

Е.В. УСОВА, Я.В. ФАЛЕТРОВ, В.М. ШКУМАТОВ

**НОВАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ПРОВЕРКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ФЕРМЕНТЫ БИОСИНТЕЗА
И ИНАКТИВАЦИИ СТЕРОИДОВ**

An influence of some steroid biosynthesis modifiers on 17 α -hydroxylation and 20-reduction reactions ratio has been studied using recombinant yeast *S. cerevisiae* GRF18 YEp5117a. Mifepristone and danazol did not modify covalently both amino acid residues and haem of P450c17 at experiment conditions. Ketoconazole acted on P450C17 like low affinity ligand type II, forming coordinating bond with haem iron of P450c17. These results suggest that mifepristone, danazol and ketoconazole act on P450c17 like low affine competitive inhibitors and do not modify functional properties of yeast analogue of 20 α -HSD.

Многофункциональная ферментная система 17 α -гидроксилаза-17,20-лиаза с цитохромом P450c17 (далее - P450c17) в качестве терминальной оксидазы обеспечивает в клетках коры надпочечников человека разветвление путей биосинтеза на 17-дезоксиды (минералкортикоиды) и 17 α -гидрокси-кортикостероиды (глюкокортикоиды), а также катализирует реакцию расщепления связи C17-C20, приводящую к образованию половых гормонов [1-4]. Проявление нескольких активностей одной протомерной формой белка характерно также и для других цитохромов P450, участвующих в биосинтезе стероидов, в частности, для P450scs при установлении его первичной структуры и изучении структурно-функциональной организации [5, 6].

В последнее время гетерологическая экспрессия P450c17 млекопитающих в клетках микроорганизмов используется по ряду направлений. Первое связано с выделением и очисткой P450c17 для изучения роли природных или направленных замен в первичной структуре этого белка, сопровождающихся нарушением гидроксилазной или лиазной реакций [7-9]. Второе направление предусматривает использование гетерологической экспрессии для создания модельных систем поиска эффективных ингибиторов P450c17 и изучения действия лекарственных субстанций на ферменты биосинтеза стероидов [10-12]. В рамках третьего направления осуществляется конструирование рекомбинантных микроорганизмов, способных к направленным биотрансформациям стероидных субстратов [13-16]. Ранее мы описали гетерологическую экспрессию P450c17 в *Saccharomyces cerevisiae* GRF18 под контролем промотора GAL10 [17, 18]. Экспрессированный P450c17 был функционально сопряжен с собственной цитохром P450 редуктазой дрожжей с числом оборотов *in vivo* 10-20 мин⁻¹. Характерным свойством рекомбинантного штамма *S. cerevisiae* GRF 18 YEp5117a при биотрансформации прогестерона на неселективной богатой среде YP-галактоза являлось образование на начальных этапах с выходом более 80% 17 α -гидроксипрогестерона, который затем количественно превращался в 17 α , 20 α -дигидроксипрегн-4-ен-3-он [17, 18] (рис. 1).

В связи с доказанной последовательностью превращений прогестерона рекомбинантный штамм *S. cerevisiae* YEp5117a можно рассматривать в качестве модели для изучения метаболизма стероидов, поскольку он сочетает как биосинтетическую функцию 17 α -гидроксилирования, так и инактивирующую стероиды функцию 20-восстановления. В частности, терапия рака предстательной железы предполагает использование антиандрогенных препаратов, среди которых есть соединения - ингибиторы P450c17. Поэтому новые тест-системы для проверки эффективности действия данных ингибиторов являются важным элементом для разработки новых лекарственных препаратов. Исследование соотношения реакций 17 α -гидроксилирования и 20-восстановления под действием антагониста рецепторов прогестерона (мифепристон), ингибитора высвобождения АКТГ (даназол), ингибиторов цитохромов P450 различной субстратной специфичности (кетоконазол, метирапон) и некоторых других соединений (дексаметазона, 20 α - и 20 β -дигидропрогестеронов) являлось целью настоящей работы.

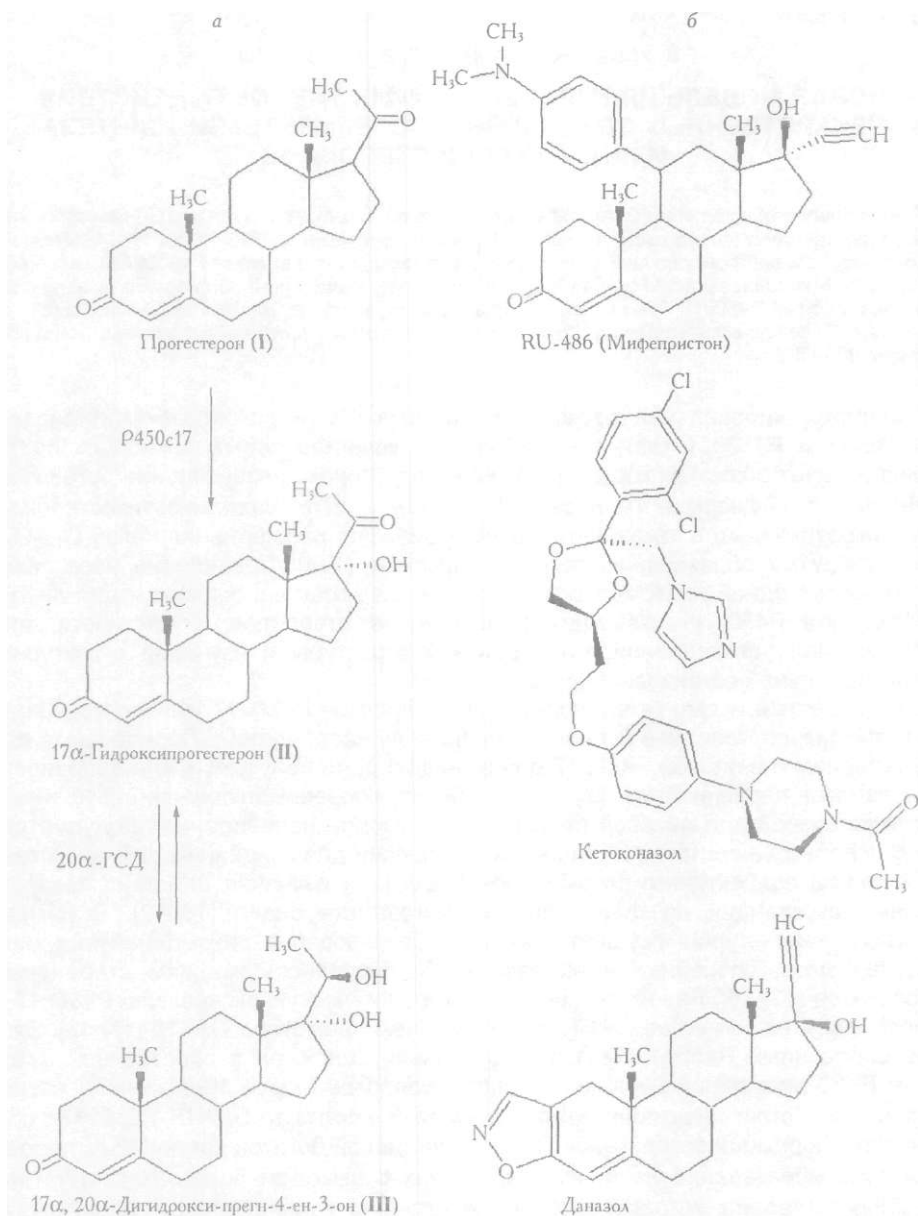


Рис. 1. Ферментативные реакции превращения прогестерона при использовании рекомбинантных микроорганизмов (а) и структуры модификаторов (б)

Материал и методика

Были использованы: прогестерон, 17 α -гидроксипрогестерон, даназол. (17 α -прегна-2,4-диен-20-ино(2,3-с)изоксазол-17-ол), кетоконазол (цис-1-ацетил-4-[4-[[2-(2,4-дихлорфенил)-2-(1Н-имидазол-1-ил-метил)-1,3-диоксолан-4-ил]метокси]фенил]пиперазин), мифепристон (RU 486) ((11 β ,17 β)-фенил-17-гидрокси-17-(1-пропинил)-эстра-4,9-диен-3-он), дексаметазон (9-фторо-11 β (3,17,21)-тригидрокси-16 α -метилпрегна-1,4-диен-3,20-дион), метирапон (2,3-бис(3-пиридил)-2-метил-пропанон-3), 20 α -дигидропрогестерон, 20 β -дигидропрогестерон («Sigma», США), среда YPD («Difco», США).

Рекомбинантные микроорганизмы и получение микросом. кДНК, кодирующая P450c17 из микросом коры надпочечников быка, была клонирована в челночный вектор YEp51 (LEU2, 2 μ ARS). Автономно реплицирующийся мультикопийный вектор YEp5117 α был встроен в штамм *S. cerevisiae* GRF18, что

приводило к экспрессии P450c17. Получение микросомальной фракции, оценку функциональной экспрессии, идентификацию целевого и побочных продуктов осуществляли по описанной ранее методике [17, 18].

Биотрансформация прогестерона рекомбинантными микроорганизмами в присутствии модификаторов биосинтеза стероидов. Через 24 ч после индукции синтеза P450c17 D-галактозой и культивирования на богатой неселективной среде YP-галактоза [17] добавляли модификаторы в концентрации 100 мкМ и через 2 ч прогестерон в концентрации 100 мкМ. Биотрансформацию осуществляли в колбах емкостью 200 мл при 28-29 °С на термостатируемом шейкере при 200 об/мин. Через определенные интервалы времени отбирали 1 мл инкубационной среды, клетки отделяли центрифугированием, надосадочную жидкость экстрагировали этилацетатом и объединенную органическую фазу упаривали на роторном испарителе. Сухой остаток растворяли в 500 мкп метанола и анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографической системе LC-10AT («Shimadzu», Япония). Для регистрации использовали УФ-детектор с диодной матрицей SPD-M10A. Процесс хроматографии и его обработку осуществляли с помощью программного обеспечения CLASS-VP («Shimadzu»).

Влияние модификаторов на функциональную активность P450c17. Микросомы дрожжей инкубировали в присутствии различных модификаторов в объеме 200 мкп 50 мМ натрий-фосфатного буфера (pH 7,2). Ферментативные исследования проводили при 37 °С с концентрацией прогестерона 0,25-2,0 мкМ, P450c17 - 0,02 мкМ. К пробам было добавлено по 100 000 имп./мин [3H]прогестерона (21,5 Ки/ммоль, «Amersham Pharmacia Biotech»). Модификаторы (10-120 мкМ) добавляли за 10 мин до начала реакции, которую инициировали NADPH (200 мкМ) и проводили в течение 10 мин. Стероиды экстрагировали из реакционной среды 500 мкп этилацетата, концентрировали упариванием и анализировали методом ТСХ на пластинках с силикагелем («Merck UV-254», Германия). Хроматографическая система - бензол - ацетон (4:1 по объему). Радиоактивно меченые стероиды визуализировали добавлением перед ТСХ к пробам стандартов прогестерона, 17 α -гидроксипрогестерона, 17 α , 20 α -дигидроксипрегн-4-ен-3-она и определяли их радиоактивность с использованием жидкостного сцинтилляционного счетчика Mark III («Tracor Analytic», США). Гиперболические зависимости начальных скоростей от концентрации субстрата линеаризировали в координатах Лайнуивера-Берка для определения максимальной скорости (V_{max}) и константы Михаэлиса (K_m). Значения констант ингибирования ($K_{инг}$) и характер ингибирования определяли с использованием уравнений для конкурентного и неконкурентного типов ингибирования ферментативных реакций.

Результаты и их обсуждение

На рис. 2 представлены хроматограммы изменения концентрации стероидных продуктов во внеклеточной среде при биотрансформации прогестерона рекомбинантными дрожжами *S. cerevisiae* YEp5117a (контроль) и с предварительным добавлением даназола, мифепристона и кетоконазола. Модификаторы добавлены в концентрации 100 мкМ за 2 ч до прогестерона (100 мкМ). Пик I - исходный субстрат - прогестерон (I), пик II - 17 α -гидроксипрогестерон (II) (продукт функционирования P450c17), пик III - 17 α ,20 α -дигидроксипрегн-4-ен-3-он (III) (продукт функционирования аналога 20http://vk.com/wantpic?w=page-35555977_49362542-ГСД) [17, 18]. Влияние двух модификаторов в наших экспериментах было обусловлено следующими причинами: 1) в условиях *in vivo* P450c17 может подвергаться непродуктивным циклам восстановления-окисления с образованием кислородсодержащих радикалов; 2) схожие по структуре с прогестероном даназол и мифепристон связываются в активном центре фермента; 3) их 17-этинильные фрагменты могут активироваться кислородными радикалами и выступать в качестве суицидных ингибиторов P450c17 [19, 20]. Такой механизм предполагает модификацию аминокислотных остатков активного центра или ковалентное связывание гемовой группы P450c17. Кетоконазол - широко используемый антигрибковый препарат - обладает избирательной ингибирующей способностью к цитохрому P450, катализирующему 14-деметилирование ланостерина. Установлено, что на начальных

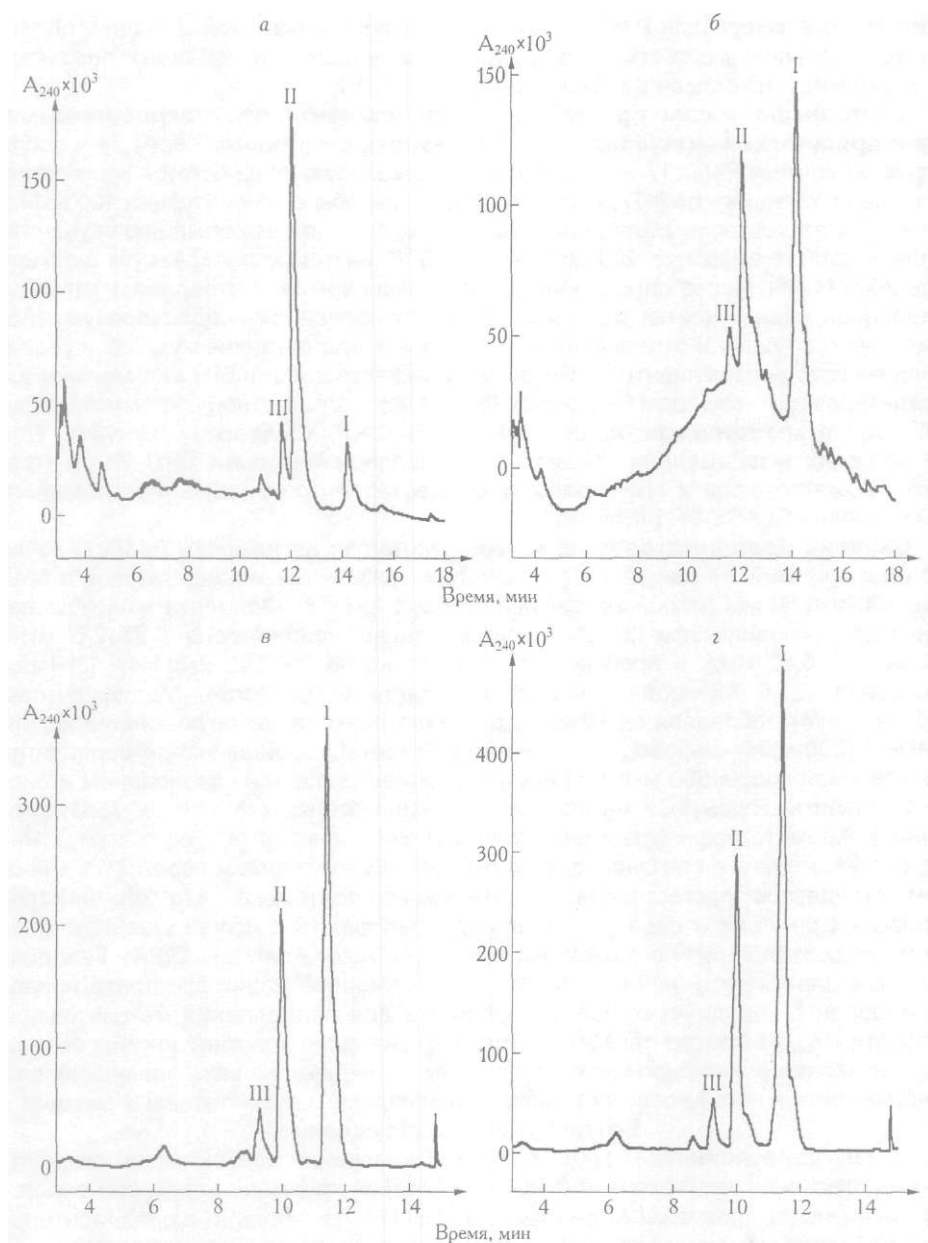


Рис. 2. ВЭЖХ стероидных продуктов, образующихся при биотрансформации прогестерона индуцированными D-галактозой клетками рекомбинантного штамма *S. cerevisiae* GRF18 Уер5117 через 6 ч инкубации без добавления модификаторов (а), в присутствии кетоконазола (б), даназола (в) и мифепристона (з). Колонка Kromasil 100-C18, 5 мкм, 125×4 мм, элюция в градиенте раствора ацетонитрила в H₂O [18]. Скорость элюирования 1 мл/мин, спектрофотометрическая регистрация в диапазоне 220–340 нм

этапах биотрансформации (до 6 ч) действие даназола, мифепристона и кетоконазола характеризовалось уменьшением образования 17 α -гидроксипрогестерона (II) и потребления прогестерона (I) (см. рис. 2). Замедленная трансформация прогестерона является результатом двух последовательных процессов - 17 α -гидроксилирования и 20 α -восстановления. При соотношении [ингибитор]/[P450c17] 1000:1 и [ингибитор]/[прогестерон] 1:1 *in vivo* не было зафиксировано необратимое ингибирование P450c17 за счет ковалентного связывания даназола или мифепристона в активном центре гемопротеида, так как обнаруживалось образование целевого продукта (II). Мифепристон, имеющий, как и стероид (II), со-

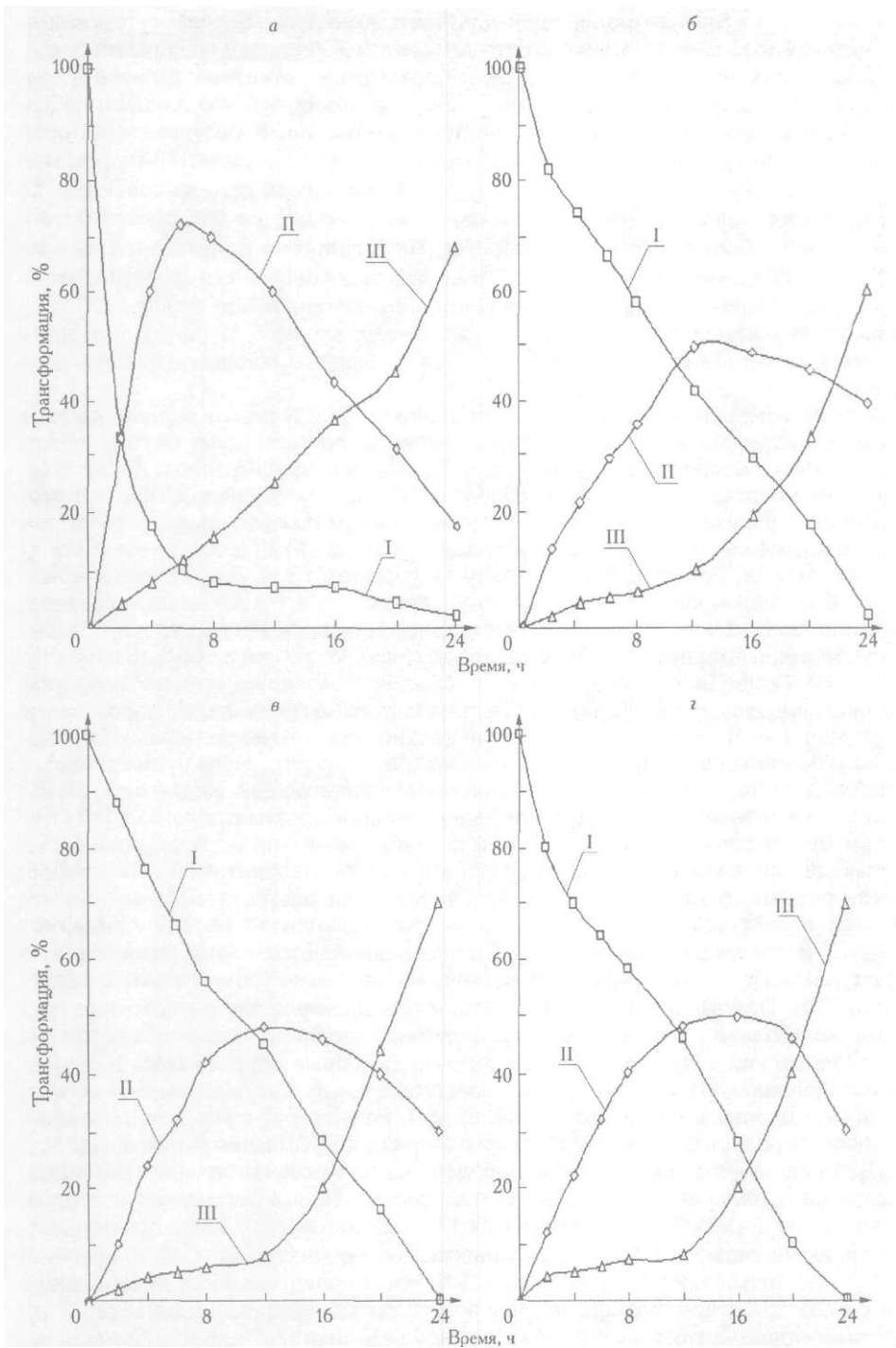


Рис. 3. Изменения содержания стероидов при биотрансформации прогестерона без добавления модификаторов (а), в присутствии кетоконазола (б), даназола (в) и мифепристона (г) рекомбинантными дрожжами *S. cerevisiae* GRF 18 УЕр5117 в течение 24 ч. Обозначения стероидов, как на рис. 1, 2

пряженную 3-кето-структуру и 17-ОН-группу, не изменял активность по структурно обусловленному механизму дрожжевого аналога 20α -гидроксистероиддегидрогеназы (далее - 20α -ГСД), поскольку соотношение 17α -гидроксипрогестерона (II) и $17\alpha, 20\alpha$ -дигидроксипрегн-4-ен-3-она (III) на начальных этапах было

одинаковым как для контроля, так и для биотрансформаций в присутствии модификатора (см. рис. 2). Спектрофотометрическим анализом элюционных кривых при ВЭЖХ во внеклеточной среде не обнаружено заметных количеств возможных метаболитов даназола и мифепристона. Известно, что даназол способен подвергаться микробиологической трансформации, в результате которой происходит раскрытие изоксазолового кольца с образованием 17 β -гидрокси-2-(гидроксиметил)-17 α -4-ен-20-ин-3-она и дополнительным дегидрированием по кольцу А стероидного скелета с образованием 17 β -гидрокси-2-(гидроксиметил)-17 α -1,4-диен-20-ин-3-она [19]. Метаболизм мифепристона с помощью цитохрома P450 (CYP-3A4) сопровождается A/деметилированием 11 α -диметиламинофенильной группы и гидроксильрованием 17 α -пропинильной группы [20, 21]. Только для мифепристона мы обнаружили выход менее 5 % более полярного продукта, идентификация которого является предметом последующих исследований.

Анализ изменения концентрации стероидных продуктов и модификаторов позволил установить, что скорость транспорта прогестерона внутрь клеток уменьшилась после предварительного добавления модификаторов: для прогестерона она составила 1,5 ч в контроле и 9-10 ч для биотрансформаций в присутствии модификаторов (рис. 3). Более медленным по сравнению с контролем было достижение максимальных выходов стероида (II) при введении в среду модификаторов. Так, выход этого продукта достигал 75 % уже через 5 ч в контроле, в то время как в присутствии модификаторов его максимальный выход составил около 50% после 12-16 ч биотрансформации прогестерона. Применение модификаторов способствовало увеличению лаг-фаз образования стероида (III). Приведенные результаты по кинетике изменения концентрации стероидных продуктов подтверждают последовательность реакций образования стероидов: см. рис. 3). Установлено, что в течение первых двух часов инкубации концентрации внеклеточного и внутриклеточного пулов модификаторов достигали эквивалентных величин с последующей медленной фазой поглощения в течение 24 ч. Достигнутые избытки модификаторов над P450c17 внутри клетки должны были привести в случае химической модификации белка производными даназола и мифепристона к полной необратимой инактивации синтезированного гемопротенида. Полученные нами результаты означали, что даназол и мифепристон поступают в клетки, ковалентно не модифицируют P450c17 и дрожжевой аналог 20 α -ГСД, но связываются с внутриклеточными структурами. Даназол и мифепристон не изменили также уровня синтеза аналога 20 α -ГСД. При этом нельзя исключить, что возможные внутриклеточные продукты метаболизма даназола и мифепристона, например гидроксильрованные производные или α , (β -ненасыщенные кетоны, способные образовывать в результате отщепления 17-гидроксигруппы электрофильный Михаэлевский акцептор, могли индуцировать синтез дегидрогеназ [22], например 1-ацил-дигидроксиацетон фосфат редуктазы, функционального аналога 20-ГСД млекопитающих [23]. Для установления прямого или опосредованного механизмов действия модификаторов в дальнейших экспериментах использовали мембранную фракцию, содержащую P450c17. Цитохром P450c17 быка характеризуется преимущественной активностью по 17 α -гидроксильрованию прогестерона, C17,20-лиазная реакции носит минорный характер [1, 2]. Поэтому предложенная нами модель для оценки действия модификаторов позволяет однозначно указать характер действия модификаторов именно на первую реакцию 17 α -гидроксильрования, кинетические параметры которой приведены в табл. 1; идентификация продуктов осуществлена ВЭЖХ и ТСХ-радиохроматографией. Образование 17 α , 20 α -дигидроксипрегн-4-ен-3-она (III) в условиях проведения реакций с микросомальной фракцией носило минорный характер и не учитывалось при оценке профиля стероидных продуктов. Агонист экспрессии рецепторов прогестерона - дексаметазон и ингибитор стероидтрансформирующего цитохрома P45011 p - метирапон практически не изменяли эффективность 17 α -гидроксильрования прогестерона, так как значения V_{max}/K_m для этих модификаторов соответствовали контрольным величинам. Наибольший ингибирующий эффект на P450c17 в

использованной системе оказывал 20 α -дигидропрогестерон, в результате применения которого V_{max}/K_m 0,42, в то время как 20 β -изомер - значительно меньший эффект (см. табл. 1). При использовании 20-стереоизомеров было установлено, что P450c17 не осуществляет прямой реакции 17 α -гидроксилирования этих субстратов, поскольку не было обнаружено образования соответствующих 17 α , 20(α , β)-диолюв. В зависимости от влияния на каталитические параметры P450c17 примененные модификаторы можно расположить в следующий ряд: 20 α -дигидропрогестерон (максимальный эффект, V_{max}/K_m 0,42) > мифепристон = кетоконазол > 20 β -гидроксипрогестерон > даназол > дексаметазон, метирапон (без эффекта, V_{max}/K_m 6,3 и 7,8). Относительно низкие эффекты применения даназола и мифепристона, которые первоначально были предложены для клинической практики как селективные ингибиторы P450c17, обусловлены малым структурным соответствием этих модификаторов и исходного субстрата прогестерона. Необходимо отметить, что введение уже одной гидроксильной группы (11 α -, 11 β -, 21-) в структуру прогестерона приводит к резкому уменьшению (вплоть до полного исчезновения) 17 α -гидроксилазной активности гетерологично экспрессированного P450c17 [17].

Таблица 1

Влияние модификаторов на 17 α -гидроксилирование прогестерона микросомальной фракцией из *S. cerevisiae* GRP18 EYp5117 α , содержащей P450c17 коры надпочечников быка

Модификатор (25 мкМ)	V_{max} мкМ ⁻¹	K_m мкМ	V_{max}/K_m
Контроль	8,3	1,1	7,5
Даназол	7,0	1,5	4,7
Мифепристон	7,9	1,5	5,3
Кетоконазол	7,5	4,0	1,9
Дексаметазон	8,6	1,2	7,2
Метирапон	7,4	1,0	7,4
20 α -Дигидропрогестерон	2,5	6,0	0,42
20 β -Дигидропрогестерон	7,0	2,5	2,8

Для определения механизма ингибирующего действия модификаторов использованы кинетические параметры 17 α -гидроксилирования прогестерона в присутствии различных концентраций модификаторов. Ингибиторный анализ с помощью представления в координатах Диксона позволил определить значения констант ингибирования и характер ингибирования (табл. 2). При этом даназол, мифепристон и кетоконазол определены как конкурентные ингибиторы, а дигидропроизводные прогестерона - как ингибиторы смешанного типа действия. Такого рода механизм может предполагать сложный характер взаимодействия с субстратсвязывающим и каталитическим центрами P450c17. Сравнивая значения констант Михаэлиса по прогестерону и полученные значения констант ингибирования, можно заключить, что исследованные соединения являются низкоаффинными ингибиторами P450c17 (значения $K_{инг}$ превышают в 30-80 раз значение K_m). Это делает проблематичным их использование как селективных лекарственных средств для лечения заболеваний, связанных с дисфункцией синтеза кортикостероидов и половых гормонов.

Таблица 2

Тип и константы ингибирования рекомбинантного P450c17 из коры надпочечников быка в составе микросомальной фракции *S. cerevisiae* GRF18 YEр5117 α

Модификатор	$K_{инг}$, мкМ
Даназол	40 (К)
Мифепристон	60 (К)
Кетоконазол	45 (К)
20 α -Дигидропрогестерон	15(С)
20(3-Дигидропрогестерон	80 (С)

Примечание. К - конкурентный, С - смешанный тип ингибирования.

Таким образом, предложена новая аналитическая система первичного скрининга лекарственных соединений, способных модифицировать биосинтез и метаболизм стероидных гормонов. Эта система представляет собой рекомбинантные микроорганизмы, синтезирующие P450c17 быка и дрожжевой аналог 20 α -ПД млекопитающих, и выгодно отличается от предложенных ранее на основе экспрессии P450c17 в бактериях [10-12]. Мифепристон и даназол не модифицируют ковалентно аминокислотные остатки P450c17 или его гемовую группу, а кетоконазол действует как низкоаффинный лиганд типа II, координационно связываясь с железом гема P450c17. Установлено, что мифепристон, даназол и кетоконазол являются конкурентными ингибиторами с низким сродством к P450c17 и не оказывают влияния на функциональные свойства аналога 20 α -ГС Д.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б04МС-030) и INTAS (CA-03-51-4366).

1. Nakajin, S., Hall, P. F. // J. Biol. Chem. 1981. Vol. 256. P. 3871.
2. Nakajin, S., Shinoda, M., Haniu, M. et al. // J. Biol. Chem. 1984. Vol. 259. P. 3971.
3. Shkumatov, V.M., Usanov, S.A., Chashchin, V.L., Akhrem, A.A. // Pharmazie. 1985. Vol. 40. № 3. P. 757.
4. Miller, W.L. // J. Steroid Biochem. 1987. Vol. 27. P. 759.
5. Chashchin, V.L., Vasilevsky, V.I., Shkumatov, V.M., Akhrem, A.A. // Biochem. Biophys. Acta. 1984. Vol. 787. P. 27.
6. Chashchin, V.L., Vasilevsky, V.I., Shkumatov, V.M. et al. // Biochem. Biophys. Acta. 1984. Vol. 791. P. 375.
7. Lee-Robichaud, P., Akhtar, M.E., Akhtar, M. // Biochem. J. 1998. Vol. 330. P. 967.
8. Guryev, O.L., Gilep, A.A., Usanov, S.A., Estabrook R. W. // Biochemistry. 2001. Vol. 40. P. 5018.
9. Mathieu, A.P., Auchus, R.J., LeHoux, J, G. // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2002. Vol. 80. P. 99.
10. Ehmer, P.B., Jose, J., Hartman, R.W. // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2000. Vol. 75. P. 57.
11. Ar 11, W., Auchus, R.J., Miller, W. L. // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276. P. 16767.
12. Auchus, R.J., Kumar, S.A., Boswell, A. C. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2003. Vol. 409. P. 134.
13. Shibata, M., Sakaki, T., Yabusaki, Y. et al. // DNA Cell Biol. 1990. Vol. 9. P. 27.
14. Sakaki, T., Akiyoshi-Shibata, M., Yabusaki, Y. et al. // Pharmacogenetics. 1991. Vol. 1. P. 86.
15. Dupont, C., Spagnoli, R., Degryse, E., Pompon, D. // Nat. Biotechnol. 1998. Vol. 16. P. 186.
16. Szczebara, F.M., Chandelier, C., Villeret, C. et al. // Nat. Biotechnol. 2003. Vol. 21. P. 143.
17. Шкуматов, В.М., Усова, Е.В., Поляков, Ю.С. и др. // Биохимия. 2002. Т. 67. С. 547.
18. Шкуматов, В.М., Усова, Е.В., Радюк, В.Г. и др. // Биоорганическая химия. 2003. Т. 29. С. 640.
19. Choudhary, M.I., Azizuddin, Atta-ur-Rahman // Nat. Prod. Lett. 2002. Vol. 16. P. 101.
20. He, K., Woolf, T.F., Hollenberg, P. F. // J. Pharm. Exper. Ther. 1999. Vol. 288. Ns 2. P. 791.
21. Khan, K.K., He, Y.Q., Correia, M.A., Halpert, J. R. // Drug Metab. Dispos. 2002. Vol. 30. № 9. P. 985.
22. Burczynski, M.E., Sridhar, G.R., Palackal, N.T., Penning, T.M. // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276. № 4. P. 2890.
23. Vico, P., Cauet, G., Rose, K. et al. // Yeast. 2002. Vol. 19. P. 873.

Поступила в редакцию 11.02.05.

Елена Викентьевна Усова - инженер первой категории лаборатории биохимии лекарственных препаратов НИИФХП БГУ.

Ярослав Вячеславович Фалетров - магистрант кафедры высокомолекулярных соединений.

Владимир Макарович Шкуматов - доктор биологических наук, заведующий лабораторией биохимии лекарственных препаратов НИИФХП БГУ.

УДК 546.56:541.621:541.141.7

ВИТАЛИЙ Э. МАТУЛИС, О.А. ИВАШКЕВИЧ

ВЛИЯНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОГО И ЭЛЕКТРОННОГО СТРОЕНИЯ МАЛЫХ КЛАСТЕРОВ СЕРЕБРА И МЕДИ НА ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С МОЛЕКУЛОЙ NO

A comparative analysis of geometry and electronic characteristics, namely, vertical detachment energies (VDE) and excitation energies of neutral clusters with geometry of anions (T_e) of anionic silver and copper clusters has been carried out within DFT model using a new functional developed recently. The obtained data show that the most stable anionic silver and copper clusters have very similar geometry. It has been shown, that properties defined by mainly s-electrons should be very similar for copper and silver clusters. The role of cf-electrons along with VDE and ionization potential in catalytic activity is discussed in context of interaction of silver and copper tetramers with NO molecule. To study the influence of «ionic» versus «metallic» bonding on NO adsorption, the reactivity of Cu_2Au_2 cluster towards NO molecule has been studied and compared with the data obtained for Cu_2Ag_2 cluster.

Ранее [1, 2] для исследования пространственного и электронного строения кластеров серебра и меди нами был разработан полуэмпирический обменно-корреляционный функционал S2LYP:

$$\alpha \cdot E^S + \beta \cdot E^{HF} + \gamma \cdot E^{LYP} + \delta \cdot E^{VWN} + \epsilon \cdot E_x + (1-\alpha)E_{\sigma} + \rho \cdot E_c + (1-\rho)E_{\sigma} ,$$