвестные вещи. Тем не менее он помог мне уяснить себе три существенных положения, составляющих краеугольные камни моего мышления. Прежде всего он позволил мне увидеть, что жизнь управляется именно электронами, т. е. энергией, которую отдельными порциями отдают эти электроны при своем спуске с высокого уровня, на который они были подняты фотонами. Но электрон, движущийся по замкнутому пути, это — слабый электрический ток. Следовательно, жизнью движут небольшие электрические токи, поддерживаемые солнечным светом. Все сложные процессы промежуточного метаболизма представляют собой только наслоения на этот основной факт. Второе положение заключается в следующем: электроны оставляют за собой только

АТФ и ДПН-Н или ТПН-Н. Таким образом, последние являются подлинным топливом жизни. Третье положение заключается в том, что электроны проходят этот цикл поодиночке. Они возбуждаются один за другим и проходят ряд цитохромов также друг за другом, поскольку центральный атом железа в цитохромах может испытывать только одновалентные превращения. Мне кажется вероятным, что и весь остальной цикл они проходят также поодиночке. Я хочу закончить данную главу объяснением того, почему именно эти положения представляются мне столь важными.

Я должен вернуться назад к годам моего учения, когда я думал, что машина жизни приводится в движение процессами горения и что энергия окисления освобождается в реакциях между соударяющимися молекулами. Когда молекула X сталкивается с молекулой Y и окисляет ее, свободная энергия системы уменьшается на некоторую величину ΔF , затрачиваемую, как считали, на управление жизнедеятельностью. Но молекулы X и Y, как и все другие молекулы, представляют собой замкнутые системы. Такой же системой является и молекула XY, возникающая при их взаимодействии. Я никогда не мог понять, каким образом изменение, происходящее в замкнутой системе, может управлять чем-либо, находящимся вне этой системы. Подобный процесс напоминает мне процесс выделения энергии в закрытом ящике. Поэтому ΔF оставалась для меня только строкой в моем термодинамическом гроссбухе*), а не реальной монетой, на которую можно что-нибудь купить.

*) Термодинамическая бухгалтерия чрезвычайно важна, так как она позволяет нам воздерживаться от утверждения бессмыслиц. «Кредит» и «дебет» в наших счетах должны сходиться, и конечный результат должен подчиняться двум основным законам. Первый из них говорит, что нельзя получить что-то за ничто и что вы не можете превысить свой банковский счет. Второй же предупреждает вас о том, что каждая операция обязательно облагается комиссионным сбором. Таким образом, термодинамика говорит нам только о том, возможна ли данная реакция или нет, но она ничего не сообщает нам о природе или механизме этой реакции.

Картина спуска электрона по энергетическим уровням, изображенная схематически на рис. 5, это нечто совершенно иное. Здесь мы имеем дело со слабым током, при помощи которого можно что-то привести в действие (например, электрическую или мышечную машину) или создать макроэнергетические связи. Для их создания достаточно поместить между двумя рассматриваемыми уровнями «черный ящик» (рис. 6) *) и насыпать в него сверху высокоэнергетические электроны

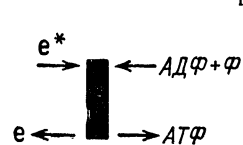


Рис. 6. Символическое изображение процесса окислительного фосфорилирования.

АДФ и Ф; тогда внизу мы получим АТФ и «уставшие», т. е. отдавшие свою энергию, электроны. Для того чтобы впоследствии воспользоваться АТФ для регулирования жизнедеятельности, достаточно только перевернуть ящик дном вверх и ввести в один его конец АТФ; тогда на другом его конце мы получим высокоэнергетические электроны (и АДФ + Ф). Благодаря этому вопрос о том, каким образом АТФ может управлять жизнедеятельностью, например вызывать сокращение мышц, свелся для меня к проблеме о том, каким образом макроэнергетические связи можно превратить в энергию электрона.

Перемещение электронов поодиночке также требует некоторых дополнительных пояснений. В школе я думал, что органические восстановители — это вещества, способные отдавать два атома Н или два электрона, а окислители — вещества, способные присоединять к себе два атома Н или два электрона. Следовательно, такие вещества обладают двумя стабильными состояниями, отличающимися друг от друга на два атома Н или на два электрона **). Так, Михаэлис и Шуберт [10, 16] писали: «Обычно в органических соединениях восстановление происходит по двухва-

*) Под «черным ящиком» принято сейчас понимать какую-то пока неизвестную реакцию, которую надеются уяснить себе позже.

**) Атомы Н и электроны эквивалентны, так как отрицательный заряд легко обменять на атом Н путем захвата протона и наоборот: $A^{--} + 2H^+ \rightleftharpoons AH_2$.

лентному механизму, т. е. оно заключается в присоединении двух электронов. Это связано с тем, что почти все без исключения вещества, которые мы считаем стабильными органическими соединениями, содержат четное число электронов».

Существенно важно здесь то, что в таком «двухвалентном» окислительно-восстановительном процессе две участвующие в нем молекулы — окислитель и восстановитель — встречаются, принимают после приобретения или потери двух электронов новую стабильную конфигурацию и затем опять разделяются. Я не мог понять, каким образом при такой встрече и последующей внутренней перестройке молекулярной структуры свободная энергия ΔF вообще может приводить в действие что бы то ни было. Мое недоумение не рассеялось и после того, как Михаэлис открыл окисления, происходящие по одновалентному механизму. Он пишет... «все процессы окисления органических молекул, *хотя они и происходят по двухвалентному механизму*, осуществляются через два последовательных одновалентных этапа, причем промежуточным продуктом служит свободный радикал» [17, 18]. По мысли Михаэлиса, положение здесь аналогично положению в Ноевом ковчеге, куда животные попадали только попарно. Михаэлис же лишь позволяет им проходить по сходным поодиночке *).

Это различие очень важно. Двухвалентный окислительно-восстановительный процесс — это классическая химическая реакция, сопровождающаяся перестройкой молекулярной структуры, тогда как одновалентный перенос электрона, в котором участвует один электрон, представляет собой слабый электрический ток, не обязательно связанный с такой перестройкой. Боковая цепь на рис. 4 символизирует тот процесс, который называют «промежуточным метаболизмом»,

*) Вестгеймер [18] опроверг универсальную применимость этого утверждения и привел примеры случаев, когда окисление может происходить без участия промежуточных свободных радикалов. Таким образом, следуя его взглядам, мы должны были бы в сформулированном выше положении заменить слово «все» словом «многие».

и который состоит из множества классических химических реакций. Этим мы заниматься не будем; однако то, что происходит вдоль полукруга и что приводит в движение машину жизни, есть электрический ток, т. е. падение отдельных электронов со ступеньки на ступеньку, в результате чего они отдают свою энергию отдельными порциями. Ток может сделать все, что угодно, но он не может быть выражен в понятиях классической химии. Странствующий электрон относится к миру изменяющихся форм и распределений в тех электронных облаках, которые принадлежат субмолекулярной области, управляемой законами квантовой механики *).

IV. Единицы и меры

Для того чтобы изучать изменения энергии, сопоставлять факты, делать численные утверждения или предсказания, нам необходимы единицы и меры. Настоящая глава посвящена краткому обзору существующих в этом отношении возможностей.

Окислительно-восстановительные потенциалы

Переход электронов от одного вещества к другому означает окисление первого и восстановление второго. Мы можем также поместить растворы восстановителя и окислителя в два различных сосуда и дать электронам возможность переходить от одного вещества к другому по проволоке. Чем «сильнее» восстановитель, тем больше он будет стремиться отдавать электроны и заряжать электрод; противоположное утверждение справедливо для окислителя. Разность потенциалов между этими двумя растворами (точнее,

*) Этому противопоставлению классических химических реакций и процесса одновалентного переноса электронов не противоречит тот факт, что в конечном счете и классическая химическая реакция есть лишь конечный результат ряда квантовых изменений. Не противоречит ему и то, что АТФ также образуется в процессах промежуточного метаболизма.

между погруженными в них электродами) дает нам информацию об изменении свободной энергии при той окислительно-восстановительной реакции, которая могла бы происходить между данными двумя веществами, если бы мы смешали их растворы *). Единицей энергии служит 1 эв (электронвольт), примерно равный 23 ккал **).

Из значений окислительно-восстановительных потенциалов, или, как их часто называют, редокс-потенциалов, можно получить много очень полезной информации. Так, они позволяют нам расположить множество окислительных и восстановительных агентов в ряд по значениям их окислительной и восстановительной способности. Они позволяют также давать количественные оценки тех изменений энергии, которые происходят в окислительном цикле. Разность потенциалов между ДПН-Н и O_2 , соответствующая полукругности на рис. 2—5, примерно равна 1,1 эв, или 25 ккал, т. е. не очень большой величине. С энергетической точки зрения жизнь — это, вообще говоря, процесс, протекающий в очень мягких условиях. Однако даже такое небольшое количество энергии, повидимому, претерпевает превращение еще меньшими порциями, так как энергия макроэргической связи в АТФ составляет около 10 ккал ***). Быть может, тонкие структуры, составляющие машину жизни,

*) Обычно потенциал каждого из исследуемых веществ измеряют в отдельности относительно некоторого стандартного электрода, например нормального водородного электрода. Так как условия измерения определены не очень точно, обычно измеряют не потенциал чистого окислительного или восстановительного агента, а потенциал изомолярной смеси их окисленных и восстановленных форм.

**) Здесь и далее, указывая величины энергии в электронвольтах, автор относит их к одной молекуле, а приводя эти величины в килокалориях, имеет в виду энергии, рассчитанные на 1 моль, т. е. на $6,06 \cdot 10^{23}$ молекул. — Прим. перев.

***)) Экспериментально найденные меньшие значения энергии макроэргической связи в АТФ (6000—8000 кал) относятся к стандартным условиям, т. е. к эквимольным смесям АТФ и АДФ. В тканях концентрация АДФ чрезвычайно мала, и поэтому свободная энергия АТФ соответственно имеет несколько большее значение.

нельзя подвергать разрушительному действию квантов большей энергии.

Приведенные выше численные значения ставят предел нашим спекуляциям в области биоэнергетики. Есть много оснований для того, чтобы попытаться связать биологические окислительные процессы с возбужденными состояниями молекул. Однако количество энергии, необходимое, чтобы поднять электрон с основного уровня на первый возбужденный уровень той же молекулы, большей частью значительно больше 25 ккал. Например, для того чтобы в молекуле ДПН перевести электрон с основного уровня на первый возбужденный уровень, необходимо затратить 85 ккал (ДПН поглощает излучение в ультрафиолетовой части спектра). Никому еще не удавалось обнаружить при окислительном метаболизме возникновение квантов с такой большой энергией. Даже для возбуждения вещества, поглощающего в красной области спектра, требовалось бы 40 ккал. Такое возбуждение может, конечно, происходить при поглощении фотонов. Мы должны, следовательно, проводить различие между процессами, вызываемыми фотонами (например, процессами фотосинтеза или зрения), и процессами, происходящими при обычном метаболизме. В настоящей книге мы будем заниматься только последними.

Конечно, при рассмотрении свечения светляка нельзя выдерживать такое строгое разделение. Зеленоватое свечение светляка показывает, что он способен создавать кванты с энергией 60 ккал, и можно было бы думать, что биолюминесценция представляет собой не особое изолированное явление, а просто разрыв в цепи метаболических процессов. Действительно, имеются сообщения об испускании света развивающимися проростками [19]. Тем не менее все это не обязательно означает, что переход электронов из основного состояния в возбужденное происходит в пределах одной молекулы. К этому вопросу я вернусь позже, а пока буду придерживаться указанного выше разделения.

Как и для любого другого метода, область применимости метода измерения редокс-потенциалов ограничена. Прежде всего этот метод дает нам только термодинамические данные, т. е. измеряемый потенциал ничего не говорит о скорости протекания соответствующих реакций. Существуют сильные восстановительные агенты, например агенты, содержащие группы SH, которые реагируют с электродами очень слабо или вовсе не реагируют с ними. Во-вторых, стандартные условия, в которых мы производим свои опыты, не тождественны с условиями в живой клетке. В-третьих, изменения энергии зависят от диэлектрических постоянных среды. При измерениях *in vitro* мы обычно применяем в качестве растворителя воду. Грин [20] всегда настойчиво подчеркивал, что среда («матрикс») окислительного цикла в митохондриях состоит из липидного материала: этот матрикс гидрофобен, и значения энергии в такой среде и в воде могут оказаться совершенно различными.

Другое, более серьезное ограничение связано с тем, что мы можем измерять потенциал только таких веществ, которые легко отдают электроны, т. е. имеют два стабильных состояния, отличающихся обычно друг от друга наличием или отсутствием двух электронов. Как будет показано ниже, есть основания утверждать, что существуют играющие важную роль в биологии органические соединения, способные отдавать только один электрон и не имеющие стабильных состояний, соответствующих одноэлектронному переносу. Такие вещества вообще не будут создавать окислительно-восстановительных потенциалов. Это ограничение не снимается тем, что свободные радикалы, которые могут отдавать один электрон, способны создавать потенциал; Михаэлису и его сотрудникам [16, 17] удалось измерить потенциал различных свободных радикалов, образующихся на пути двухвалентных окислений при нефизиологических значениях pH.

При измерении изменений свободной энергии в окислительно-восстановительном процессе мы определяем не ее изменение, связанное только с переносом

одного или двух электронов от одного вещества к другому, а полное изменение энергии, включающее в себя ее изменения при внутренней перестройке двух взаимодействующих молекул. Эта перестройка сопровождается переносом двух электронов и не может служить источником внешней работы. Очень часто мы стремимся узнать изменения свободной энергии, соответствующие только переносу электрона, не осложненному последующими структурными изменениями.

Ионизационный потенциал и электронное сродство

Когда электрон переходит от одной молекулы к другой, от донора Д к акцептору А, то энергия может приобретаться или теряться. Для того чтобы оценить эти изменения энергии, мы можем мысленно (но только мысленно) заставить электрон осуществлять это движение по обходному пути, в два этапа. На первом воображаемом этапе мы отбираем электрон у молекулы Д, перенося его в бесконечность; на втором этапе мы переносим его из бесконечности на молекулу А. Преимущество такого процесса заключается в том, что мы имеем здесь одну фиксированную точку — энергию электрона на бесконечном удалении от молекулы. Можно считать, что в бесконечности все электроны имеют одинаковую энергию.

Этот мысленный эксперимент символически изображен на рис. 7, I, где мы отбираем электрон у молекулы Д и затем даем ему падать на одну из молекул А. На этом рисунке жирные линии изображают высший заполненный энергетический уровень, т. е. «основное состояние», занятое электронной парой. Когда мы лишаем атом или молекулу электрона, то обычно удаляем его именно с этого уровня. Для удаления электрона мы должны сообщить ему энергию, достаточную для того, чтобы он мог пройти через все незанятые уровни (обозначенные более тонкими линиями) до последнего из них, за которым лежит бесконечность. Эта энергия (символически изображенная на рисунке направленной вверх стрелкой) тесно свя-

зана с тем, что называют «ионизационным потенциалом» (ИП) [21]. Чем выше расположено основное состояние, тем короче стрелка, т. е. тем меньше энергия, необходимая для удаления электрона, тем меньше потенциал ионизации, тем больше тенденция атома

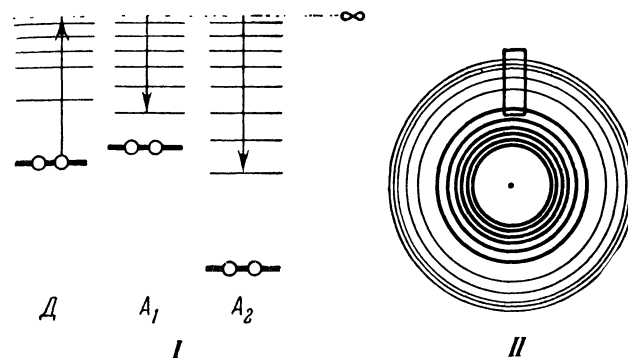


Рис. 7. Символическое изображение потенциала ионизации и электронного сродства (I), а также энергетических уровней (II).

Это символическое представление станет понятным, если напомнить, что мы считаем атом окруженным некоторым числом сферических занятых (жирные линии) и свободных (тонкие линии) орбит. Как мы видим, нижние уровни заняты, верхние — свободны. Линии на рис. 7, I соответствуют сечению орбит, заключенному в прямоугольнике на рис. 7, II. На большинстве других рисунков, сходных с рис. 7, I, показаны только высший занятый и нижший свободный уровни. Такой же символической картиной можно пользоваться и для π -электронов более сложных молекул. Напомним, что π -электроны не локализованы и принадлежат всей молекуле или, по крайней мере, всей системе сопряженных связей.

или молекулы «отдавать» электрон, тем лучшими донорами они служат.

Ситуация становится более сложной на втором этапе, когда электрон падает на акцептор, в котором он должен занять самый низкий из свободных уровней. Энергия, освобождаемая при этом акте, изображается на рисунке стрелкой, направленной вниз; она называется «электронным сродством» (ЭС). Положение здесь осложняется тем, что, добавляя один электрон, мы нарушаем расположение всех энергетических уровней; поэтому энергия орбиты, после того как ее займет присоединяемый электрон, отлична от энергии, характерной для нижнего свободного уровня до присоединения электрона. Чем ниже лежит этот

новый уровень, тем больше значение ЭС (тем длиннее направленная вниз стрелка), т. е. тем большая энергия выигрывается при таком перемещении электрона, тем сильнее тенденция атома или молекулы к присоединению электрона, тем лучшими акцепторами они являются.

Если бы на этот процесс не влияли другие факторы, то мы могли бы вычислить изменения энергии, сопутствующие переносу электрона, из разности длин стрелок, направленных вверх и вниз, ЭС — ИП. При переносе электрона от Д к A_2 выигрыш энергии больше, чем при его переносе от Д к A_1 , потому что ЭС молекулы A_2 больше и направленная вниз стрелка для этой молекулы длиннее. Однако в действительности изменение энергии не равно разности ЭС — ИП; это объясняется тем, что перенос электрона может изменять не только взаимоотношения молекул Д и А, но и взаимоотношения каждой из этих молекул с растворителем. Как будет показано ниже, для того чтобы был возможен перенос электрона между молекулами Д и А, последние должны находиться очень близко друг к другу. Поэтому вряд ли между ними могут находиться какие-либо молекулы растворителя; эти молекулы могут располагаться только вне комплекса Д-А. Легко видеть, что полярные молекулы растворителя, например молекулы воды с их резко выраженным дипольным характером, будут сильно притягивать переносимый электрон; они будут снижать электростатическое притяжение между взаимодействующими молекулами, что может привести даже к разделению последних, причем каждая из них будет обладать неспаренным электроном и будет представлять собой «свободный радикал». Пока эти две молекулы находятся очень близко друг от друга, переносимый электрон может также резонировать между ними, и его резонансная энергия внесет свою долю в баланс сил. Суммируя изложенное выше, можно, следовательно, сказать, что изменение энергии при переносе электрона, вообще говоря, не равно разности ЭС — ИП. Обозначая все остальные факторы через Д,

мы можем сказать, что изменение энергии, сопровождающее перенос электрона, равно ЭС — ИП + Д.

Несмотря на все эти осложнения, значения ИП и ЭС оказываются очень полезными параметрами. В экспериментах мы часто можем упростить сложную ситуацию. Как будет показано ниже, мы можем, например, сочетать один и тот же акцептор с различными донорами, пользуясь при этом одинаковыми растворителями. Тогда различным окажется только качество доноров, и ситуация будет определяться только значениями их ИП. Мы можем также обратить ситуацию и пользоваться одним и тем же донором с различными акцепторами; при этом на передний план выступят значения ЭС.

К сожалению, величины ионизационных потенциалов известны очень плохо, а значения электронного сродства вообще почти не известны. Для измерения ионизационных потенциалов существуют различные методы. Каждый из них сам по себе дает достаточно воспроизводимые результаты, но данные, полученные различными методами, могут отличаться друг от друга на 1 эв, что примерно равно всей энергии, освобождаемой при биологических окислениях.

Более того, следует различать значения ионизационных потенциалов, измеряемые в быстрых и медленных процессах. Электрон может быть, например, выбит фотоном за время порядка 10^{-15} сек; за такой короткий срок не успевают произойти какие-нибудь изменения молекулярной конфигурации, и мы получим в чистом виде значения энергии, расходуемой на акт удаления электрона. В других процессах электрон удаётся выбить за больший срок, чем при этих оптических процессах, и мы получаем только сложные величины, в которые входит как энергия отрыва электрона, так и изменения энергии, связанные с изменениями молекулярной конфигурации, сопутствующими удалению электрона. Приводимые в таблицах значения ионизационных потенциалов обычно получены при измерениях в газовой фазе. В биологии мы имеем дело с процессами, происходящими в конденсированных фазах, большей частью в водных растворах; здесь

значения энергии ионизации могут оказаться совершенно иными. Тем не менее, хотя в настоящее время значения ионизационных потенциалов и электронного сродства мало помогают нам в работе, они могут лежать в основе наших рассуждений. Они характеризуют ясно очерченный случай тех двух процессов отделения и присоединения электрона, на которые мы можем, по крайней мере мысленно, разложить перенос электрона от одного вещества к другому.

Величины энергетических уровней

Для вычисления энергетических уровней молекул обычно пользуются двумя методами. Один из них — метод молекулярных орбит, применяемый в приближении, сокращенно обозначаемом ЛКАО (линейная комбинация атомных орбит); другой — метод валентных связей. Для расчетов, относящихся даже к простейшим молекулам, мы вынуждены ограничиться методом ЛКАО, которым широко пользовались Б. и А. Пюльманы и Карреман для расчета энергетических уровней целого ряда молекул, участвующих в различных биологических реакциях. Эти расчеты очень сложны и требуют не только математической тяжелой артиллерии, но и большого опыта и интуиции. Расчеты выполнены только для случая молекулярных орбит, т. е. для случаев, когда молекула имеет систему делокализованных электронов, что, например, имеет место в соединениях с сопряженными двойными связями, где рассматриваемые электроны принадлежат не какому-нибудь одному атому, а всей молекуле в целом. Это — так называемые π -электроны, принадлежащие «облаку π -электронов». Здесь может создаться впечатление, будто в биологических процессах переноса электронов играют роль только молекулы с развитой системой сопряженных связей и обширным облаком π -электронов. Конечно, большая часть катализаторов биологического окисления имеет такие системы, но мы не должны впадать в заблуждение, полагая, что только такие молекулы могут иметь значение как доноры или акцепторы электро-

нов. Если мы больше всего говорим именно о таких молекулах, то только потому, что о них мы больше всего знаем.

Из сказанного выше ясно, что нас главным образом интересуют энергии высшей занятой и низшей свободной орбит.

Энергия какой-либо орбиты, т. е. энергия E находящегося на этой орбите электрона, равна $\alpha + k\beta$, где α — кулоновский интеграл, а β — обменный интеграл между двумя атомами С. Для веществ, относящихся к одному и тому же классу, значения величин α и β почти совпадают, и следовательно, энергия зависит только от величины k . Если $k = 0$, то $E = \alpha$. Это значение мы считаем началом отсчета, нулем. Как правило, занятые «связывающие» уровни лежат ниже нуля, и для них по условию коэффициент k имеет положительный знак. Свободные «разрыхляющие» уровни лежат выше нуля, и для них коэффициенту k приписывают отрицательный знак. На рис. 8 приведены значения коэффициента k для некоторых веществ. Целый ряд вычисленных Пюльманами и Карреманом значений k для различных веществ приведен в табл. 1.

Нет надобности останавливаться здесь на точном смысле величин α и β . Для нас существенно, что значения коэффициента k для высшей занятой орбиты являются линейной функцией потенциала ионизации [21]. Чем меньше этот потенциал, тем меньшая энергия необходима для отрыва электрона, т. е. тем легче данная молекула отдает свой электрон и действует как донор электронов. Равным образом, как показывает опыт, чем меньше значение коэффициента $-k$ для низшего свободного уровня, тем легче молекуле присоединять к себе электрон. Значение $k = 0,5$ для верхней занятой орбиты означает, например, что данное вещество является «удовлетворительным» донором электронов; такое же значение $-k$ для низшей незанятой орбиты означает, что молекула является «удовлетворительным» акцептором электронов. Если $k = 0,2$, то донор «очень хорош». В исключительных случаях значения k для верхней занятой орбиты могут даже иметь отрицательный знак, что

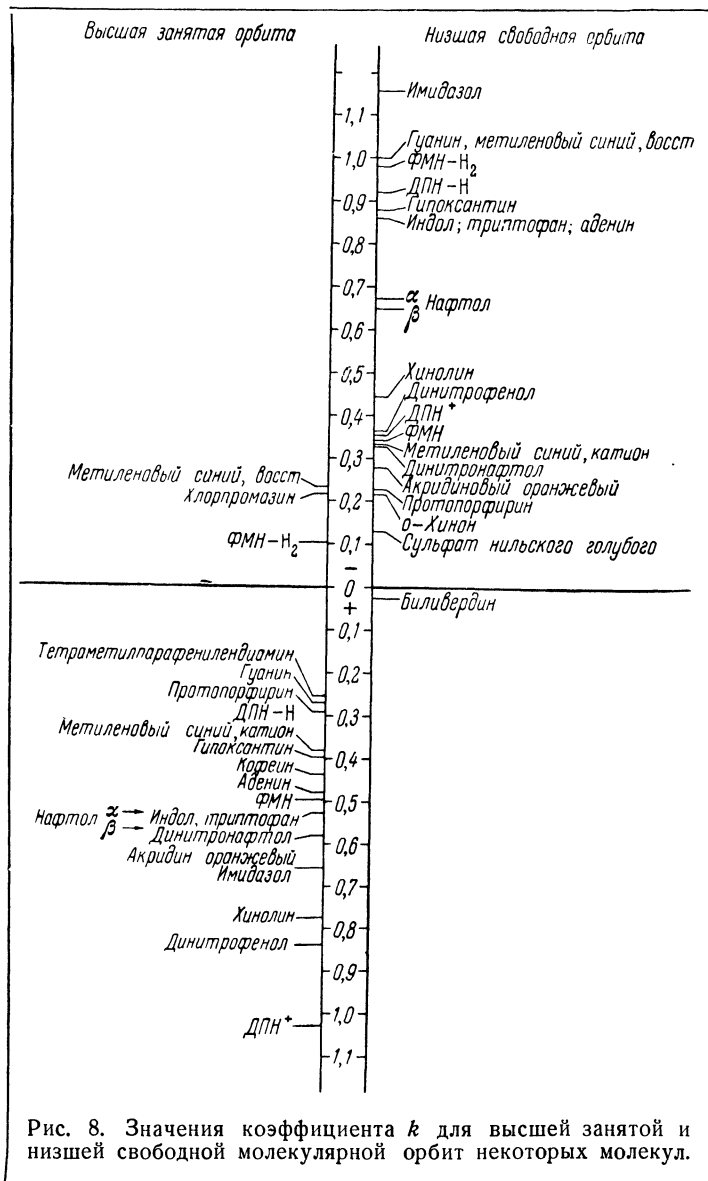


Таблица 1

Значение коэффициента k для высшей занятой молекулярной орбиты и для нижней свободной орбиты

Вещество	Значения коэффициента k		Источник данных
	занятая орбита	свободная орбита	
Аденин	0,486	—0,865	[1]
Акридин	0,494	—0,342	[157]
Акридиновый оранжевый . .	0,657	—0,278	[157]
Аллоксан	1,033	—1,295	[1]
6-аминоникотинамид	0,735	—0,471	[156]
2-амино-4-нитрофенол	0,469	—0,354	[158]
4-амино-2-нитрофенол	0,451	—0,355	[158]
Анилин	0,544	—1,000	[158]
Антипирин	0,248	—0,956	[158]
Антрацен	0,414	—0,414	[154] *)
Аскорбиновая кислота	0,529	—0,899	[158]
Атабрин	0,311	—0,486	[158]
Барбитуровая кислота	1,033	—1,295	[1]
Бензантрацен	0,452	—0,452	[154] *)
1-бензил-2-метокси-(N, N-ди-метил)-триптамин	0,427	—0,866	[128]
Бензпирен	0,372	—0,372	[153]
Биливердин	0,455	+0,021	[3]
Броманил	0,646	—0,266	[158]
Витамин К ₃ (2-метил-1,4-нафто-хинон)	0,915	—0,340	[158]
Витамин К ₅ (4-амино-2-метил-1-нафтохинон)	0,283	—0,738	[158]
n-гидрохинон	1,000	—1,175	[158]
Гипоксантин	0,402	—0,882	[1]
Гистидин	0,660	—1,160	[1]
Гуанин	0,307	—1,050	[1]
1-метилгуанин	0,303	—1,064	[1]
9-метилгуанин	0,302	—1,074	[1]
Дибензантрацен	0,494	—0,501	[154] *)
5,7-диметил-3,4-бензакридин радикал	—0,277	—0,716	[158]
5,7-диметил-1,2-бензакридин радикал	—0,299	—0,682	[158]
9,10-диметил-1,2-бензантрацен	0,387	—0,475	[158]
m-динитробензол	1,015	—0,317	[158]
p-динитробензол	1,000	—0,232	[158]
2,4-динитронафтол	0,580	—0,329	[158]
2,4-динитрофенол	0,841	—0,352	[157]
2,5-динитрофенол	0,809	—0,243	[158]

Продолжение табл. 1

Вещество	Значения коэффициента k		Источник данных
	занятая орбита	свободная орбита	
2,4-дихлорфенол	0,698	—1,016	[158]
3,5-дихлорфенол	0,749	—1,032	[158]
ДПН ⁺	1,032	—0,356	[154] *)
ДПН-Н	0,298	—1,032	[154] *)
Дурохинон	0,757	—0,273	[158]
Индол	0,534	—0,863	[154] *)
Индолуксусная кислота	0,479	—0,863	[158]
Индофенол	0,516	—0,122	[158]
Катехин (адреналин)	0,666	—1,049	[158]
Колхицин	0,355	—0,499	[158]
Ксантин	0,442	—1,005	[1]
1-метилксантин	0,397	—1,198	[1]
3-метилксантин	0,345	—1,197	[1]
9-метилксантин	0,394	—1,213	[1]
D-лизергиновая кислота (ди-этиламин)	0,218	—0,726	[128]
Люмифлавин	0,482	—0,342	[158]
Люмихром	0,581	—0,434	[158]
Метиленовый синий (восстановленная форма)	—0,232	—1,000	[24]
Метиленовый синий (катионная форма)	0,398	—0,354	[24]
Метилфлороглюцин	0,649	—0,123	[158]
20-метилхолантрон	0,388	—0,475	[158]
Мочевая кислота	0,172	—1,194	[1]
1-метилмочевая кислота	0,172	—1,202	[1]
3-метилмочевая кислота	0,153	—1,204	[1]
7-метилмочевая кислота	0,133	—1,120	[1]
9-метилмочевая кислота	0,161	—1,204	[1]
Нафталин	0,617	—0,618	[154] *)
Нафтацен	0,295	—0,337	[154] *)
α -нафтол	0,519	—0,671	[157]
β -нафтол	0,569	—0,637	[157]
1,4-нафтохинон	1,000	—0,325	[158]
1,2-нафтохинон	1,000	—0,332	[158]
Нильский голубой (сульфат, восстановленная форма)	0,091	—0,741	[158]
Нильский голубой (сульфат, катионная форма)	0,591	—0,133	[158]
Нитробензол	1,000	—0,334	[158]
m-нитрофенол	0,797	—0,334	[158]
o-нитрофенол	0,806	—0,352	[158]

Продолжение табл. 1

Вещество	Значения коэффициента k		Источник данных
	занятая орбита	свободная орбита	
n-нитрофенол	0,827	—0,354	[158]
γ -пиколлин	1,000	—0,872	[158]
Пикрамовая кислота	0,469	—0,354	[158]
Пиоцианин (щелочь)	0,286	—0,272	[158]
Пирен	0,445	—0,444	[154] *)
Пиридин	1,000	—0,871	[157]
Пиримидин	1,063	—0,820	[158]
Протопорфирин	0,293	—0,233	[3]
Профлавин	0,657	—0,278	[158]
Птеридин	0,864	—0,386	[1]
2-амино-4-оксиптеридин	0,489	—0,650	[1]
2,4-диметилптеридин	0,544	—0,508	[1]
2,3-диоксиптеридин	0,653	—0,663	[1]
Птероилглутаминовая кислота (фолиевая кислота)	0,52	—0,64	[1]
Резерпин	0,627	—0,872	[158]
Резерпин (индолевая часть)	0,464	—0,892	[158]
Родамин 5G	0,688	—0,184	[158]
Серотонин	0,461	—0,870	[158]
Стильбен	0,503	—0,503	[154] *)
Стильбестрол	0,369	—0,553	[158]
л-терфенил	0,594	—0,592	[154] *)
Тетраметилпарафенилендиамин	0,266	—1,000	[158]
Тимин	0,510	—0,958	[1]
Тионин (восстановленная форма)	—0,208	—1,000	[158]
Тионин (катионная форма)	0,398	—0,354	[158]
Тирозин	0,792	—1,000	[1]
Толуидиновый синий (восстановленная форма)	—0,217	—0,997	[158]
Толуидиновый синий (катионная форма)	0,391	—0,359	[158]
Тринитробензол	1,045	—0,317	[158]
Тринитрофенол	0,859	—0,317	[158]
Триптофан	0,534	—0,863	[1]
Трифенилен	0,684	—0,655	[154] *)
Урацил	0,597	—0,960	[1]
Феназин	0,555	—0,251	[158]
Фенантрон	0,607	—0,606	[154] *)
Фенантронхинон	0,721	—0,442	[158]
o-Фенантролин	0,649	—0,563	[158]
Фенилаланин	0,908	—0,993	[1]

Продолжение табл. I

Вещества	Значения коэффициента k		Источник данных
	занятая орбита	свободная орбита	
<i>n</i> -фенилендиамин	0,321	—1,000	[158]
Фенотиазин	—0,210	—1,000	[158]
Флавиномононуклеотид	0,496	—0,343	[2]
Флоризин	0,731	—0,901	[158]
ФМН-Н ₂	—0,105	—0,979	[2]
Формилгидразин	0,192	—1,710	[158]
Фторанил	0,960	—0,200	[158]
Фторпромазин	—0,207	—0,987	[158]
Хинин	0,584	—0,563	[158]
Хинолин	0,77	—0,44	[157]
<i>o</i> -хинон	0,694	—0,211	[158]
<i>n</i> -хинон	1,000	—0,225	[158]
Хлораннл	0,753	—0,275	[158]
Хлорохин	0,478	—0,654	[158]
Хлорпромазин	—0,217	—1,000	[128]
Хризен	0,521	—0,520	[154] *)
Цитозин	0,595	—0,795	[1]
5-метилцитозин	0,530	—0,796	[1]

*) В этой книге вместо значений k приведены значения другой величины m , связанной с k следующими соотношениями: для занятых орбит $k = \frac{m}{1 - 0,25 m}$, для свободных орбит $k = -\frac{m}{1 + 0,25 m}$.

указывает на ее «разрыхляющий характер». Это означает, что молекула является исключительно хорошим донором. Такие вещества (некоторые из них известны) большей частью неустойчивы и легко окисляются воздухом подобно лейкоформе метиленового синего или ФМН-Н₂ *Mutatis mutandis*, то же справедливо и для веществ с положительным значением k для нижней свободной орбиты. Численные значения β лежат между 1 и 3 эв, так что разница в 0,5 между двумя значениями k означает разницу в 0,5—1,5 эв между значениями потенциалов ионизации для веществ, относящихся к одному и тому же классу и имеющих, следовательно, близкие значения величин α и β .

Нужно соблюдать большую осторожность при сопоставлении величины k с другими физическими постоянными. Хотя Мэлликен показал, что положение высшей занятой орбиты (определяемое значением $+k$) действительно дает ионизационный потенциал молекулы, однако положение низшей свободной орбиты (определяемое значением $-k$) не находится в столь простом соотношении с электронным сродством. Причина этого заключается в том, что, как отмечалось выше, при присоединении к молекуле электрона все ее энергетические уровни стремятся измениться. Это изменение, однако, может быть относительно невелико в больших молекулах с развитой системой π -электронов, а большая часть биологических катализаторов обладает именно такими системами. Во всяком случае, можно ожидать, что в целом электронное сродство будет тем больше, чем ниже расположен свободный уровень (и чем меньше значения $-k$); следовательно, величина $-k$ также является очень полезным параметром.

Существуют различные пути проверки полезности и надежности заключений, сделанных по данным о значениях коэффициента k . Мы можем, например, сравнивать значения этой величины для различных веществ с тенденцией соответствующих молекул отдавать или присоединять к себе электроны. Опыт моей лаборатории в этом направлении подтверждает надежность такого метода. В другом грубом способе проверки исследуются спектры поглощения. Наибольшая длина волны поглощаемого света должна соответствовать переносу электрона с верхнего занятого уровня на нижний свободный; иными словами, должно существовать определенное соотношение между длиной волны полосы поглощения и разницей между значениями $+k$ и $-k$ *).

*) Айзенберг и автор настоящей книги [22] показали, что такое соотношение действительно существует. Нужно отметить, что в приведенной ими таблице положения полос поглощения для двух веществ (тирозина и фенилаланина) указаны ошибочно. Если взять правильные значения, то для этих двух аминокислот общее соотношение окажется неверным.

Кривая Фуджимори (см. рис. 10) также свидетельствует в пользу надежности этих методов.

Поняв смысл величины k , я смог ответить на вопрос, который давно занимал меня и привлек меня в эту область: почему такое большое число веществ, явно участвующих в энергетических процессах, например флавины, флавоны, птеридины и цитохромы, обладает окраской? Каково значение окраски в клетках, не подвергающихся действию света? Ответ достаточно прост. Окраска означает, что различие между двумя значениями коэффициента k , соответствующими высшей заполненной и низшей свободной орбитам, невелико, и поэтому даже кванты видимого света, обладающие небольшой энергией, могут переносить электроны с одного уровня на другой. Этот свет, стало быть, поглощается молекулой, что и делает ее окрашенной. Для того чтобы то или иное вещество могло служить каталитическим передатчиком электронов, оно должно быть одновременно и хорошим донором и хорошим акцептором электронов, т. е. значения k как для высшей занятой, так и для низшей свободной орбиты должны быть близки к нулю и, следовательно, близки друг к другу. Например, значения k для ФМН равны 0,496 и $-0,343$ соответственно, и следовательно, это вещество окрашено и обладает свойствами хорошего донора и хорошего акцептора *). Как я показал еще в 1924 г. [23], можно исключить с помощью цианидов всю дыхательную цепь, а затем восстановить потребление кислорода добавлением метиленового синего, который осуществляет весь перенос электронов между дегидрогеназами и O_2 . Как показали Б. и А. Пюльманы [24], такой

*) Против этого можно было бы возразить, что ДПН не окрашен и тем не менее является одним из главных посредников при окислении. Такое противоречие, однако, оказывается только кажущимся, так как ДПН не является чисто электронным передатчиком. Он присоединяет к себе атомы Н и отдает электроны. Для этого вещества значения k равны 1,032 и $-0,356$; отсюда следует, что ДПН⁺ служит очень хорошим акцептором. Донором служит не ДПН⁺, а ДПН-Н, высшему заполненному уровню которого соответствует $k = 0,248$, что и делает это вещество хорошим донором.

процесс становится возможным благодаря тому, что значения k для метиленового синего равны 0,398 и $-0,354$, т. е. почти идеальны для того, чтобы этот краситель оказался *одновременно* и хорошим донором и хорошим акцептором.

Приведенных примеров достаточно, чтобы показать, что значения коэффициента k , вычисленные в приближении метода ЛКАО, служат чрезвычайно ценным орудием исследования и существенно облегчают понимание биологических данных. Они, однако, имеют и свои недостатки. Прежде всего, метод ЛКАО является только «приближением», и полученные с его помощью значения k зависят от принятых при расчете величин параметров, которые сами могут изменяться. Как уже упоминалось выше, в этих расчетах необходимы опыт и интуиция, и, следовательно, здесь нельзя требовать настоящей точности. Другой, еще более серьезный недостаток связан с тем, что значения коэффициента k для веществ, принадлежащих к различным классам, по существу, нельзя сопоставлять друг с другом, так как в этом случае величины α и β могут варьировать в пределах до 25%. Если численное значение α составляет около 6 эв, то 25% от этой величины равно 1,5 эв, т. е. превышает всю энергию биологического окисления.

Суммируя сказанное выше, следует отметить, что все три рассмотренные характеристики (окислительно-восстановительный потенциал, ионизационный потенциал и электронное сродство, а также величины энергетических уровней) имеют свои достоинства и недостатки, и в настоящее время мы не располагаем никаким методом с универсальной применимостью. Необходимо было бы создать на основе таких методов один метод, который имел бы все их достоинства и был бы свободен от их недостатков. Однако сейчас это только благое пожелание. Соотношения между значениями редокс-потенциала и коэффициентов k , вычисленными в приближении ЛКАО, очень сложны, и не существует теории, которая объединяла бы их. Соотношения между ионизационным потенциалом и коэффициентами k более ясны, но и эти величины

нельзя идентифицировать, так как значения величин α и β различны для веществ разных классов. Для наших целей было бы полезнее всего знать ионизационные потенциалы и электронное сродство всех молекул в биологической среде, но такой информацией мы не располагаем. Поэтому нам остается только ждать дальнейшего развития этих исследований, а пока двигаться вперед теми темпами, которые нам сейчас доступны.

V. Подвижность электронов

Для того чтобы электрон мог войти в окислительный цикл, он должен переходить от одного вещества к другому и, стало быть, обладать определенной подвижностью. Мы не знаем, как приобретается эта подвижность. Мы знаем лишь, что некоторые члены окислительного цикла связаны со структурой, т. е. фиксированы в пространстве и, следовательно, не могут подходить друг к другу в результате диффузии. Они довольно велики и обладают сравнительно маленькими активными центрами. Поэтому представляется мало правдоподобным, чтобы расположение этих веществ обеспечивало соприкосновение активных центров, даже если допустить некоторую небольшую степень свободы движения (например, свободное вращение). Тем не менее между ними должна существовать какая-то связь. Известны различные способы приобретения квантами энергии или электронами возможности перемещаться на большие расстояния. Однако мы можем также предположить, что в процессах биологического окисления электроны переносятся от одного связанного со структурой вещества к другому маленькими диффундирующими молекулами, которые курсируют между фиксированными звеньями окислительной цепи, принимая поочередно то окисленную, то восстановленную форму. В некоторых случаях можно считать диффузию исключенной. Это относится, например, к случаю хлорофилла и цитохромов в фотосинтезирующих бактериях, где Чанс и Нишимура [25] обнаружили передачу электронов

даже при температуре жидкого азота, когда все заморожено и никакая диффузия невозможна *). Тем не менее известно, что окислительная система содержит некоторые диффундирующие маленькие молекулы, например молекулы кофермента Q или какого-либо из витаминов K [26], или, наконец, атомы железа, к которым привлёк внимание Грин [27]. Такие вещества могут переносить электроны от одного фиксированного члена цепи к другому, но мы не знаем, делают ли они это на самом деле.

Не будучи в состоянии сделать выбор между этими различными возможностями, я хочу вкратце обсудить наиболее вероятные способы переноса энергии и электронов на большие расстояния, а затем рассмотреть вопрос о том, каким образом электроны могут при прямом контакте передаваться (без потери своей энергии) от одного вещества к другому на малые расстояния.

Электромагнитная связь. Резонансная миграция энергии

Если молекула X возбуждена и на не слишком большом расстоянии от нее находится другая молекула Y, способная к такому же возбуждению, то существует некоторая вероятность того, что оно внезапно исчезнет в молекуле X и появится в молекуле Y. Нечто аналогичное можно наблюдать и в двух маятниках, связанных слабой пружиной. Через некоторое время колебание одного из них замрет и будет передано второму. Электронное возбуждение можно рассматривать как нечто, аналогичное колебаниям, а роль пружины может играть электромагнитное поле.

Ферстер [28, 29] сформулировал правила для такой передачи энергии, и его формула позволяет

*) В работе Л. А. Тумермана и А. Б. Рубина (ДАН СССР 145, 202, 1962) было показано, что и эффективность первичного процесса передачи электрона от хлорофильного слоя в цепь транспорта не зависит от температуры, и такой процесс не может, следовательно, осуществляться с помощью обычных химических реакций, контролируемых диффузией и температурой. — *Прим. перев.*

вычислить расстояния, на которые возможна передача энергии подобным путем*). Карреман и Стил [30], например, вычислили критическое расстояние, на которое может переноситься возбуждение между ароматическими аминокислотами в белке, и нашли, что оно равно 17 Å. Это расстояние достаточно велико, чтобы можно было допустить передачу энергии в пределах одной молекулы белка или между тесно соприкасающимися молекулами. Ферстер показал также, что вероятность такого переноса тем больше, чем больше перекрываются спектры поглощения соприкасающихся молекул**).

Что касается механизма такого переноса энергии, то мы можем изобразить его двумя способами. Ферстер, как и прежние исследователи (Ж. и Ф. Перрен), описывает его как своего рода «скачок» возбуждения от X к Y. Однако, как показал Бэй на симпозиуме в Вудс Холе в 1959 г., квантовая электродинамика позволяет описать его и другим способом. Если молекула X окружена несколькими молекулами Y, то при потере возбуждения молекулой X молекулы Y могут прийти в состояние, которое не является ни основным, ни возбужденным. Затем через очень короткий промежуток времени энергия может снова собраться

*) Представление о возможности резонансной (или индукционной) передачи энергии возбуждения было впервые введено Ж. Перреном. Общая полуфеноменологическая теория этих явлений была развита С. И. Вавиловым (ЖЭТФ 13, 13, 1943, Сочинения, т. I; Микроструктура света, Изд-во АН СССР, М., 1950), применившим ее к объяснению явлений концентрационного тушения и концентрационной деполяризации флуоресценции растворов. В этой теории константы, определяющие вероятность переноса энергии возбуждения, вводились как эмпирические. Квантовомеханический расчет вероятности переноса был дан Ферстером (Ann. d. Phys. 2, 55, 1948; Z. Naturforsch. 4a, 321, 1949) и — в несколько более общей форме — Декстером (J. Chem. Phys. 21, 836, 1953). Классическая интерпретация явления и экспериментальная проверка теории были выполнены М. Д. Галаниным (Труды ФИАН СССР, т. V, стр. 341, М., 1950; ЖЭТФ 28, 485, 1955). — *Прим. перев.*

**) Это не вполне точно. Вероятность переноса энергии определяется степенью перекрывания спектра флуоресценции молекулы-донора и спектра поглощения молекулы-акцептора. — *Прим. перев.*

и проявится внезапно в виде возбуждения одной из молекул Y*). Во многих случаях расчеты, проведенные по обеим этим теориям, приводят к одинаковым результатам, но иногда, когда имеет место «когерентность», т. е. кооперативное взаимодействие между молекулами Y, вторая теория дает большие величины вероятности перехода, чем первая. Это может иметь значение для фотосинтеза, где несколько сот молекул хлорофилла участвуют в процессе доставки фотона к месту его действия.

Полупроводимость

В 1941 г. я опубликовал статью под несколько претенциозным заглавием: «К новой биохимии». Эта статья возникла из дискуссии с моим молодым учеником К. Лаки. В ней было высказано предположение, что в живых системах энергия может мигрировать по полосам проводимости. Однако биохимия не пошевелилась; моя теория осталась лежать мертвым грузом. Теории, не приносящие плодов, бесполезны. Тем не менее нужно сказать несколько слов о явлениях полупроводимости. Основная идея очень проста. Атомы обладают изолированными энергетическими уровнями. Когда большое число атомов собрано вместе и расположено в виде кристаллической решетки, их энергетические уровни возмущают друг друга, и эти возмущенные уровни сливаются, образуя непрерывную полосу, содержащую множество уровней и простирающуюся на всю систему. В таком случае проводимость зависит от числа электронов в этой полосе. Согласно принципу Паули на каждом уровне только два электрона могут обладать одной и той же энергией. Поэтому, если число электронов, занимающих полосу, вдвое больше числа уровней, т. е. числа атомов, входящих в систему, то полоса заполнена и такая система не может обладать проводимостью.

Электропроводность металлов обусловлена наличием у них незаполненных полос. Энергетические

*) Обычный язык очень мало приспособлен для описания таких явлений,

полосы могут существовать и в диэлектриках, изолирующие свойства которых обусловлены тем, что у них полоса, соответствующая основному уровню, полностью заполнена, а ближайшая более высокая полоса совершенно свободна, причем для переноса в нее электрона требуется довольно значительная энергия.

В собственно полупроводниках расстояние до первой свободной полосы невелико, так что даже энергии теплового движения достаточно, чтобы перевести в эту полосу часть электронов и сделать ее полосой проводимости.

Расчеты Ивенса и Гергели [31] дали серьезные подтверждения того, что белки действительно обладают полосами проводимости. Позже Эли и его сотрудники [32, 33] обнаружили существование таких полос проводимости экспериментально, но вместе с тем показали, что расстояние между заполненной полосой и первой свободной полосой составляет около 2—3 эв. Это расстояние слишком велико, для того чтобы его могли преодолеть малые «биологические» кванты.

Полосы проводимости несомненно существуют в различных биологических системах. Эксперименты Арнольда и Шервуд [34], например, оставляют мало сомнений в том, что такие полосы существуют в высветенных хлоропластах, которые могут запасать в себе световую энергию и затем излучать ее при последующем нагревании; при этом нужно предполагать существование «электронных ловушек» под полосой проводимости *).

*) В работе Л. А. Тумермана, Г. Б. Завильгельского и В. И. Иванова (Биофизика 7, 21, 1962) было показано, что явления, описанные Арнольдом и Шервуд, не представляют собой явлений «термоызвечивания» в том смысле, в каком этот термин применяется к полупроводникам, а обусловлены явлениями «хемилюминесценции», т. е. свечения, возникающего при рекомбинации радикалов, образующихся под действием света. Подобные явления иногда наблюдаются и в бесструктурных модельных системах и поэтому не могут служить аргументом в пользу существования у хлоропластов полос проводимости и электронных ловушек. Менее ясна ситуация в случае явлений термолюминесценции, которую наблюдал Оженстин (Radiation Research, Supplement II, 1960) при нагревании ряда биологических веществ, подвергавшихся воздействию ионизирующего излучения при очень низкой температуре. Автор трактует эти результаты как безуслов-

Предположение о возможности миграции энергии в белках было выдвинуто уже давно Бюхером и Касперсом [35], которые обнаружили диссоциацию геминной части СО-миоглобина под действием квантов, поглощаемых белком. Шор и Парди [36] наблюдали излучение света хромопротеинами после возбуждения белков. Результаты опытов Шуберта [37] до некоторой степени противоречили данным Бюхера и Касперса, но в то же время снова подтвердили предположение о переносе энергии. Ни один из этих опытов не позволил прийти к окончательному выводу, так как они не дают нам возможности сделать решительный выбор между резонансным механизмом передачи энергии и механизмом, основанным на полупроводимости. Одним из наиболее важных результатов электронной микроскопии является обнаружение мембран и ламеллярных структур; подобные структуры были обнаружены в митохондриях, хлоропластах, зрительных палочках сетчатки и в протоплазме [38]. Даже частички, обнаруживаемые в экстрактах, например микросомы, могут представлять собой обломки таких мембран, образовавшиеся в процессе экстрагирования. Упорядоченная молекулярная структура мембран (особенно двойных мембран, какими является большинство биологических мембран) подсказывает мысль о полупроводимости биологических объектов. Как показал недавно Толлин [39, 40], работающий в лаборатории Кальвина, такие ламеллярные структуры могут обладать высокой проводимостью, если один из слоев отдает свои электроны другому.

Возможно также, что заполненные энергетические полосы превращаются в полосы проводимости, отдавая свои электроны какому-нибудь внешнему акцептору и становясь при этом ненасыщенными и проводящими. Может иметь место и обратное. Незанятая электронная полоса может стать полосой проводимости в результате захвата электронов от некоторого внешнего донора. Таким образом, захваченные

ное проявление полупроводниковых свойств таких веществ. Вопрос, однако, нуждается в более тщательном изучении и экспериментальной проверке предлагаемых объяснений. — *Прим. перев.*

и (или) отданные электроны могут дать биологической системе возможность осуществлять свою биологическую функцию при помощи механизма полупроводимости; однако они способны также подавлять или парализовать эти функции путем захвата электронов проводимости или заполнения «дырок», которые делали систему ненасыщенной. Некоторые лекарственные вещества и гормоны могут действовать подобным же образом (см. ниже). Захват или отдача электронов могут, таким образом, играть роль фактора, приводящего систему в действие, регулирующего ее функции или вызывающего глубокие нарушения. Даже небольшие изменения подобного типа могут иметь далеко идущие последствия, подобно тому как повреждение изоляции на электрическом проводе может парализовать работу целой электрической сети. Мэзон [41] высказал предположение о наличии связи между такими изменениями и злокачественным ростом.

Электромагнитная связь создает возможность переноса энергии, полупроводимость — возможность переноса электронов. Мы должны проводить четкое различие между переносом энергии и переносом электронов даже в том случае, когда электроны переносят с собой энергию. Для этого существует несколько оснований. Для переноса энергии мы должны сначала возбудить электрон из его основного состояния в данном веществе до первого возбужденного состояния. Необходимая для такого возбуждения энергия соответствует расстоянию между основным уровнем и первым возбужденным уровнем (см. рис. 7). Как упоминалось выше, эта энергия варьирует в пределах 40—100 ккал. Такой квант энергии может переноситься фотонами, но, вероятно, его нельзя получить при нормальном течении окислительных процессов. Поэтому следует проводить различие между процессами, возбуждаемыми фотонами (например, в случае зрения и фотосинтеза), и процессами, происходящими при обмене веществ. Настоящая книга посвящена только последним.

Другая причина необходимости различения процессов переноса энергии и переноса электронов станет яс-

ной, если мы снова обратимся к рис. 7, на котором символически изображены три молекулы, относящиеся, по предположению, к разным классам веществ и имеющие различные нулевые уровни. На этом рисунке бесконечно удаленный уровень принадлежит всем трем молекулам, поскольку все электроны, находящиеся в бесконечности, имеют одинаковую энергию. В данном случае бесконечность лежит чуть выше самой высокой из незанятых орбит. Учитывая длину стрелок (ионизационный потенциал для молекулы Д и электронное сродство для молекул А), мы приходим к выводу, что без затраты внешней энергии нельзя перенести электрон с основного уровня молекулы Д на первый возбужденный уровень молекулы А₁, но можно перенести его с Д на А₂. Для энергий справедливо обратное соотношение. Благодаря резонансу мы можем перенести энергию возбуждения с Д на А₁, так как расстояние между основным и первым возбужденным уровнем в молекуле А₁ меньше, чем в молекуле Д. Однако мы не можем перенести энергию возбуждения с Д на А₂, так как расстояние между этими уровнями в молекуле А₂ больше, чем в молекуле Д.

Комплексы с переносом заряда

Свыше 30 лет назад начали накапливаться факты, указывающие на то, что в некоторых комплексах электрон может переходить границу между двумя входящими в комплекс молекулами. В 1942 г. Вейсс [43—45] впервые ясно сформулировал представление о том, что внутри комплекса электрон может быть перенесен с орбиты одной из двух входящих в комплекс молекул на орбиту другой молекулы. Мэлликен и его сотрудники [46—48] детально изучили явление «переноса заряда»; они применили к его исследованию квантовую механику и дали классификацию различных форм этого явления *).

*) Очень ясный, хотя и несколько устарелый обзор этого вопроса можно найти в статье Оргеля [42].

Перенос электрона от одного вещества к другому обычно считают реакцией окисления-восстановления. Однако мы должны проводить четкое различие между реакциями «окисление-восстановление» и процессами «переноса заряда». Как правило, в органических веществах электроны занимают орбиты парно; в реакциях окисление-восстановление от одной молекулы к другой переносится пара электронов и образуются две новые замкнутые молекулярные оболочки. Затем обе молекулы разделяются, причем одна из них становится богаче на два электрона, а другая — беднее. После этого им, в принципе, нечего делать друг с другом. Поэтому каждая молекула должна иметь два стабильных состояния, отличающихся друг от друга наличием или отсутствием двух электронов. Вся реакция восстановления-окисления состоит в переносе этих двух электронов и последующей перестройке структуры. Подобная ситуация не изменилась и после того, как Михаэлис [10, 16, 17, 49—51] показал, что электроны могут переходить от одного вещества к другому поодиночке и что большинство биологических окислений фактически состоит из двух последовательных одноэлектронных ступеней. Поскольку основные идеи о переносе заряда еще не были тогда вполне ясны, сам Михаэлис рассматривал одноэлектронный этап как промежуточную стадию двухвалентного окисления даже в том случае, когда свободные радикалы, образующиеся на этой одноэлектронной стадии, оказывались стабильными при крайних значениях рН. В «комплексах с переносом заряда» переносится только один электрон. Обе молекулы — «донор» и «акцептор» — обычно остаются связанными, а если они и разделяются, то не в виде молекул с замкнутыми оболочками, а в виде свободных радикалов с неспаренным электроном у каждого.

Введение представления о переносе заряда означает широкое обобщение наших прежних идей. Прежде всего оно нарушает косность наших представлений об индивидуальности молекул. Перенос заряда означает, что электроны молекулы Д (буква Д означает «донор») могут при известных условиях исполь-

зовать орбиты молекулы А (буква А означает «акцептор»). Кроме того, это представление позволяет включить в круг явлений, связанных с переносом электронов, множество веществ, способных отдавать только один электрон, т. е. веществ, которые не имеют двух стабильных состояний, отличающихся на два электрона; такие вещества не действуют на электроды и обычно их не относили к окислительным или

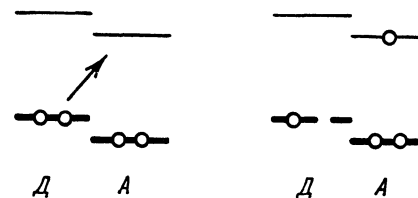


Рис. 9. Символическое изображение основного и первого возбужденного состояния двух молекул до переноса заряда (слева) и после него (справа).

восстановительным агентам. Перенос одного электрона не обязательно влечет за собой перестройку молекулы. Схема этого процесса символически изображена на рис. 9 как простой перенос одного электрона с высшей заполненной орбиты молекулы Д на низшую свободную орбиту молекулы А без всякой последующей перестройки этих молекул.

Здесь очевидными представляются несколько важных обстоятельств. Для того чтобы стал возможен перенос электрона с орбиты молекулы Д на орбиту молекулы А, два электронных облака этих молекул должны перекрываться. Отсюда следует, что эти две молекулы должны подойти очень близко друг к другу. Тесное соприкосновение и возможность сближения становятся решающими факторами, что позволяет объяснить, почему многие реакции переноса заряда протекают очень медленно и длятся часами: вероятность требуемого расположения обеих молекул весьма мала. Конечно, это не исключает того, что при известных обстоятельствах перенос заряда может осуществиться и при кратковременной встрече двух

молекул, в так называемом «контактном переносе». Другое обстоятельство, которое становится ясным из рассмотрения рис. 9, заключается в том, что определяющими факторами становится относительное расположение соответствующих орбит, т. е. значения ионизационного потенциала донора и электронного сродства акцептора. Говоря схематически, мы должны различать два крайних случая: 1) донорная орбита лежит значительно ниже акцепторной (см. рис. 9), и следовательно, для переноса электрона с первой орбиты на вторую требуется затрата достаточно большой энергии, т. е. $ИП \gg ЭС$; 2) акцепторная орбита расположена ниже донорной, и следовательно, электрон может быть перенесен без затраты энергии, т. е. $ЭС > ИП$, что имело место для молекул Д и A_2 на рис. 7.

Рассматривая первый из этих двух случаев, мы должны предполагать, что при сближении таких двух молекул образуется комплекс, в котором молекулы удерживаются классическими силами комплексообразования (дисперсионными силами, силами поляризации, дипольными моментами). Никакого сколько-нибудь значительного переноса заряда в таком комплексе ожидать не приходится. Тем не менее мы знаем, что при образовании комплекса может создаваться некоторый дипольный момент, и Мэлликен приписал его «слабому переносу» заряда. Переносимый электрон резонирует между двумя молекулами, и эта «резонансная энергия» вносит свой вклад в силы связи. Точно так же как возбужденное состояние отдельных молекул определяет спектры их поглощения, возбужденное состояние комплексов обуславливает появление спектра, характерного для данного комплекса. В подобном случае подъем электрона донорной молекулы до возбужденного уровня акцептора происходит за счет энергии поглощенного фотона. В возбужденном комплексе большая часть электронного облака находится на молекуле-акцепторе. Поэтому Мэлликен называет спектр такого комплекса «спектром переноса заряда»; как отмечалось выше, он характерен для данного комплекса. Энергия, необходимая для

переноса заряда, определяется длиной волны поглощенного света и частично зависит от разности двух уровней, донорного и акцепторного, т. е. от разности ЭС — ИП. Если эта разность велика, то спектр поглощения комплекса лежит в ультрафиолетовой области. Если она мала, то спектр поглощения лежит в видимой области, т. е. сам комплекс интенсивно окрашен. Если для переноса требуется еще меньшая энергия, то спектр комплекса находится в инфракрасной области. Во всяком случае этот спектр характерен для комплекса, а не для его компонент [52]. Мы имеем здесь «спектр переноса заряда».

Конечно, здесь важны не только значения ИП для донора и ЭС для акцептора, так как перенос электрона может изменять взаимоотношения обеих молекул или их отношение к растворителю. Как будет показано ниже, в процессе образования комплекса с переносом заряда принимают участие и другие факторы, в настоящее время еще неизвестные. Тем не менее, если процесс определяют значения ИП донорной молекулы, а все остальные факторы остаются постоянными, то следует ожидать линейной зависимости между энергией (т. е. частотой) поглощаемого света и значениями ИП для данных доноров. Отсюда следует, что если мы возьмем ряд доноров и будем связывать их поочередно с одним и тем же акцептором, то график, изображающий зависимость частоты поглощаемого света от значений ИП для различных доноров, будет представлять собой прямую линию. Такое предсказание было впервые сделано и экспериментально проверено Мак-Коннелом, Хэмом и Платтом [53] и одновременно Гастингсом, Франклином, Шиллером и Мадсенем [54]. Полученные ими графики удивительно точно совпадали с прямыми, хотя принадлежащие доноры принадлежали к различным группам веществ. Линейность этих графиков указывает на то, что ионизационный потенциал донора действительно является основным фактором в процессе переноса заряда. Позже Бриглеб и Чекалла [55, 56] нашли способы, позволяющие предсказывать спектры переноса заряда, и получили ту же линейную зависимость. Их

опыты вскоре подтвердил Фостер [57]. Линии, полученные при графическом изображении результатов этих опытов, оказались прямыми с такой хорошей точностью, что можно находить ионизационный потенциал данного донора, определяя положение его спектра переноса заряда на графике, построенном для соответствующего акцептора.

Если энергетические соотношения очень благоприятствуют переносу заряда, то электрон может переходить от донора к акцептору спонтанно. Этот процесс соответствует образованию комплекса между очень сильным донором и очень сильным акцептором, т. е. между донором с малым ионизационным потенциалом и акцептором с большим электронным сродством [58—61]. Следует ожидать, что в этих случаях электрон будет спонтанно переходить от молекулы Д к молекуле А и резонировать между ними, внося свою резонансную энергию в силы связи. Два разделенных электрона могут также сообщать молекуле некоторый дипольный момент; при этом их магнитные моменты могут уже не компенсировать друг друга, и комплекс окажется парамагнитным. В крайнем случае обе молекулы могут даже отделиться друг от друга, образуя два независимых свободных радикала. Было показано, что по мере уменьшения разности ЭС — ИП молекулярный комплекс становится все более и более парамагнитным. Кроме того, было установлено [62], что парамагнетизм подобных комплексов может достигать значений, соответствующих наличию 40% полностью неспаренных электронов. Такие нарушения парности электронов удалось также обнаружить методами инфракрасной спектроскопии [63].

Два рассмотренных случая, когда $\text{ИП} \gg \text{ЭС}$ и когда $\text{ИП} < \text{ЭС}$, являются крайними. Между ними может существовать множество промежуточных случаев, и, как показал Мэлликен, даже в одном и том же комплексе могут быть смешаны процессы переноса при помощи фотонов и процессы спонтанного переноса. По мере уменьшения разности $\text{ИП} - \text{ЭС}$ значение спонтанного переноса возрастает, пока, наконец, при надлежащих условиях он не станет доминирующим;

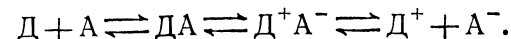
при этом практически будет переноситься целый электрон, остающийся более или менее постоянно в молекуле А. Возможна и диссоциация на два свободных радикала, которая окажется последним этапом этого процесса. Сильно полярные растворители способствуют спонтанному переносу и последующей диссоциации вследствие нарушения сильных кулоновских взаимодействий, которые возникают между молекулами донора и акцептора при переносе электрона. Слабому взаимодействию первого типа благоприятствуют гомеоплярные растворители [55, 56].

Из сказанного выше ясно, почему мы должны проводить различие между двумя отдельными событиями в процессе переноса заряда: достаточным сближением обеих молекул и собственно переносом заряда. Если значения ИП и ЭС не благоприятствуют такому переносу, то он не может происходить; однако возможны случаи, когда значения ИП и ЭС оказываются подходящими, но перенос не имеет места, так как данные молекулы не образуют комплекса или их нельзя достаточно сблизить из-за стерических препятствий. Поэтому возможны случаи, когда перенос заряда происходит *in vivo*, но не *in vitro*. Клетка способна, например, удерживать в достаточной близости друг от друга две молекулы, которые спонтанно не образуют комплекса. Это можно осуществить связыванием молекул с одним и тем же ферментом или образованием между ними ковалентной связи. Природа может также сделать благоприятными соотношения между ИП и ЭС или стерические взаимоотношения, деформируя или активируя молекулы Д и А.

Итак, грубо говоря, мы должны различать два типа процессов переноса заряда. В первом при $\text{ИП} > \text{ЭС}$ для переноса электрона необходима энергия фотона. Последовательность событий здесь такова:



События в процессе второго типа (спонтанный перенос заряда) можно записать следующим образом:



Как было указано, переходы от процессов одного типа к другому происходят плавно. При $ИП \gg ЭС$ для осуществления переноса требуются кванты света большой энергии. По мере уменьшения разности между ИП и ЭС становится необходимым свет все больших длин волн и возрастает роль спонтанного переноса. Мы можем ожидать поэтому, что в тех случаях, когда для переноса требуется значительная энергия, зависимость частоты максимума «спектра переноса» от значений ИП будет графически изображаться прямой. Однако, по мере того как мы переходим к более длинным волнам, постепенно начинает превалировать спонтанный перенос. Следует ожидать отклонения этого графика от прямой и в конце концов его асимптотического приближения к постоянному значению. Небольшое искривление графика заметно даже на кривых Бриглеба и Чекалла; оно становится совершенно очевидным на графиках Фуджимори (неопубликованные данные) (рис. 10). На этом рисунке по оси абсцисс отложены вместо значений ИП для различных доноров значения их коэффициентов k . Поскольку k является линейной функцией от ИП, это не вносит никаких изменений в график, если не считать того, что величина k определяется несколько менее достоверно, чем ИП и, следовательно, разброс точек оказывается немного большим. Четыре различные кривые на рис. 10 получены для четырех различных акцепторов. Различия в положении кривых соответствуют различиям в значениях ЭС для этих акцепторов. Искривление становится тем заметнее, чем меньше частота света, а асимптотическое приближение некоторых кривых к горизонтальной прямой указывает на то, что по мере приближения к инфракрасной области особое значение начинает приобретать спонтанный перенос*). К сожалению, в этой об-

ласти мы можем получить лишь очень мало точек, так как выбор веществ ограничен, а технические трудности, обусловленные нерастворимостью веществ и их окраской, становятся очень большими.

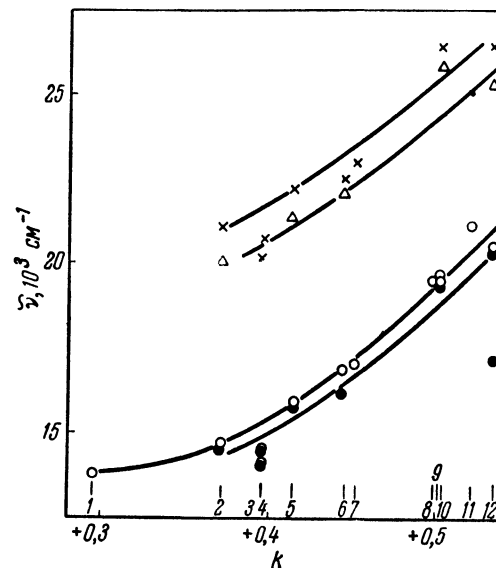


Рис. 10. Зависимость частоты максимума полосы поглощения от значений коэффициента k для различных доноров в комплексах, которые они образуют с различными акцепторами.

Доноры: 1 — нафтацен; 2 — бензпирен; 3 и 4 — 9, 10-метил-1, 2-бензантрацен и 20-метилхолантрен; 5 — антрацен; 6 — пирен; 7 — бензантрацен; 8 — дибензантрацен; 9 — пicen, 10 — стильбен; 11 — хризен; 12 — индол. Акцепторы: крестики — тринитробензол; треугольники — *p*-бензохинон; светлые кружки — хлоранил; темные — броманил.

Мак-Коннелл, Хэм и Платт [53] уже раньше отмечали необходимость расширения исследований в этой области.

По мнению автора, перенос заряда может служить одним из наиболее важных, чаще всего происходящих и фундаментальных биологических процессов. Такую возможность уже ясно предвидел Мэлликен [21, 46—48]. Против этого можно возразить, указав, что в нашем организме все реакции являются темновыми, и

*) Здесь следует отметить, что для двух сильнейших канцерогенных веществ, 9, 10-диметилбензантрацена и 20-метилхолантрена, полученные данные не ложатся на соответствующие кривые, а расположены под ними. Точки для бензпирена ложатся на кривую. Точки для всех этих трех канцерогенных веществ расположены очень низко.

поэтому индуцированный светом перенос заряда не может играть важной роли в биологических процессах, а вещества, для которых характерен спонтанный перенос заряда, встречаются в организме довольно редко. Большинство случаев переноса заряда, которые были изучены до сих пор, относятся к процессам первого типа. Но здесь я снова хотел бы подчеркнуть различие между физикой и биологией. Физик, изучающий явления переноса заряда, исследует взаимодействие тех веществ, которые он находит в своем шкафу, тогда как биолог работает с теми веществами, которые природа в течение миллионов лет создавала для специфических целей. Вопрос заключается не в том, широко ли распространен процесс переноса заряда, является ли он слабым или сильным, а в том, соответствует ли он естественным путям природы. Если да, то мы можем быть уверены, что природа создала вещества, пригодные для этой цели. Ниже будут даны примеры сильного переноса заряда между биологическими веществами.

Читатель может подумать, что автор впал в обычную ошибку и переоценивает важность тех факторов, которые завладели его мыслями. Следует, однако, напомнить определение кислот и оснований, данное Г. Льюисом. Этот большой ученый определил кислоты и основания как вещества, способные отдавать или присоединять электроны. Таким образом, представление о соотношении акцептор — донор при переносе заряда сливается с более широким представлением о соотношении кислота — основание, которое, несомненно, служит одним из основ химии. Соотношения донор — акцептор связаны также с окислительно-восстановительными реакциями, играющими столь важную роль в биологии. Таким образом, перенос заряда является частью наиболее фундаментальной группы биологических процессов.

VI. Проблемы переноса заряда

Что можем мы выиграть, вводя представление о переносе заряда в область сложных проблем биохимии и биофизики?

Принимая это представление, можно допустить возможность переноса электрона от одного вещества к другому без больших потерь энергии, так как данный процесс не сопровождается перестройкой структуры молекулы.

Оно оправдывает участие в биологическом окислении целого ряда веществ, способных отдавать только по одному электрону. Подобные вещества не действуют на электроды, и поэтому раньше их вообще не считали окислительно-восстановительными агентами.

Представление о переносе заряда вводит в игру возбужденные уровни, ранее считавшиеся недоступными, ибо обычно энергия, необходимая для подъема электрона на возбужденный уровень молекулы, к которой он принадлежит, слишком велика.

В результате переноса заряда относительно неактивные молекулы могут приобрести реакционную способность. Донор, в котором на основном уровне образуется «дырка», становится хорошим акцептором, а акцептор, который приобрел электрон на возбужденном уровне, — хорошим донором. Комплекс с переносом заряда представляет собой нечто среднее между обычной молекулой с замкнутой электронной оболочкой и свободным радикалом, а высокую реакционную способность свободных радикалов нет необходимости подчеркивать. Когда такой комплекс распадается, как это имеет место в крайних случаях, образуются два настоящих свободных радикала.

Акцептор может также захватывать электрон из заполненной энергетической полосы, создавая в ней «дырку» и превращая ее в полосу проводимости. Наоборот, донор может отдавать электрон незаполненной энергетической полосе, превращая ее в полосу проводимости. Таким образом, представление о переносе заряда открывает путь для введения в биологию явлений полупроводимости. Как показал Толлин [39], пленки донорных молекул, нанесенные на слои акцепторных молекул, становятся проводящими, и в них наблюдается сильный фотоэлектрический эффект.

Акамату и др. [64, 65] обнаружили, что при образовании комплекса перилена, виолантрена и других высших ароматических соединений с I_2 или B_{r_2} наблюдается значительное возрастание электропроводности. Эти комплексы обладают также заметным парамагнитным моментом [66, 67]. Проведенные работы показали, что изолятор или плохой полупроводник можно превратить в хороший полупроводник и что молекулы I_2 могут образовывать комплексы с сильным переносом заряда, в которых спонтанно переносится почти целый электрон.

Как можно отличить «сильный», спонтанный, от «слабого» фотоиндуцированного переноса заряда? Поскольку наш организм работает в темновых условиях, такое различие может иметь очень важное значение для биологии. Как вообще можно доказать наличие переноса заряда?

Для этого существуют различные методы.

Оптические методы. Большинство комплексов с переносом заряда интенсивно окрашено, и спектр их поглощения может дать информацию о природе соответствующих реакций. Если при изучении абсорбции обнаруживается описанная в предыдущей главе зависимость между частотой поглощаемого света и ионизационным потенциалом, то мы имеем дело со «слабым переносом» заряда, индуцированным поглощением света. Если же, наоборот, такая зависимость отсутствует и спектр комплекса обнаруживает связь со спектром свободного радикала одного из входящих в комплекс веществ (причем этот спектр может быть слегка деформирован или смещен), то мы имеем дело с «сильным переносом» заряда, сопровождающимся спонтанным переходом электронов и тенденцией к переходу в ионное состояние или в свободные радикалы. Для многих комплексов характерно смешанное поведение.

Магнитные методы. В соединениях с насыщенными валентностями электроны занимают соответствующие орбиты попарно. Электроны обладают своим «спином» («моментом вращения»), а «вращающийся электрон» представляет собой маленький маг-

нит. Так как два электрона, находящиеся на одной и той же орбите, всегда имеют противоположно направленные спины, то их магнитные моменты взаимно компенсируют друг друга. Однако при разделении этих двух электронов (что может происходить в случае сильного переноса заряда) их магнитные моменты не компенсируют друг друга, и вещество приобретает парамагнитные свойства, которые легко обнаружить при магнитных измерениях. Существует и другая возможность сообщения комплексу парамагнитных свойств: как только два электрона теряют сильную связь и занимают различные орбиты, они освобождаются от ограничений, налагаемых принципом Паули, согласно которому спины двух электронов, образующих пару на одной и той же орбите, имеют противоположные направления. Если спин одного из двух неспаренных электронов переворачивается, то комплекс переходит в триплетное состояние, что вносит парамагнитную компоненту. В опытах с фотолизом было обнаружено, что такие комплексы действительно дают триплетное излучение [68, 69].

Существуют два метода обнаружения парамагнитных свойств вещества, а именно метод магнитных весов и метод электронного парамагнитного резонанса (сокращенно метод ЭПР, [70—73] *). Первый значительно грубее второго. Характер сигнала, наблюдаемого при исследовании ЭПР, зависит от ряда обстоятельств. Свободные радикалы дают узкий и высокий сигнал ЭПР шириной 10—50 гс. Если электрон находится на малом расстоянии от других неспаренных электронов, то он может испытывать возмущение и давать широкий сигнал. В результате магнитного воздействия различных ядер сигнал может расщепляться и обнаруживать «сверхтонкую» структуру. Хотя метод ЭПР изобилует ловушками, он служит одним из

*) В англо-американской литературе и, в частности, у автора настоящей книги принят термин: «электронный спиновый резонанс» и сокращенное обозначение: ESR. В русской литературе говорят об «электронном парамагнитном резонансе» и употребляют сокращенное обозначение ЭПР. Этот термин и сокращения приняты нами и при переводе данной книги. — *Прим. перев.*

самых могущественных орудий исследования, находящихся сейчас применение в биологических лабораториях. Появление сигнала ЭПР от комплекса с переносом заряда зависит от ряда обстоятельств. При слабом переносе оба электрона остаются сильно связанными и не дают сигнала ЭПР или дают его только при сильном освещении.

В случаях сильного переноса заряда наблюдаемые картины зависят от того, насколько сильно связан переносимый электрон со своим партнером, насколько «силен» перенос (т. е. насколько велика переносимая часть электрона), какую часть времени он находится на акцепторе, а какую — на доноре*), и насколько сильна тенденция комплекса к расщеплению с переходом в ионное состояние, в котором диссоциированные партнеры представляют собой свободные радикалы.

Метод ЭПР представляет собой чудесное орудие исследования, позволяющее получить уникальную информацию. Его применение требует специальных знаний и опыта, а также сложной (и дорогой) аппаратуры и крайней осторожности при интерпретации полученных результатов. Пользуясь этим методом, можно в один день сделать открытие, но затем потратить шесть месяцев на его опровержение. Водные растворы, представляющие наибольший интерес для биохимика, трудно изучать методом ЭПР, так как лишь очень малые количества этого растворителя не искажают спектра. Ничтожные следы загрязнений могут исказить результаты и, таким образом, ввести исследователя в заблуждение. Особая осторожность требуется при работе с твердыми веществами. Нарушение кристаллических решеток или их физическое повреждение может приводить к появлению сигналов

*) Такие выражения, как «перенос части электрона» или «электрон, проводящий часть времени на новой орбите», следует принимать с известными оговорками. Они отражают не реальность, а только тень ее. Во всяком случае, пользуясь этими терминами, мы пытаемся описать состояние, промежуточное между начальным и таким конечным, в котором электрон оказывается окончательно локализованным на своей новой орбите.

свободных радикалов. Теория метода ЭПР все еще разработана очень плохо; так как большинство изученных веществ весьма просто по своей природе, то можно ожидать всяких сюрпризов. Так, по-видимому, нет никакой теории для объяснения широких сигналов в нуклеопротеидах, о которых сообщил Блюменфельд с сотрудниками [74, 75]*).

Работы, в которых впервые был применен метод ЭПР для изучения комплексов с переносом заряда, показали, что если брать в качестве доноров все более сильные восстановители, а в качестве акцепторов все более сильные окислители, то по мере перехода от слабого переноса к все более сильному сначала появляется сигнал ЭПР, а затем он постепенно усиливается [58, 59].

Измерения дипольного момента. Измерения такого рода, выполненные рядом авторов [43, 55, 62]), показали, что и этот метод может подтвердить наличие переноса заряда. К сожалению, измерения дипольного момента не просты, особенно в неполярных растворителях, присутствие которых благоприятствует сильному переносу заряда (слабому переносу заряда благоприятствуют гомеополлярные растворители). Поэтому выводы, делаемые из измерений дипольного момента, могут оказаться менее убедительными, чем выводы из результатов оптических и магнитных измерений. Кристаллографическое исследование комплексов с переносом заряда также может сообщить некоторые дополнительные данные. Следует ожидать, что плоские ароматические молекулы расположены в таких комплексах параллельно, а их центры смещены; это необходимо для обеспечения

*) К этому следует добавить, что при предварительном исследовании Айзенберг и автор обнаружили широкий и низкий сигнал ЭПР у большинства испытанных стероидных гормонов (Δ^4 -андростен-3, 17-дион, Δ^5 -андростен-3, 17-дион, Δ^5 -андростен-3 β , 17 β -диол, холестерин, прогестерон, стигмастерин и дезоксикортикостерон), тогда как тестостерон не давал таких сигналов. Необходимо дальнейшее исследование, чтобы решить, обусловлен ли сигнал ЭПР загрязнениями или другими побочными факторами, или же он характерен для этих стероидов, быть может образующих комплексы с O_2 .

переноса заряда, который иначе стал бы невозможен из соображений симметрии [47].

Может ли представление о переносе заряда помочь нам понять окисление или другие биологические реакции?

Пусть Д, А₁, А₂ и А₃ на рис. 11 изображают четыре молекулы, находящиеся очень близко друг от друга. Предположим, что электрон переходит с основного уровня молекулы Д на возбужденный уровень молекулы А₁. Этот электрон

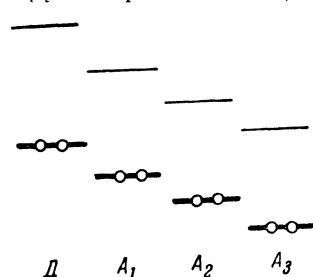


Рис. 11. Символическое изображение квантовомеханической схемы переноса электронов.

Жирные линии — основные уровни, тонкие — первые возбужденные уровни. Остальные объяснения см. в тексте.

не может перемещаться, так как его удерживает на месте электростатическое притяжение между Д и А₁. Ситуация изменяется, если какая-нибудь посторонняя молекула отдаст свой электрон молекуле Д, заполняя «дырку» в ее основном уровне. Электрон, ранее перенесенный к молекуле А₁, освобождается от электростатической связи и постепенно, по ступенькам спускается по

возбужденным уровням молекул А₂ и А₃. Нет ничего невозможного в том, что нечто подобное действительно происходит и при биологическом окислении. Можно также удалить один электрон с основного уровня молекулы А₃,¹ после чего электрон молекулы А₂ может заполнить эту дырку, молекула А₂ примет электрон от молекулы А₁, а последняя от Д, так что все электроны опустятся на одну ступеньку.

Мы можем также предположить, что мы перенесли электрон с основного уровня молекулы Д на возбужденный уровень молекулы А₃, а затем перенесли электрон с основного уровня А₃ на какую-то постороннюю молекулу, например на О₂. В этом случае электрон спустится с возбужденного уровня молекулы А₃ на ее основной уровень, заполняя в ней дырку и испуская избыток энергии в виде фотона. Нечто

в таком роде может лежать в основе явлений биолюминесценции. Все это очень привлекательно, так как освобождает биохимию от химии. Здесь нет никаких перестроек молекулярных структур или связей, нет никаких «химических изменений», и участвующие в процессе молекулы служат главным образом квантовомеханическим остовом, в котором могут двигаться электроны. Быть может, цикл биологических окислений представляет собой процесс такого типа.

В заключение мы можем сказать, что представление о переносе заряда открывает ряд новых важных и интригующих возможностей.

VII. Три примера переноса заряда

Как указывалось выше, мы должны различать два отдельных этапа процесса образования комплекса с переносом заряда: сближение молекул друг с другом и собственно перенос заряда. Поэтому, желая изучать собственно процесс переноса заряда, мы должны найти способы удерживать данные две молекулы в непосредственной близости друг к другу.

Этого можно достичь различными способами. Мы можем ввести данные два вещества в кристалл; в этом случае молекулы будут удерживаться силами кристаллической решетки. Можно попросту выпарить растворитель, в котором растворены оба изучаемых вещества. При испарении растворителя они останутся в осадке в непосредственной близости друг к другу. Другой метод заключается в замораживании водных растворов данной смеси. В таком случае вода превратится в кристаллы льда и растворенные молекулы окажутся соприкасающимися. При этом образованию комплексов благоприятствует и понижение температуры *). В живой клетке ассоциация и перенос заряда

*) В работе Л. А. Тумермана, Ю. В. Морозова и Ю. И. Наберухина (Биофизика 6, 556, 1961) было показано, что при замораживании водного раствора люминесцирующих красителей действительно образуются их ассоциаты (димеры). Люминесценция этих димеров при температуре, близкой к 0°, чрезвычайно слаба, но по мере понижения температуры она усиливается, при-

могут также вызываться тенденцией воды, «матрикса» клетки, к образованию структур, которые ограничивают степени ее свободы (см. ниже). В дальнейшем мы рассмотрим примеры образования комплексов с переносом заряда, получаемых этими методами.

Хинон-гидрохинон

Классическим материалом для изучения слабого переноса заряда является хингидрон, образующийся при смешении хинона с гидрохиноном. Обе эти молекулы имеют плоскую форму и обширную систему π -электронов. Поэтому, когда они находятся на достаточно малом расстоянии друг от друга, а их плоскости параллельны, то орбиты их π -электронов могут перекрываться, образуя то, что Дьюар [76, 77] называл « π — π -связью» в « π -комплексе». Осаки и Матсуда (цитировано по [78]) изучали рентгеновским методом кристаллическую структуру хингидрона и обнаружили, что оба кольца, кольцо гидрохинона и кольцо хинона, лежат очень близко друг к другу. Если обычно расстояние между ассоциированными ароматическими соединениями равно 3,5—5,7 Å, то в хингидроне оно оказалось равным 3,16 Å, что, конечно, означает их очень тесное сближение. В кристалле хингидрона молекулы хинона и гидрохинона лежат, чередуясь, друг над другом, причем центры их слегка смещены, а плоскости наклонены под углом 34° к длинной оси игольчатых кристаллов. Возбужденные светом элект-

чем спектр их люминесценции смещен в длинноволновую сторону (по сравнению со спектром люминесценции мономеров). В своей книге «Биоэнергетика» Сент-Дьердьи обратил внимание на поразительный параллелизм между биологической активностью многих веществ и влиянием последних на эти своеобразные изменения флуоресценции замороженных водных растворов. Сент-Дьердьи объяснял подобные изменения переходом молекул из синглетного возбужденного состояния в триплетное. Тот факт, что в действительности эти явления связаны не с синглет-триплетными переходами, а с ассоциацией молекул красителя (образование димеров), позволяет видеть в этом параллелизме дополнительные указания на важную роль процессов комплексообразования в биологических процессах, которую автор с особой силой подчеркивает в этой книге. — *Прим. перев.*

роны могут колебаться параллельно плоскостям молекул или в перпендикулярном направлении; в последнем случае они осциллируют между соседними молекулами хинона и гидрохинона, которые образуют, таким образом, комплекс с переносом заряда. В зависимости от ориентации светового вектора относительно плоскости молекул хингидрон будет поглощать свет различных длин волн, т. е. будет дихроичным [78]. Это легко показать, высушивая на предметном стекле раствор хингидрона в ацетоне. Под микроскопом можно увидеть перьевидные кристаллики (рис. 12), ориентированные различным образом. При наблюдении в поляризованном свете (рис. 13) часть кристалликов оказывается темно-синей, тогда как другие кристаллики, расположенные под прямым углом к первым, кажутся светло-желтыми. При повороте препарата на 90° цвета кристалликов меняются (на рис. 13 темно-синие кристаллики кажутся черными). В спектре поглощения хингидрона обнаружены два максимума при 550 и при 380 мкм, соответствующие двум различным направлениям колебаний [79].

Раствор *n*-гидрохинона в концентрации 10^{-2} М бесцветен, а раствор *n*-хинона такой же концентрации имеет светло-желтую окраску. При их смешивании цвет почти не изменяется, хотя можно было бы ожидать, что раствор хингидрона в концентрации 10^{-2} М окажется красно-коричневым. Смесь остается бесцветной, потому что при этой концентрации хингидрон диссоциирует или, вернее, вообще не образуется.

С этой смесью такой концентрации (10^{-2} М) можно проделать много красивых опытов. Если быстро заморозить ее*), то она приобретает темно-синий, ультрамариновый, цвет. Отсюда следует, что, замораживая смесь, мы заставили молекулы образовать комплекс, и притом комплекс с необычным взаимоотношением между молекулами, в силу которого осцилляция электрона между молекулами хинона и

*) В качестве замораживающей смеси я обычно применяю истолченный сухой лед, взвешенный в монометиловом эфире этиленгликоля.

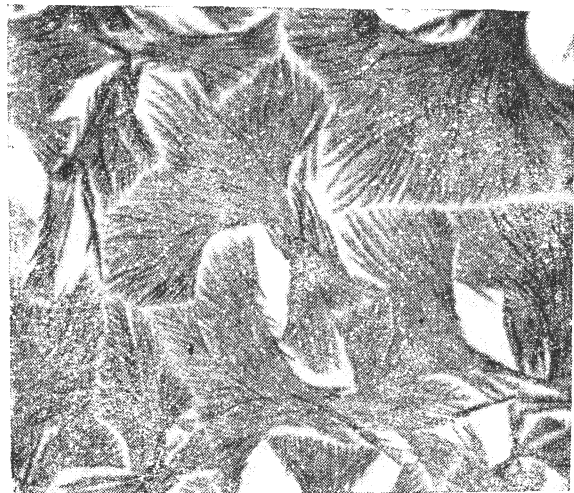


Рис. 13. Кристаллы хингидрона, снятые в поляризованном свете.



Рис. 12. Кристаллы хингидрона, снятые в естественном свете.

гидрохинона происходят преимущественно в направлении, перпендикулярном к их плоскостям*). Чтобы получить хингидрон в его красно-коричневой модификации, нужно прибавить к нашей смеси хинона и гидрохинона с концентрацией 10^{-2} М равное количество 10-процентного раствора глюкозы. При быстром замораживании этой смеси можно увидеть хингидрон в его красно-коричневой форме, являющейся в наших замороженных системах метастабильной. Легко показать, что дело обстоит именно так, погружая замороженную пробирку на несколько секунд в воду комнатной температуры. Морковно-красный цвет переходит при этом в ультрамариновый синий. Этими красочными экспериментами можно забавляться самому и забавлять детей. Все описанные изменения обратимы и при таянии интенсивно окрашенного льда он становится практически бесцветной жидкостью.

В кристаллах хингидрона его молекулы удерживаются в такой тесной близости друг к другу в первую очередь не водородными связями, а π — π -взаимодействиями**). В хингидроне синего цвета условия, повидимому, благоприятны для такого взаимодействия. Простое высušивание смеси растворов хинона и гидрохинона приводит только к образованию хингидрона

*) Если замораживать несколько более концентрированные растворы, то после таяния льда остаются темно-синие, почти черные кристаллики в виде тонких иголок. Эти кристаллики не дихроичны в отличие от обычных кристаллов хингидрона, образующихся при комнатной температуре; последние имеют красно-коричневый цвет и дихроичны.

**) Михаэлс и Граник [80] доказали, что существенную роль во взаимодействиях в хингидроне играют не водородные связи, показав, что хингидрон образуется и в том случае, когда атомы водорода в гидрохиноне заменены метильными группами. Грагеров и Миклухин [81] и Ботнер-Бай [82] установили, что после образования хингидрона из меченого хинона и немеченого гидрохинона (или наоборот) можно получить меченую и немеченую компоненты без обмена атомами Н между участниками реакции. Отсюда следует, что обмен атомами водорода в кристалле не является обязательным. Таким образом, в подобных случаях образование хингидрона обуславливается только взаимодействием π -электронных систем. В этих опытах атомы Н бензольного кольца были замещены, чтобы предотвратить перегруппировку двойных связей.

коричневого цвета, что легко показать, нанося несколько капель раствора хингидрона в метаноле на фильтровальную бумагу: при испарении растворителя на бумаге остается коричневое пятно. Если это пятно смочить водой и заморозить, положив на него немного истолченного сухого льда, то цвет его изменится на интенсивно синий.

Хингидрон является классическим примером вещества, в котором происходит слабый перенос заряда. Хинон служит хорошим акцептором, но гидрохинон — плохим донором (см. табл. 1), и поэтому спонтанный перенос электрона не имеет места. Орбиты очень плотно упакованных молекул хинона и гидрохинона перекрываются, и облучение светом заставляет электроны осциллировать между соседними молекулами, если световой вектор перемещает их в этом направлении. Ни синяя, ни красно-коричневая форма хингидрона не дают сигналов ЭПР. Как отмечалось выше, характер переноса заряда сильно зависит от расстояния между молекулами. Плоские бензольные кольца укладываются очень тесно, и при отсутствии обширных боковых цепей нет никаких стерических препятствий, которые могли бы воспрепятствовать близости компонентов комплекса.

Рибофлавин (ФМН) и серотонин

Общеизвестно, что ФМН имеет интенсивно желтый цвет, и в его растворах наблюдается сильная зеленая флуоресценция, переходящая при замораживании в оранжевую фосфоресценцию [83]. Серотонин (5-окситриптамин) — соединение, близко родственное триптофану. Оно бесцветно и не является «восстановительным агентом», так как не имеет двух стабильных состояний, которые соответствовали бы потере двух атомов водорода или двух электронов. Однако серотонин имеет сравнительно высоко расположенный занятый уровень ($k = 0,486$), и следует ожидать, что он будет служить хорошим одновалентным донором электронов, тогда как ФМН с его низко лежащим не-

заполненным уровнем ($k = 0,343$) является хорошим акцептором. Поэтому, если эти две молекулы удерживать в непосредственной близости друг к другу, то может произойти перенос заряда, причем электрон перейдет от индола к витамину. Опишем изменения цвета, происходящие при замораживании водного раствора, содержащего смесь ФМН и серотонина. Окраска раствора ФМН с концентрацией $5 \cdot 10^{-4}$ М и окраска этого раствора после добавления к нему эквивалентного количества серотонина почти одинаковы, хотя последняя смесь может оказаться несколько темнее. Замораживание раствора чистого ФМН само по себе не изменяет его цвета: образующийся при этом лед имеет интенсивно желтую окраску. Замороженная смесь растворов ФМН и серотонина имеет коричневую окраску, напоминающую окраску красного дерева [84, 85]. Если к такой замороженной смеси добавить 1% крепкой соляной кислоты, то она приобретает черный цвет. Мы наблюдаем, таким образом, очень резкие изменения цвета. Все они обратимы: после таяния все растворы приобретают свой первоначальный цвет. Замораживание усиливает реакцию, происходящую в слабой степени и при комнатной температуре, что можно обнаружить по заметному потемнению растворов ФМН при их смешивании с раствором серотонина более высокой концентрации.

Пользуясь методом Стрелера и Мак-Ги [86], можно промерить спектр поглощения замороженных растворов. В коричневом растворе обнаружен максимум поглощения близ 500 мμ. Особый интерес представляет сходство этой окраски с окраской свободного радикала ФМН. Этот радикал — руброфлавин, описанный Михаэлисом, стабилен только при сильно кислой реакции. Его легко получить восстановлением ФМН дитионитом в присутствии концентрированной соляной кислоты. Руброфлавин, получающийся при одновалентном восстановлении ФМН, был открыт четверть века назад Куном и Вагнер-Яуреггом [87]; затем его подробно изучал Михаэлис с сотрудниками [88—90] и Байнерт [91, 92]. В зависимости от рН максимум в его спектре поглощения варьирует от 475 до 570 мμ.

В частично восстановленных желтых ферментах Байнерт обнаружил сильное поглощение в области 500 мкм. Отсюда следует, что с большой вероятностью можно идентифицировать молекулярную структуру, ответственную за поглощение в наших нейтральных замороженных смесях, как структуру, близкую к свободным радикалам ФМН.

Поглощение, сходное с поглощением свободного радикала, можно наблюдать и при комнатной температуре в более концентрированных растворах чистого ФМН (без добавления донора). Поскольку ФМН является как хорошим акцептором, так и удельно-активным донором (для его высшей заполненной орбиты $k = 0,496$), можно ожидать переноса заряда от одной молекулы к другой в димерах ФМН*). Как отмечал Мэлликен, перенос возможен не только между различными молекулами, но и между тождественными, а Михаэлис и Граник [93], так же как и Байнерт [91], обнаружили димеризацию ФМН.

Хаас [94], Байнерт [91] и Эренберг и Людвиг [95] показали, что такие красные радикалы образуются также в связанных с ферментами ФМН и ФАД при воздействии метаболическими донорами водорода или восстановительными агентами. Коммонер с сотрудниками [6, 7] и Эренберг и Людвиг [95] установили, что при частичном восстановлении ФМН он дает сигнал ЭПР. Болл [96] отметил коричневую окраску ксантин-оксидазы, являющейся флавопротеидом.

Спектр замороженной при кислой реакции черной смеси ФМН — серотонин обнаруживает широкую полосу поглощения с максимумом в ближнем ультрафиолете и хвостом, занимающим всю видимую область. Эта полоса похожа на полосу поглощения радикала ФМН зеленого цвета, вердофлавина, описанного Михаэлисом. Дополнительный максимум поглощения лежит при 570 мкм, а его плечо — при 620 мкм. По-видимому, здесь имеет место наложение

*) Донорные свойства ФМН можно также обнаружить по изменению цвета, происходящему при замораживании растворов ФМН, содержащих некоторое количество I_2 . Молекулярный йод с его ненасыщенной электроотрицательностью служит хорошим акцептором. При замораживании этот раствор приобретает черную окраску.

различных спектров, возможно спектра ФМН⁻ и спектра ФМН⁻ с одним или двумя связанными протонами, на что указывают расчеты Карремана (личное сообщение). Возможно, что здесь имеет место и наложение спектра переноса заряда. Как бы то ни было, вряд ли можно сомневаться в том, что в данном случае происходит очень сильный перенос заряда, при котором переносится почти целый электрон. В замороженных смесях, содержащих эквивалентные количества ФМН и серотонина, полное отсутствие люминесценции указывает на то, что все имеющиеся молекулы ФМН участвуют в образовании комплекса с переносом заряда. Это происходит как в нейтральной, так и в кислой среде, причем переносится целый электрон.

Переносимый электрон может происходить либо из коллектива π -электронов серотонина, либо от неподеленной пары электронов атома азота; этот электрон также составляет часть π -коллектива молекулы серотонина*).

Предположение о том, что наблюдающиеся изменения окраски связаны с поглощением света образовавшимся ФМН⁻, а не со спектром переноса заряда, можно подтвердить опытами с замораживанием растворов ФМН в присутствии KI. Анион йодида является довольно хорошим донором электронов. Хотя его ионизационный потенциал сильно отличается от ионизационного потенциала индолов**), изменения цвета, наблюдаемые при замораживании этих растворов, оказываются такими же, как и при добавлении серотонина, потому что ответственная за поглощение молекулярная структура, ФМН⁻, в обоих случаях одинакова. Если бы в этих случаях спектры поглощения представляли собой спектры переноса заряда, а не спектры образующегося радикала, то при различных

*) Было установлено, что люминесценция триптофана частично исчезает в присутствии сильной кислоты [97]. Отсюда следует, что возбужденный электрон принадлежит неподеленной паре.

**) Электронное сродство атома равно ионизационному потенциалу его одновалентного иона. Электронное сродство атома I и, следовательно, ионизационный потенциал I⁻ равны 3,14 эв. Ионизационный потенциал индолов, вероятно, значительно выше.

донорах следовало бы ожидать заметных различий в поглощении. В случае комплексов с ФМН эти спектры практически не изменяются.

При изучении взаимодействия ФМН с серотонином нужно обратить внимание на одну особенность, а именно на большую интенсивность этого взаимодействия. Хотя серотонин является несколько лучшим донором, чем индол или некоторые его производные, например триптами, эта исключительно высокая реакционная способность характерна вообще для индолов. Ее никак нельзя объяснить энергией высшей заполненной молекулярной орбиты. По своему значению коэффициента k (0,534) индол — только «удовлетворительный» донор, а не хороший. Его спектры переноса заряда соответствуют именно указанному значению k (см. кривые Фуджимори на рис. 10). Однако эти кривые показывают, что в комплексе с броманилом индол дает второй пик поглощения при значительно меньшей частоте. По мнению ряда авторов [58, 59], такой двойной пик характерен для очень сильного переноса заряда, т. е. для взаимодействия сильных окислительного и восстановительного агентов. Однако даже и значение k , соответствующее этому второму пику поглощения (0,46), не может объяснить наблюдаемых сильных донорных свойств. По-видимому, существуют какие-то другие, пока еще неизвестные характеристики молекулы, обуславливающие ее исключительную реакционную способность. Из всего этого мы можем сделать только один общий вывод, а именно тот, что если природе понадобится какое-нибудь вещество для переноса электронов, то она сможет сообщить ему исключительные качества как переносчику электронов. Индол обладает такими качествами, и поэтому вероятно, что природа действительно создала его для осуществления данной функции. Это стоит отметить, так как среди производных индола мы встречаем очень активные и важные в физиологическом отношении вещества. В качестве примеров можно указать на растительный гормон индолуксусную кислоту и на серотонин; однако наиболее примечательным кажется мне тот факт, что

белки также имеют индольную боковую цепь, содержащуюся в их триптофанах. Это может когда-нибудь пролить свет на подлинное значение белков. Соблазнительно думать, что природа ввела эту аминокислоту в белковую молекулу, для того чтобы осуществлять с ее помощью реакции переноса заряда [98]*).

ФМН также имеет не слишком низкое значение k для своей нижней незанятой орбиты ($-0,344$), и его реакционная способность в качестве акцептора электрона больше, чем можно было бы ожидать по этому значению k . Таким образом, то, что было сказано об индоле, относится и к ФМН, относительно которого мы знаем, что природа создала его для того, чтобы он служил передатчиком электрона.

Если судить по значению k , то ФМН не является особенно хорошим донором (для его высшей заполненной орбиты $k=0,500$), но нужно помнить, что донором водорода при окислении является не ФМН, а ФМН⁻, имеющий электрон, захваченный с разрыхляющей орбиты; поэтому можно ожидать, что этот ион окажется особо хорошим донором. Как показали Б. и А. Пюльманы [24], коэффициент k для высшей заполненной орбиты ФМН-Н₂ имеет отрицательный знак. Это был первый случай, когда наблюдалась заполненная орбита разрыхляющего типа (см. табл. 1).

Другие донорно-акцепторные пары биологических веществ были описаны Чиленто и Джуги [99], а также Айзенбергом и автором [84]. Передачу электрона от серотонина к ДПН⁺ можно красиво продемонстрировать методом замораживания: при замерзании смесь принимает желтый цвет ДПН-Н. Фуджимори [100] изучал перенос заряда, пользуясь в качестве акцепторов птеридинами [101, 102]. Первым обратил внимание на возможную роль переноса заряда в функции ДПН и, стало быть, в биологическом окислении Козовер [14].

*) Миозин и актин, которые преобразуют химическую энергию в движение, богаты триптофаном, тогда как парамиозин, играющий пассивную роль и способный при кристаллизации осуществлять функцию запасаания, не содержит его. Хорошо кристаллизующийся тропомиозин, несущий, по-видимому, аналогичную функцию, также лишен триптофана.

Кортизон I_2

Взаимодействие гидрохинона и хинона является классическим примером π - π -взаимодействия. Во взаимодействии серотонина с ФМН, по всей вероятности, также принимают участие коллективы π -электронов этих веществ, хотя переносимый электрон может принадлежать неподеленной паре электронов атома N. В этих случаях плоский характер взаимодействующих молекул значительно облегчает образование комплекса, так как наличие двух плоских поверхностей обеспечивает возможность сближения молекул и свободное проявление сил притяжения, приводящих к тесному объединению молекул.

Мэлликен [48] указал, что комплексы с переносом заряда могут создаваться не только обширными плоскими системами сопряженных двойных связей с их коллективами π -электронов, но и локализованными донорами и акцепторами, т. е. атомами или небольшими группами атомов, служащими частью больших молекул. Неподеленные пары электронов атомов N или O могут служить локализованными «резервными («опиум») донорами. Миллер и Винне-Джонс [61] показали, что группы NH_2 также могут служить хорошими донорами.

Рид и Мэлликен [103] изучали перенос заряда между пиридинами и I_2 . Как они отмечают, растворы I_2 в различных растворителях могут иметь два различных цвета. В гомеополлярных растворителях, вроде хлороформа, раствор йода имеет фиолетовый цвет, т. е. такой же цвет, как и пары йода. Гетерополярные растворители, например спирты, дают растворы коричневого цвета, которые при большом разбавлении кажутся желтыми. Это различие окраски авторы приписывают переносу заряда, который смещает максимум полосы поглощения с 520 мк для фиолетового раствора к 410—370 мк. Растворы I_2 в пиридине также имеют желтый цвет; кроме того, и в них наблюдается «спектр переноса заряда» в ультрафиолете. Донором в этом случае служит неподелен-

ная пара атома N в пиридине. По Мэлликену и Риду в таком растворе сначала образуется «внешний комплекс», который затем переходит во «внутренний». В комплексах с кортизоном также может происходить перестройка подобного типа.

Как упоминалось выше, характер переноса заряда сильно зависит от расстояния между молекулами, и тесное сближение акцептора и донора служит *необходимым* условием, без которого этот процесс происходить не может. Легко видеть, что между двумя плоскими ароматическими структурами с параллельными плоскостями такая близость устанавливается очень легко, и условия для переноса заряда окажутся весьма благоприятными, если донором является система π -электронов одной молекулы, а акцептором — система π -электронов другой. Положение становится существенно иным при рассмотрении локализованного донора, как в случае пиридина, в котором атом N отдавал один из электронов своей неподеленной пары. В этом случае необходимое сближение двух молекул может осуществляться гораздо легче, если сам акцептор является маленькой молекулой, как, например, молекула I_2 , которая легко может занять нужное положение по отношению к атому N. Гораздо труднее осуществить перенос заряда между таким локализованным донором и системой π -электронов сложной молекулы.

Кетостероиды — это большие плоские молекулы с группами CO, в которых атом O с его неподеленной парой электронов может играть роль хорошего, строго локализованного донора. Поэтому, чтобы проверить, функционирует ли он действительно таким образом, мы должны выбрать в качестве акцептора маленькую молекулу, например молекулу йода. Вопрос заключается лишь в том, как свести друг с другом атом O и молекулу I_2 . Как I_2 , так и стероиды растворимы в хлороформе, но неполярные растворители не благоприятствуют сильному переносу заряда. Напротив, полярные растворители благоприятствуют этому процессу. Однако большинство полярных растворителей, вроде спиртов, в которых растворимы и стероиды

и I_2 , сами по себе являются довольно хорошими локализованными донорами электронов; можно опасаться поэтому, что такие растворители будут конкурировать со стероидами за молекулы I_2 , с которыми они сами образуют комплексы с переносом заряда. Вода — очень сильный полярный растворитель и очень плохой донор, и поэтому в принципе она подходила бы для наших целей, но в ней и стероиды и I_2 растворяются весьма плохо. Очевидно, здесь необходим какой-то искусственный прием. Можно, например, растворить стероиды и I_2 в хлороформе, нанести этот раствор на фильтровальную бумагу и дать хлороформу испариться. Можно ожидать, что при этом молекулы I_2 и стероида образуют комплекс. Затем можно смочить бумагу водой, подвергая таким образом комплекс воздействию желательного гетерополярного растворителя, и ожидать, что при этом произойдет перенос заряда, который проявится в изменении спектральных свойств.

Если растворить 0,01 M I_2 в хлороформе и добавить 0,01 M кортизона, то цвет раствора не изменится. Но если нанести раствор на фильтровальную бумагу (ватман 1) и дать хлороформу испариться, то на бумаге останется желтый комплекс (в отсутствие кортизона I_2 также испаряется, и бумага остается бесцветной).

Если теперь смочить бумагу водой, то желтый цвет осадка перейдет в глубокий синий. Окраска становится еще более интенсивной, если вместо воды погрузить бумагу в раствор Люголя*), разбавленный 25 объемами воды**).

При спектроскопическом исследовании обнаруживается широкая полоса поглощения с максимумом

*) Раствор Люголя — это раствор, в 100 мл которого содержится 5 г йода и 10 г KI. При разбавлении в 25 раз этот раствор сам окрашивает бумагу, но только в бледно-коричневый цвет.

**) Акридин, который сам является не только хорошим акцептором ($k = -0,343$), но и хорошим донором электронов ($k = +0,494$), дает в этих условиях такую же окраску,

при 740 мкм, где ни I_2 , ни кортизон поглощения не имеют. Эта полоса бесструктурна и смещена в длинноволновую сторону по отношению к полосам поглощения реагентов, т. е. имеет все признаки спектра переноса заряда. При добавлении смеси S Кендалла происходит аналогичное, хотя и более слабое изменение окраски. Окраска, приобретаемая смесью кортизон — йод, довольно неустойчива и исчезает через несколько минут. (Мэлликен отмечает, что многие комплексы с переносом заряда обладают сильной тенденцией вступать во вторичные реакции, переходя из «внешних» комплексов во «внутренние» или претерпевая необратимые изменения.) Добавление 10% метанола полностью подавляет развитие синей окраски (этот спирт является не очень плохим донором электронов).

Синяя окраска комплекса и наличие в его спектре поглощения полосы в длинноволновой области (на границе с инфракрасной) указывает на то, что для переноса электрона от кортизона к I_2 требуется небольшая энергия. Поэтому можно ожидать, что при наличии лучшего акцептора перенос заряда будет происходить и в основном состоянии.

Другие изученные кетостероиды дали при сходных условиях оранжевую окраску, которая более стабильна, чем синяя, получаемая с кортизоном. Образующиеся полосы поглощения также широки и лишены структуры. Максимум полосы для тестостерона лежит при 410 мкм, для дезоксикортикостерона — при 430 мкм, для Δ^5 -андростен-3,17-диона — при 420 мкм, для Δ^4 -андростен-3,17-диона — при 450 мкм и для прогестерона — при 405 мкм. Холестерин, стигмастерин, Δ^5 -андростен-3 β , 17 β -диол или эстрадиол, не имеющие групп CO, не обнаруживают таких изменений цвета. Эстрадиол, обладающий системой сопряженных двойных связей с коллективизированными π -электронами, образует с тринитробензолом комплекс с переносом заряда; это было показано Вильямс-Эшманом во время его визита в мою лабораторию.

Соединения, содержащие I_2 , можно получать в заметных количествах *).

Изменения окраски при образовании комплексов стероидов с I_2 были описаны 10 лет назад Цаффарони и его сотрудниками [104, 105], которые воспользовались этим эффектом для хроматографического обнаружения стероидов. В то время эти реакции демонстрировал мне д-р Гехтер.

Так как тогда я еще не знал о переносе заряда, то и не обратил внимания на описанные выше явления. Очевидно, воспоминание о них и привело меня снова к этим реакциям.

Хотя все сказанное выше еще не доказано окончательно, однако очень вероятно, что эти реакции стероидов с I_2 представляют собой реакции переноса заряда, указывающие на сильные донорные свойства кетостероидов. Опыты Талалэя, Вильямс-Эшмана и Хэрлока, к которым я вернусь ниже в гл. XII, действительно указывают, что стероиды могут действовать как доноры и акцепторы электронов, осуществляющие в присутствии соответствующих катализаторов перенос электронов между пиридиннуклеотидами.

VIII. Отдельные замечания

Вода

В моей книжке «Биоэнергетика» две главы были посвящены воде. В данной книге вода почти не упоминается. Это отнюдь не объясняется тем, что я изменил свои представления о роли структурированной воды, которая составляет, так сказать, половину жизненной машины, а не является просто средой или заполнителем пространства. Я по-прежнему убежден в том, что нельзя говорить о белках, нуклеиновых

*) Растворить 0,5% кортизона в горячей воде и затем добавить $1/20$ объема раствора Люголя. При охлаждении выделится синий йодный комплекс стероида, который можно отфильтровать, промыть небольшим количеством воды и высушить между листами фильтровальной бумаги.

кислотах или нуклеопротеидах и о воде так, как если бы это были две различные системы. Они образуют единую систему, которую нельзя разделить на компоненты без разрушения ее сущности. Я больше чем когда бы то ни было убежден в том, что половину сократительного аппарата мышцы составляет вода, а само сокращение есть нарушение ее структуры, индуцируемое актомиозином. Биология забыла о воде, подобно тому как может позабыть о ней глубоководная рыба. Если в настоящей книге вопрос о воде не рассматривается, то только потому, что автор не располагает новыми экспериментальными данными, хотя в этой области были достигнуты известные успехи и вместе с тем некоторые представления подверглись критике.

В моей прежней книге я говорил о «льде», образующемся вокруг различных молекул. Бернал (личное сообщение) справедливо возражал против термина «лед», который означает для кристаллографа нечто совершенно определенное. Быть может, лучше было бы говорить не о льде, а о структурированной воде или о воде с ограниченными степенями свободы. Тем не менее «лед» — это очень удобное и короткое слово. Быть может, именно поэтому оно применялось такими выдающимися исследователями, как Франк и Ивенс [106].

Говоря о прогрессе, достигнутом в изучении воды и ее связи с биологическими структурами, нельзя не упомянуть о работах Клотца [107—109]. Как показал Клотц, некоторые реакции белков можно объяснить, предполагая, что последние окружены прочно связанным с белком слоем воды, который оказывает сильное влияние на их доступность [107] и реакционную способность [108] и даже участвует в передаче энергии [109]. Данные Эйгена [110] о высокой протонной проводимости льда также можно связать с этими возможностями [111]. Последние работы Бернала [112, 113] показывают, что даже неупорядоченные жидкости имеют свою геометрию.

Для биологических процессов может иметь значение как присутствие воды, так и ее отсутствие. Грин

[20, 27] подчеркивает, что процесс окислительного фосфорилирования в митохондриях протекает в безводном, липидном матриксе. Этот безводный характер среды может влиять на течение процесса и на энергетические взаимоотношения. Б. Пюльман [5] показал, например, что свободная энергия гидролиза АТФ существенно зависит от диэлектрических свойств среды. Можно ожидать (это показал Айзенберг на конференции по возбужденным состояниям в Вудс-Холе в 1959 г.), что в безводной среде она будет значительно выше, чем в водной. Некоторые процессы, например перенос заряда, попросту не могут протекать в водной среде, подобно тому как свечи зажигания в наших автомобилях отказываются работать, если в них попадает влага.

В моей маленькой книге о биоэнергетике особое внимание уделялось возбужденным состояниям — как синглетным, так и триплетным. Я сделал это, полагая, что поскольку мы фактически не знаем, с чем мы имеем здесь дело, лучше рассмотреть все возможности. Как уже упоминалось выше (см. гл. IV), при процессах, не индуцированных фотонами, прямые переходы из основного состояния в возбужденное состояние в пределах одной молекулы представляются мало вероятными. Это заставило меня потерять веру в возбужденные состояния и уровни. Перенос заряда помог мне снова обрести ее.

И о н ы

Данные о донорно-акцепторных взаимоотношениях должны помочь нам лучше понять химическую активность ионов. Гофмейстер расположил различные ионы в так называемый «лиотропный ряд» в соответствии с их влиянием на коллоиды. Позже эта коллоидная активность была связана с такими параметрами, как ионный радиус, напряженность окружающего ионы электрического поля и степень гидратации. Для анионов лиотропный ряд обычно приводят в таком виде: цитрат > > тартрат > SO_4 > ацетат > ClO_3 > NO_3 > Br > > I > CNS. Для катионов: Li > Na > K > Rb > Cs.

На обоих концах этих рядов влияние ионов противоположно, и поэтому начальные члены ряда анионов называют «высаливающими», а конечные — «засаливающими». В моей собственной лаборатории мы часто пользовались этими свойствами, например преципитируя, или «высаливая», белки при помощи сульфатов или, наоборот, переводя актин в раствор и деполимеризуя его или диссоциируя актомиозин при помощи йодидов. Роданиды оказывали аналогичное действие. Можно задать себе вопрос, почему эти ионы вызывают «засаливание», т. е. растворяют, диссоциируют и т. п., и не проглядели ли мы здесь какие-то иные их параметры? Быть может, таким параметром служит их способность действовать в качестве доноров или акцепторов электронов. В пользу этого предположения говорит сопоставление значений ионизационных потенциалов и соответствующих донорных свойств анионов. Ионы CSN^- и I^- находятся на одном конце ряда и являются относительно хорошими донорами электронов. Ионы Br^- и $(\text{NO}_3)^-$ менее активны, но даже относительно иона $(\text{ClO}_3)^-$ известно, что он является неплохим донором [48]. Можно считать, что катионы служат акцепторами электронов, хотя их роль не столь велика и они в меньшей степени отличаются друг от друга, на что указывают значения их окислительных потенциалов, приведенные в табл. 2. По данным, представленным в этой таблице, наилучшим акцептором должен служить литий, натрий должен оказаться хуже калия, но разница между ними должна быть очень невелика. Тем не менее, изучая действие солей, мы должны помнить, что, по существу, в большинстве случаев мы изучаем не просто донорное действие аниона само по себе и не просто акцепторное действие катиона само по себе, а совместное действие обоих ионов. Так, например, растворяющее действие KI на белки может обуславливаться более сильной донорной активностью иона I^- , причем растворение белка указывает только на общий результат процессов отдачи и присоединения электрона и не означает, что катион вообще не оказывает никакого действия.

Таблица 2

Окислительные потенциалы некоторых элементов

Элемент	Окислительный потенциал, в	Элемент	Окислительный потенциал, в
Li	+3,045	F ₂	-2,85
Na	+2,714	Cl ₂	-1,36
K	+2,925	Br ₂	-1,066
Rb	+2,925	I ₂	-0,536
Cs	+2,923		

Нулевым окислительным потенциалом считается потенциал пары ионов водород-водород при единичной активности и 25° С. Для катионов, например для Li, реакция имеет вид $Li \rightarrow Li^+ + 1e$, для анионов, например для F, — вид $2F^- \rightarrow F_2 + 2e$. Приведенные в таблице данные заимствованы из справочника [155].

Донорную активность йодидов легко продемонстрировать, замораживая 10^{-3} М раствор ФМН в присутствии 10^{-2} — 10^{-3} М раствора KI. При замораживании*) эта смесь принимает коричневый цвет, что указывает на перенос заряда с образованием иона ФМН⁻. Если смесь замораживается в присутствии 1% HCl, то в конце концов через несколько часов она становится черной. Если позволить процессу идти достаточно долго и сохранять смесь на холоду в течение ночи, то даже при добавлении изомолярного раствора KI, т. е. раствора с концентрацией 10^{-3} М, раствор ФМН станет совершенно черным. Такая малая скорость характерна для многих реакций переноса заряда. При замораживании раствора ФМН его фосфоресценция полностью исчезает, что указывает на перенос целого электрона, т. е. на сильный перенос заряда в основном состоянии. При добавлении роданата калия (KSCN) раствор ФМН также становится коричневатым, но, по-видимому, роданат менее активен, чем йодат. Быть может, эта разница между ними

*) См. сноску на стр. 77.

обусловлена большими трудностями сближения молекул ФМН с ионами SCN⁻ и большей «приспособляемостью» ионов I⁻. Тот факт, что в действительности KSCN является лучшим донором, чем KI, можно доказать, пользуясь другим акцептором и замораживая 10^{-3} М раствор 1,2-нафтохинон-4-сульфата натрия в присутствии 0,1—0,01 М раствора KI или KSCN. Радикал нафтохинона имеет коричневую окраску и при замораживании растворы приобретают коричневый цвет. Пробирка с KSCN оказывается при этом темнее пробирки с KI, причем все реакции обратимы и при таянии замороженных растворов идут в обратном направлении.

Комплексы ФМН с переносом заряда расщепляются 0,1 М растворами нейтральных солей. Это происходит и со многими другими комплексами с переносом заряда. Такое диссоциирующее действие солей оставалось для меня в течение длительного времени загадочным, так как их гетерополярные свойства должны скорее содействовать переносу заряда, чем мешать ему. Однако, если анионы и катионы действуют как доноры и акцепторы электронов, то это диссоциирующее действие можно приписать конкуренции анионов и катионов соли за акцепторы или соответственно за доноры комплекса.

Метахромазия

Метахромазия — это очень интересное явление, которое, по всей вероятности, также связано с переносом заряда. По Эрлиху [114], под метахромазией понимают способность некоторых красителей окрашивать разные материалы в различные цвета. Это явление изучал ряд исследователей; наиболее интенсивно его изучали Михаэлис и Граник [115]. Они показали, что очень разбавленные растворы метахроматических красителей (с концентрацией, не превышающей 10^{-6} М) имеют резкие максимумы поглощения, даваемые мономерами. При увеличении концентрации возникает другой, более слабый пик поглощения при несколько меньших длинах волн. Обычно этот пик

приписывают димерам красителя [116, 117] (рис. 14). По мере увеличения концентрации красителя в растворе мономерный пик снижается, а димерный повышается. Последний все же остается ниже мономерного даже тогда, когда димеризация становится почти полной. При добавлении вещества, дающего метакро-матическое окрашивание, возникает еще более слабая

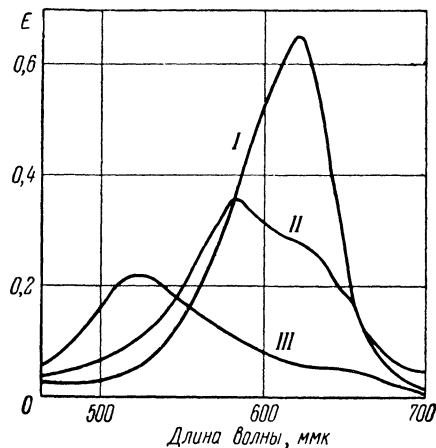


Рис. 14. Спектры поглощения толуидинового синего.

I — раствор толуидинового синего, концентрация 10^{-6} *M*, толщина слоя 10 *мм*; *II* — то же, концентрация 10^{-5} *M*, толщина слоя 1 *мм*; *III* — то же плюс эквивалентное количество полиэтиленсульфоната натрия.

и широкая бесструктурная полоса поглощения в области более коротких волн, а оба прежних пика — как мономерный, так и димерный — исчезают (см. рис. 14). Классическими метакро-матическими красителями являются толуидиновый синий, метиленовый синий и тионин.

Лизон [118, 119] заметил, что большинство природных веществ, обнаруживающих метакро-мазию, например агар-агар или хондронин, содержит группы SO_3 и что при исключении этих групп метакро-мазия исчезает. Очевидно, метакро-матическая окраска обусловлена взаимодействием групп SO_3 с красителем.

Так как при димеризации поглощение уменьшается, а полоса поглощения смещается в сторону более коротких волн, то естественно было считать, что метакро-мазия — дальнейший сдвиг поглощения в коротковолновую сторону и уменьшение самого поглощения — обусловлена дальнейшей ассоциацией красителя, происходящей под влиянием групп SO_3 окрашиваемого вещества. Теория, объясняющая метакро-мазию полимеризацией красителя, которую с известными оговорками предложил Михаэлис, была в последнее время пересмотрена Брэдли и Вольфом [120].

Природные вещества, обнаруживающие метакро-мазию, например агар-агар и хондронин, мало подходят для количественного изучения явления, так как их структура сложна и мало изучена. То же относится и к полифосфатам, полиметафосфатам и силикатам, которые также обнаруживают метакро-мазию. Я проводил исследования на полиэтилсульфате, являющемся для меня почти идеальным материалом. Он состоит из повторяющихся звеньев $\text{CH}_2\text{—CHSO}_3\text{Na}$, имеет молекулярный вес 12 900 и растворим в воде.

Если постепенно добавлять какой-либо метакро-матический краситель, например толуидиновый синий, к относительно концентрированному раствору полиэтилсульфата (10^{-2} *M* в расчете на единичное звено этилсульфата с молекулярным весом 134), то уже при введении в раствор первых минимальных количеств красителя, дающих видимое окрашивание или измеримый спектр поглощения, наблюдается метакро-мазия. Это простое наблюдение говорит против полимеризационной теории метакро-мазии, так как скорее можно было бы ожидать, что небольшое количество добавленных молекул красителя будет диспергироваться, а не агрегироваться, поскольку в данном случае на каждую макромолекулу приходится меньше одной молекулы красителя.

Энергетические уровни молекул трех классических метакро-матических красителей обладают одной особенностью, которой я не обнаружил у ряда красителей, изученных в сотрудничестве с Карреманом. У этих красителей значения коэффициента *k* как для

высшей занятой, так и для низшей свободной орбит очень малы (табл. 3). Поэтому энергетический промежуток между ними весьма мал и, следовательно,

Таблица 3
Значения коэффициента k для высшей
заполненной и низшей свободной орбит

Краситель	Значения коэффициента k	
	заполненная орбита	свободная орбита
Толуидиновый синий .	0,391	—0,359
Метиленовый синий . .	0,398	—0,354
Тионин	0,398	—0,354
Сульфат нильского голубого	0,591	—0,133

эти красители должны иметь синий цвет, которому соответствует поглощение в длинноволновой области и частично — в инфракрасной. Благодаря таким значениям коэффициента k красители оказываются хорошими донорами и вместе с тем хорошими акцепторами электронов. Отсюда следует, что они действительно должны быть способны образовывать комплексы с переносом заряда (причем одна молекула передает свой электрон другой), если тесно сблизить их, как это происходит, например, при замораживании их разбавленных водных растворов. В самом деле, при замораживании цвет всех трех красителей изменяется, переходя из «обычного» синего в пурпурный, характерный для метакромазии. Все это подтверждает, что метакроматическое окрашивание обусловлено образованием комплекса с переносом заряда*). По таблицам Мэлликена [48] группы SO_3

*) При этом не предполагается, что смещенная в результате метакромазии полоса поглощения красителя соответствует спектру переноса заряда. Вероятно, ее смещение аналогично сдвигу полосы поглощения йода в реакциях переноса заряда. В комплексах с переносом заряда, образуемых с алкалоидами или пиридином, спектр йода изобестически смещается от 520 к 410 мк, тогда как собственный спектр переноса заряда лежит в ультрафиолете.

являются «кетонидными» акцепторами, тогда как атомы О с их неподеленными парами электронов могут действовать как доноры.

Если на каждую группу SO_3 приходится одна молекула толуидинового синего, то образуется метакроматический комплекс, который выпадает в осадок. При добавлении избытка коллоида (в отношении 2:1) комплекс остается в растворе. Если на каждую группу SO_3 приходится больше одной молекулы красителя, то в осадок выпадает метакроматический комплекс состава 1:1, а избыток красителя остается в растворе, сообщая ему темно-синий цвет.

Три обстоятельства придают явлению метакромазии особый интерес. Лизон [118, 119] заметил, что группы SO_3 обуславливают метакромазию только в том случае, когда они связаны с макромолекулой. В низкомолекулярных сульфосоединениях метакромазия не наблюдается. Я могу полностью подтвердить это наблюдение. Три использованных мною препарата полиэтилсульфата с молекулярными весами 6000, 12 900 и 27 000 реагировали одинаково сильно. Однако, когда мы начали работать с веществами с молекулярным весом, меньшим 5000, беря другие большие молекулы, например молекулы гепарина или хондроитинсерной кислоты, то метакромазия стала слабее. По-видимому, критическое значение молекулярного веса лежит около 5000. Создается впечатление, что размеры молекулы играют какую-то роль в процессе переноса заряда и еще большую роль в биологических реакциях, но какую именно, я сказать не могу. Критическое значение молекулярного веса, равное 5000, кажется мне особенно интересным, так как, судя по моим опытам с миозином, это наименьший размер единиц, из которых построен белок.

Указание на такую связь метакромазии с молекулярным весом несколько напоминает данные, показывающие, что массивность реагирующих молекул благоприятствует переносу заряда [58].

Другое обстоятельство, представляющееся мне очень интересным, связано с наблюдением Струггера [121], согласно которому живые ткани окрашиваются

акридиновым оранжевым в зеленый цвет, а мертвые — в красный. По моим данным, ситуация далеко не так проста. Тем не менее метахроматическое окрашивание может помочь изучению донорных и акцепторных свойств живых тканей, а живое или мертвое состояние тканей может оказаться очень тесно связанным с этими свойствами.

Надхрящница и синовиальные оболочки богаты группами SO_3 , и представляется очень интересным выяснить, какова функция этих групп. Два антималярийных агента, атебрин и хлорохин, служат хорошими донорами электронов и, как было показано, смягчают симптомы артрита. Эти симптомы смягчает и кортизон, тоже служащий донором электронов. Подобная связь может подсказать новые идеи об этом заболевании, поражающем множество людей.

Третье обстоятельство, придающее явлению метахромазии большой интерес в моих глазах, заключается в том, что это явление может помочь выяснить природу активности ионов. Опыты Каминера*) показали, что соли, содержащие два последних аниона, находящихся на «засаливающем» конце ряда Гофмейстера, придают метахроматические свойства всем трем упоминавшимся выше красителям. Это подтверждает правильность обоих предположений: того, что эффект «засаливания» связан с отдачей электронов, и того, что метахромазия связана с переносом заряда. Сопоставление красителей дает дальнейшие подтверждения этим положениям. Как указывают значения коэффициента k , приведенные в табл. 3, сульфат нильского голубого служит лучшим акцептором электронов, чем три другие. Соответственно мы можем ожидать его большей чувствительности к действию анионов, что и подтверждается опытом.

Тот факт, что сульфат нильского голубого обнаруживает метахромазию при взаимодействии с нитратами, бромидами, йодидами и роданидами, становится особенно интересным в свете наблюдений [122], показавших, что эти четыре аниона могут увеличивать максимальное напряжение мышцы при поддер-

*) Неопубликованные данные.

живании, воздействуя на мембраны. Представляется вероятным, что такое их действие связано с донорными свойствами перечисленных выше анионов, а это может открыть путь к установлению более тесных корреляций между биологической функцией и переносом заряда, а также к пониманию активности ионов и механизма действия лекарственных веществ.

Кажущаяся неактивность соли, например KCl , не обязательно означает, что ионы этой соли не могут служить донорами или акцепторами электронов. Она может означать только, что активности обоих ионов взаимно компенсируют друг друга. Поэтому даже ионы соли, которая кажется неактивной, могут обеспечивать проводимость свободных или заполненных энергетических зон путем отдачи или присоединения электронов.

ЧАСТЬ II

ПРОБЛЕМЫ И ПОДХОДЫ

IX. О механизме действия лекарственных средств

В намерения автора не входит попытка дать решение нерешенных проблем, рассматриваемых в этой части книги. Он надеется только показать, что часть этих проблем можно увидеть в новом свете, если рассматривать их с позиций субмолекулярной биологии, подсказывающей новые гипотетические объяснения, которые могут вести к полезному экспериментированию.

В качестве первого примера я хотел бы остановиться на вопросе о механизме действия лекарственных веществ. Действие небольшого числа таких веществ нашло свое объяснение в явлениях конкурентного подавления. Подобно тому как поддельный ключ может входить в замок, не будучи в состоянии отомкнуть его, так и лекарственное вещество может связываться в некотором биологически важном месте и заменять здесь то или иное природное вещество, не будучи способным выполнять его биологическую функцию. Было показано, что некоторые биологически активные вещества действуют, блокируя некоторые важные атомные группировки, например группы SH. Несмотря на эти успехи, механизм действия большинства лекарственных веществ остается невыясненным. Это относится, например, к большинству алкалоидов, а также к гормонам — лекарствам, которые бесплатно производит наш собственный организм.

Действие лекарственных средств представляет очень широкое поле для исследований, и наш подход к этому вопросу может быть лишь очень ограничен-

ным. Мы можем, например, задать себе вопрос, нет ли связи между переносом заряда и действием лекарственных средств, поскольку некоторые из них могут служить донорами или акцепторами электронов. Трудно предсказать биологический эффект такого переноса заряда, так как действие этих веществ зависит не только от того, отдают ли они электроны или захватывают их, но и от места их воздействия. Например, клеточные мембраны, управляющие многочисленными функциями клетки, большей частью несут отрицательный заряд на внутренней своей стороне и положительный — на внешней. Поэтому электроны, отдаваемые на внутренней поверхности мембраны, увеличивают заряд, что ведет к гиперполяризации и вместе с тем к торможению, тогда как электроны, отдаваемые на внешней ее стороне, уменьшают потенциал и, вероятно, вызывают возбуждение. Обратные соотношения будут иметь место для электронных акцепторов. Мы должны быть готовы встретиться здесь с парадоксальными результатами. Пусть некоторое биологическое вещество действует, отдавая электроны. Какое-либо лекарственное средство, действующее как донор электронов, может конкурировать с природным веществом за акцепторы. Влияя таким образом на нормальный ход передачи электронов, это средство может производить эффект, соответствующий подавлению отдачи электронов, хотя само по себе оно является их донором. Несмотря на все эти неясности, мы можем ожидать выполнения одной вполне определенной закономерности. Если некоторое вещество осуществляет свои биологические функции в результате присоединения или отдачи электронов, то оно должно обладать исключительными донорными или акцепторными свойствами.

Указания на то, что акцепторно-донорные свойства могут лежать в основе фармакологического действия ряда веществ, были приведены выше. Было показано, что индолы служат исключительно хорошими донорами, а индольное кольцо встречается у целого ряда биологически активных веществ (серотонин, лизергиновая кислота, буфонтин, индолуксусная кислота).

Еще раньше [123] была сделана попытка связать определенные фармакологические действия, например способность вызывать конвульсии, с отдачей электронов. Предположение, согласно которому индолы, вступая в биологические реакции, действуют как доноры электронов, подтверждается тем, что группа ОН, вводимая в молекулу серотонина в положении 5, в равной мере усиливает и фармакологическую активность и донорную способность этого вещества. Серотонин — один из сильнейших доноров из всех тех, с которыми мне приходилось иметь дело, хотя значение коэффициента k для его высшей занятой орбиты лишь немногим ниже, чем у индола (0,461). Существуют, стало быть, еще какие-то сейчас нам неизвестные молекулярные параметры, оказывающие сильное влияние на донорно-акцепторные свойства молекулы. О возможной роли процесса переноса заряда в фармакологической активности, свидетельствует также тот факт, что различные алкалоиды, например хинин, никотин, атропин, физостигмин, морфин, стрихнин, аконитин и т. д., являются хорошими донорами по отношению к йоду в безводных растворах*); хорошим донором по отношению к йоду служат и кетостероиды, тогда как эстрогены (см. выше) оказываются донорами по отношению к тринитробензолу. Дополнительные доказательства возможной фармакологической роли акцепторно-донорных свойств были приведены в работе [100], в которой было показано, что чем сильнее антиметаболическое действие производных птеридинов по отношению к фолиевой кислоте, тем лучшими акцепторами по отношению к триптофану они являются.

В качестве еще одного примера укажем на нитрофенолы, в первую очередь на 2,4-динитрофенол и га-

лоидфенолы. Известно, что динитрофенол существенно нарушает сопряжение в окислительном фосфорилировании — одном из наиболее загадочных процессов современной биохимии. Ненасыщенная электроотрицательность нитрогрупп делает полинитрофенолы в целом очень хорошими акцепторами электронов. Можно думать, что они захватывают высокоэнергетические электроны, которые должны попасть в «черный ящик» (см. стр. 32), образуя комплексы с переносом заряда с соответствующими донорами. То же относится и к галоидфенолам, сильное влияние которых на фосфорилирование было обнаружено уже довольно давно [124—126]. Их действие менее специфично, чем действие динитрофенола [127]. Следует также напомнить, что один из очень важных регуляторов клеточного дыхания, гормон тироксин, также является галоидфенолом, содержащим наиболее электроотрицательный галоид йод. Тироксин разобщает окислительное фосфорилирование, и его активность развивается очень медленно (примерно 48 час.). Такая резкая замедленность реакции характерна для многих процессов переноса заряда. Один из примеров этого — очень медленное образование комплексов между родамином В и дихлорфенолом — изучил Стил*). Нитросоединения способствуют также переходу притянутого электрона в триплетное состояние [53]. Можно ожидать, что такое же действие будет производить и тироксин с его очень тяжелым атомом йода.

В своих рассуждениях Каминер**) шел другим путем. После денервации гладкой мышцы proboscis морского червя *Phascolosoma* не наблюдаются спонтанные ритмические сокращения. Серотонин, донор электронов, не активен в этом отношении. Но если препарат сначала обработать хорошими акцепторами, то серотонин вызовет ритмические сокращения. Та же

*) Максимум спектра поглощения раствора I_2 (в хлороформе) в присутствии этих алкалоидов смещается от 520 к 400 мμ с сохранением изобестической точки, причем одновременно в ультрафиолете возникает широкая полоса переноса заряда. В присутствии никотина спектр переноса заряда развивается медленно, в течение примерно 1 часа. Такая малая скорость реакции характерна для многих процессов переноса заряда.

*) См. замечание о подавлении потребления кислорода дихлорфеноксиуксусной кислотой (А. Сент-Дьердьи, Биоэнергетика, Физматгиз, 1960, стр. 59); см. там же, стр. 133.

**) Неопубликованные данные.

картина наблюдается и при обратной последовательности операции; после обработки серотонином акцепторы вызывают ритмические сокращения.

Очевидный путь для получения дополнительных данных о связи между переносом электронов и фармакологической активностью заключается в том, чтобы выбирать лекарства с резко выраженной фармакологической активностью и затем выяснять, не

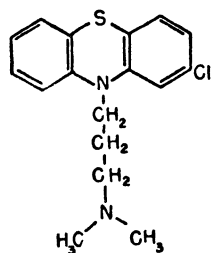


Рис. 15. Структурная формула хлорпромазина.

обладают ли они также и резко выраженными свойствами как доноры или акцепторы электронов. Если резко выраженная биологическая активность данного лекарственного препарата обусловлена переносом электронов, то можно ожидать, что этот препарат будет служить также исключительно хорошим донором или акцептором электронов.

Лекарственным препаратом с уникальной биологической активностью является успокаивающее средство хлорпромазин (рис. 15), широко применяющееся при лечении шизофрении. После его введения освободилось большое число коек в психиатрических больницах, так как из всех психических болезней шизофрения в этих больницах всегда встречалась чаще всего. Имея это в виду, Карреман и др. [128] вычислили значения коэффициента k для хлорпромазина и нашли, что для высшей занятой орбиты оно меньше нуля, т. е. имеет отрицательный знак ($-0,217$), что указывает на разрыхляющий характер этой орбиты. Такие же значения были получены ранее Б. и А. Пюльманами для лейкоформы метиленового синего и для восстановленного рибофлавина, но оба эти вещества нестабильны; в них происходит быстрый процесс автоокисления, сопровождающийся потерей двух электронов. Хлорпромазин — первое вещество, у которого в нормальном, стабильном, состоянии высшая занятая орбита является разрыхляющей. Можно ожидать, что оно окажется исключительно хорошим одновалентным доно-

ром электронов, способным образовывать стабильные комплексы с переносом заряда. Образованию комплексов способствует как плоскостной характер обширной системы сопряженных связей с ее коллективом π -электронов, так и наличие неподеленных пар электронов у атомов N и S .

Эти представления могут стать исходным пунктом для размышлений в разных направлениях. Если действие хлорпромазина связано с его способностью служить донором электронов, а эту способность можно заранее вычислить, то, вероятно, расчет позволит найти новые и еще более могущественные лекарственные средства, являющиеся еще лучшими донорами и оказывающими еще более благоприятное действие, чем хлорпромазин. Далее, если отдача электронов может смягчать симптомы шизофрении, то, быть может, недостаток электронов играет какую-то роль в ее возникновении. А если это так, то возникает новый вопрос: чем вызван недостаток электронов? Если подобное нарушение можно в некоторой степени скоррегировать отдачей электронов, то не вызвано ли само нарушение наличием акцепторов электронов? В этой связи особенно интересно отметить, что Б. Пюльман и Перо [3] нашли, что гематопорфирины служат одновременно хорошими донорами и хорошими акцепторами электронов; кроме того, они показали, что продукт метаболизма протопорфиринов, биливердин, является исключительно хорошим акцептором электронов. Это вещество представляет собой в известном смысле антагониста хлорпромазина, так как коэффициент k для его низшей свободной орбиты имеет положительное значение ($0,021$), т. е. орбита является связывающей. Насколько я знаю, это первое вещество, имеющее такое значение k . Еще один продукт метаболизма, уробилин, сохраняет сильные донорные свойства. Особый интерес этим данным придает то обстоятельство, что в нашем организме ежедневно расщепляется и синтезируется большое количество гема. Клювер [129—132] еще много лет назад обращал внимание на тесную связь между содержанием гематопорфирина и психическими заболеваниями.

Было показано, что у новорожденных гипербилирубинемия часто сопровождается тяжелыми анатомическими повреждениями мозга. Билирубин подавляет продуцирование гемов [133] и, подобно некоторым другим акцепторам электронов, тормозит также окислительное фосфорилирование [134]. Если шизофрения обусловлена наличием в крови сильного акцептора электронов, то, быть может, его можно инактивировать сильным донором (с которым этот акцептор образует комплекс с переносом заряда), что освободит больного от всех его страданий. Я предлагаю здесь новую теорию шизофрении. Я пытаюсь лишь показать, что квантовая механика может подсказать новые подходы к важным проблемам, которые уже так давно зашли в тупик. Приведенные примеры показывают также, что расстояние между этими абстрактными квантовомеханическими расчетами и постелью больного может оказаться не столь большим, как это обычно считают. Исходя из таких положений, мы, быть может, в один прекрасный день придем к убеждению, что шизофрения со всеми ее загадочными психическими отклонениями от нормы представляет собой лишь побочное следствие какого-то безобидного само по себе нарушения обмена, которое, будучи распознано, вероятно, легко может быть исправлено.

Х. Об аденозинтрифосфате

Аденозинтрифосфат (АТФ) — это основное «топливо» жизни, образующееся в процессах фотосинтеза и окислительного фосфорилирования. В обоих случаях он создается электрическим током, т. е. за счет энергии, освобождаемой «катящимся вниз» электроном. Здесь естественно возникает вопрос: не трансформируется ли снова энергия макроэргических связей этого соединения в конечном итоге в электрический ток в тех процессах, в которых АТФ должен управлять жизнедеятельностью и производить работу ψ . Я уже говорил раньше, что я могу понять преобразование химической энергии в ψ , только допустив на-

личие того или иного способа превращения химического потенциала в электронную энергию.

Преобразование чего-либо требует преобразователя. Рассматривая структуру молекулы АТФ (рис. 16), мы можем спросить себя, не является ли таким преобразователем адениновая группа этой молекулы. Для чего природа связала эту группу с фосфатной цепью, если ей нужна только энергия макроэргических связей? Ведь пиродифосфаты или неорганические трифосфаты столь же пригодны для этой

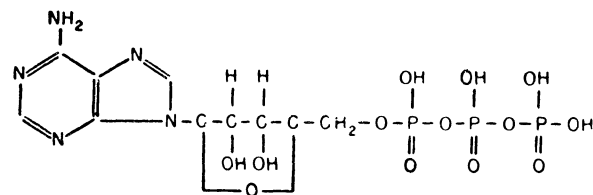


Рис. 16. Структурная формула аденозинтрифосфата (АТФ).

цели! Как показано в моей предыдущей книжке (см. «Биоэнергетика», стр. 87), фосфатная цепь и аденин связаны друг с другом пентозой таким образом, что первая может складываться и принимать конфигурацию, при которой две концевые фосфатные группы находятся в непосредственной близости от двух атомов азота в положениях 6 и 7 и образуют с ними четырехзубое хелатное соединение, используя Mg в качестве соединительного звена. Это положение получило некоторое, хотя и не окончательное подтверждение в исследованиях инфракрасного поглощения [135]. Фосфаты могут также накладываться на аденин так, что их плоскости оказываются параллельными плоскости аденина. В этом случае с кольцом будут соприкасаться две концевые фосфатные группы, но не третья. Такое складывание может происходить в пентозе, и поэтому в данном случае не должно наступать складывание фосфатной цепи, которому противодействовали бы отрицательные заряды этой цепи и которое мешало бы тесному контакту с пурином.

Аденин служит хорошим донором, а атом Р имеет незаполненные d-орбиты, что может сделать его акцептором *). Таким образом, возможно, что в молекуле АТФ электрон передается к фосфату от аденина; этот электрон может происходить либо от коллектива π -электронов аденина, либо из неподеленной пары одного из его атомов азота **). Вращательная дисперсия АТФ также указывает на то, что эта молекула сложена определенным образом.

Над этими обстоятельствами стоит подумать, так как то же сочетание: аденин — пентоза — фосфат — мы встречаем почти во всех важных биологических катализаторах процессов получения или передачи энергии, а именно в ДПН, ТПН, ФАД и коферменте А. Первые три из указанных веществ имеют сходное строение и на другой стороне фосфатной цепи, где последовательность такова: пиридин — пентоза — пирогосфат — пентоза — аденин или: изоаллоксазин — пентоза — пирогосфат — пентоза — аденин. Следовательно, не только аденин может перегибаться к фосфатам, но и пиридин или изоаллоксазин. Таким образом, фосфаты, находящиеся как в сэндвиче между аденином и пиридином или соответственно между аденином и изоаллоксазином, могут осуществлять перенос электрона между этими двумя циклическими

*) Можно указать причины, в силу которых природа предназначила атому фосфора центральную роль. Элементы в левой части периодической таблицы Менделеева являются металлами и стремятся отдавать электроны, а не присоединять их к себе. Элементы, находящиеся в средней части таблицы, С и Si, не обладают специфическим электронным сродством, тогда как элементы, расположенные справа от фосфора, обладают слишком большим электронным сродством, и поэтому не могут служить обратимыми передатчиками электронов. Из элементов, принадлежащих к тому же столбцу таблицы, что и Р, азот не пригоден для этой цели, поскольку у него нет свободных d-орбит. Следующий, более тяжелый элемент, As, по-видимому, несовместим с жизнью по другим причинам. Таким образом, фосфор является единственным элементом, который может играть роль обратимого передатчика электронов. Я благодарю д-ра Кальвина за идеи и дискуссии в этом направлении.

**) Явление метакромазии у полифосфатов подтверждает предположение о том, что они служат хорошими акцепторами электронов.

структурами, расположенными по обеим сторонам от него. Действительно, Вебер обнаружил сильное взаимодействие между аденином и изоаллоксазином [136] и аденином и пиридином [137]. В коферменте А нет пентозы между фосфатами и пантотеновой кислотой, но последняя имеет достаточно связей со свободным вращением, чтобы она могла накладываться на фосфат. Стоит также отметить, что три- и дифосфаты могут, сгибаясь, так налагаться на аденин, чтобы обеспечивалось достаточное перекрывание и перенос заряда. Нетрудно показать на атомной модели, что для монофосфатов это невозможно. Все упомянутые катализаторы содержат три- или дифосфаты (пирогосфаты), но не монофосфаты.

Перенос заряда включает в себя разделение пары электронов и, следовательно, в какой-то мере эквивалентен возникновению электрического тока, создающего положительно и отрицательно заряженные молекулы. Мы можем теперь дать свободу фантазии и спросить себя, не может ли перенос зарядов помочь нам объяснить функцию этих нуклеотидов. Рассмотрим сначала процесс синтеза АТФ и АДФ и Ф при фотосинтезе. А. и Б. Пюльманы [4] недавно показали, что почти во всех без исключения случаях два атома, разъединяемые при ферментативном гидролизе, несут положительный формальный заряд. Это верно и для Р—О связей в АТФ. Можно ожидать, что в силу взаимного кулоновского отталкивания эти заряды predisполагают «биположительную связь» к гидролитическому расщеплению. Однако в этом случае они должны также противодействовать образованию такой связи. Поэтому электрон, переносимый на атом Ф в процессе переноса заряда, должен превращать отталкивание в притяжение, способствующее синтезу. Пустое место в аденине может заполняться электроном из окислительного цикла; при этом электрон, переданный фосфатной цепи, освобождается от электростатической связи.

Чтобы рассмотреть обратный процесс, т. е. разрыв Р—О—Р связи и преобразование ее энергии в электрический ток, возьмем в качестве примера процесс

мышечного сокращения, в котором энергия макроэргической связи трансформируется в движение (механическая работа). Начнем с молекулы АТФ, в которой электрон был перенесен от аденина к фосфатной цепи *). В результате такого переноса аденин становится хорошим акцептором, а фосфат — хорошим донором. Давая свободу своему воображению, мы можем предположить, что аденин захватывает электрон от миозина, а фосфат отдает электрон актину. Это приводит к значительному удалению друг от друга положительных и отрицательных зарядов. Представим себе теперь, что мы зажали молекулу миозина между двумя пальцами правой руки, а молекулу актина (на противоположном конце) — между двумя пальцами левой руки и начали растягивать образовавшуюся цепь. Если мы будем делать это медленно, то можно ожидать, что перенесенный электрон соскользнет обратно в свое исходное положение. Если же мы будем растягивать цепь настолько быстро, что электрон не успеет соскользнуть обратно, то нам придется затратить работу на преодоление кулоновского притяжения между положительными и отрицательными зарядами. Только в одном случае мы сможем растягивать этот комплекс без сопротивления — если мы предварительно запасем в растягиваемых связях достаточное количество свободной энергии, чтобы «оплатить» этот процесс. Тогда цепь удастся разорвать без затраты внешней энергии. В связи $P-O-P$ действительно запасено около 10 ккал энергии, и поэтому ее можно легко разорвать и, таким образом, разделить положительные и отрицательные заряды в актине и миозине, создавая электрический потенциал, или ток. Не составляет труда построить теорию, объясняющую, каким образом такой ток может вызывать сокращение.

Мне кажется, что здесь содержатся черты чрезвычайно соблазнительной схемы. Быть может, создавая

*) Благодаря наличию неподеленных электронов у атомов кислорода фосфатную цепь можно считать сопряженной с подвижными π -электронами.

АТФ, природа видела в нем вещество, способное присоединять электроны на одном конце и отдавать их на другом, причем в концевой макроэргической связи аккумулировано достаточное количество энергии, чтобы гидролитический фермент мог расщеплять эту связь, локализуя положительные и отрицательные заряды в сократительном белке и преобразуя химическую энергию в электрический ток *).

Я отдаю себе отчет в том, что все это пока спекуляция, еще не подтвержденная экспериментальными данными. Тем не менее именно такая спекуляция позволила мне впервые после двадцатилетнего изучения мышцы, составить себе понятную картину того, каким образом АТФ может управлять мышцей. Это наиболее фундаментальная проблема, близкая к вопросу о сущности жизни.

Можно надеяться, что метод ЭПР позволит получить ответ на сформулированные выше вопросы. Нельзя предсказать, приведет ли перенос заряда между аденином и фосфатом к появлению сигнала ЭПР, так как это зависит от того, насколько несвязанными окажутся два электрона. Все же нет никаких оснований возражать против того, чтобы поместить АТФ в прибор для исследования ЭПР. Это было сделано Айзенбергом и др. [147] с помощью д-ра Калльмана из Нью-Йоркского университета, который любезно предложил свою установку. Был получен сигнал, состоящий из широкой полосы, простирающейся на несколько сот гауссов, и нескольких вторичных более слабых пиков. После этого лаборатория автора стала счастливым обладателем собственного прибора для изучения ЭПР. Пользуясь им, мы занялись более подробным исследованием АТФ и

*) Быть может, и в других случаях природа использует те же приемы, что и при осуществлении этой гипотетической функции АТФ в мышце. Так, например, в процессе зрения фотон, поглощенный ретином, может осуществлять перенос заряда к опсину. *Цис-транс*-изомеризация, наступающая после фотохимического акта, расщепляет связь между пигментом и белком или, по крайней мере, оказывает влияние на наложение волновых функций, что приводит к захвату перенесенного на белок электрона и, следовательно, к возбуждению [138—140].

испытали при этом все трудности, связанные с применением метода ЭПР. Мы надеемся в ближайшем будущем установить, в какой мере наблюдаемые спектры являются артефактом или обусловлены загрязнениями и в какой мере они действительно вызваны электронными изменениями в самой молекуле АТФ и дают информацию о природе и функции этой молекулы.

XI. О химии тимуса

Исследование редко направляется логикой; оно большей частью руководится намеками, догадками и интуицией. Тем не менее, когда мы уже пришли к чему-то и излагаем наши результаты, нам хочется

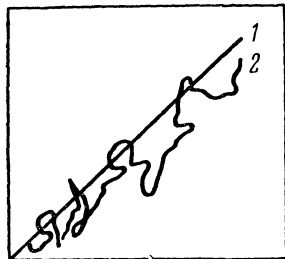


Рис. 17. Графическое представление желаемого (1) и фактического (2) хода исследований.

представить их в логической последовательности. Если бы мы собирались изобразить ход нашей работы графически, то нам хотелось бы изобразить его в виде прямой линии на рис. 17, где *A* следует за *B*, *B* следует за *C* и т. д. Действительная же кривая окажется больше похожей на кривую 2. По крайней мере, таков был ход моих исследований тимуса, или зобной железы.

В моей книжке «Биоэнергетика» я занялся зобной железой без всяких обязательных причин к тому и пытался показать, как логично мои представления о ней укладываются в мою общую концепцию, хотя, строго говоря, только несколько большая интенсивность желтой окраски экстрактов из этой железы (чем можно было бы ожидать по содержанию в них ФМН) намекала на какое-то участие тимуса в процессах передачи энергии. Я мог лишь догадываться, что миотония обусловлена плохой энергизацией мембран и что ответственно за это отсутствие «тимусного вещества». Сколь бы рыхлыми ни были мои рассуждения, я все же смог показать,

что экстракты из тимуса излечивают миотонию у коз. Как известно, 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота вызывает у животных симптомы миотонии. Это может обуславливаться тем, что она образует комплексы с гипотетическим «тимусным веществом». Такие соображения помогли мне показать, что активный агент, излечивающий моих коз, можно извлекать из водных экстрактов тимуса 2,4-дихлорфенолом.

Я и теперь не в состоянии установить, что представляет собой этот активный агент, или решить вопрос о том, является ли он специфическим продуктом тимуса. Я возвращаюсь к этой железе по двум причинам. В «Биоэнергетике» история осталась неоконченной. Хотя я по-прежнему не в состоянии закончить ее, я чувствую себя обязанным сообщить моим читателям, что я все еще пытаюсь закончить ее. Вторая причина лежит в том, что мои наблюдения позволили обнаружить второе вещество, антагонистическое по отношению к первому. Нет ничего невозможного в том, что между этими двумя веществами существует некоторое, весьма важное для биологических процессов равновесие, связанное с акцепторно-донорными соотношениями. Таким образом, если моя работа и не прояснила физиологию тимуса, то она по крайней мере служит примером того, как при поисках одних вещей находят другие.

Справедливость требует отметить, что это отнюдь не моя личная работа, а коллективная работа, выполненная в сотрудничестве с Джейн Мак-Лафлин и продолжающаяся сейчас в сотрудничестве с д-ром Эндрью Хеджели, причем опыты на животных проводятся д-ром Хеддой Рев.

Трудности выделения в чистом виде активного вещества связаны с тем, что мы не имеем для него подходящего биологического теста*). В поисках такого теста мы проверяли также влияние этого активного вещества на злокачественный рост. Наши

*) Козы с миотонией — это очень неудовлетворительный тест-объект.

экстракты, по-видимому, замедляли или прекращали его.

Я не буду входить в дискуссию о трудностях, связанных с использованием злокачественных опухолей в качестве тест-объекта. В конце концов мы устранили эти трудности, используя одно и то же животное и в опыте и в контроле и измеряя скорость роста опухоли как под влиянием экстракта, так и после его введения. Было показано, что отклонения от логарифмической зависимости для роста служат достаточно надежным показателем активности.

Располагая этим тестом, мы начали выделение активного вещества. Вначале дело шло хорошо. Затем все перепуталось и активность уменьшалась или совсем утрачивалась в тех случаях, когда она должна была бы увеличиваться. В конце концов эту загадку удалось решить, показав, что наши экстракты содержат два активных вещества, одно из которых стимулирует злокачественный рост, а другое — подавляет его, и, следовательно, результаты зависят от равновесия между ними. Все знают, что при двух неизвестных переменных результаты оказываются запутанными.

Мы продолжаем интенсивно разрабатывать эту проблему и надеемся, что в следующем издании настоящей книжки (если таковое последует) нам удастся привести химические формулы обоих активных агентов.

XII. Живое состояние

Эта проблема, на мой взгляд, является самой интригующей и столь же трудной, сколь трудно определить саму жизнь. Хотя мы и не можем определить, что такое жизнь, мы познаем жизнь по ее противоположности — смерти и умеем отличать живую кошку от мертвой, т. е. умеем различать два основных состояния биологической системы. Проблема, быть может, не столь трудна, как это кажется, потому что мы можем, пользуясь простыми экспериментальными средствами, осуществлять переход из одного состояния в другое, по крайней мере «в одном направлении». Чтобы продолжить наш пример с кошкой, мы

можем, например, погасить на один момент ее сознание, зажав ей сонную артерию, т. е. прекратив доступ кислорода к ее мозгу. Поскольку сознание является основным результатом деятельности мозга, это означает прекращение его биологической активности. Здесь можно возразить, что это еще не смерть и само изменение обратимо. Однако такая обратимость имеет очень узкие пределы. Если мы зажмем артерию на несколько минут, то изменение станет необратимым. Отсюда следует, что живая система находилась в метастабильном состоянии, требующем для своего поддержания постоянного притока энергии, причем полупериод живого состояния измеряется минутами. Несомненно, аналогичные изменения легко произвести и в других органах, хотя полупериод их жизни может варьировать в известных пределах. То же можно продемонстрировать еще более драматическим образом с помощью цианидов. Если бы мы ввели в одну из наших вен цианид, то первым делом мы заметили бы, что мы умерли. Как известно из классических работ Варбурга, цианид подавляет активацию кислорода, комбинируясь с одним из наличных металлов-катализаторов.

В том, что живые системы находятся в метастабильном состоянии, требующем для своего поддержания постоянного притока энергии, нет ничего удивительного. Второй закон термодинамики мог бы предсказать это. Неожиданной является краткость полупериода. Это удивительно потому, что большинство органов имеет значительный запас АТФ, получающегося из креатинфосфата, причем ограниченные количества АТФ могут образовываться и в анаэробных условиях. Такой запас АТФ должен был бы поддерживать нас в течение значительно более длительных периодов отсутствия O_2 , если бы он мог снабжать наш организм энергией, необходимой для поддержания метастабильного живого состояния.

Мне кажется, нет сомнений в том, что энергия мышечного сокращения поставляется АТФ. Когда мышца «входит» в активное состояние для выполнения своей «общественной функции», сокращения, она

сразу же требует больших количеств энергии. Приток кислорода осуществляется медленно и непрерывно. Энергия, необходимая для сокращения мышцы, не может прямо зависеть от притока O_2 . Мышца использует в качестве источника энергии какое-нибудь вещество, подобное АТФ и всегда присутствующее в ней, хотя и в умеренных количествах. Но если АТФ способен покрыть единовременные большие потребности в энергии для выполнения «общественной функции» мышцы, то почему он не может покрывать скромные и непрерывные потребности «частной жизни» клетки для поддержания ее метастабильного состояния? Не объясняется ли это тем, что существуют две независимые системы получения энергии, использующие кислород в качестве конечного акцептора электронов? Одна из них может оказаться локализованной в митохондриях и ответственной за образование АТФ, тогда как другая может локализоваться в самих клеточных (основных) структурах, которые должны поддерживаться в специфическом состоянии.

Рассмотрение рис. 4 делает такое предположение правдоподобным. Этот рисунок имел целью показать, что значительная часть электронов, скатывающихся по цепи окислительного фосфорилирования (что обеспечивает образование за их счет энергии АТФ), происходит из ДПН-Н или ТПН-Н. Но почему организм должен прибегать к этому длинному обходному пути через митохондриальное окислительное фосфорилирование и образование АТФ, чтобы покрывать свои скромные и непрерывные потребности? Почему высокоэнергетические электроны ДПН-Н или ТПН-Н нельзя разместить на живых структурах так, чтобы последние могли непосредственно связывать их с O_2 , используя более прямым образом их энергию?

Все это, быть может, спекуляция, но, раз установив существование метастабильного живого состояния, мы должны задавать себе вопросы и рассуждать, чтобы найти разумные рабочие гипотезы. Сказать, что живое состояние поддерживается АТФ, это тоже спекуляция, и притом спекуляция, отягощенная еще

большими трудностями. Гипотеза, которую я предлагаю, заключается в следующем: клетка получает энергию, необходимую для поддержания ее живого состояния, непосредственно от ДПН-Н или ТПН-Н. В качестве первого шага в этом направлении мы можем задаться вопросом об обоих конечных этапах данного гипотетического процесса: как передаются электроны от ДПН-Н или ТПН-Н к белковой структуре и как могут передаваться электроны от нее к O_2 ? Можно попытаться ответить на оба эти вопроса.

Начнем с первого. Талалэй, Вильямс-Эшман и Хэрлок [142—145] показали, что стероиды в присутствии белков (как специфических, так и неспецифических) могут осуществлять перенос электронов между пиридиннуклеотидами. Почему же они не могут осуществлять и перенос электронов между ТПН-Н или ДПН-Н и самой белковой структурой? Выше мы отмечали, что стероиды, содержащие $=O$, вероятно, могут функционировать как доноры, а стероид, потерявший один электрон, должен служить хорошим акцептором, что позволяет молекуле стероида действовать в качестве переносчика электронов.

Что касается другого конца, кислорода, то Дебай и Эдвардс [146] показали, что после освещения коротким ультрафиолетом белки испускают при низкой температуре длительное послесвечение. Оно изучалось и в моей лаборатории, причем мы пользовались преимущественно белками хрусталика, не содержащими гемовых пигментов. Это свечение полностью тушится кислородом, который, очевидно, захватывает возбужденные электроны. Таким образом, при помощи очень простых средств можно продемонстрировать прямую передачу электронов от белков к O_2 *).

*) Следует отметить, что длительное послесвечение триптофана не тушится кислородом, тогда как свечение белков тушится им, хотя эмиссия света белком — это, по всей вероятности, эмиссия содержащегося в белке триптофана. Нельзя совершенно отбросить и мало правдоподобную возможность того, что тушение кислородом обусловлено его парамагнитными свойствами, т. е. представляет собой «парамагнитное тушение».

Тем не менее опыты с цианидом указывают на то, что в сопряжении электронов с O_2 участвуют и какие-то металлосодержащие катализаторы.*).

Предлагаемая гипотеза может также объяснить неизвестный до сих пор механизм действия стероидов. Сейчас мы знаем лишь то, что стероиды необходимы для жизни и что жизнь попросту прекращается при их отсутствии.

Вопрос о том, что происходит между гипотетическим стероидом и кислородным концом цепи, остается открытым, потому что такая проблема в целом до сих пор не ставилась. Судьба электрона в белке или нуклеопротеиде в большой мере зависит от природы этих макромолекулярных агрегатов и их гидратных оболочек, от того, являются ли они полупроводниками, проводниками протонов и т. п. Наш подход к таким проблемам в значительной мере зависит от того, что мы понимаем под словом энергия. Что бы ни означало это слово, энергию электрона удобно охарактеризовать значениями ионизационного потенциала**). Мне кажется вероятным, что, подобно тому, как внутри отдельных клеток значения рН стабилизируются буферами, ионизационные потенциалы стабилизируются электронными донорами и акцепторами. Аскорбиновая и дигидроаскорбиновая кислоты могут служить одним из таких «ИП-буферов». Ионы, действующие как доноры и акцепторы, также могут участвовать в этой стабилизации. Так как в расширен-

*) Чувствительными к цианидам ферментами могут оказаться пероксидазы. Вильямс-Эшман, Кассман и Клавинс [148] показали, что при каталитическом воздействии эстрогенов пероксидазы ведут реакции окисления ТПН-Н и ДПН-Н. Это тем более примечательно, что при введении эстрогенов, вызывающих гипертрофию мышц матки, в этом органе появляется большое количество пероксидаз [149]. Пероксидазы могут также использовать H_2O_2 , которая образуется при восстановлении O_2 . Вильямс-Эшман показал также, что эстрогены с их ароматической структурой могут служить донорами π -электронов (см. стр. 89).

**) По аналогии с рН можно было бы говорить об «электронном давлении», обратно пропорциональном ИП. Отрицательный потенциал «внутри» большинства клеток (по сравнению с «внешним» потенциалом) можно связать с более высоким электронным давлением внутри клетки.

ном понимании представлений Льюиса акцепторы и доноры электронов являются кислотами и основаниями, то представление об «ИП-буферах» есть только расширение представления о кислотно-основных буферах. Можно ожидать, что группы NH в белковом скелете являются сильными донорами, а группы SO действуют как «кетонидные акцепторы» или доноры с неподеленными парами электронов, причем и те и другие группы надлежащим образом размещены в непрерывной цепи водородных связей, объединяющих всю молекулу белка и способных создавать непрерывные энергетические зоны [31, 32].

Несомненно, живое состояние обусловлено участием многих факторов, и сейчас мы можем лишь попытаться выделить отдельные факторы в надежде, что позже нам удастся связать их.

Одной из характеристических черт живого состояния является накопление ионов против градиента концентраций; после смерти концентрации ионов выравниваются. Мы все еще не можем дать окончательный ответ на вопрос о том, каким образом происходит накопление ионов. Мы располагаем только теориями. Действует ли здесь окислительно-восстановительный насос, как предполагал Конвей [150], имеем ли мы дело с какой-то иной «игрой» носителей, или же способность к накоплению ионов является свойством всей массы клетки [151], следствием ее структуры? Мы не знаем этого. Однако подавление переноса ионов против градиента цианидом, но не 2,4-динитрофенолом (который препятствует образованию АТФ в процессе окислительного фосфорилирования), также указывает на то, что источником энергии здесь служит какое-то соединение, отличное от АТФ.

Одним из характерных свойств живого состояния являются его парамагнитные свойства. На это указывают работы Коммонера и его сотрудников [6—9], которые установили, что интенсивность сигналов ЭПР, даваемых различными растительными и животными тканями, пропорциональна уровню их метаболизма.

Чем интенсивнее жизнь, чем выше уровень метаболизма, тем больше она жизнь и тем сильнее она проявляет свои парамагнитные свойства, тогда как после смерти возрастает диамагнитная восприимчивость [153]. Сигналы ЭПР от живых тканей порождаются главным образом свободными радикалами, возникающими при метаболизме. Группа Коммонера, а также Эренберг и Людвиг [95] обнаружили, что сигналы ЭПР дают свободные радикалы, образующиеся при частичном восстановлении ФМН и его комплексов с белком. Сигналы могут давать и другие свободные радикалы, а следовательно, и другие комплексы с переносом заряда, переходящие в ионное состояние. Во всяком случае сигнал ЭПР — это, по-видимому, сигнал жизни, хотя его дают также и стабильные вещества, например меланин или различные смолы [6]. Как видно, все живое дает сигнал, будь то «ваш палец или хвост мыши» *).

Эти наблюдения создают впечатление, что парамагнитные свойства обусловлены свободными радикалами, образующимися в одноэлектронных окислительно-восстановительных процессах. Однако мы должны помнить, что немаловажная часть живых белковых структур может существовать в форме комплексов с переносом заряда, т. е. в некотором смысле в форме свободных радикалов. Чтобы убедиться в этом, достаточно взглянуть на интенсивно коричневую окраску печени. Несмотря на несомненно очень многочисленные попытки, никому еще не удавалось выделить из печени пигмент, который мог бы нести ответственность за эту окраску. Я выделил значительное количество вещества шоколадно-коричневого цвета, которое при обработке HCl распадается на бесцветный белок и золотисто-желтый флавин. Очевидно, это вещество представляет собой комплекс с переносом заряда между белком и ФМН, и коричневую окраску печени следует приписать образованию комплекса с переносом заряда между белком и

изоаллаксазином. Почки и кора надпочечников также имеют коричневый цвет. Мозг же может иметь белый цвет, так как он должен содержать большую массу диэлектриков; однако кора мозга, более богатая клетками, имеет коричневатый оттенок, а там, где образуются агрегаты клеток (как в «красном ядре»), коричневая окраска становится совершенно ясной. Вполне возможно, что флавины — это не единственные вещества, образующие с белками комплексы с переносом заряда. Стероиды, служащие донорами электронов, могут действовать таким же образом, образуя комплексы с переносом заряда, спектры которых лежат в инфракрасной или ультрафиолетовой области.

В качестве последнего пункта в моем списке особенностей «живого состояния» я хотел бы коснуться одного из наиболее загадочных наблюдений последнего времени, а именно очень широкого сигнала ЭПР, даваемого нуклеопротендами [74, 75]. Такой сигнал, если он действительно связан с комплексами белка с нуклеиновыми кислотами, свидетельствует о том, что в них плотность неспаренных электронов почти сравнима с их плотностью в металлах, определяющей электропроводность последних. Если эти данные подтверждаются, то они сорвут завесу, скрывающую от нас сейчас истинную природу и значение белка, нуклеиновых кислот и нуклеопротендов.

Все, о чем мы говорили выше, — это разрозненные части величественного здания жизни, но ведь и камни, валяющиеся у дороги, могли когда-то служить частями античного храма.

В начале книги (см. стр. 22) я особенно подчеркивал значение «организации». Под этим словом я понимаю следующее: когда природа соединяет две вещи, то возникает новая структура, которую уже нельзя описать в терминах, характеризующих свойства ее компонент. То же относится и к функциям. В живых системах различные функции, по-видимому, также объединяются в более сложные единицы. Мы действительно приблизимся к пониманию жизни,

*) Из беседы с М. Кальвином.

когда все структуры и функции на всех уровнях, от электронного до супрамолекулярного, сольются в одно целое. До этого проводимые нами различия между структурой и функцией, между классическими химическими реакциями и квантовой механикой, между суб- и супрамолекулярным только подчеркивают ограниченность наших подходов и нашего понимания.

ЛИТЕРАТУРА

1. B. Pullman, A. Pullman, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **44**, 1197 (1958).
2. B. Pullman, A. Pullman, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **45**, 136 (1959).
3. B. Pullman, A. M. Perault, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **45**, 1476 (1959).
4. A. Pullman, B. Pullman, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **45**, 1572 (1959).
5. B. Pullman, Radiation Research, 1960.
6. B. Commoner, J. Townsend, C. E. Pake, Nature **174**, 689 (1954).
7. B. Commoner, J. J. Heise, B. B. Lippincott, R. E. Norberg, J. V. Passoneau, J. Townsend, Science **126**, 3263 (1957).
8. B. Commoner, B. B. Lippincott, J. V. Passoneau, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **44**, 1099 (1958).
9. B. Commoner, B. B. Lippincott, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **44**, 1110 (1958).
10. L. Michaelis, Fundamentals of Oxidation and Reductions (in «Currents in Biochemical Research» D. E. Green (Ed.), Interscience Publ., N. Y., 1946).
11. D. I. Arnon, Nature **184**, 10 (1959).
12. H. F. Fischer, E. E. Conn, B. Vennesland and F. H. Westheimer, J. Biol. Chem. **202**, 687 (1953).
13. F. A. Loewus, F. H. Westheimer, B. Vennesland, J. Am. Chem. Soc. **75**, 5018 (1953).
14. E. M. Kosower, P. E. Klinedinst, J. Am. Chem. Soc. **78**, 3493, 3497 (1956).
15. D. E. Green, Adv. Enzymol. **21**, 73 (1959).
16. L. Michaelis, M. P. Schubert, Chem. Rev. **22**, 437 (1938).
17. L. Michaelis, The Theory of Oxidation and Reduction (in «The Enzymes» J. B. Sumner and K. Myrbäck (Eds.), Academic Press, N. Y., 1951, vol. II, pt. I, p. 1).
18. W. H. Westheimer (in the «Mechanism of Enzyme Action», W. D. McElroy and B. Glass (Eds.), Johns Hopkins Press, Baltimore, 1954, p. 321).
19. L. Colli, U. Facchini, G. Guidotti, R. Dugnani, M. Orsenigo, O. Sommariva, Experientia **11**, 479 (1955).

20. D. E. Green, R. L. Lester, Fed. Proc. **18**, 987 (1959).
21. R. S. Mulliken, Phys. Rev. **74**, 736 (1948).
22. I. Isenberg, A. Szent-Györgyi, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **45**, 519 (1959).
23. A. Szent-Györgyi, Biochem. Z. **150**, 195 (1924).
24. B. Pullman, A. Pullman, Biochem. et Biophys. Acta **35**, 535 (1959).
25. B. Chance, M. Nishimura, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **46**, 19 (1960).
26. D. I. Arnon, Nature **184**, 10 (1959).
27. D. E. Green, Radiation Research Suppl. 1960 (Brookhaven Conf. Bioenergetics).
28. Th. Förster, Disc. Faraday Soc. **27** (1959).
29. Th. Förster, «Fluoreszenz organischer Verbindungen», Göttingen, 1951.
30. G. Karremann, R. H. Steele, Biochem. et Biophysica Acta **25**, 280 (1957).
31. M. S. Evans, J. Gergely, Biochem. et Biophysica Acta **3**, 188 (1949).
32. D. D. Eley, S. D. Parfitt, M. J. Perry, D. H. Taysum, Trans. Faraday Soc. **49**, 79 (1953).
33. M. H. Cardew, D. D. Eley, Trans. Faraday Soc. (1959).
34. W. Arnold, H. K. Sherwood, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **43**, 104 (1957).
35. T. Bucher, J. Kaspers, Biochem. et Biophysica Acta **1**, 21 (1947).
36. V. G. Shore, A. B. Pardee, Arch. Biochem. Biophys. **62**, 355 (1956).
37. J. Schubert, Arkiv Kemi **15**, 97 (1959).
38. F. S. Sjöstrand, Fine Structure of Cytoplasm: the Organisation of Membranous Layers (Ф. Шёстранд, см. «Проблемы биофизики», ИЛ, М., 1961).
39. G. Tollin, Radiation Research Suppl. II, 1960 (AEC Conference on Bioenergetics, Brookhaven, 1959).
40. C. G. B. Garrett (in «Semiconductors» Reinhold Press, 1959, Ch. 15).
41. R. Mason, Nature **181**, 820 (1958).
42. L. E. Orgel, Quarterly Reviews of the Chemical Society, Lond. **8**, 422 (1954).
43. J. Weiss, J. Chem. Soc. **245** (1942).
44. J. Weiss, Nature **147**, 512 (1941).
45. J. Weiss, Trans. Faraday Soc. **37**, 78 (1941).
46. R. S. Mulliken, J. Am. Chem. Soc. **72**, 600 (1950).
47. R. S. Mulliken, J. Am. Chem. Soc. **74**, 811 (1952).
48. R. S. Mulliken, J. Phys. Chem. **56**, 801 (1952).
49. L. Michaelis, Chem. Rev. **16**, 243 (1935).
50. L. Michaelis, M. P. Schubert, R. K. Reber, J. A. Kuck, S. Granik, J. Am. Chem. Soc. **60**, 1678 (1938).
51. L. Michaelis, S. Granick, J. Am. Chem. Soc. **66**, 1023 (1944).
52. W. Brackmann, Rec. Trav. Chim. **68**, 147 (1949).

53. H. McConnell, J. S. Ham, J. R. Platt, J. Chem. Phys. **21**, 66 (1953).
54. S. H. Hastings, J. L. Franklin, J. C. Schiller, F. A. Madsen, J. Am. Chem. Soc. **75**, 2900 (1953).
55. G. Briegleb, J. Czekalla, Z. Electrochem. **63**, 6 (1959).
56. J. Czekalla, G. Briegleb, W. Herre, R. Grier, Z. Electrochem. **61**, 537 (1957).
57. R. Foster, Nature **183**, 1253 (1959).
58. H. Kainer, D. Bijl, A. C. Rose-Innes, Naturwissenschaft **41**, 303 (1951).
59. H. Kainer, D. Bijl, A. C. Rose-Innes, Nature **178**, 1462 (1956).
60. D. Bijl, H. Kainer, A. C. Rose-Innes, J. Chem. Phys. **30**, 756 (1959).
61. R. E. Miller, W. F. K. Wynne-Jones, J. Chem. Soc. **2378** (1959).
62. H. Kainer, A. Überle, Chem. Ber. **88**, 1147 (1955).
63. H. Kainer, W. Ottig, Chem. Ber. **88**, 1921 (1955).
64. H. Akamatsu, H. Ivokuchi, Y. Matsunaga, Bull. Chem. Soc. Japan **29**, 213 (1956).
65. H. Akamatsu, H. Ivokuchi, Y. Matsunaga, Nature **173**, 168 (1954).
66. Y. Matsunaga, Bull. Chem. Soc. Japan **28**, 475 (1955).
67. Y. Matsunaga, J. Chem. Phys. **30**, 855 (1959).
68. S. P. McGlynn, J. D. Boggus, J. Am. Chem. Soc. **80**, 509 (1959).
69. S. P. McGlynn, Chem. Rev. **58**, 1113 (1958).
70. G. E. Pake, S. I. Weissmann, J. Townsend, Disc. Faraday Soc. **19**, 147 (1955).
71. W. Gordy, W. V. Smith, R. F. Trambarulo, Microwave Spectroscopy, Wiley, New York, 1953 (В. Горди, В. Смит, Р. Трамбаруло, Радиоспектроскопия, Гостехиздат, 1955).
72. P. B. Sogo, B. M. Tolbert, Biol. and Med. Phys. **5**, 1 (1957).
73. D. J. E. Ingram, Free Radicals, Academic Press, N. Y., 1958 (Д. Инграм, Электронный парамагнитный резонанс в свободных радикалах, ИЛ, М., 1961).
74. Л. А. Блюменфельд, А. Е. Калмансон, Чен-Пей, ДАН СССР **124**, 1144 (1959).
75. Л. А. Блюменфельд, Биофизика **4**, 515 (1959).
76. M. J. S. Dewar, Nature **156**, 784 (1945).
77. M. J. S. Dewar, The Electronic Theory of Organic Chemistry, Clarendon Press, London, 1949, p. 62.
78. K. Nakamoto, J. Am. Chem. Soc. **74**, 1739 (1952).
79. Keisuke Suzuki, Busseiron Kenkyu. Research on the Structure of Matter, № 102, p. 5 (Japan).
80. L. Michaelis, S. Granik, J. Am. Chem. Soc. **66**, 1023 (1944).
81. И. П. Грагеров, Г. П. Миклухин, ДАН СССР **62**, 79 (1948).

82. A. Bothner-By, J. Am. Chem. Soc. **73**, 4228 (1951).
83. А. Сент-Дьердьи, Биоэнергетика, Физматгиз, 1960.
84. I. Isenberg, A. Szent-Györgyi, Proc. Natl. Ac. Sci. U. S. **44**, 857 (1958).
85. I. Isenberg, A. Szent-Györgyi, Proc. Natl. Ac. Sci. U. S. **45**, 1229 (1959).
86. B. Strehler, McGee (неопубликованные данные, цит. по 85).
87. R. Kuhn, T. Wagner-Jauregg, Ber. **67**, 361 (1954).
88. L. Michaelis, M. P. Schubert, C. V. Smythe, J. Biol. **116**, 15 (1936).
89. L. Michaelis, G. Schwarzenbach, J. Biol. Chem. **123**, 521 (1938).
90. L. Michaelis, Theory of Oxidation and Reduction (in «The Enzymes», J. B. Sumner and K. Myrback (Eds.), Academic Press, N. Y., 1951, vol. II, pt. I).
91. H. Beinert, Biochem. et Biophys. Acta. **20**, 588 (1956).
92. H. Beinert, J. Biol. Chem. **225**, 465 (1957).
93. L. Michaelis and S. Granik, J. Am. Chem. Soc. **66**, 1020 (1944).
94. E. Haas, Biochem. Z. **290**, 291 (1937).
95. E. Ehrenberg, J. D. Ludwig, Science **127**, 1177 (1958).
96. E. Ball, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **7**, 100 (1939).
97. E. Fujimori, Biochim. et Biophys. Acta **40**, 257 (1960).
98. W. H. Johnson, Andrew G. Szent-Györgyi, Science **130**, 160 (1959).
99. G. Cilento, P. Giusti, J. Am. Chem. Soc. **81**, 3901 (1959).
100. E. Fujimori, Proc. Natl. Ac. Sci. U. S. **45**, 133 (1959).
101. H. A. Harbury, K. A. Foley, Proc. Natl. Ac. Sci. U. S. **44**, 662, 1958.
102. H. A. Harbury, K. A. Foley, Proc. Natl. Ac. Sci. U. S. **45**, 178 (1959).
103. C. Reid, R. S. Mulliken, J. Am. Chem. Soc. **76**, 3869 (1954).
104. A. Zaffaroni, R. B. Barton, E. H. Keitman, Science **111**, 6 (1950).
105. R. B. Barton, A. Zaffaroni, E. H. Keitman, J. Biol. Chem. **188**, 763 (1951).
106. H. S. Frank, M. W. Evans, J. Chem. Phys. **13**, 507 (1945).
107. I. M. Klotz, Science **128**, 815, 1958.
108. I. M. Klotz, R. G. Heiney, Proc. Natl. Ac. Sci. U. S. **43**, 74 (1957).
109. I. M. Klotz, J. Am. Chem. Soc. **80**, 2123 (1958).
110. M. Eigen, L. de Maeyer, Proc. Roy. Soc. **247A**, 505 (1958).
111. П. Л. Привалов, Биофизика **3**, 738 (1958) (обзор литературы по вопросу о возможной биологической роли структур воды).
112. J. D. Bernal, Nature **183**, 141 (1959).
113. J. D. Bernal, Nature **185**, 68 (1960).
114. P. Ehrlich, Arch. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsmech. **13** (1877).
115. L. Michaelis, S. Granik, J. Am. Chem. Soc. **67**, 1212 (1945).
116. Th. Förster, Naturwissenschaften **33**, 166 (1946).
117. J. Lavorell, J. Phys. Chem. **61**, 1600 (1957).
118. L. Lison, Histochimie animale, Gauthier, Paris, 1936.
119. L. Lison, Arch. Biol. **46**, 599 (1935).
120. D. E. Bradley, M. Wolff, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **45**, 944 (1959).
121. S. Strügger, Jenaische Z. Naturwiss. **37** (1941).
122. A. J. Kahn, A. Sandow, Ann. New York Acad. Sci. **62**, 137 (1955).
123. A. I. Popov, C. Castellani-Bisi, M. Craft, J. Am. Chem. Soc. **80**, 6513 (1958).
124. G. H. A. Clowes, M. E. Krah1, J. Gen. Physiol. **20**, 145 (1936).
125. M. E. Krah1, G. H. A. Clowes, J. Gen. Physiol. **20**, 173 (1936).
126. M. E. Krah1, G. H. A. Clowes, J. Cellular Comp. Physiol. **11**, 1, 21 (1958).
127. M. Mittlerbrook, A. Szent-Györgyi, Biochim. et Biophys. Acta **18**, 407 (1955).
128. G. Karreman, I. Isenberg, A. Szent-Györgyi, Science **130**, 1191 (1959).
129. H. Klüver, Science **99**, 482 (1944).
130. H. Klüver, J. Psychol. **17**, 209 (1944).
131. H. Klüver, Functional difference between the occipital and temporal lobes (in «Cerebral Mechanism and Behavior». L. A. Jeffres (Ed.), Wiley and Son, New York, 1951, pp. 172—178).
132. H. Klüver, E. Barrera, J. Psychol. **37**, 199 (1954).
133. R. F. Labbe, R. Zaske, R. A. Aldrich, Science **129**, 1741 (1959).
134. L. Ernster, L. Herlin, L. Zellerstrom, Pediatrics **20**, 647 (1947).
135. A. Epp, T. Ramasarma, L. R. Wetter, J. Am. Chem. Soc. **80**, 724 (1958).
136. G. Weber, Biochem. J. **47**, 114 (1950).
137. G. Weber, Nature **180**, 1409 (1957).
138. G. Wald, Scientific American **201**, 92 (1959).
139. V. J. Wolff, R. S. Adams, H. Linschitz and D. Kennedy, A. M. A. Archives of Ophthalmology **69**, 695 (1958).
140. V. J. Wolff, R. S. Adams, H. Linschitz, E. W. Abramson, Ann. New York Acad. Sci. **74**, 281 (1958).
141. I. Isenberg and A. Szent-Györgyi, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **45**, 1232 (1959).
142. P. Talalay and H. G. Williams-Ashman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **44**, 15 (1958).
143. P. Talalay, B. Hurlock, H. G. Williams-Ashman, Proc. Natl. Acad. Sci. **44**, 862 (1958).

144. B. Hurlock, P. Talalay, J. Biol. Chem. **234**, 886 (1958).
145. B. Hurlock, P. Talalay Arch. Biochim. Biophys. **80**, 468 (1959).
146. P. Debye, J. O. Edwards, Science **116**, 143 (1952).
147. A. Szent-Györgyi, Biochim et Biophys. Acta **16**, 167 (1955).
148. H. G. Williams-Ashman, M. Cassman, M. Klavins, Nature **184**, 427 (1959).
149. F. V. Lucas, H. A. Neufeld, J. G. Utterback, A. P. Martin, E. Stotz, J. Biol. Chem. **214**, 775 (1955).
150. E. J. Conway, Science **713**, 270 (1951).
151. S. L. Baird, J. G. Karreman, H. Müller, A. Szent-Györgyi, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. **43**, 705 (1957).
152. E. Bauer, Nature **138**, 801 (1936).
153. A. Pullman, B. Pullman, Cansérisation par les substances chimiques et structure moléculaire, Masson, Paris, 1955.
154. B. Pullman, A. Pullman, Les théories électroniques de la chimie organique, Masson, Paris, 1952.
155. Handbook of Chemistry and Physics, 38 Ed., Chemical Rubber. Publ. Co.
156. B. Pullman, A. Pullman, Cancer Research **19**, 337 (1959).
157. B. Pullman, частное сообщение.
158. C. G. Karreman, частное сообщение.

ПРИЛОЖЕНИЕ

*Р. ВЮРМСЕР***АЛЬБЕРТ СЕНТ-ДЬЕРДЫ И СОВРЕМЕННАЯ
БИОХИМИЯ*)**

Как современник Альберта Сент-Дьерды я мог следить за его важным вкладом в биохимию в период между двумя мировыми войнами, а затем в период становления современной биохимии, в той атмосфере, какая царила в это время, так сказать, изо дня в день.

Сент-Дьерды начал свою исследовательскую работу, будучи студентом-медиком, в лаборатории своего дяди, гистолога Микала Ленгошека. Однако это была лишь дань семейной традиции, и вскоре он «почувствовал себя неудовлетворенным тем, что могли ему сказать о жизни мертвые ткани». В течение ряда лет первая мировая война и последовавшие за ней события в Венгрии не позволяли ему работать на избранном им поприще так, как ему хотелось. Только после странствований по университетам Польши, Германии и Голландии он смог, наконец, выполнить свои первые биохимические работы в лаборатории Гамбургера в Гронингене.

Это был период, когда после исследований Хилла Мейергоф начал свою работу по изучению химии мышцы, работу, которой было суждено впоследствии привести к глубокому пониманию процессов гликолиза и роли фосфатных связей. В те годы наиболее спорные вопросы относились к механизму окисления в тканях. Спор шел между двумя теориями — одной

*) «Horizons in biochemistry», Academic Press, N. Y., 1962.

Варбурга, другой — Виланда. Определяется ли по существу каталитический процесс активацией водорода дегидрогеназами Тунберга или активацией кислорода «дыхательным ферментом» Варбурга? Такой вопрос кажется странным сегодня, ибо мы привыкли к мысли, что необходима активация обоих типов. Но именно Сент-Дьердьи установил этот факт наиболее убедительным образом [2]. Вскоре после этого были выяснены основные черты процессов биологического окисления. В то время как Кейлин показал, что «дыхательный фермент» представляет собой катализатор, действующий на цитохромы, Сент-Дьердьи обратил свое внимание на промежуточных переносчиков водорода. Открыв снова и независимо козимазу Эйлера, он нашел вслед за этим «цитофлав» [3], строение которого позже было установлено Куном. В конечном счете исследования растительных тканей позволили Сент-Дьердьи выделить и идентифицировать гексуроновую кислоту, которая позже получила название аскорбиновой кислоты [4, 5] и оказалась не чем иным, как витамином С [6].

Последняя работа, доставившая Сент-Дьердьи Нобелевскую премию, была начата в маленьком здании в Гронингене, а затем продолжалась в Кэмбридже, куда Гопкинс пригласил его для работы в своей лаборатории, бывшей в то время подлинной Меккой для биохимиков. Сент-Дьердьи вернулся в Венгрию в 1930 г., и здесь, в Институте медицинской химии университета в Сегеде, заканчивая исследования аскорбиновой кислоты на перце своей родной страны, он с блестящей группой студентов открыл каталитическое действие фумаровой кислоты на тканевое дыхание [7, 8].

Дыхание расщепленной грудной мышцы голубя, очень интенсивное вначале, с течением времени постепенно затухает, но его можно усилить до исходного уровня добавлением минимальных количеств сукцината или фумарата. Такой процесс, несомненно, является каталитическим, так как количество добавленной дикарбоновой кислоты не находится в стехиометрическом отношении к количеству потребленного

после ее прибавления кислорода. В то время это была совершенно новая идея. Катализатором служил не фермент, а парафермент — метаболит. В предложенной схеме водород донора, например углевода, восстанавливает первую из дикарбоновых кислот — щавелевоуксусную кислоту; образующаяся яблочная кислота восстанавливает фумаровую кислоту; образующаяся янтарная кислота в свою очередь переносит свой водород к цитохромам. Эта фундаментальная концепция была модифицирована и дополнена после того, как Кребс выявил роль лимонной кислоты. Однако вместе с Болдуином [1] мы должны признать, что все наши теперешние знания об аэробном метаболизме основаны на этих работах Сент-Дьердьи с расщепленной грудной мышцей голубя.

Дыхание исключительно важно для организма. Тем не менее процессы, происходящие в отсутствие свободного кислорода, имеют огромное значение даже для жизни аэробных организмов. Процессы синтеза представляют собой не что иное, как окислительно-восстановительные реакции, переплетающиеся с процессами конденсации и гидролиза. Отмечу мимоходом, что именно для того, чтобы понять эту связь между ними, я посвятил так много лет определению окислительно-восстановительных потенциалов метаболических систем. Свободный кислород имеет значение только на последнем этапе пути водорода через систему последовательных передатчиков. На всех предыдущих этапах имеется свободная энергия для компенсации эндергонических процессов. Сент-Дьердьи подчеркивал экономичность таких последовательных этапов окисления. Клетка не могла бы использовать без значительных потерь большие количества энергии, соответствующие сжиганию водорода в питательных веществах, если бы этот процесс происходил сразу. Она платит за свое функционирование мелкой монетой, и поэтому избегает потерь [9].

Прямое обнаружение быстрого обмена водорода между различными метаболитами интересно и с другой точки зрения. Такой перенос водорода, происходящий в результате случайного обмена между

множеством доноров и акцепторов, соответствует одному из тех уровней внутриклеточных окислительно-восстановительных процессов, которым я, со своей стороны, приписал определенную роль в химической организации клетки.

В период между двумя мировыми войнами биохимия обогатилась очень важными сведениями о взаимозависимостях разнообразных метаболических процессов, об участвующих в них ферментах и коферментах и об их структуре. В частности, была особенно подробно изучена роль фосфорилированных соединений в энергетическом сопряжении этих реакций. Значительно яснее стал вопрос о биосинтезе на стадии комбинации малых молекул. Область, которая оставалась ранее практически совершенно не исследованной, заняла в современной биохимии привилегированное положение.

К 1938 г. Сент-Дьердьи начал серию исследований в области, которую, как мне кажется, лучше всего назвать молекулярной физиологией. Эти исследования вскоре привели его к тому, что он сам называет субмолекулярной биологией.

Мы воспользовались выражением «молекулярная физиология», так как цель исследований заключалась в том, чтобы найти в одной и той же молекуле (конкретно речь шла в данном случае о мышечном белке) и физиологический эффект и вместе с тем его причину. Иными словами, нужно было объяснить то или иное типичное проявление жизнедеятельности (например, мышечное сокращение), исходя из структуры определенной специфической молекулы. Отнюдь не ясно заранее, возможно ли это вообще. По словам самого Сент-Дьердьи «одним из основных принципов жизни является организация; мы понимаем под этим, что при объединении двух вещей рождается нечто новое, качества которого не аддитивны и не могут быть выражены через качества составляющих его компонент». Однако очень вероятно, что если молекулы определенного типа обладают зачатками функции, предвосхищающими физиологический акт, то частичное объяснение поставленных выше вопросов

все же должно корениться в структуре самих молекул. Это и показал Сент-Дьердьи [11] своими исследованиями мышечных белков.

После работ Энгельгардта, Любимовой и Мейтиной стало известно, что нити того вещества, которое было названо миозином, могут сокращаться в присутствии аденозинтрифосфата (АТФ). Сент-Дьердьи и его группе удалось разделить миозин на два белка — собственно миозин и актин, объединение которых дает актомиозин. Именно этот комплекс и обладает контрактильными свойствами. В растворах он реагирует на добавление АТФ уменьшением своей вязкости. Когда он находится в форме непрерывного геля, АТФ вызывает его сокращение. Это изменение конфигурации предвосхищает таким образом сокращение живой мышцы.

Несомненно, между описанными двумя явлениями существуют различия. Процедуры экстрагирования неизбежно изменяют в большей или меньшей мере белки. Во всяком случае условия в актомиозиновой нити отличны от условий в мышечной фибрилле. Никким образом не разделяя утверждения сторонников обобщенного принципа дополнительности о том, что сложность биологических явлений исключает возможность их истолкования, мы можем предвидеть, что когда-нибудь нам удастся объяснить их межмолекулярными силами. Но этот день еще не наступил. Тем не менее мы можем уже сейчас заняться проблемой связи между отдельными свойствами молекулы и ее структурой. На этот путь и отважился вступить Сент-Дьердьи.

Количественные данные показали, что влияние распада маленькой молекулы АТФ на всю большую молекулу миозина в целом приводит к проблеме передачи действия: сфера влияния реакции слишком велика, чтобы ее можно было объяснить кулоновскими силами. Отсюда возникло представление о наличии в макромолекулах электронных полос проводимости. Сент-Дьердьи распространил эту концепцию полупроводимости и на другие биологические проблемы. Она должна была объяснить такие

ферментативные реакции, для которых был исключен простой механизм соударений и где казалась необходимой определенная пространственная организация [10].

Момент был подходящим. В науке для достижения чего-то осязаемого, выходящего за рамки спекуляции, творческое воображение должно найти необходимую поддержку в общем развитии идей и техники. Это и имело место в данном случае. Появилось довольно значительное число работ, основанных на гипотезе полупроводимости. Хотя полосы проводимости были до сих пор обнаружены только в некоторых особых системах, возбуждаемых квантами большой энергии, все же работы по биохимии на субмолекулярном уровне получили мощный стимул. Сам Сент-Дьердь обратил внимание на электронный перенос другого типа. Когда две подходящие молекулы соприкасаются друг с другом, то их электронные орбиты могут перекрываться, что приводит к образованию комплекса с переносом заряда. Электрон переходит с высшей заполненной орбиты донора на низшую незаполненную орбиту акцептора. Донор, превратившийся в акцептор, и акцептор, ставший донором, могут образовывать цепь для переноса электронов между удаленными молекулами. Во всяком случае, изучение таких комплексов с переносом заряда при ферментативном катализе является очень многообещающим, так как здесь имеется тесный контакт между ферментом и субстратом.

Сомнительно, можно ли полностью объяснить действие ферментов, не учитывая перегруппировки атомов. Мысль о том, что в каталитическом процессе участвует своего рода обратимая денатурация, подтверждается данными об изменении энтропии, соответствующем образованию комплексов фермент — субстрат и их активации. Однако эти структурные изменения в такой же мере зависят от электронных событий, в какой мере изменения реакционной способности зависят от переноса заряда. Во всяком случае, к числу наиболее важных следствий из последних работ школы Сент-Дьердь относится осознание

необходимости трактовать проблему, теоретически и экспериментально, на электронном уровне. Чем же может быть будущая биология, как не теоретической биологией, которая, основываясь на квантовой механике, осмыслит свойства жизни, исходя из свойств внутри- и межмолекулярных инфраструктур?

Обнаружение переноса заряда по спектральным данным и методом электронного парамагнитного резонанса и интерпретация этих данных, базирующаяся на расчетах Пюльманов, уже позволили объяснить целый ряд биологических свойств.

В сороковые годы, в тот период, когда Сент-Дьердь проводил свои исследования в области субмолекулярной физиологии, родилась наука, которую сегодня принято называть молекулярной биологией. Правильно это или неправильно, но мы по традиции привыкли проводить различие между изучением функции организма, физиологией и изучением формирования того же организма, которое относится к другим областям биологии. Успехи в изучении структуры белков и получении паракристаллов вирусов (последние, быть может, являются простейшими формами жизни) толкнули некоторых авторов на путь механистического объяснения формирования некоторых специфических компонент организмов или даже самих организмов. Основная трудность в построении схемы биосинтеза заключается в невероятности возникновения заданной последовательности аминокислот, обусловленной не результирующим уменьшением энтропии (о чем может позаботиться метаболизм), а необходимостью представить себе процесс отбора данных аминокислот. Но это — проблема межмолекулярных сил притяжения. Начиная с 1940 г., Полинг пытается выяснить природу действующих сил. Он пришел к заключению, что это силы между комплементарными поверхностями, обусловленные формой и зарядом последних.

Молекулярная биология широко использовала решающие достижения в области генетики. С одной стороны, удалось объяснить влияние генов их способностью предопределять синтез определенных химических

веществ, а с другой — удалось доказать, что запас информации, контролирующей биосинтез специфических веществ, заключен в нуклеиновых кислотах. Современная точка зрения заключается в том, что каждая аминокислота связывается с комплементарной последовательностью нуклеотидов в цепи нуклеиновых кислот.

Для комбинаций антиген — антитело и фермент — субстрат оказалось возможным рассчитать величину межмолекулярных сил и проверить эти расчеты экспериментально. Аналогичный расчет, вероятно, окажется возможным и для системы аминокислота — нуклеотид. Для этого, очевидно, нужно знать распределение зарядов, поляризуемость и ионизационные потенциалы данных молекул.

Таким образом, два направления исследований — одно, исходящее из изучения мышечного сокращения и активации ферментов, и другое, связанное с биосинтезом специфических белков, — ведут к общим проблемам и технике, которые еще недавно считались областью чистой физики. Это начало истории, которая, как мы предвидим, будет очень длительной. Как говорит Сент-Дьердьи в своей последней книге, «...чтобы найти подход к центральным проблемам биологии, мы должны расширить свои представления в двух направлениях: в субмолекулярном и в супрамолекулярном» [12]. Некоторые начинают заглядывать в область физики твердого тела. Однако чрезвычайная простота трактуемых там систем находится в резком контрасте с загадочными конструкциями живого.

Сент-Дьердьи подчеркивает эту пропасть, которую еще предстоит заполнить. Но его энтузиазм и вера в будущее позволяют ему сохранить оптимизм. Последняя книга Сент-Дьердьи, столь типичная для этой точки зрения, будет иметь огромное влияние на молодых биохимиков, число которых на границе между биологией и физикой возрастает с каждым днем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Baldwin E., *Dynamic Aspects of Biochemistry*, Cambridge Univ. Press, 2nd, N. Y., 1948.
2. Banga I., Szent-Györgyi A., *Biochem. Z.* **157**, 50 (1925).
3. Gözsy B., Szent-Györgyi A., *Biochem. Z.* **224**, 1 (1934).
4. Svirbely J. L., Szent-Györgyi A., *Biochem. J.* **26**, 865 (1932).
5. Szent-Györgyi A., *Biochem. Z.* **150**, 195 (1924).
6. Szent-Györgyi A., *Nature* **129**, 782 (1927).
7. Szent-Györgyi A., *Biochem. J.* **22**, 1387 (1928).
8. Szent-Györgyi A., *Studies on Biological Oxidations and Some of Its Catalysis*, J. A. Barth, Leipzig, 1937.
9. Szent-Györgyi A., *Über den Mechanismus der biologischen Verbrennungen*. Nobel Verlag, 1937.
10. Szent-Györgyi A., *Science* **93**, 609 (1941).
11. Szent-Györgyi A., *Chemistry of Muscular Contraction*. Academic Press, N. Y., 1947.
12. Szent-Györgyi A., *Данная книга*.

А. Сент-Дьерди

Введение в субмолекулярную биологию.

М., Издательство «Наука»

1964 г., 140 стр. с илл.

(Серия «Современные проблемы физики»)

Редактор *Н. А. Райская.*

Техн. редактор *Н. Я. Мурашова.*

Корректор *О. А. Сигал*

Сдано в набор 5/VI 1963 г. Подписано к печати 18/XII 1963 г. Бумага 84×108¹/₃₂. Физ. печ. л. 4,375. Условн. печ. л. 7,18. Уч.-изд. л. 6,71. Тираж 10 000 экз. Цена книги 34 коп. Заказ 1469.

Издательство «Наука»

Редакция литературы по прикладной
и теоретической физике

Москва, В-71, Ленинский проспект, 15.

Ленинградская типография № 2
имени Евгении Соколовой «Главполиграфпрома»
Государственного комитета Совета Министров СССР
по печати.
Измайловский проспект, 29.

Copyright © San'ky incorporation
derevyaha + Q