

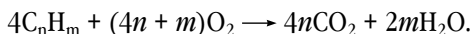
Н. А. Матвеевков

Классическая гимназия при Греко-Латинском кабинете Ю. А. Шичалина,
Москва

РАЗВИТИЕ ХИМИЧЕСКИХ ПРИНЦИПОВ БИОЭНЕРГЕТИКИ



Живые существа, в отличие от неживых систем, способны самостоятельно обеспечивать себя источниками энергии. Ещё в 1777 г. будущий создатель «новой химии» А. Лавуазье на основании экспериментов и вычислений установил общие черты главного для всех животных организмов процесса обеспечения энергией — дыхания. И сейчас, в эпоху молекулярной биологии, рентгеноструктурных методов анализа и генетической инженерии, по-прежнему дыхание с точки зрения химии определяется как процесс поглощения кислорода воздуха для «сжигания» внутри организма компонентов съеденной пищи, который в обобщённом виде можно записать так:



В первом, самом грубом приближении процесс дыхания действительно аналогичен горению дров в печи, поскольку пища служит источником теплоты для организмов. Однако уже к началу XIX в. химикам стало ясно, что эта чисто внешняя аналогия не способна объяснить механизм дыхания. Горение протекает намного быстрее дыхания, для поддержания требует огромных (по сравнению с пищевыми) количеств органического вещества, и при этом выделяется количество тепла намного большее, чем может вынести живое существо. В качестве химической модели дыхания были выбраны медленные процессы изменения ряда веществ на воздухе, а также изменения окраски препаратов животных и растительных тканей в присутствии воздуха. Объяснить явления медленного окисления оказалось возможным с привлечением представлений о факторах, не предусмотренных химией Лавуазье. Их назвали катализаторами.

Собственно каталитическое действие открыл в 1812 г. немецкий химик Ф. Фогель. Он обнаружил, что реакция соединения водорода с кислородом (известная под названием ре-

акции гремучего газа) может протекать при более низкой температуре, если в систему добавить уголь, полученный сжиганием дотла растительного или животного материала. Фогель впервые приготовил так называемую биоугольную модель, на основе которой столетием позже другой немецкий химик О. Варбург начал разрабатывать первую биохимическую теорию дыхания и в конце концов установил строение активного центра первого из катализаторов системы дыхания клеток — цитохромоксидазы.

Первую общую теорию каталических процессов разработал в 1835 г. шведский химик Й. Берцелиус. Он считал, что соприкосновение катализатора с реагентом и есть главная причина ускоряющего эффекта. По этой причине каталитических процессы долгое время называли контактными явлениями.

Дыхание, однако, авторы ранних концепций катализа не включали в число контактных явлений. Древнее представление о внешнем огне как о факторе, под действием которого разлагаются вещества, сложным путём проникло в представления о всех процессах, которые внешне выглядят как разложение. Берцелиус, объединяя их в рамках своей концепции, считал, что и внутренний механизм всех каталитических процессов заключается в разложении веществ на составные части. Дыхание же, поскольку является критическим для поддержания жизни процессом, с функциональной точки зрения напоминает отнюдь не реакции разложения, а реакции синтеза.

Именно подход к реакциям окисления как реакциям *синтеза*, соединения с кислородом, а не разложения с потерей невесомого флогистона стал первым подлинно научным подходом в химии. Синтезом оказалась и первая из открытых каталитических реакций. Лавуазье не придал значения этой особенности своей теории, и его вывод о дыхании как аналоге разложения на воздухе был явно односторонним и сделан на основании косвенных свидетельств — по конечным продуктам и выделению теплоты.

Условия для появления современного подхода к реакциям дыхания как совокупности каталитических процессов, а также для вы-

яснения их энергетической роли начали формироваться со второй половины XIX столетия. В это время в естествознание были введены понятия энергии, работы и возникла новая наука — термодинамика, исследующая общие закономерности процессов превращения энергии. С появлением термодинамики постепенно отпала необходимость привлекать «жизненную силу» для объяснения биохимических явлений (хотя немногие из биологов сразу согласились так думать). На основе второго начала термодинамики постепенно становилось ясно, что выделение тепла за счёт химических реакций — конечный процесс энергетики организмов и, следовательно, закономерности дыхания надо искать в промежуточных реакциях обмена веществ.

Необходимой предпосылкой для их расшифровки, в свою очередь, стала теория строения органических веществ, выдвинутая в 1861 г. русским химиком А. М. Бутлеровым. В том же году французский химик М. Бертло основал органический синтез и тем самым вооружил химиков первым научным подходом к выяснению механизма синтеза сложных соединений. В силу ряда причин, однако, понадобилось около 80 лет, прежде чем представления «деструктурной» химии были полностью вытеснены из основ биохимии.

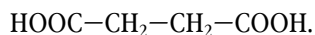
Ещё одно открытие, датируемое 1861 г., в большей степени, чем другие, предопределило современный общий подход к реакциям окисления, а также к трактовке их биологической роли. Французский микробиолог Л. Пастер обнаружил, что в присутствии кислорода некоторые микроорганизмы, источники процессов брожения, погибают, а другие теряют способность к брожению и переходят на дыхание, резко снижая при этом количество потребляемого сахара. Эту группу микроорганизмов биологи назвали факультативными анаэробами, т. е. способными к жизни как в кислородной атмосфере, так и без кислорода. Фундаментальное значение своего открытия великий его соотечественник А. Лавуазье осознал только в 1876 г., придя к выводу, что дыхание и брожение — разновидности энергетических процессов, основная

задача которых сводится не к разложению веществ до конечных продуктов, а к обеспечению «новообразования» (т. е. биосинтеза) компонентов клетки.

Энергетическая роль окислительных реакций особенно наглядно была видна на бактериях, открытых в 1887 г. русским микробиологом С. Н. Виноградским. Эти микроорганизмы питаются углекислым газом воздуха, как и фотосинтезирующие зелёные растения. Источником же энергии для них, как установил автор, служит реакция окисления неорганической серы до сульфата. Виноградский сразу оценил значение этого факта для понимания того, чем в действительности является дыхание с точки зрения химии. Он высказал также идею, что факультативно анаэробные почвенные бактерии-денитрификаторы, восстанавливающие нитрат-ион до молекулярного азота, на деле всегда дышат, но способны использовать нитрат-ион с той целью, с которой большинство высших организмов использует кислород, — в качестве конечного акцептора энергии обмена веществ.

Сущность окислительно-восстановительных превращений стала ясна с созданием электронной теории строения веществ и механизмов реакций. Термодинамические расчёты позволили прояснить энергетическую роль этого класса реакций и оказались особенно необходимы для определения последовательности энергодающих реакций обмена. Основное же число биохимических работ в первой половине XX столетия было посвящено расшифровке промежуточных реакций распада углеводов, жирных кислот и аминокислот.

Ярким примером может служить янтарная кислота (сукцинат) — первый среди открытых промежуточных продуктов дыхания:



Её симметричная структура чрезвычайно устойчива к действию окислителей, и она выдерживает, в частности, многочасовое кипячение в азотной кислоте. Однако в присутствии суспензии измельчённых клеток печени янтарная кислота при комнатной температуре всего за одну минуту окисляет-

ся кислородом воздуха. Объяснить закономерности этой и многих других биохимических реакций оказалось возможным только с привлечением представлений о высокоспецифичных биокатализаторах — ферментах. Поскольку свойством избирательности не обладают неорганические катализаторы (платина, уголь), ранние теории биологического окисления, построенные на аналогии с неорганическими реакциями, пришлось впоследствии существенно пересмотреть. До настоящих дней энзимологи, которые изучают строение и молекулярный механизм действия ферментов, среди теоретиков биохимии занимают ведущее положение.

Согласно современным представлениям, сложившимся к началу 1970-х гг., биологическое окисление у всех организмов протекает в три стадии.

На *первой* стадии углеродный скелет основных компонентов питательных веществ (углеводы, жирные кислоты и некоторые аминокислоты) расщепляется и переводится в форму остатка уксусной кислоты (CH_3CO), связанного с коферментом А (ацетил- CoA).

На следующей, *второй*, стадии ацетил- CoA конденсируется со щавелево-уксусной кислотой, образуя лимонную кислоту, и вступает в ферментативный окислительный цикл превращений, называемый *циклом лимонной кислоты*, или *циклом Кребса*. В этой «топливной камере» организма рано или поздно связи $\text{C}-\text{C}$ и $\text{C}-\text{H}$ всех биомолекул окончательно окисляются до углекислого газа и воды и образуется основное биотопливо — водород, который вместе с избыточными электронами при помощи ферментов-дегидрогеназ промежуточных карбоновых кислот цикла переносится на пиридиновые (НАД) или флавиновые (ФАД) нуклеотиды.

С окисления этих первичных акцепторов водорода начинается *третья*, заключительная стадия процесса, в ходе которой водород (в виде ионов H^+) и электроны через ряд промежуточных переносчиков, расположенных в порядке постепенного снижения восстановительной способности, передаются на молекулярный кислород с образованием конечного восстановленного продукта — воды. Ука-

занная ферментативная последовательность окислительно-восстановительных реакций получила название *дыхательной, или электронтранспортной, цепи*.

Ферменты цикла лимонной кислоты и дыхательной цепи локализованы на внутренней мембране митохондрий — высокоспециализированных клеточных органелл, называемых «силовыми подстанциями» организма. Термодинамические расчёты показали, что согласованная работа ферментов цикла лимонной кислоты и дыхательной цепи способна обеспечить выделение примерно 75% энергии биологического окисления. Источником «жизненной силы», по существу, является та же реакция гремучего газа, но разделённая на ряд промежуточных стадий, так что освобождающаяся энергия выделяется не сразу, а порциями. При этом функционирование ферментов цикла лимонной кислоты и дыхательной цепи находится под жёстким контролем как внутриклеточных механизмов, так и организма в целом, что позволяет эффективно накапливать и наиболее полно использовать энергию обмена веществ для нужд организма.

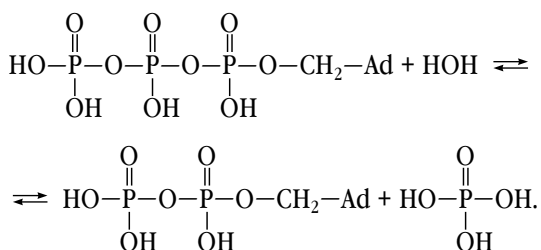
Сложность организации извлечения энергии внешних ресурсов дополняется сложностью механизма, путём которого достигается её преобразование во внутренние формы, способные непосредственно участвовать в энергозависимых процессах организма, таких, как биосинтезы, сокращение мышц, проведение нервного импульса. Процесс, в основе которого лежит указанный механизм, получил название *окислительного фосфорилирования*.

Сопряжение дыхания с синтезом аденозинтрифосфата (АТФ) было открыто в 1930 г. русским биохимиком В. А. Энгельгардтом на птичьих эритроцитах — клетках, сочетающих интенсивное дыхание с повышенным уровнем фосфорного обмена. В то же время АТФ стал недавно известен как соединение, вызывающее сильный разогрев при добавлении к препаратам измельчённых тканей. Немецкие биохимики О. Мейергоф и К. Ломанн, в лаборатории которых в 1929 г. был выделен АТФ, предложили называть такие

вещества высокоэнергетическими соединениями.

Реакции с участием АТФ, в отличие от окислительно-восстановительных реакций, способны непосредственно обеспечить энергией любой биохимический процесс, независимо от конкретного типа реакции, лежащей в его основе. АТФ в реакциях фосфорилирования может рассматриваться как энергетический аналог сильного восстановителя в реакциях окисления, имеющий концевую фосфорильную группу с высоким потенциалом переноса.

Рассмотрим реакцию гидролиза АТФ:



С точки зрения термодинамики она эквивалентна окислительно-восстановительной реакции, протекающей по градиенту редокс-потенциала, а её продукты являются аналогами окисленной формы восстановителя (аденозиндифосфат, АДФ) и электронов, перенесённых на молекулу акцептора (фосфорильная группа в составе фосфорной кислоты). Реагенты для удобства иллюстрации принципа действия АТФ записаны в молекулярной форме, хотя на деле они присутствуют в клетке в виде многозаряженных анионов, причём фосфорная кислота — в виде смеси одно- и двузарядных анионов, точное соотношение между которыми до сих пор неизвестно (биохимики для краткости эту смесь называют неорганическим фосфатом).

Введение АТФ и акцептора её высокоэнергетической группы, например, в ферментативную систему синтеза полимера способно существенно изменить равновесие действующих масс реагентов, которое в клетке в норме всегда сдвинуто в сторону мономеров, и тем самым инициировать протекание реакции синтеза.

Таким образом энергия переноса высокоэнергетической группы АТФ в присутствии фермента преобразуется в энергию синтезированного продукта, тогда как в растворе она рассеивается в тепло. Это и есть то, что биохимики понимают под термином «энергетическое сопряжение».

Сам же АТФ в клетке синтезируется более сложным способом. Одних принципов термодинамики и ферментативной кинетики оказывается недостаточно, чтобы объяснить механизм сопряжения химически разнородных реакций — окисления и фосфорилирования. Как только было доказано сопряжение синтеза АТФ непосредственно с работой дыхательной цепи (гипотезу сопряжения синтеза АТФ с переносом водорода по дыхательной цепи выдвинул в 1939 г. русский биохимик В. А. Белицер), начались попытки приготовить ферментативную систему синтеза АТФ каким-либо из очищенных компонентов дыхательной цепи в растворе с целью найти кофермент или промежуточные соединения, сопрягающие эти две системы. Однако усилия биохимиков многих стран, предпринятые в этом направлении, ни к чему не привели. Проблема поиска механизма окислительного фосфорилирования в 1950—1960 гг. была признана одной из крупнейших в теоретической биохимии, выходящей за рамки данной исследовательской области.

Из множества гипотез, предложенных для объяснения принципа синтеза АТФ, наиболее полное объяснение всех феноменов давала хемиосмотическая гипотеза сопряжения окисления и фосфорилирования, разработанная в 1961—1966 гг. английским биохимиком П. Митчеллом. Согласно её основному постулату окисление и синтез АТФ сопрягаются через разность электрохимических потенциалов ионов водорода ($\Delta\mu_{\text{H}}$), которая образуется на мембране митохондрий за счёт энергии переноса электронов по дыхательной цепи. Ключевой сопрягающий фермент системы

окислительного фосфорилирования — аденозинтрифосфатаза (АТФ-аза), встроенная в ту же мембрану и в норме гидролизующая АТФ. Новизна гипотезы Митчелла состояла в предположении, что АТФ-аза начинает катализировать обратную регенерацию АТФ из АДФ и фосфата, т. е. работать в синтазном режиме, как только $\Delta\mu_{\text{H}}$, образованная дыхательной цепью, достигает определённого порогового значения (200 мВ). У большинства организмов именно за счёт энергии $\Delta\mu_{\text{H}}$ образуется основное количество АТФ (около 95%), а также прямым или косвенным путём совершаются разные виды биологической работы.

Изучение ферментативного механизма синтеза первичных форм энергии в организмах — $\Delta\mu_{\text{H}}$ и АТФ — выделило биоэнергетику в самостоятельную отрасль биохимических знаний. Некоторые его молекулярные аспекты, однако, до сих пор остаются предметом многочисленных дискуссий. Несмотря на то что расшифрованы трёхмерные структуры основных комплексов дыхательной цепи и АТФ-синтазы, говорить с полной уверенностью, что достигнуто понимание молекулярного механизма сопряжения, ещё рано. Окончательную точку во многих нерешённых вопросах биохимии поставят результаты измерений на целостных клетках и тканях, продуктивное развитие которых, как сейчас представляется, будет тесно связано с уровнем развития нанотехнологий.

ЛИТЕРАТУРА

- Гутина В. Н.** Очерки по истории физиологии микроорганизмов. — М.: Наука, 1988.
- Кривобокова С. С.** Биологическое окисление. Исторический очерк. — М.: Наука, 1971.
- Скулачёв В. П.** Рассказы о биоэнергетике. — 2-е изд. — М.: Молодая гвардия, 1985.
- Шамин А. Н.** История биологической химии. — Т. 1. Истоки науки. — М.: Наука, 1990.
- Шамин А. Н.** История биологической химии. — Т. 2. Формирование биохимии. — М.: Наука, 1993.

Ключевые слова: биологическое окисление, дыхание, биоэнергетические процессы, цикл лимонной кислоты, дыхательная цепь, окислительное фосфорилирование, электрохимический потенциал ионов водорода, аденозинтрифосфат (АТФ).

Key words: Biological oxidation, breathing (respiration), bio-energy processes, citric acid cycle, respiratory chain, oxidizing phosphorylation, electrochemical potential of hydrogen ions, adenosine triphosphate (ATP).