



УДК 577.158.7

**СИНТЕТИЧЕСКИЕ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КАТАЛИЗАТОРЫ —  
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АНАЛОГИ ФЕРМЕНТА ПЕРОКСИДАЗЫ***Пшежецкий В. С., Ярославов А. А.**Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,  
химический факультет*

Исследованы каталитические свойства гемина и его комплексов с имидазолом и поли-N-винилимидазолом в реакции окисления бензидина перекисью водорода в водном растворе. Изучена кинетика этой реакции и показано, что механизм этого процесса аналогичен механизму, протекающему на ферменте пероксидазе, и включает следующие стадии: связывание молекул перекиси водорода и бензидина на катализаторе с образованием реакционно-способного пероксокомплекса и далее последовательное окисление двух аминогрупп молекулы бензидина. Установлено, что активность комплекса гемина с имидазолом в изученной реакции выше активности гемина и его комплекса с поли-N-винилимидазолом.

Разработка высокомолекулярных гомогенных катализаторов, основанных на принципах действия ферментов, обладающих высокой активностью и селективностью действия в мягких условиях, — важная проблема, находящаяся на стыке ферментативного и неферментативного гомогенного катализа и физикохимии высокомолекулярных соединений.

Одним из путей построения катализаторов указанного типа является использование фрагментов активных центров ферментов для создания на их основе активных центров в синтетических высокомолекулярных системах [1, 2].

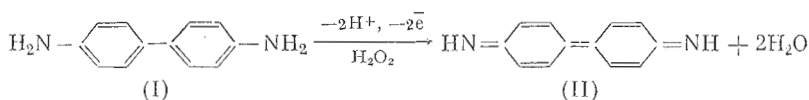
В данной работе в качестве моделируемого фермента была выбрана пероксидаза, относящаяся к классу гемопротеидов и осуществляющая процессы окисления и окислительного дегидрирования органических соединений с помощью перекиси водорода [3]. Так как каталитическое превращение субстрата в пероксидазе осуществляется на гемине, составляющем основу активного центра, гемин был выбран для построения активных центров и в синтетических катализаторах.

В ферменте пероксидазе взаимодействие иона  $Fe^{+3}$  гемина с имидазолом в большой мере обуславливает его пероксидазную активность [4, 5]. Поэтому мы исследовали каталитические свойства комплексов гемина как с низкомолекулярным имидазолом, так и с имидазолом, связанным с макромолекулами. Относительно этих комплексов можно было предполагать, что их электронные состояния близки к электронному состоянию активного центра фермента пероксидазы. Нами были изучены каталитические свойства гемина и его комплексов с имидазолом и поли-N-винилимидазолом.

В качестве модельного окисляемого вещества был выбран бензидин, поскольку он многократно применялся в качестве модельного соединения при исследовании пероксидазы и константы скорости его окисления на

ферменте определены. В то же время скорость его некаталитического окисления перекисью водорода пренебрежимо мала в сравнении с каталитическим окислением, что важно для измерения скорости каталитической реакции. Применение бензидина в качестве окисляемого субстрата удобно также благодаря четким характерным изменениям спектров поглощения при его окислении.

При пероксидазном окислении на гемине бензидина наблюдаются определенные изменения его спектра (рис. 1.) Падение оптической плотности максимума поглощения бензидина ( $\lambda_{\text{макс}}$  282 нм), ее увеличение в видимой области спектра, а также наличие изобестической точки при  $\lambda$  297 нм указывает на образование в результате окисления бензидина одного соединения. Зависимость изменения оптической плотности в ультрафиолетовой и видимой областях спектра ( $\lambda$  282 нм,  $\epsilon$   $1,12 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$  и  $\lambda$  400 нм,  $\epsilon$   $7,2 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ ) от времени характеризуется одной кривой (рис. 2а), которая спрямляется в координатах уравнения первого порядка по бензидину (рис. 2б). Реакция пероксидазного окисления бензидина (I) состоит в переходе двух атомов водорода к молекуле перекиси водорода и, по-видимому, приводит к образованию полисопряженного соединения (II)



В работе [6] соединение (II) также рассматривается как возможный продукт окисления бензидина.

*Образование комплекса гемин—имидазол.* Состояние комплекса гемина с имидазолом, а также самого гемина в растворе в большой степени зависит от природы растворителя, pH среды, ионной силы, буферной системы и других факторов. На основании исследований по спектроскопии комплексов ряда порфиринов с  $\text{Fe}^{+3}$  в водных и водно-этанольных средах [7—10] можно заключить, что в водной среде при нейтральных pH комплекс  $\text{Fe}^{+3}$ —протопорфирин-IX ассоциирован и образует димеры с константой равновесия  $4,5 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$  [7].

Спектры разбавленных водных растворов гемина в видимой области в интервале pH 4—7,5 (рис. 3, 1—3) полностью совпадают со спектрами димерного гемина [8]. При исследованных концентрациях гемина ( $10^{-6}$ — $2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ ) выполняется закон Ламберта-Бера, что указывает на неизменность степени его ассоциации. Титрование гемина имидазолом при pH 6 и 7,5 приводит к образованию комплекса гемин—(имидазол)<sub>2</sub> ( $\text{Гм}-(\text{Им})_2$ ) (рис. 3, 2' и 3'). При pH 4 полностью протонированный имидазол не образует комплекса с гемом. Рассмотренные спектры, а также спектр высокомолекулярного комплекса гемин—поли-N-винилимидазол ( $\text{Гм}-\text{ПВИ}$ ) (рис. 3, 4) позволяют определить  $\lambda_{\text{макс}}$ , при которой были сняты кривые образования этих комплексов (рис. 4а, б).

На основании спектральных данных и сопоставления их с данными по кинетике окисления бензидина можно сделать следующие выводы:

1) в окислительном дегидрировании бензидина принимают участие комплексы мономерного гемина, содержащего в качестве лигандов две молекулы имидазола (комплекс  $\text{Гм}-(\text{Им})_2$ ) [8]. Для высокомолекулярного комплекса  $\text{Гм}-\text{ПВИ}$  число координационно связанных с гемом имидазольных фрагментов неизвестно;

2) константа связывания молекулы имидазола с комплексом гемин—имидазол ( $K_{1/2}$ ) при pH 6 равна  $510^3 \text{ M}^{-1}$ , а при pH 7,5— $710^3 \text{ M}^{-1}$ . Константа связывания гемина с поли-N-винилимидазолом на порядок выше константы образования низкомолекулярного комплекса и равна  $3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1}$ ;

3) пероксидазная активность имидазольных комплексов  $\text{Гм}-(\text{Им})_2$  существенно больше активности димерного гемина, не содержащего амин в качестве лигандов, и выше активности комплекса  $\text{Гм}-\text{ПВИ}$ .

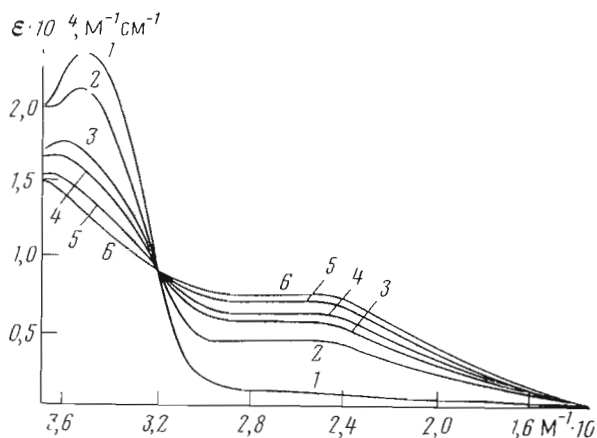


Рис. 1. Спектр бензидина (1) и его изменения при окислении на гемине (2—6)

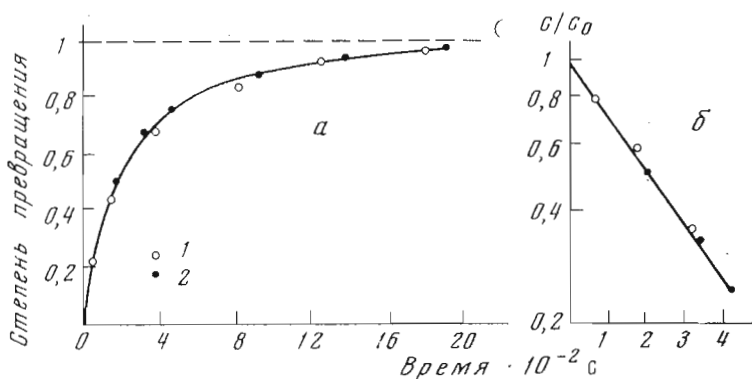


Рис. 2. а — кинетическая кривая окисления бензидина на гемине, определенная при 280 нм (1) и 400 нм (2); б — та же кривая в координатах уравнения первого порядка

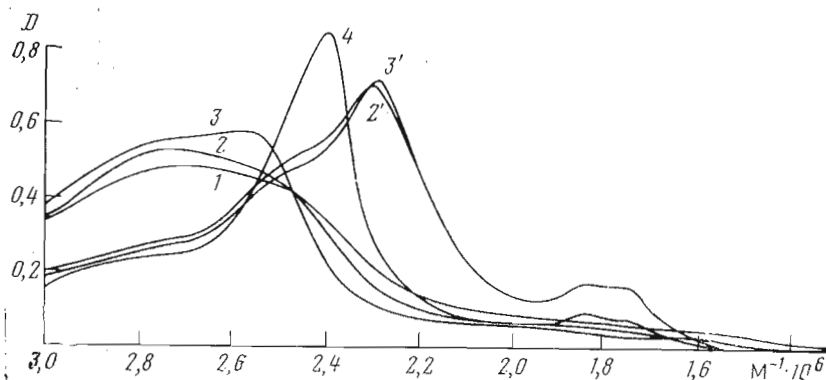


Рис. 3. Спектр гемина ( $1,2 \cdot 10^{-5}$  М) (1—3) и его комплексов с имидазолом  $10^{-1}$  М (2') и  $10^{-2}$  М (3') и поли-N-винylimидазолом ( $1,7 \cdot 10^{-4}$  М) (4) в видимой области при различных рН: 1 — 4; 2, 2' — 6; 3, 3', 4 — 7,5

*Кинетика и механизм пероксидазного окисления бензидина.* Первой стадией механизма ферментативной пероксидазной реакции является связывание молекулы перекиси водорода на активном центре. При этом в образующемся комплексе происходит смещение электронной плотности от гемина к перекиси водорода.

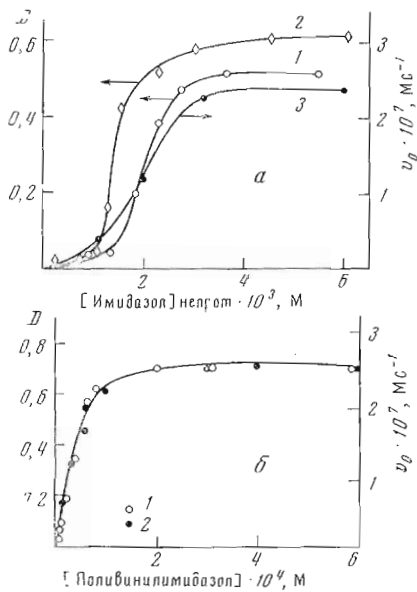


Рис. 4

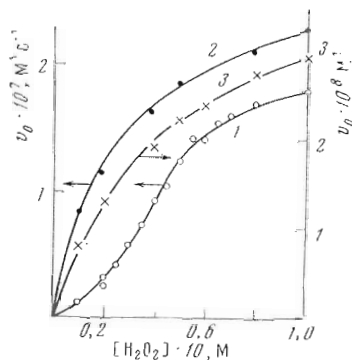


Рис. 5

Рис. 4. *a* — изменение оптической плотности ( $\lambda$  432 нм) при образовании комплекса Гм—(Им)<sub>2</sub> ([гемин]  $1,2 \cdot 10^{-5}$  М; рН: 1 — 6; 2 — 7,5) и зависимость скорости окисления бензидина ( $10^{-4}$  М) на этом комплексе от концентрации имидазола (3) ([гемин]  $5 \cdot 10^{-7}$  М); *b* — изменение оптической плотности ( $\lambda$  408 нм) при образовании комплекса Гм—ПВИ (1) ([гемин]  $10^{-5}$  М) и зависимость скорости окисления бензидина ( $5 \cdot 10^{-5}$  М) на этом комплексе от концентрации поли-N-винилимидазола (2) ([гемин]  $2 \cdot 10^{-6}$  М, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]  $4,5 \cdot 10^{-3}$  М)

Рис. 5. Зависимость скорости окисления бензидина на гемине ( $2 \cdot 10^{-6}$  М) (1) и на его комплексах Гм—(Им)<sub>2</sub> ( $3,6 \cdot 10^{-7}$  М) (2) и Гм—ПВИ ( $8,6 \cdot 10^{-7}$  М) (3) от концентрации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Концентрация бензидина (М): 1, 3 —  $5 \cdot 10^{-4}$ ; 2 —  $2 \cdot 10^{-4}$

Зависимости скорости реакции пероксидазного окисления бензидина на гемине и его комплексах с имидазолом и поли-N-винилимидазолом от концентрации перекиси водорода (рис. 5) также указывают на наличие стадии связывания перекиси водорода на всех трех катализаторах. S-образная зависимость для реакции, протекающей на гемине, свидетельствует о связывании двух молекул перекиси водорода. На комплексах Гм—(Им)<sub>2</sub> и Гм—ПВИ, как и на ферменте, связывается одна молекула перекиси водорода. Стехиометрия процесса окислительного дегидрирования бензидина говорит о том, что в реакции в виде субстрата участвует только одна из двух связанных с геминном молекул перекиси водорода. Можно предположить, что другая молекула перекиси водорода играет роль лиганда — донора электронов (аналогично имидазолу), что делает возможной передачу электрона другой молекуле перекиси — окислителю. Как видно из сопоставления данных (рис. 5 и таблица), пероксидазная активность гемина меньше активности его комплекса с одной молекулой перекиси водорода.

С увеличением концентрации бензидина скорость реакции для исследованных катализаторов стремится к предельным значениям (рис. 6). Вероятно, это обусловлено тем, что бензидин, как и перекись водорода, образует комплекс с этими катализаторами. В пользу этого свидетельствует изменение поглощения в спектре гемина в области полосы Сорс, происходящее при добавлении к гемину бензидина (рис. 7). Изменения в спектре гемина наблюдаются при соотношении бензидин — гемин  $\geq 10^3$ . Отклонение от линейности зависимости скорости реакции от концентрации бензидина для катализатора гемин—перекись водорода происходит при

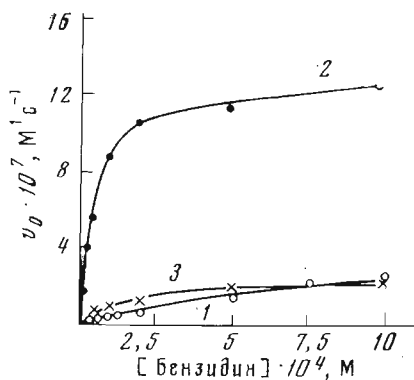


Рис. 6

Рис. 6. Зависимость скорости окисления бензидина от концентрации бензидина на катализаторах Гм—H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1), Гм—(Им)<sub>2</sub> (2), Гм—ПВИ (3)

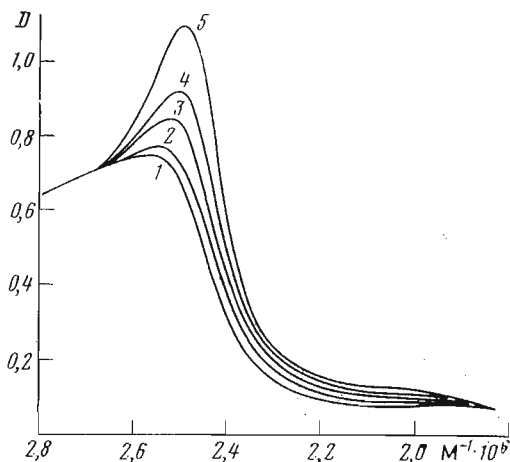
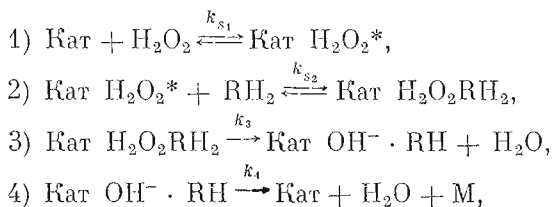


Рис. 7

Рис. 7. Образование комплекса гемина ( $1,5 \cdot 10^{-5}$  M) с бензидином. Концентрация бензидина (M): 1 — 0; 2 —  $10^{-2}$ ; 3 —  $2 \cdot 10^{-2}$ ; 4 —  $3 \cdot 10^{-2}$ ; 5 —  $4 \cdot 10^{-2}$

этом же соотношении концентраций компонентов. С комплексами Гм—(Им)<sub>2</sub> и Гм—ПВИ бензидин связывается гораздо сильнее, чем с геминем, по-видимому, в результате взаимодействия его ароматических молекул с низкомолекулярным и полимерным имидазолом.

На основании приведенных данных механизм окислительного дегидрирования бензидина на исследованных комплексах гемина можно представить следующей схемой:



где RH<sub>2</sub> — бензидин, а М — окисленный бензидин. Эта схема предполагает, что в первой стадии образуется комплекс катализатор — перекись водорода, в котором происходит смещение электронной плотности от гемина к молекуле перекиси водорода. Во второй стадии с образовавшимся пероксокомплексом связывается бензидин, который в дальнейшем последовательно окисляется по двум аминогруппам (третья и четвертая стадии). Эта схема подтверждается данными спектрального исследования данной

Значение констант связывания перекиси водорода и бензидина, а также констант скорости реакции окисления бензидина на гемине и его комплексах с имидазолом и поли-N-винилимидазолом

Катализатор	$K_{s1}, \text{M} \cdot 10^2$	$K_{s2}, \text{M}$	$k_3, \text{с}^{-1}$
Гемин — H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3,8 (первая молекула) 4,5 (вторая молекула)	$1,1 \cdot 10^{-3}$	0,24
Гемин — (Им) <sub>2</sub>	3	$6,2 \cdot 10^{-5}$	2
Гемин — ПВИ	4,4	$4,3 \cdot 10^{-4}$	0,15

Примечание. Ошибка в определении констант скоростей 15—25%.

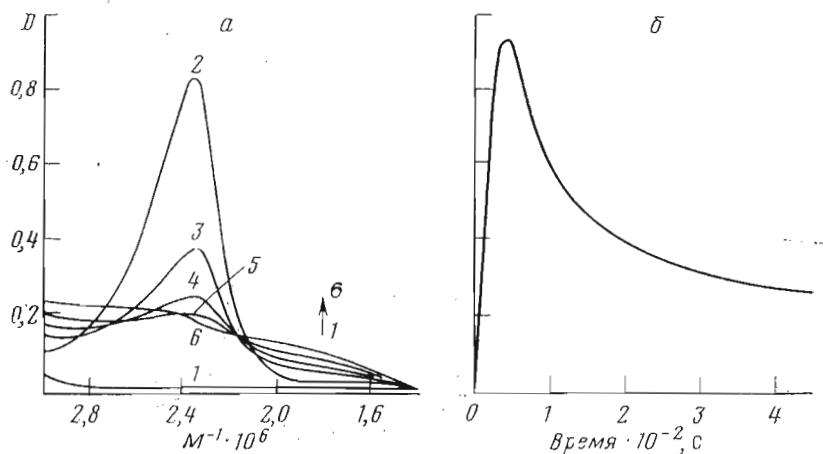
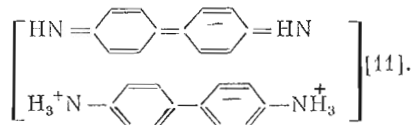


Рис. 8. а — спектр перексидазного окисления бензидина ( $4 \cdot 10^{-6}$  М) на гемине ( $4 \cdot 10^{-6}$  М). Время (мин): 1 — 0; 2 — 1; 3 — 4; 4 — 6; 5 — 9; 6 — 14. б — кинетическая кривая изменения оптической плотности при  $\lambda$  425 нм и рН 4

реакции, при котором были зафиксированы две стадии окисления бензидина. Так, если реакцию проводить в интервале рН 4—5, то в спектре в первые несколько секунд появляется максимум, расположенный при  $\lambda$  425 нм, который в дальнейшем исчезает, переходя в спектр конечного продукта реакции (рис. 8а).

В ряде работ появление продукта с максимумом при  $\lambda$  425 нм приписывают комплексу окисленной молекулы бензидина с исходной:



Однако, как показали опыты, повторное введение бензидина в реакционную систему, в которой присутствует окисленный бензидин, не приводит к быстрому образованию вышеуказанного комплекса, а кинетическая кривая повторяет исходную кинетическую кривую, т. е. вновь происходит накопление продукта с  $\lambda_{\text{макс}}$  425 нм в результате окисления добавленного бензидина (рис. 8б). Кроме того, при концентрациях бензидина, соизмеримых с концентрацией катализатора, практически весь бензидин переходит в указанное промежуточное соединение, что вытекает из постоянства величины коэффициента экстинкции  $\epsilon$ , равного  $3,3 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ . Таким образом, появление «короткоживущего» максимума в спектре при  $\lambda$  425 нм и последующий его переход в область поглощения конечного продукта указывает на то, что окисление бензидина происходит в две стадии. По-видимому, на первой стадии образуется катион-радикал строения  $\text{HN}^{\cdot}-\text{C}_6\text{H}_4=\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}_3^+$ . Можно полагать, что возможность наблюдать в ходе реакции при рН 4—5 накопление бензидина, дегидрированного в одной аминогруппе, обусловлена тем, что в среде с более высокой концентрацией протонов стадия 4 (схема реакции) тормозится вследствие нейтрализации ионов  $\text{OH}^-$ . С увеличением рН значение максимума в спектре падает и исчезает при рН 6—7,5; очевидно, стадия 4 при этих рН перестает быть лимитирующей стадией процесса.

Зависимости скорости реакции образования промежуточного продукта от концентрации перекиси водорода и бензидина на гемине при рН 4, так же как и при рН 7,5, характеризуются тенденцией к «запределению» с ростом концентраций обоих субстратов. Это указывает на то, что ме-

ханизм пероксидазного окисления бензидина на гемине сохраняется и в области значительно более кислых рН.

Приведенная схема реакций окисления бензидина в предположении стационарности концентраций комплексов  $\text{Kat}-\text{H}_2\text{O}_2$  и  $\text{Kat}-\text{H}_2\text{O}_2-\text{RH}_2$ , а также комплекса, содержащего однократно дегидрированный бензидин  $\text{Kat}-\text{OH}-\dot{\text{R}}\text{H}$ , в условиях  $[\text{H}_2\text{O}_2] \gg [\text{Kat}]$  и  $[\text{RH}_2] \gg [\text{Kat}]$  приводит к следующему уравнению скорости реакции:

$$-\frac{d[\text{RH}_2]}{dt} = \frac{k_3 [\text{Kat}][\text{H}_2\text{O}_2][\text{RH}_2]}{K_{s_1}K_{s_2} + K_{s_1}[\text{H}_2\text{O}_2] + K_{s_2}[\text{RH}_2] + [\text{H}_2\text{O}_2][\text{RH}_2]}, \quad (1)$$

где  $K_{s_1} = k_{-1}/k_1$  и  $K_{s_2} = k_{-2}/k_2$  — константы диссоциации пероксокомплекса и комплекса, сорбировавшего бензидин, соответственно.

Значения констант, входящих в уравнение (1), можно определить только для экстремальных условий, когда скорость реакции становится не зависящей от концентрации перекиси водорода или  $\text{RH}_2$ . При избытке того или другого компонентов все активные центры либо находятся в виде пероксокомплексов (избыток  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), либо связаны с  $\text{RH}_2$  (избыток  $\text{RH}_2$ ). В этих условиях уравнение скорости реакции упрощается:

$$[\text{Kat}-\text{H}_2\text{O}_2] = [\text{Kat}]; \quad -\frac{d[\text{RH}_2]}{dt} = \frac{k_3 [\text{Kat}][\text{RH}_2]}{K_{s_2} + [\text{RH}_2]}, \quad (2)$$

$$[\text{Kat}-\text{RH}_2] = [\text{Kat}]; \quad -\frac{d[\text{RH}_2]}{dt} = \frac{k_3 [\text{Kat}][\text{H}_2\text{O}_2]}{K_{s_1} + [\text{H}_2\text{O}_2]}. \quad (3)$$

Графическая обработка зависимостей скорости реакции от концентрации бензидина и перекиси водорода, полученных в экстремальных условиях, осуществленная по уравнениям (2) и (3), дает приведенные в таблице значения констант, характеризующих стадии 1—3.

Из приведенных в таблице значений констант следует, что связывание молекулы перекиси водорода на всех исследованных катализаторах происходит с близкими константами равновесия. Более высокое значение константы скорости  $k_3$  для комплекса Гм—(Им)<sub>2</sub> свидетельствует о значительной активации гемина имидазолом. Полимерный имидазол активирует гемин значительно слабее низкомолекулярного, по-видимому, вследствие его меньшей нуклеофильности ( $pK_a$  имидазола 7, поли-N-винилимидазола — 5,6).

*Сопоставление комплексов гемина с пероксидазой.* Проведенное исследование выявило ряд общих черт в кинетике и механизме реакции пероксидазного окисления у изученных комплексов гемина и фермента пероксидазы:

1) использование имидазола в качестве лиганда гемина по аналогии со строением активного центра пероксидазы приводит к значительной активации последнего в исследованной реакции;

2) аналогично ферментативному процессу реакция окисления бензидина на рассмотренных катализаторах протекает по стадийному механизму;

3) основу механизма пероксидазной реакции составляет реакционная способность образующегося на первой стадии пероксокомплекса, которая растет с увеличением электронодонорных свойств лиганда гемина;

4) так же как и в реакции, протекающей на пероксидазе, перекись водорода является акцептором, а гемин — донором электронов. Попытки построить катализатор пероксидазной реакции на основе комплексов  $\text{Fe}^{+3}$  и других переходных металлов с различными аминами, в частности с имидазолом, без участия гемина не дали положительных результатов, что указывает на исключительность строения железопорфиринового комплекса.

## Экспериментальная часть

Использовали гемин фирмы Koch-Light (Англия) марки ч. Его концентрацию в водном растворе определяли спектрофотометрически при  $\lambda$  393 нм, принимая коэффициент экстинкции  $\epsilon$   $5 \cdot 10^4$  М<sup>-1</sup>см<sup>-1</sup> [12]. Имидазол (Reanal, Венгрия) и бензидин марки ч. употребляли без дополнительной очистки. Поли-N-винилимидазол был любезно предоставлен Г. Д. Рудковской (Институт высокомолекулярных соединений АН СССР, Ленинград). Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> (30% водный раствор) была дважды перегнана в вакууме в кварцевой посуде. За скоростью реакции следили по изменению оптической плотности бензидина при  $\lambda$  400 нм (измерения проводились на 16-кюветном автоматическом спектрофотометре Gemsac (Electro-Nucleonics, США)). Реакцию окисления бензидина проводили в фосфатном буфере, который готовили из 0,05 М растворов Н<sub>3</sub>Р<sub>0</sub><sub>4</sub> и Na<sub>2</sub>НР<sub>0</sub><sub>4</sub> (рН 4—5,5) или КН<sub>2</sub>Р<sub>0</sub><sub>4</sub> и Na<sub>2</sub>НР<sub>0</sub><sub>4</sub> (рН 5,5—9). рН измеряли на потенциометре типа рН-метр-673. Спектры гемина и его комплексов с аминами в ультрафиолетовой и видимой области снимали на самопишущем спектрофотометре типа Specord UV-VIS (ГДР).

Минимальное время начала записи спектра от момента сливания реагентов  $\sim$  10 с.

Все опыты по окислению бензидина, кроме оговоренных специально, проводили в 0,05 М фосфатном буфере (рН 7,5) при 25° и концентрации Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> 10<sup>-1</sup> М. При окислении бензидина ( $4 \cdot 10^{-5}$  М) на гемине ( $4,6 \cdot 10^{-6}$  М) регистрировали спектр бензидина до окисления и после 6—21 мин окисления (рис. 1, 2). Зависимость скорости окисления бензидина от концентрации бензидина на катализаторах Гм—Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>, Гм—(Им)<sub>2</sub> ( $1,2 \cdot 10^{-6}$  М) и Гм—ПВИ ( $2 \cdot 10^{-6}$  М) определяли при концентрации Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>  $2 \cdot 10^{-1}$  М (рис. 6). Зависимость скорости реакции окисления бензидина на гемине и его комплексах определяли при следующих концентрациях реагентов (М): гемин —  $2 \cdot 10^{-6}$ , Гм—(Им)<sub>2</sub> —  $1,8 \cdot 10^{-7}$ , Гм—ПВИ —  $8,6 \cdot 10^{-7}$ , бензидин —  $10^{-3}$ , Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> —  $2 \cdot 10^{-1}$ .

Авторы выражают благодарность В. А. Кабанову за полезные советы при обсуждении результатов, Г. Д. Рудковской за предоставленный поли-N-винилимидазол, А. С. Полинскому за участие в проведении некоторых экспериментов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Pshezhetskii V. S., Jaroslavov A. A. (1974) FEBS Lett., 49, 29—32.
2. Пшежецкий В. С., Ярославов А. А. (1975) Биооргани. химия, 1, 691—701.
3. Диксон М., Уэбб Э. (1966) Ферменты, с. 96—99, «Мир», М.
4. Brill A. S., Sandberg H. E. (1968) Biochemistry, 7, 4254—4260.
5. Critchlow J. E., Dunford H. B. (1972) J. Biol. Chem., 247, 3703—3713.
6. Ianagi J., Sekuzu I., Orii J., Okunuki K. (1972) J. Biochem., 71, 47—56.
7. Brown S. B., Dean T. C., Jones P. (1970) Biochem. J., 117, 733—739.
8. Gallagher W. A., Elliott W. B. (1973) Ann. N. Y. Acad. Sci., 463—472.
9. Kolski G. B., Plane R. A. (1971) J. Amer. Chem. Soc., 94, 3740—3744.
10. Davies T. H. (1973) Biochim. et biophys. acta, 329, 108—117.
11. Welcher F. J. (1947) Organic analytical reagents, vol. 2, ch. 9, D. Van Nostrand Company, Inc., N. Y.
12. Irada J., Shibata K. (1962) Biochem. and Biophys. Res. Commun., 9, 323—331.

Поступила в редакцию

23.XII.1976

После доработки

31.III.1977



# SYNTHETIC HIGH MOLECULAR WEIGHT CATALYSTS AS FUNCTIONAL ANALOGS OF PEROXIDASE

PSHEZHETSKII V. S., JAROSLAVOV A. A.

*Department of Chemistry, M. V. Lomonosov State University, Moscow*

Catalytic properties of haemin and its complexes with imidazole and poly-N-vinylimidazole were investigated in the reaction of benzidine oxidation by hydrogen peroxide in aqueous solution. The kinetics of the reaction were studied and the mechanism of this process was found to be analogous to that of peroxidase action and to involve the following stages: binding of  $H_2O_2$  and benzidine molecules to the catalyst thus forming a reactive peroxo-complex, and then consecutive oxidation of the two benzidine amino groups mediated by the complex. It was also found that the activity of haemin-imidazole complex in the aforementioned reaction is considerably higher than that of either haemin itself or its complex with poly-N-vinylimidazole.

---