

## СМЕШАНОЛИГАНДНОЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ЦИНКА С ОРНИТИНОМ И ГИСТИДИНОМ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

© 2023 г. М. Г. Никитина<sup>а</sup>, М. С. Груздев<sup>а</sup>, Д. Ф. Пырэу<sup>б, \*</sup>

<sup>а</sup>Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, ул. Академическая, 1, Иваново, 153045 Россия

<sup>б</sup>Ивановский государственный университет, ул. Ермака, 39, Иваново, 153025 Россия

\*e-mail: pyreu@mail.ru

Поступила в редакцию 30.08.2022 г.

После доработки 28.11.2022 г.

Принята к публикации 30.11.2022 г.

Методами рН-метрии, калориметрии и ЯМР-спектроскопии изучено образование смешаннолигандных комплексов различного состава в системе Zn–L-гистидин (His)–L-орнитин (Orn). Рассчитаны термодинамические параметры ( $\lg K$ ,  $\Delta_r G^0$ ,  $\Delta_r H$ ,  $\Delta_r S$ ) реакций их образования при 298.15 К и ионной силе  $I = 0.5$  (KNO<sub>3</sub>). На основании проведенного сравнительного анализа термодинамических параметров предложен наиболее вероятный способ координации аминокислотных остатков в составе смешанных комплексов.

**Ключевые слова:** смешаннолигандное комплексообразование, гистидин, орнитин, калориметрия, цинк, дентатность

DOI: 10.31857/S0044457X22700167, EDN: JFWMYN

### ВВЕДЕНИЕ

Различные виды межлигандного взаимодействия и факторы, способствующие росту устойчивости смешанных комплексов 3d-металлов с аминокислотами с дополнительными донорными группами, такими как гистидин, лизин, орнитин, аргинин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, были исследованы в работах [1, 2]. На примере многочисленных комплексов Cu(II) с указанными аминокислотами L- и D-рядов были рассмотрены не только возникающие стереоселективные эффекты, но и различные виды межлигандного взаимодействия посредством водородных связей,  $\pi$ – $\pi$ -стекинга (в случае аминокислот с ароматическим фрагментом). При этом авторы изучали в основном комплексы Cu(II), в которых в силу тетрагонального искажения эти эффекты проявляются сильнее. Значительно реже в этом аспекте рассматриваются комплексы Ni и Zn, имеющие, как правило, октаэдрическое окружение.

Интерес к смешанному комплексообразованию 3d-металлов с биологически активными молекулами не снижается. Смешанные комплексы Cu(II), Ni, Zn с гистидином и производными имидазола служат моделями связывания катиона металла с олигогистидиновыми фрагментами, активно используемыми при модификации белковых молекул с целью их разделения посредством аффинной ИМАС-хроматографии, а также таргетирования [3, 4]. Комплексы меди(II)

с L-гистидином способствуют эффективному расщеплению плазмидной ДНК при физиологических значениях рН и температуры [5]. Нуклеазная активность комплексов цинка в последнее время также активно изучается [6, 7]. Условием успешного использования комплексов, в том числе смешанных, в различных медико-биологических методиках является тщательное изучение равновесий с их участием.

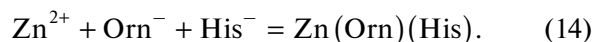
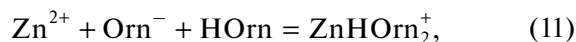
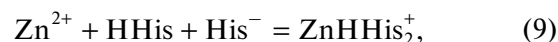
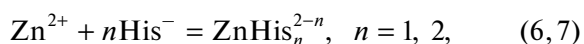
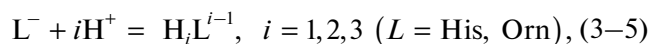
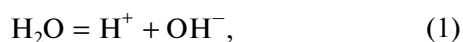
Ранее тройные системы M(II)–His–Orn (M = Ni, Zn) исследовали в основном потенциометрическим методом [8, 9], и структурный аспект в этих работах ограничивался почти исключительно анализом констант равновесия. Более того, в указанных работах в основном рассчитывали константы устойчивости смешанных комплексов с двумя аминокислотными остатками, вследствие чего уточнение ионного состава растворов и выявление особенностей координации указанных аминокислотных остатков в смешанных комплексах на основе сравнительного анализа термодинамических данных является актуальным. Поскольку аминокислоты основного типа (His, Lys, Orn) способны к поливариантной координации как в составе цвиттер-ионной, так и в составе анионной формы, выявление типа координации аминокислотного остатка только по результатам рН-потенциометрии крайне затруднительно и требует привлечения данных целого ряда методов. Часто в определенном диапазоне рН в растворе од-

новременно присутствует несколько комплексных частиц с относительно небольшими долями накопления. Поэтому для надежного определения их физико-химических характеристик требуется корректный учет вклада каждой из рассматриваемых частиц. При этом информативность данных того или иного метода в зависимости от объекта исследования может быть совершенно различной. Все вышесказанное позволяет утверждать, что независимое определение состава комплексов и их констант устойчивости потенциометрическим (или подходящим спектральным) методом с последующим расчетом термодинамических характеристик равновесий комплексообразования по данным калориметрии является предпочтительным, а часто даже единственно возможным. Такой подход хорошо себя зарекомендовал.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Солянокислые L-гистидин (Reanal) и L-орнитин (Acros) марки “ч. д. а.” использовали без дополнительной очистки. Концентрацию рабочего раствора (1 моль/кг раствора) сульфата цинка квалификации “х. ч.” устанавливали комплексометрически. Бескарбонатный раствор гидроксида натрия готовили по обычной методике на дистиллированной воде, свободной от  $\text{CO}_2$ . Используемый для создания ионной силы нитрат калия марки “ч. д. а.” дважды перекристаллизовывали из водного раствора.

В ходе работы была проведена серия рН-метрических титрований растворов ( $\text{ZnSO}_4 + \text{HHis} \cdot \text{HCl} + \text{HOrn} \cdot \text{HCl} + \text{KNO}_3$ ) 0.2 М раствором NaOH при 25°C и ионной силе 0.5 ( $\text{KNO}_3$ ) при соотношениях  $\text{Zn} : \text{His} : \text{Orn} = 1 : 1 : 1$ ,  $1 : 2 : 1$  и  $1 : 1 : 2$ . В ячейку для титрования помещали 20 мл титруемого раствора и добавляли титрант (3–5 мл). При этом величина рН менялась в диапазонах 4–8.3 ( $\text{Ni} : \text{His} : \text{Orn} = 1 : 1 : 1$ ), 4–9.3 ( $\text{Ni} : \text{His} : \text{Orn} = 1 : 1 : 2$ ) и 4–10.0 ( $\text{Ni} : \text{His} : \text{Orn} = 1 : 2 : 1$ ). Концентрация ионов цинка во всех опытах составляла 0.01 моль/л. Методика измерения ЭДС цепи со стеклянным электродом и ее калибровки была аналогична приведенной в [10]. Обработку экспериментальных данных рН-метрических измерений проводили по программе PHMETR [11], основанной на минимизации функции правдоподобия  $F = \sum (\text{p}_\text{cH}_\text{эксп} - \text{p}_\text{cH}_\text{расч})^2$ , где  $\text{p}_\text{cH} = -\lg[\text{H}^+]$  — соответственно экспериментальные и рассчитанные по модели величины с учетом протекания реакций:



Обработку потенциометрических данных проводили аналогично [10]. В случае соотношения  $\text{Zn} : \text{His} : \text{Orn} = 1 : 1 : 1$  согласие между рассчитанной кривой и экспериментом достигалось при учете образования смешанных комплексов состава  $\text{Zn}(\text{Orn})(\text{His})$ ,  $\text{Zn}(\text{HOrn})(\text{His})^+$  и  $\text{ZnH}_2(\text{Orn})(\text{His})^{2+}$ . При соотношении  $\text{Zn} : \text{His} : \text{Orn} = 1 : 1 : 2$  адекватной была модель комплексообразования, которая учитывала смешанные комплексы состава  $\text{ZnH}_i(\text{His})(\text{Orn})_2$ , где  $(i = 1, 2, 3)$  (заряд опущен) наряду с однороднолигандными комплексами и смешанными комплексами состава  $1 : 1 : 1$ . Образование комплекса  $\text{Zn}(\text{His})(\text{Orn})_2^-$  не выявлено по причине гетерогенного характера системы при высоких значениях рН. В случае соотношения  $\text{Zn} : \text{His} : \text{Orn} = 1 : 2 : 1$  соответствие расчетных и экспериментальных кривых титрования достигалось при учете образования комплексов состава  $\text{Zn}(\text{His})_2(\text{Orn})^-$ ,  $\text{NiH}(\text{His})_2(\text{Orn})$  и  $\text{NiH}_2(\text{His})_2(\text{Orn})^+$ .

Значения  $\lg K$  реакций (3)–(5) для гистидина (9.02 и 15.07 соответственно) и орнитина (10.52 и 19.35 соответственно) были взяты из критических обзоров [12, 13], значения констант устойчивости однороднолигандных комплексов  $\text{Zn}$  с орнитином и гистидином — из надежно выполненных работ [14, 15] соответственно (табл. S1). Рассчитанные константы устойчивости смешанных комплексов приведены в табл. 1. Диаграммы долевого распределения в изучаемой системе при различных соотношениях  $\text{Zn} : \text{His} : \text{Orn}$  представлены на рис. 1–3.

Определение тепловых эффектов проводили на ампульном калориметре смешения с изотермической оболочкой и термисторным датчиком температуры. Надежность работы калориметра проверяли по теплоте растворения KCl в воде при 298.15 К. Были измерены тепловые эффекты смешения  $\Delta_\text{mix}H$  раствора сульфата  $\text{Zn}$  с щелочными растворами аминокислот, содержащими фоновый электролит  $\text{KNO}_3$  (табл. S2). Концентрация цинка после смешения составляла 0.005 моль/л. Компьютерное моделирование равновесий по программе RRSU [11] позволяло подобрать опти-

**Таблица 1.** Термодинамические параметры реакций образования смешаннолигандных комплексов в системе  $\text{Zn}^{2+}$ –His–Orn– $\text{H}^+$  при 298.15 К и  $I = 0.5$  ( $\text{KNO}_3$ )

| Равновесие                                                                                        | $\lg K$            | $-\Delta_r G^0$ ,<br>кДж/моль | $\Delta_r H$ ,<br>кДж/моль | $\Delta_r S$ ,<br>Дж/(моль К) |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| $\text{Zn}^{2+} + \text{His}^- + \text{Orn}^- = \text{ZnHisOrn}$                                  | $12.23 \pm 0.07$   | $69.81 \pm 0.49$              | $-43.75 \pm 0.67$          | $87.4 \pm 2.8$                |
| $\text{Zn}^{2+} + \text{Orn}^- + \text{His}^- + \text{H}^+ = \text{ZnHOrnHis}^+$                  | $20.84 \pm 0.06$   | $118.95 \pm 0.34$             | $-83.74 \pm 0.93$          | $118.1 \pm 3.9$               |
| $\text{Zn}^{2+} + \text{Orn}^- + \text{His}^- + 2\text{H}^+ = \text{ZnHHisHOrn}^{2+}$             | $28.14 \pm 0.05$   | $160.62 \pm 0.30$             | $-123.68 \pm 1.45$         | $123.9 \pm 4.8$               |
| $\text{Zn}^{2+} + 2\text{His}^- + \text{Orn}^- = \text{ZnHis}_2\text{Orn}^-$                      | $15.84 \pm 0.08$   | $90.41 \pm 0.46$              | $-48.88 \pm 0.30$          | $139.3 \pm 1.8$               |
| $\text{Zn}^{2+} + 2\text{His}^- + \text{Orn}^- + \text{H}^+ = \text{ZnHHis}_2\text{Orn}$          | $25.63 \pm 0.08$   | $146.29 \pm 0.46$             | $-109.32 \pm 0.45$         | $124.0 \pm 4.2$               |
| $\text{Zn}^{2+} + 2\text{His}^- + \text{Orn}^- + 2\text{H}^+ = \text{ZnHHis}_2\text{HOrn}^+$      | $34.24 \pm 0.07$   | $195.44 \pm 0.40$             | $-143.88 \pm 0.27$         | $172.9 \pm 4.7$               |
| $\text{Zn}^{2+} + \text{His}^- + 2\text{Orn}^- + 3\text{H}^+ = \text{ZnHHis}(\text{HOrn})_2^{2+}$ | $42.27 \pm 0.14$   | $241.27 \pm 0.80$             | $-188.9 \pm 1.8$           | $183.7 \pm 5.2$               |
| $\text{Zn}^{2+} + \text{His}^- + 2\text{Orn}^- + 2\text{H}^+ = \text{ZnHis}(\text{HOrn})_2^+$     | $33.68 \pm 0.26$   | $192.2 \pm 1.5$               | $-136.6 \pm 2.2$           | $155 \pm 9$                   |
| $\text{ZnHis}^+ + \text{Orn}^- = \text{ZnHisOrn}$                                                 | $5.92 \pm 0.07$    | $33.79 \pm 0.40$              | $-23.65 \pm 0.67$          | $34.0 \pm 2.6$                |
| $\text{ZnHis}^+ + \text{HOrn} = \text{ZnHisHOrn}^+$                                               | $4.01 \pm 0.06^1$  | $22.89 \pm 0.34$              | $-11.72 \pm 0.93$          | $37.5 \pm 3.3$                |
|                                                                                                   | $5.70 \pm 0.06^2$  | $32.54 \pm 0.34$              | $-16.56 \pm 0.93$          | $53.6 \pm 3.3$                |
| $\text{Zn}^{2+} + \text{HOrn} + \text{HHis} = \text{ZnHHisHOrn}^{2+}$                             | $8.42 \pm 0.05^1$  | $48.06 \pm 0.30$              | $-26.61 \pm 1.45$          | $71.9 \pm 5.0$                |
|                                                                                                   | $11.35 \pm 0.05^2$ | $64.78 \pm 0.30$              | $-41.26 \pm 1.45$          | $78.9 \pm 5.0$                |
| $\text{ZnHisOrn} + \text{His}^- = \text{ZnHis}_2\text{Orn}^-$                                     | $3.61 \pm 0.10$    | $20.61 \pm 0.87$              | $-5.13 \pm 0.30$           | $51.9 \pm 3.1$                |
| $\text{ZnHis}_2 + \text{Orn}^- = \text{ZnHis}_2\text{Orn}^-$                                      | $4.00 \pm 0.07$    | $22.83 \pm 0.40$              | $-3.28 \pm 0.30$           | $65.6 \pm 1.7$                |
| $\text{ZnHis}_2 + \text{HOrn} = \text{ZnHHis}_2\text{Orn}$                                        | $3.27 \pm 0.08$    | $18.66 \pm 0.46$              | $-11.82 \pm 0.45$          | $22.9 \pm 2.2$                |
|                                                                                                   | $4.96 \pm 0.08$    | $28.31 \pm 0.46$              | $-16.64 \pm 0.45$          | $39.1 \pm 2.2$                |
| $\text{ZnHis}^+ + \text{HHis} + \text{HOrn} = \text{ZnHOrnHHis}_2^+$                              | $8.21 \pm 0.14^1$  | $46.86 \pm 0.80$              | $-26.71 \pm 0.27$          | $67.6 \pm 3.1$                |
|                                                                                                   | $11.14 \pm 0.14^2$ | $63.59 \pm 0.80$              | $-41.36 \pm 0.27$          | $74.6 \pm 3.1$                |
|                                                                                                   | $9.90 \pm 0.14^3$  | $56.51 \pm 0.80$              | $-31.55 \pm 0.27$          | $83.7 \pm 3.1$                |
| $\text{ZnHisOrn} + \text{HHis} = \text{ZnHHis}_2\text{Orn}$                                       | $4.20 \pm 0.11^1$  | $23.97 \pm 0.63$              | $-15.29 \pm 0.81$          | $29.1 \pm 3.4$                |
|                                                                                                   | $7.13 \pm 0.11^2$  | $40.70 \pm 0.63$              | $-29.94 \pm 0.81$          | $36.1 \pm 3.4$                |
|                                                                                                   | $12.03 \pm 0.14^1$ | $68.66 \pm 0.80$              | $-39.9 \pm 1.8$            | 97                            |
| $\text{Zn}^{2+} + \text{HHis} + 2\text{HOrn} = \text{ZnHHis}(\text{Horn})_2^{2+}$                 | $14.96 \pm 0.14^2$ | $85.39 \pm 0.80$              | $-54.6 \pm 1.8$            | 103                           |
| $\text{Zn}^{2+} + \text{His}^- + 2\text{HOrn} = \text{ZnHis}(\text{HOrn})_2^+$                    | $12.64 \pm 0.26$   | $72.26 \pm 1.5$               | $-32.8 \pm 2.2$            | 132                           |

<sup>1</sup>Данные рассчитаны с учетом протонирования  $\alpha$ -аминогруппы гистидина и  $\epsilon$ -аминогруппы орнитина.<sup>2</sup>Данные рассчитаны с учетом протонирования имидазольного фрагмента гистидина и  $\epsilon$ -аминогруппы орнитина.<sup>3</sup>Данные рассчитаны с учетом протонирования  $\alpha$ -аминогрупп гистидина и орнитина.

мальные условия проведения термохимического эксперимента. Обработку данных калориметрических измерений проводили по программе HEAT [11] с учетом вкладов процессов ионизации воды ( $\Delta_r H_{(1)} = -56.90$  кДж/моль) [16], протонирования аминокислот ( $\Delta_r H_{(3)} = -45.15$  кДж/моль,  $\Delta_r H_{(4)} = -75.65$  кДж/моль [17] для гистидина и  $\Delta_r H_{(3)} = -51.92$  кДж/моль,  $\Delta_r H_{(4)} = -99.00$  кДж/моль [18] для орнитина), образования однороднолигандных комплексов Zn с гистидином ( $\Delta_r H_{(6)} = -20.1$  кДж/моль,  $\Delta_r H_{(7)} = -45.6$  кДж/моль) [19] и смешанных комплексов указанных выше составов в суммарный тепловой эффект. Вклад

комплексов Zn с орнитином в суммарный тепловой эффект в данных условиях был небольшим.

Спектры ЯМР на ядрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  регистрировали на приборе Bruker AVANCE III-500 с частотами 500.17 МГц на ядрах протона и 125.76 МГц на ядрах углерода при температуре 298 К. Использование температурной приставки Bruker BVT 3000 позволяло поддерживать температуру с точностью 0.1 К. В качестве внешнего стандарта использовали циклогексан ( $\delta_{\text{эксп}} = 1.77$  м. д. для  $^1\text{H}$  и  $\delta_{\text{эксп}} = 27.6$  м. д. для  $^{13}\text{C}$ ). Была приготовлена серия растворов (растворитель –  $\text{D}_2\text{O}$ ) с соотношением  $\text{Zn} : \text{His} : \text{Orn} = 1 : 1 : 1$  и  $1 : 2 : 1$  при величине pH,

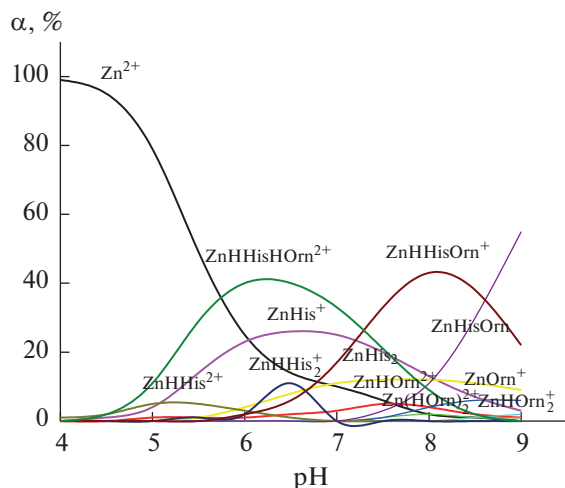


Рис. 1. Диаграмма долевого распределения частиц в системе  $\text{Zn}^{2+}$ –His–Orn– $\text{H}^+$  при соотношении Zn : His : Orn = 1 : 1 : 1 ( $C_{\text{Zn}} = 0.01$  моль/л).

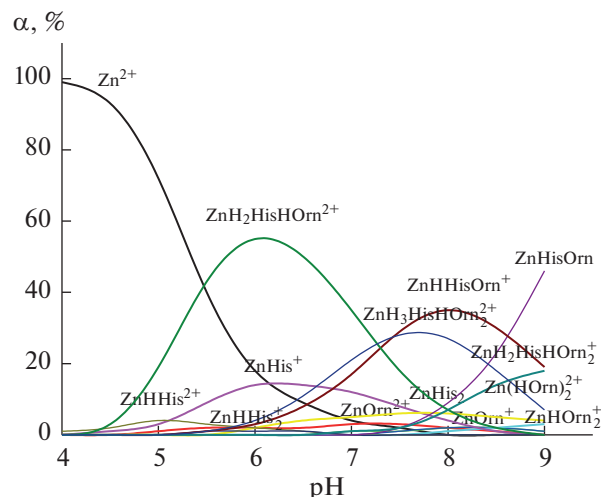


Рис. 2. Диаграмма долевого распределения частиц в системе  $\text{Zn}^{2+}$ –His–Orn– $\text{H}^+$  при соотношении Zn : His : Orn = 1 : 1 : 2 ( $C_{\text{Zn}} = 0.01$  моль/л).

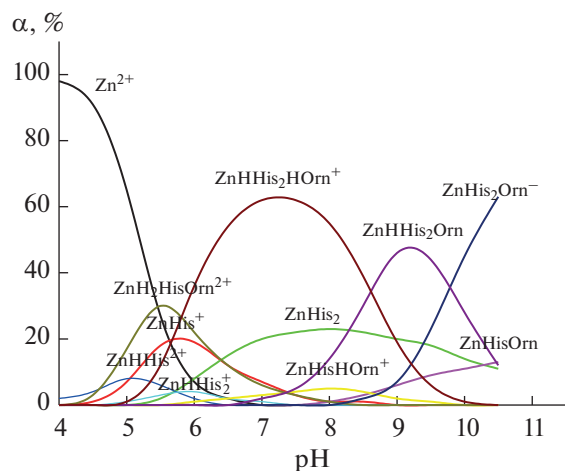


Рис. 3. Диаграмма долевого распределения частиц в системе  $\text{Zn}^{2+}$ –His–Orn– $\text{H}^+$  при соотношении Zn : His : Orn = 1 : 2 : 1 ( $C_{\text{Zn}} = 0.01$  моль/л).

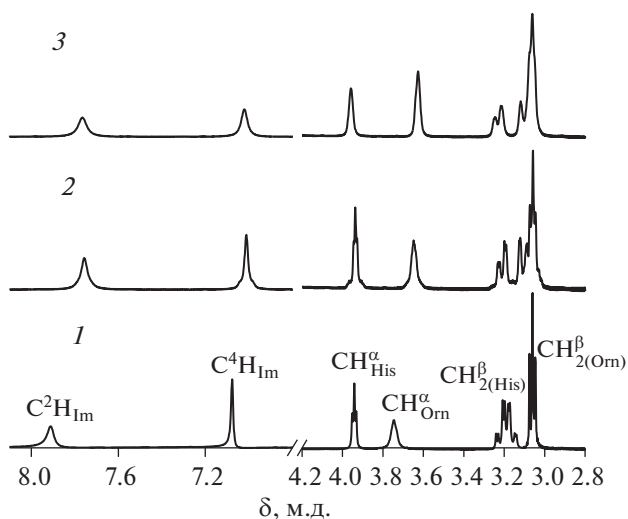


Рис. 4. Спектры ПМР растворов, содержащих  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{HHis} \cdot \text{HCl}$ ,  $\text{HOrn} \cdot \text{HCl}$  и  $\text{KOH}$  в мольном соотношении 1 : 1 : 1 : 2 (1), 1 : 1 : 1 : 3 (2) и 1 : 1 : 1 : 3.5 (3); растворитель –  $\text{D}_2\text{O}$ ;  $C_{\text{Zn}} = 0.2$  моль/кг растворителя.

отвечающей максимальному выходу смешанолигандной формы. Необходимую величину pH (pD) создавали введением наряду с кристаллическими  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{HHis} \cdot \text{HCl}$  и  $\text{HOrn} \cdot \text{HCl}$  рассчитанного количества кристаллического КОН марки “х. ч.”. Концентрация комплексоноата Zn в растворе составляла 0.250 моль/кг  $\text{D}_2\text{O}$ . Значения химических сдвигов сигналов функциональных групп Orn и His в растворах изученных комплексов приведены в табл. S3 и S4. Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  растворов изученных комплексов представлены на рис. 4, 5.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе имеются данные лишь одной работы [9], в которой методом pH-метрии были изучены тройные системы Zn–L–гистидин, гистамин–диаминокарбоновая кислота. Авторами работы установлено существование в растворе трех смешанных частиц состава  $\text{ZnH}_i(\text{His})(\text{Orn})$ , где  $i = 0, 1, 2$  (заряд опущен), однако не выявлены смешанные комплексы иной стехиометрии. Тем не менее константы устойчивости комплексов указанного состава, полученные в настоящей работе и работе [9], достаточно хорошо согласуются

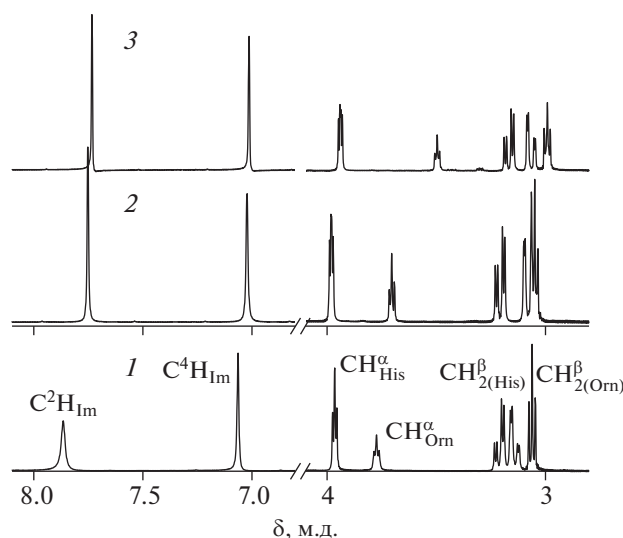


Рис. 5. Спектры ПМР растворов, содержащих  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{NHis} \cdot \text{HCl}$ ,  $\text{Horn} \cdot \text{HCl}$  и  $\text{KOH}$  в мольном соотношении 1 : 2 : 1 : 4 (1), 1 : 2 : 1 : 5 (2) и 1 : 2 : 1 : 6 (3); растворитель –  $\text{D}_2\text{O}$ ;  $C_{\text{Zn}} = 0.2$  моль/кг растворителя.

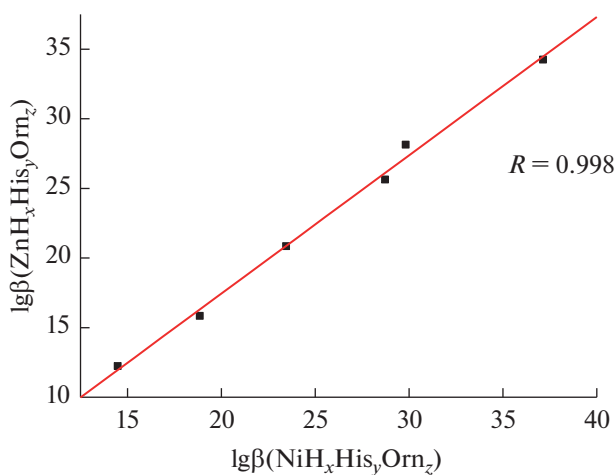


Рис. 6. Корреляционная зависимость констант образования смешанных комплексов  $\text{Ni(II)}$  и  $\text{Zn}$  с гистидином и орнитинном при 298.15 К и  $I = 0.5$  ( $\text{KNO}_3$ ).

с учетом различий в условиях эксперимента. Таким образом, представляло интерес не только уточнить ионный состав растворов в системе  $\text{Zn-His-Orn}$  в широком интервале концентрационных соотношений и pH, но и использовать термодинамический подход к оценке строения образующихся смешанных комплексов.

Анализ литературных данных позволил указать на ряд структурных особенностей координации остатка гистидина катионом цинка. Так, в работе [24], выполненной с привлечением двумерной гомо- и гетероядерной корреляционной ЯМР-спектроскопии, а также DFT-расчетов, была предложена схема координации остатков ги-

стидина в бис-гистидинате  $\text{Zn}$ . В частности, при повышении pH раствора до 7.5 катион  $\text{Zn(II)}$  оказывается связанным с донорными атомами  $\text{N}_{\text{am}}$ ,  $\text{O}_{\text{COO}}$  и  $\text{N}_{\text{im}}$  двух остатков гистидина и имеет октаэдрическое окружение. На это указывает пространственная близость атомов азота  $\alpha$ -аминогруппы и пиридинового кольца в гистидине, что следует из данных 2D  $^{15}\text{N}$ – $^{15}\text{N}$  PDSD ЯМР-эксперимента. Кроме того, тридентатный характер остатков гистидина и шестивершинное строение комплекса подтверждены оптимизацией геометрии, что, в свою очередь, хорошо согласуется с данными кросс-поляризационного  $^{13}\text{C}$  ЯМР-эксперимента. Полученный при pH 7.5 комплекс

His–Zn(II) наиболее близок по структуре к кристаллическому  $\text{Zn(D,L-His)}_2$  [25]. При дальнейшем увеличении pH до 11 обнаружено, что атом азота пиридинового типа имидазольного фрагмента по-прежнему координируется катионом Zn(II), а атом азота пирольного типа депротонируется, образуя водородные связи с соседней молекулой воды. При pH 14 оба атома азота депротонированного имидазольного фрагмента становятся идентичными и координируются разными катионами Zn(II), образуя макромолекулу. Не менее интересны в свете строения гистидинатов цинка результаты работы [26], где с применением XANES- и EXAFS-спектроскопии выявлено ближайшее окружение катиона цинка в растворах гистидинатов в широком диапазоне pH 0.5–11.5. При pH 9.02 остатки гистидина, связанные с цинком, выступают в качестве бидентатных лигандов. При этом комплекс имеет тетраэдрическую геометрию. Это полностью согласуется с данными рентгеноструктурного анализа кристаллического образца дигидрата *bis*-L-гистидината цинка (запись HISZND01 в базе данных CCDC) [27], где имеет место гистаминный способ координации остатков гистидина, хотя в более ранних работах [28, 29] было установлено тетрагональное окружение катиона цинка в составе ди- и пентагидратов *bis*-L-гистидината цинка (длина связи  $\text{Zn–O}_{\text{COO}}$  значительно больше связей  $\text{Zn–N}_{\text{am}}$  и  $\text{Zn–N}_{\text{im}}$ ). При подкислении раствора (pH ~ 5.87) комплекс принимает октаэдрическую геометрию с четырьмя внутрисферными молекулами воды и двумя монодентатными гистидиновыми лигандами, координированными посредством  $\alpha$ -аминогруппы. Предложенная авторами структура комплекса  $[\text{Zn}(\text{HHis})_2(\text{H}_2\text{O})_4]^{2+}$ , к сожалению, не указывает на характер протонирования остатков гистидина, однако совершенно очевидно, что предпочтительным является глицинатный способ координации. Тем не менее в качестве монодентатного лиганда можно рассматривать и цвиттер-ионную форму HHis, где координация осуществляется через имидазольный фрагмент, что весьма характерно для цинка. Когда протонирование гистидина завершено (pH < 2.29), цинк окружен шестью молекулами воды. К сожалению, авторы не рассматривают образование комплекса  $[\text{ZnHHis}_2]^+$ , в котором остатки гистидина, очевидно, имеют разные типы координации.

Рассчитанные термодинамические параметры изученных реакций приведены в табл. 1. Как уже отмечалось ранее в аналогичном исследовании с участием комплексов Ni [10], при оценке возможного типа координации лигандов более информативным является анализ термодинамических параметров присоединения анионной или цвиттер-ионной формы орнитина к моно- и *bis*-комплексам Zn с гистидином. Нами рассматривались так-

же процессы смешанолигандного комплексобразования Zn с гистидином и глицином [20] в качестве модельных процессов. Так, реакция присоединения анионной формы орнитина к комплексу  $\text{ZnHis}^+$  является более экзотермичной по сравнению с реакцией присоединения цвиттер-ионной формы. Указанное явление наблюдалось и в случае аналогичных реакций с участием никеля [10]. При этом параметры присоединения  $\text{HOrn}^\pm$  к  $\text{ZnHis}^+$  близки к параметрам аналогичной реакции с участием глицина, а также к параметрам реакций образования глицинатных комплексов Zn, что позволяет с уверенностью говорить о преобладании тридентатного (N, N, O) типа координации орнитина в составе комплекса  $\text{Zn}(\text{His})(\text{Orn})$ . По-видимому, в растворе устанавливается равновесие между формами смешанного комплекса с би- и тридентатным типом координации орнитина, которое смещено в сторону последнего. Термодинамические параметры присоединения  $\text{HOrn}^\pm$  к  $\text{ZnHis}^+$ , рассчитанные с учетом протонирования  $\alpha$ -аминогруппы и предполагающие координацию цвиттер-ионной формы орнитина посредством  $\epsilon$ -аминогруппы и ее монодентатный характер, оказываются явно завышенными (табл. 1). На глицинатный тип координации цвиттер-ионной формы орнитина указывает близость термодинамических параметров рассматриваемого процесса и реакции присоединения остатка глицина к  $\text{ZnHis}^+$  и  $\text{ZnGly}^+$  (табл. 2).

Термодинамические параметры присоединения цвиттер-ионных форм гистидина и орнитина к катиону цинка с образованием комплекса  $\text{Zn}(\text{HHis})(\text{HOrn})^{2+}$  рассчитывали с учетом возможного протонирования остатка гистидина как по  $\alpha$ -аминогруппе, так и по имидазольному кольцу. При этом остаток орнитина считали преимущественно протонированным по  $\epsilon$ -аминогруппе и, как следствие, координированным по глицинатному фрагменту. Учет протонирования остатка гистидина по имидазольному фрагменту дает явно завышенные значения  $\lg K$  и экзoeffекта рассматриваемой реакции, хотя это и предполагает участие в координации именно глицинатного фрагмента. Аналогичная ситуация наблюдалась и для комплекса Ni такого же состава. В то же время учет протонирования остатка гистидина по  $\alpha$ -аминогруппе и, как следствие, координация  $\text{HHis}^\pm$  посредством гетероатома азота пиридинового типа дают значения  $\lg K$  и  $\Delta_r H$ , близкие к таковым для процесса образования *bis*-глицинатного комплекса цинка. Это предполагает глицинатный тип координации цвиттер-ионных форм орнитина и гистидина в комплексе состава  $\text{Zn}(\text{HHis})(\text{HOrn})^{2+}$  (табл. 3). Очевидно, поведение глицинатного и имидазольного фрагментов гистидина при его протонировании и последующей координации нельзя полностью рассматривать

**Таблица 2.** Термодинамические параметры реакций образования комплексов в системах Zn(II)–His–L (L = Orn, Gly, Im) при 298.15 К и  $I = 0.5$  (KNO<sub>3</sub>),  $\Delta_r H$  в кДж/моль,  $\Delta_r S$  в Дж/(моль К) (заряды опущены)

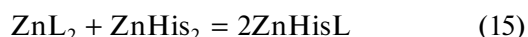
| Реакция                                       | L = Gly |              |              | Ссылка | L = Orn |              |              | Ссылка       |
|-----------------------------------------------|---------|--------------|--------------|--------|---------|--------------|--------------|--------------|
|                                               | lg $K$  | $\Delta_r H$ | $\Delta_r S$ |        | lg $K$  | $\Delta_r H$ | $\Delta_r S$ |              |
| ZnHis + L = ZnHisL                            | 4.71    | –12.75       | 47.4         | [20]   | 5.92    | –23.65       | 34.0         | Наст. работа |
| ZnHis + HL = ZnHisHL                          |         |              |              |        | 4.01    | –11.72       | 37.5         |              |
| ZnHisL + His = ZnHis <sub>2</sub> L           | 3.00    | –17.35       | –1.0         |        | 3.61    | –5.13        | 51.9         |              |
| ZnHisL + HHis = ZnHHis <sub>2</sub> L         | 2.86    | –19.7        | –11.3        |        | 4.20    | –15.29       | 29.1         |              |
| ZnHis <sub>2</sub> + L = ZnHis <sub>2</sub> L | 2.18    | –4.60        | 26.3         |        | 4.00    | –3.28        | 65.6         |              |
| ZnHis + His = ZnHis <sub>2</sub>              | 5.5     | –25.5        | 20.3         | [12]   |         |              |              |              |
| ZnL + Gly = ZnLGly                            | 4.2*    | –13.0        | 36.8         | [22]   |         |              |              |              |
| Zn + Im = ZnIm                                | 2.6**   | –15.9        | –4.3         | [23]   |         |              |              |              |

\*При  $I = 0.2$ .\*\*При  $I = 0.16$ .**Таблица 3.** Наиболее вероятные типы координации аминокислотных остатков в составе смешанных комплексов цинка

| Состав комплекса                        | Ближайшее окружение катиона цинка                                                                                |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ZnHisOrn                                | $\{2N_{am}^{\alpha}, N_{im}, 2O_{COO}\} \leftrightarrow \{2N_{am}^{\alpha}, N_{im}, N_{am}^{\omega}, 2O_{COO}\}$ |
| ZnHisHOrn <sup>+</sup>                  | $\{2N_{am}^{\alpha}, N_{im}, 2O_{COO}\}$                                                                         |
| ZnHHisHOrn <sup>2+</sup>                | $\{2N_{am}^{\alpha}, 2O_{COO}\}$                                                                                 |
| ZnHis <sub>2</sub> Orn <sup>–</sup>     | $\{3N_{am}^{\alpha}, N_{im}, 2O_{COO}\}$                                                                         |
| ZnHHis <sub>2</sub> Orn                 | $\{3N_{am}^{\alpha}, 3O_{COO}\}$                                                                                 |
| ZnHHis <sub>2</sub> HOrn <sup>+</sup>   | $\{3N_{am}^{\alpha}, N_{im}, 2O_{COO}\}$                                                                         |
| ZnHis(HOrn) <sub>2</sub> <sup>+</sup>   | $\{3N_{am}^{\alpha}, 3O_{COO}\}, \{3N_{am}^{\alpha}, N_{im}, 2O_{COO}\}$                                         |
| ZnHHis(HOrn) <sub>2</sub> <sup>2+</sup> | $\{3N_{am}^{\alpha}, 3O_{COO}\}$                                                                                 |

как независимое. В случае орнитина и лизина тезис о независимом поведении двух атомов азота при их координации оказывается более обоснованным по причине протяженной алифатической части и пространственного разделения донорных атомов.

Рассчитанные нами константы процессов сорпропорционирования



для L = Gly [20], HOrn, Orn составили соответственно 0.97, 1.99 и 1.65 лог. ед. Расчет константы равновесия (15) для L = Orn проводили с использованием данных по устойчивости комплекса Zn(Orn)<sub>2</sub>, приведенных в работе [30], так как эта величина в работе [14] не была получена. Все константы равновесия пересчитывали на  $I = 0.5$ . Полученные нами значения lg  $K_{(15)}$  незначительно боль-

ше статистически ожидаемого значения 0.3. Причиной этого является отсутствие в случае Gly такого фактора экстрастабилизации смешанного комплекса, как увеличение дентатности лиганда(ов). В случае L = HOrn  $K_{(15)}$  достигает 2 лог. ед., что, скорее всего, можно объяснить наличием слабого взаимодействия (водородной связи) между протонированной ε-аминогруппой остатка орнитина и карбоксильной группой гистидина.

Как и в случае комплексов Ni, термодинамические параметры образования смешанных комплексов с тремя аминокислотными остатками свидетельствуют о конкуренции между донорными атомами лигандов. В частности, реакции присоединения анионных форм His<sup>–</sup> и Orn<sup>–</sup> соответственно к комплексам Zn(His)(Orn) и Zn(His)<sub>2</sub> с образованием комплекса Zn(His)<sub>2</sub>(Orn)<sup>–</sup> характеризуются небольшими экзоэффектами. Присо-

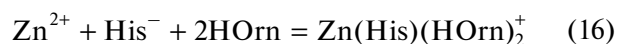
единение остатка гистидина или орнитина здесь возможно только за счет понижения дентатности уже координированных остатков аминокислот. Слабый экзоеффект свидетельствует о том, что присоединение третьего аминокислотного остатка приводит к перераспределению дентатности лигандов в комплексе, не сопровождающемуся увеличением числа координированных атомов азота аминного типа. При этом присоединение His<sup>-</sup> к комплексу Zn(His)(Orn) характеризуется несколько большим экзоеффектом, что косвенно указывает на устранение от координации ε-аминогруппы орнитина и координацию второго остатка гистидина посредством глицинатного фрагмента, в то время как присоединение Orn<sup>-</sup> к комплексу Zn(His)<sub>2</sub> характеризуется меньшим экзоеффектом, очевидно, вследствие нарушения структуры устойчивого координационно-насыщенного бис-гистидината цинка и перехода от гистаминного к глицинатному типу координации. Похожее соотношение отмечалось и для комплексов никеля.

Комплекс ZnHisOrn<sub>2</sub> в ходе исследований не обнаружен в силу развивающегося в щелочной области осадкообразования. Выявлены протонированные комплексы состава ZnHisH<sub>i</sub>Orn<sub>2</sub>, где  $i = 2, 3$  (заряды опущены). Экзоеффект присоединения цвиттер-ионной формы орнитина к ZnHis<sub>2</sub> с образованием ZnHHis<sub>2</sub>Orn, рассчитанный с учетом протонирования остатка орнитина как по ε-, так и по α-аминогруппе, оказался больше, чем при образовании комплекса ZnHis<sub>2</sub>Orn<sup>-</sup>, но близок к тепловому эффекту присоединения цвиттер-ионной формы орнитина к комплексу ZnHis<sup>+</sup>. При этом значение lg K заметно меньше. Данный факт косвенно подтверждает координацию остатка орнитина по глицинатному типу. Учет протонирования остатка орнитина по α-аминогруппе, предполагающий монодентаный характер HOrn<sup>+</sup>, дает явно завышенные значения константы равновесия и экзоеффекта. На основании того, что основные свойства ε-аминогруппы орнитина значительно выше, чем имидазольного фрагмента остатка гистидина, можно с уверенностью говорить о том, что в структуре ZnH(His)<sub>2</sub>(Orn) протонированным оказывается остаток орнитина. Более того, экзотермичность рассматриваемого процесса указывает на рост числа координированных атомов азота, приводящий к появлению комплекса с ближайшим окружением {2N<sub>am</sub>, 2N<sub>im</sub>, N<sub>am</sub>, O<sub>COO</sub>}, т.е. в составе этого комплекса один или два остатка гистидина сохраняют гистаминный способ координации.

При образовании смешанолигандного комплекса ZnHHis(HOrn)<sub>2</sub><sup>2+</sup> термодинамические параметры были рассчитаны для двух случаев: а) с учетом протонирования α-аминогруппы гисти-

дина и ε-аминогруппы орнитина и б) с учетом протонирования имидазольного фрагмента гистидина и ε-аминогруппы орнитина. Наиболее вероятные значения были получены при учете протонирования α-аминогруппы гистидина и ε-аминогруппы орнитина. В данном случае протонированными оказываются все три аминокислотных остатка. Наиболее возможной является координация остатков орнитина по глицинатному фрагменту, в то время как цвиттер-ионная форма гистидина может координироваться посредством как глицинатного фрагмента, так и гетероатома азота имидазольного кольца. Вполне вероятно, что реализуются оба способа координации и в растворе сосуществуют обе структуры.

В структуре комплекса состава Zn(His)(HOrn)<sub>2</sub><sup>+</sup>, по всей видимости, протонированными оказываются оба остатка орнитина. Экзоеффект процесса:



несколько уступает тепловому эффекту образования ZnHHis(HOrn)<sub>2</sub><sup>2+</sup> (табл. 1). Принимая во внимание тот факт, что тепловой эффект этого процесса определен с максимальной в наших условиях погрешностью, можно предполагать, что в комплексах состава ZnHis(HOrn)<sub>2</sub><sup>+</sup> и ZnHHis(HOrn)<sub>2</sub><sup>2+</sup> все три аминокислотных остатка координированы по глицинатному типу. Таким образом, гистаминный способ координации остатка гистидина в комплексе ZnHis(HOrn)<sub>2</sub><sup>+</sup> оказывается маловероятным.

Данные ЯМР-спектроскопии косвенно подтверждают выводы, сделанные на основании сравнительного анализа термодинамических данных. Из спектров ПМР (рис. 4, 5) хорошо видно, что с ростом pH (pD) наибольшее смещение отмечается для сигналов протонов имидазольного фрагмента гистидина. При этом сигналы смещаются в область сильного поля. Это указывает на координационную активность имидазольного фрагмента и возможность вовлечения в координацию двух атомов азота гистидина. Сосуществование в одной и той же области pH различных однородно- и смешанолигандных частиц с относительно невысоким процентным содержанием сильно осложняет интерпретацию изменения величины хмсдвига линий в спектре ЯМР растворов с соотношением Zn : His : Orn = 1 : 2 : 1. Изучение спектров ЯМР растворов с соотношением Zn : His : Orn = 1 : 1 : 2 оказывается крайне затруднительным в силу осадкообразования, а их информативность еще больше снижается.

Спектроскопия ЯМР на ядрах углерода уже привлекалась ранее [21] для изучения равновесий в системах Zn–His–L (L = en, Gly). Данные <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопии были использованы для расчета констант устойчивости комплексов со-

става  $ZnH_nHis_2L$ , где  $n = -1, 0, 1$  (заряд опущен). По мнению авторов, только учет образования указанных выше тройных комплексов, содержащих два остатка гистидина, наряду с комплексами состава  $ZnHisL$  дает довольно хорошее соответствие между расчетными и экспериментальными профилями рD. Из полученных нами данных (рис. 4) видно, что сигналы протонов, связанных с  $\beta$ - и  $\delta$ -атомами углерода соответственно гистидина и орнитина, с ростом pH сильно уширяются. Это может быть обусловлено так называемым внутрixelатным обменом, отвечающим равновесию между формами смешанного комплекса с гистаминоподобным и тридентатными типами координации остатка гистидина, с одной стороны, и глицинатным и тридентатным {N, N, O} типами координации остатка орнитина — с другой. К сожалению, выявить эту тенденцию сложно, так как даже в наиболее щелочном растворе содержание комплексов  $Zn(His)(HOrn)^+$  и  $Zn(His)(Orn)$  оказывается сопоставимым. Таким образом, данный эффект наблюдается в условиях равновесия между двумя указанными смешанными комплексами на фоне депротонирования  $\delta$ -аминогруппы остатка орнитина.

Хорошо прослеживаемая корреляционная зависимость констант устойчивости смешанных комплексов Ni(II) [10] и Zn указывает прежде всего на их сходное строение. И хотя для этих двух металлов было установлено существование в растворе смешанных комплексов не всех составов, можно указать на ожидаемое значение константы устойчивости смешанного комплекса одного металла при известной аналогичной величине для другого. Нами были предложены составы смешанных комплексов с указанием ближайшего окружения и наиболее вероятных типов координации аминокислотных остатков катионом цинка (табл. 3). В ряде случаев можно говорить о сосуществовании в растворе как минимум двух структур одного и того же комплекса, различающихся типом координации либо характером междолигандного взаимодействия. В условиях относительной низкой информативности спектральных методов или неприменимости того или иного их вида сравнительный анализ термодинамических параметров позволяет сделать обоснованные выводы о строении смешанных комплексов металлов в растворе.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Таблица S1. Тепловые эффекты смещения раствора сульфата цинка (1.006 моль/кг раствора) с раствора-

ми ( $HHis \cdot HCl + HOrn \cdot HCl + NaOH + KNO_3$ ) при 298.15 К и  $I = 0.5$  ( $KNO_3$ ).

Таблица S2. Значения химических сдвигов на ядрах  $^1H$ .

Таблица S3. Значения химических сдвигов на ядрах  $^{13}C$ .

Таблица S4. Логарифмы констант равновесия процессов, использованных в работе.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yamauchi O., Odani A. // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 2002. P. 3411.  
<https://doi.org/10.1039/B202385G>
2. Yamauchi O., Odani A. // Inorg. Chim. Acta. 1985. V. 100. P. 165.  
[https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)88304-8](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)88304-8)
3. Chaga G.S. // J. Biochem. Biophys. Methods. 2001. V. 49. P. 313.
4. Gaberc-Porekar V., Menart V. // J. Biochem. Biophys. Methods. 2001. V. 49. P. 335.
5. Yang P., Zheng W., Hua Z. // Inorg. Chem. 2000. V. 39. № 24. P. 5454.  
<https://doi.org/10.1021/ic0000146>
6. Raman N., Sakthivel A., Raja J.D. et al. // Russ. J. Inorg. Chem. 2008. V. 53. P. 213.  
<https://doi.org/10.1134/S0036023608020113>
7. Demidov V.N., Kas'yanenko N.A., Antonov V.S. et al. // Russ. J. Gen. Chem. 2012. V. 82. P. 602.  
<https://doi.org/10.1134/S1070363212030401>
8. Nair M.S., Arasu P.T., Sutha S.G. et al. // J. Indian Chem. Soc. 1998. V. 37A. P. 1084. <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/40379>
9. Nair M.S., Pillai M.S., Ramalingam S.K. // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1986. P. 1.  
<https://doi.org/10.1039/DT9860000001>
10. Никитина М.Г., Пырзу Д.Ф. // Журн. неорганической химии. 2021. Т. 66. № 10. С. 1482.  
<https://doi.org/10.1134/S0036023621100120>
11. Бородин В.А., Васильев В.П., Козловский Е.В. Математические задачи химической термодинамики. Новосибирск: Наука, 1985. С. 219.
12. Pettit L.D. // Pure Appl. Chem. 1984. V. 56. P. 247.  
<https://doi.org/10.1351/pac198456020247>
13. Yamauchi O., Odani A. // Pure Appl. Chem. 1996. V. 68. P. 469.  
<https://doi.org/10.1351/pac199668020469>
14. Farkas E., Gergely A., Kas E. // J. Inorg. Nucl. Chem. 1981. V. 43. P. 1591.  
[https://doi.org/10.1016/0022-1902\(81\)80343-0](https://doi.org/10.1016/0022-1902(81)80343-0)
15. Sovago I., Kiss T., Gergely A. // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1978. P. 964.
16. Васильев В.П. Термодинамические свойства растворов электролитов. М.: Высш. школа, 1982. С. 201.
17. Гаравин В.А. // Дис. ... канд. хим. наук. Иваново: ИХТИ, 1983.
18. Gergely A., Farkas E., Nagypál I. et al. // J. Inorg. Nucl. Chem. 1978. V. 40. P. 1709.  
[https://doi.org/10.1016/0022-1902\(78\)80366-2](https://doi.org/10.1016/0022-1902(78)80366-2)

19. *Amico P., Arena G., Daniele P. et al.* // Inorg. Chem. 1981. V. 20. P. 772.  
<https://doi.org/10.1021/ic50217a027>
20. *Pyreu D., Alekseeva E., Gridchin S.* // Thermochem. Acta. 2019. V. 680. P. 178335.  
<https://doi.org/10.1016/j.tca.2019.178335>
21. *Couves L.D., Hague D.N., Moreton A.D.* // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1992. P. 217.  
<https://doi.org/10.1039/DT9920000217>
22. *Kiss T., Sovago I., Gergely A.* // Pure Appl. Chem. 1991. V. 63. P. 597.
23. *Sjoberg S.* // Pure Appl. Chem. 1997. V. 69. P. 1549.
24. *Zhou L., Li S., Su Y. et al.* // J. Phys. Chem. B. 2013. V. 117. P. 8954.  
<https://doi.org/10.1021/jp4041937>
25. *Dalosto S.D., Calvo R., Pizarro J.L., Arriortua M.I.* // J. Phys. Chem. A. 2001. V. 105. P. 1074.  
<https://doi.org/10.1021/jp003167n>
26. *Ferrer P., Jiménez-Villacorta F., Rubio-Zuazo J. et al.* // J. Phys. Chem. B. 2014. V. 118. P. 2842.  
<https://doi.org/10.1021/jp411655e>
27. *Kistenmacher T.J.* // Acta Crystallogr., Sect. B. 1972. V. 28. P. 1302.  
<https://doi.org/10.1107/S0567740872004133>
28. *Kretsinger R.H., Cotton F.A., Bryan R.F.* // Acta Crystallogr. 1963. V. 16. P. 651  
<https://doi.org/10.1107/S0365110X63001705>
29. *Harding M.M., Cole S.J.* // Acta Crystallogr. 1963. V. 16. P. 643.  
<https://doi.org/10.1107/S0365110X63001699>
30. *Bottari E., Festa M.* // J. Coord. Chem. 1990. V. 22. P. 237.  
<https://doi.org/10.1080/00958979009408220>
31. *Powell K., Brown P., Byrne R. et al.* // Pure Appl. Chem. 2013. V. 85. P. 2249.