

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ L-МЕТИОНИНА С ПИКОЛИНОВОЙ И НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТАМИ МЕТОДАМИ ДЕНСИМЕТРИИ И КВАНТОВОЙ ХИМИИ

© 2022 г. Е. Ю. Тюнина^{а,*}, Г. Н. Тарасова^а, В. В. Дунаева^б

^а Институт химии растворов им. Г.А. Крестова, Российская академия наук, Иваново, 153045 Россия

^б Ивановский государственный химико-технологический университет, Иваново, 153000 Россия

*e-mail: tey@isc-ras.ru

Поступила в редакцию 21.04.2021 г.

После доработки 25.06.2021 г.

Принята к публикации 25.06.2021 г.

Исследованы особенности взаимодействия L-метионина (Met) с пиколиновой (PA) и никотиновой (NA) кислотами в водном буферном растворе (pH 7.4) методами денсиметрии и компьютерного моделирования. Впервые получены экспериментальные значения плотности систем Met–буфер, PA–буфер и Met–PA–буфер при $T = 288.15, 298.15, 303.15, 308.15$ и 313.15 К. Определены кажущиеся мольные объемы (V_{ϕ}) изомеров пиридинкарбоновой кислоты и их предельные кажущиеся мольные объемы при бесконечном разбавлении (V_{ϕ}^0) в растворах, содержащих аминокислоту (с фиксированной концентрацией 0.0125 моль кг^{-1}). Показано, что экстремальный характер концентрационных зависимостей кажущихся мольных объемов свидетельствует о структурно-укрепляющем действии PA и NA на растворы, содержащие аминокислоту (Met), при этом наблюдается некоторое смещение максимумов с ростом температуры. Вычислены значения производных $(\partial V_{\phi}^0 / \partial T)_p$ и $(\partial^2 V_{\phi}^0 / \partial T^2)_p$, а также парциальные мольные объемы переноса изомеров из буфера в буферные растворы аминокислоты. Полученные результаты обсуждаются на основе использования модели Гэрни. Квантово-химическое моделирование комплексов Met с PA и NA выполнено в пакете программ Gaussian_03 методом теории функционала плотности B3LYP в комбинации с корреляционно-согласованным базисом cc-pVTZ.

Ключевые слова: L-метионин, пиколиновая кислота, никотиновая кислота, комплексы, буферный раствор, плотность, кажущийся молярный объем, метод DFT, молекулярная структура, энергетические характеристики

DOI: 10.31857/S0044453722010253

В последние годы большое внимание исследователей привлекают взаимодействия между белками и фармакологически активными веществами, которые лежат в основе процессов их переноса в организме человека, а также важны при разработке новых биотехнологий по производству инновационных лекарственных форм [1–5]. Как известно, биологическая активность лекарственных средств в большой степени зависит от способности образовывать комплексы с белками плазмы крови, структурными единицами которых являются различные аминокислотные и пептидные фрагменты. Особое значение имеет выявление характера взаимодействия между компонентами белков и прекурсорами лекарственных веществ в условиях физиологических значений pH 7.2–7.4.

Анализ имеющихся литературных данных [2, 6–8] показал, что до сих пор актуально изучение объемных свойств водных растворов аминокислот, содержащих фармакологически активные вещества, при изменении температуры и концентрации. До сих пор практически отсутствуют данные о стехиометрии образуемых молекулярных комплексов, а также о влиянии структуры реагентов на характер их взаимодействия. Для решения поставленных задач все более широкое применение находят методы моделирования структуры и динамических свойств различных биомолекул [9–11].

В данной работе мы использовали в качестве объектов исследования L-метионин (L-2-амино-4-(метилтио) бутановая кислота) и два изомера пиридинкарбоновой кислоты: пиколиновая (пиридин-2-карбоновая) кислота и никотиновая

(пиридин-3-карбоновая) кислота. L-Метионин (Met) является серосодержащей аминокислотой, присутствующей во многих белках и ферментах [12, 13]. Благодаря наличию серы, Met обеспечивает эластичность кожи [14], действует как липотропный фактор, эффективен для предотвращения повреждения печени [15], а также может способствовать лечению болезни Паркинсона [16]. Являясь одним из источников метильных групп, Met участвует в биохимических реакциях переноса метильной группы [17]. Метионин как незаменимая аминокислота играет роль в синтезе цистина, карнитина, таурина, фосфатидилхолина и других фосфолипидов [18]. Пиридинкарбоновые кислоты и их производные представляют собой семейство N-гетероциклических молекул, которые используются в качестве пищевых добавок и активных противоопухолевых, антибактериальных агентов в лекарственных средствах и для снижения уровня холестерина [19–22]. Пиколиновая кислота также обладает широким спектром нейрорепротекторных и иммунологических эффектов в организме [23, 24], действует как хелатирующий агент таких элементов, как хром, цинк, марганец, медь, железо и молибден в организме человека [25, 26].

В последние годы наблюдается рост публикаций, посвященных исследованию поведения изомеров пиридинкарбоновой кислоты и их молекулярных взаимодействий с различными веществами в жидких средах [27–29]. В предыдущей работе [29] методом калориметрии определены термодинамические характеристики взаимодействия метионина (Met) с никотиновой кислотой (NA) в буферном растворе при $T = 298.15$ К; показано образование слабого молекулярного комплекса состава 1 : 1, в стабилизацию которого основной вклад вносит энтальпийная составляющая свободной энергии Гиббса комплексообразования. Целью данного исследования является использование методов денсиметрии и квантовой химии для определения параметров взаимодействия Met с PA и NA. На основании полученных результатов будут сделаны выводы об образовании комплексов между аминокислотой и лигандами (PA, NA), о влиянии положения карбоксильной группы по отношению к атому азота в пиридиновом кольце на объемные свойства, а также будет проведен NBO-анализ (на уровне теории B3LYP/сс-pVTZ) и определены геометрические и энергетические характеристики комплексов Met с указанными лигандами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали L-метионин (Sigma, CAS 63-68-3), никотиновую кислоту (Sigma-Aldrich, CAS 59-67-6) и пиколиновую кислоту (Aldrich, CAS 98-98-6). Содержание основного веще-

ства составляло >98%. Аминокислоту сушили в вакуумном шкафу при 343 К, а PA (NA) – при 356.15 К в течение 48 ч непосредственно перед использованием. Исследования проводили в водных буферных растворах (рН 7.4), содержащих фосфат натрия одноосновный (0.04165 М) и фосфат натрия двухосновный (0.20492 М), что приближает среду к условиям реальных биологических систем. Значения рН растворов фиксировали цифровым рН-метром Mettler Toledo (модель Five-Easy). Все растворы приготовлены весовым методом, используя весы Sartorius-ME215S (с точностью взвешивания 1×10^{-5} г).

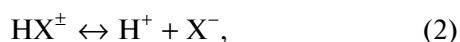
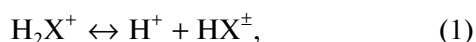
Измерения плотности исследуемых растворов (Met–буфер, PA–буфер, Met–PA–буфер), выполнены на высокоточном цифровом вибрационном денсиметре (модель DMA-5000M, Anton Paar, Австрия) при температурах 288.15, 298.15, 303.15, 303.15 и 313.15 К. Два встроенных платиновых термометра Pt100 в сочетании с элементами Пельтье обеспечивали термостатирование образца внутри ячейки с погрешностью 5×10^{-3} К. Перед каждым измерением проводили калибровку по воздуху и бидистиллированной воде при атмосферном давлении. Концентрацию пиколиновой кислоты в буферном растворе варьировали в интервале (0.0035–0.0327) моль кг^{-1} при фиксированной концентрации аминокислоты ($0.0125 \pm \pm 0.0002$ моль кг^{-1}). Стандартная погрешность измерения плотности растворов не превышала $\pm 6 \times 10^{-3}$ кг м^{-3} . Экспериментальные данные по плотности буферных растворов никотиновой кислоты, содержащих L-метионин ($m_{\text{Met}} = 0.0125 \pm \pm 0.0002$ моль кг^{-1}), были заимствованы из работы [29].

Компьютерное моделирование исследуемых объектов (комплексов Met...PA и Met...NA) выполнено методом DFT/B3LYP с использованием корреляционно-согласованного базиса сссрVTZ, реализованным в пакете квантово-химических программ Gaussian03 [30]. Структура и энергии комплексов были рассчитаны без учета эффектов гидратации. Для всех молекулярных структур проведена оптимизация геометрического строения. Для подтверждения того, что все оптимизированные структуры являются минимумами на поверхности потенциальной энергии, был проведен анализ нормальных колебаний; мнимых частот не обнаружено. В рамках NBO-анализа распределения электронной плотности в молекулах определены геометрические и энергетические параметры водородных связей в исследуемых комплексах.

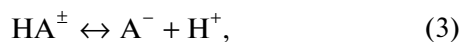
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В зависимости от рН среды аминокислота (Met), пиколиновая (PA) и никотиновая (NA)

кислоты могут находиться в различных ионных состояниях. Эффективность связывания Met с пиридинкарбоновыми кислотами зависит, прежде всего, от ионного состояния реагентов в растворе. Как известно [12], карбоксильная (COOH) и amino-(NH₂)-группы основной цепи всех аминокислот и боковые цепи некоторых из них подвергаются диссоциации и протонированию при растворении в водных растворах. Метионин, имеющий серосодержащую боковую цепь (-CH₂CH₂SCH₃), при растворении в водных растворах участвует в следующих кислотно-основных равновесиях [31–34]:



где H₂X⁺ соответствует ионной частице NH₃⁺CH(CH₂CH₂SCH₃)COOH, HX[±] – NH₃⁺CH(CH₂CH₂SCH₃)COO⁻, X⁻ – NH₂CH(CH₂CH₂SCH₃)COO⁻. Пиколиновая кислота, так же как NA, является двухосновной и диссоциирует в водных растворах в зависимости от pH по двум ступеням. Для пиколиновой кислоты характерны кислотно-основные равновесия: [33, 35, 36]:



На рис. 1 представлены диаграммы равновесий в водном растворе L-метионина и пиколиновой кислоты, построенные на основании расчетов равновесного состава их растворов при различных значениях pH с использованием программы RRSU [37]. Как видно из полученных диаграмм, в условиях выбранной буферной среды (pH 7.4) Met находится в цвиттер-ионной форме (рис. 1а), а PA – в форме аниона (A⁻) (рис. 1б). Ранее [38] было показано, что в водных растворах с pH 7.4 NA существует как анион. Таким образом, при обсуждении движущих сил процесса образования комплекса между Met и PA (NA) следует рассматривать цвиттер-ионы аминокислоты и анионы пиридинкарбоновой кислоты в качестве их доминирующих форм, присутствующих в водном буферном растворе (pH 7.4).

Объемные свойства. Кажущийся молярный объем растворенного вещества (V_ϕ) вычислен с использованием экспериментальных значений плотности по уравнению:

$$V_\phi = 1000(\rho_0 - \rho)/\rho\rho_0 m + M/\rho, \quad (5)$$

где ρ_0 и ρ – плотности растворителя и раствора (г см⁻³), m – молярная концентрация растворенного вещества (моль кг⁻¹), M – его молекулярная масса. Растворителем в бинарных системах (Met–

буфер) и (PA–буфер) является водный буферный раствор (pH 7.4), а в тройной системе (PA–Met–буфер) – буферный раствор аминокислоты (Met) (с фиксированной концентрацией 0.0125 моль кг⁻¹). Экспериментальные значения плотности указанных растворов приведены в табл. 1, 2.

Анализ полученных данных показал, что концентрационные зависимости кажущихся молярных объемов Met и PA в буферном растворе близки к линейным и могут быть выражены уравнением:

$$V_\phi = V_\phi^0 + A_1 m, \quad (6)$$

а изотермы V_ϕ для тройной системы (PA–Met–буфер) аппроксимируются полиномом второй степени:

$$V_\phi = V_\phi^0 + B_1 m + B_2 m^2 \quad (7)$$

во всем изученном диапазоне параметров (m , T).

Здесь V_ϕ^0 – предельное значение кажущегося молярного объема, равное парциальному молярному объему при бесконечном разбавлении, A_1 , B_1 , B_2 – постоянные коэффициенты. Как видно из рис. 2, концентрационные зависимости кажущихся молярных объемов PA в тройной системе (PA–Met–буфер) носят нелинейный характер в отличие от линейной зависимости $V_\phi = f(m)$ в случае бинарных систем (рис. 3). Полученные результаты свидетельствуют о связывании растворенных веществ в комплекс [39–42]. Максимальные значения V_ϕ при температурах от 288.15 до 313.15 К приходятся на концентрацию пиколиновой кислоты $m = 0.0125$ моль кг⁻¹, которая соответствует молярному соотношению Met к PA как ~1 : 1. С ростом температуры наблюдается некоторое смещение максимумов в сторону меньших концентраций пиколиновой кислоты, что указывает на влияние температуры на стехиометрию образуемого комплекса. Аналогичное изменение объемных свойств наблюдалось и для растворов никотиновой кислоты в смеси (Met – буфер) [29].

Значения парциальных молярных объемов при бесконечном разбавлении, V_ϕ^0 , представленные в табл. 3 для бинарных растворов Met и PA в буфере и для тройных систем (PA–Met–буфер) и (NA–Met–буфер), положительны и увеличиваются с ростом температуры. Величина параметра V_ϕ^0 пиколиновой кислоты в трехкомпонентном растворе, содержащем добавки Met, превышает его значения для двухкомпонентной системы PA–вода. Полученные данные указывают на присутствие взаимодействия между цвиттер-ионами аминокислоты и анионной формой PA, которое сопровождается дегидратацией молекул растворенных веществ, дающей положительный вклад в изменение объемных свойств растворов. Аналогичные результаты были получены ранее для буферных

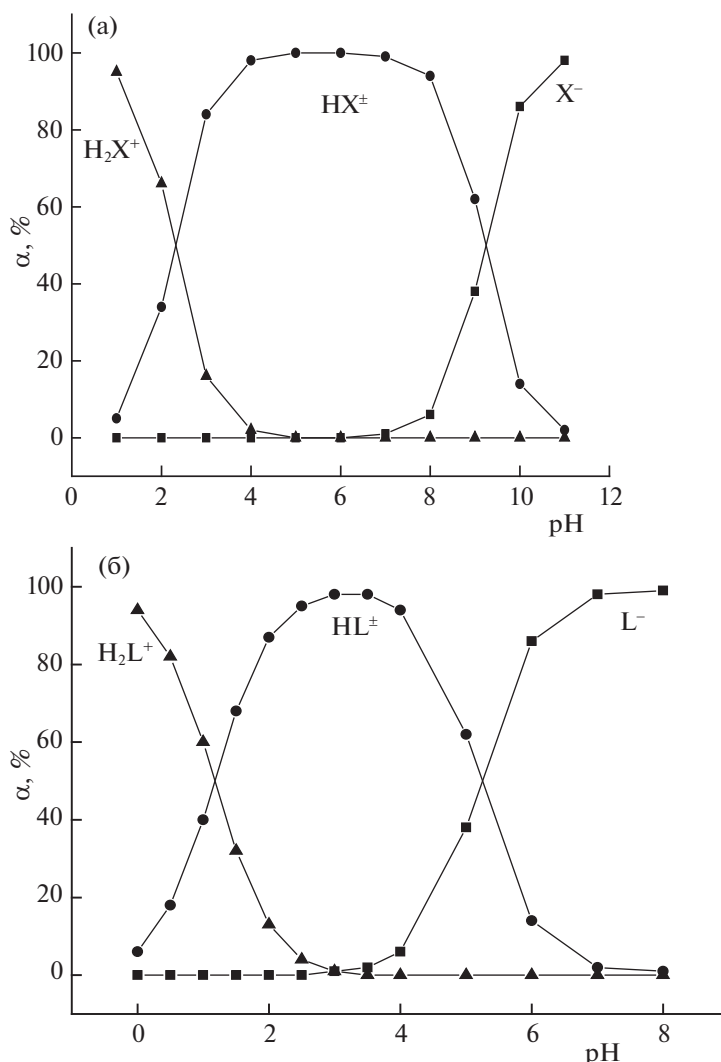


Рис. 1. Диаграммы долевого распределения ионных форм L-метионина (а) и пиколиновой кислоты (б) в зависимости от рН водного раствора ($T = 298.15$ К, $I = 0.0$).

растворов никотиновой кислоты (NA) с метионином [29]. Изменения парциального мольного объема ($\Delta_{tr}V_\phi^0$) при переносе РА из буфера в буферный раствор Met вычислены по соотношению:

$$\Delta_{tr}V_\phi^0 = V_\phi^0(\text{РА-Met-буфер}) - V_\phi^0(\text{РА-буфер}). \quad (8)$$

Величины $\Delta_{tr}V_\phi^0$ чувствительны к сольватационным эффектам и могут быть интерпретированы на основе модели перекрывания гидратных сфер Гэрни [43, 44], согласно которой положительные значения $\Delta_{tr}V_\phi^0 > 0$ отражают взаимодействия, обусловленные электростатическими силами, водородными связями и др. Взаимодействие между неполярными фрагментами молекул (за счет гидрофобных сил) сопровождается понижением

объема ($\Delta_{tr}V_\phi^0 < 0$). Положительные изменения объема $\Delta_{tr}V_\phi^0$ характерны как для РА, так и для NA [29], что свидетельствует о доминировании взаимодействий первого типа в буферных растворах РА и NA в присутствии Met. Таким образом, можно говорить, что комплексы Met с РА и NA образованы за счет цвиттер-ион-анионных взаимодействий и водородных связей, что согласуется с литературными данными для других аминокислот [45, 46].

Температурные зависимости парциальных мольных объемов V_ϕ^0 пиридинкарбоновых кислот (РА, NA) в буферных растворах Met описываются уравнением:

$$V_\phi^0 = \alpha + \beta T + \gamma T^2, \quad (9)$$

Таблица 1. Плотность (ρ) водных буферных растворов L-метионина (Met) и пиколиновой кислоты (PA) при разных концентрациях и температурах

m_{Met} , моль кг ⁻¹	288.15 К	298.15 К	303.15 К	308.15 К	313.15 К
	Система: Met – буфер; ρ , кг м ⁻³				
0	1030.625	1027.927	1026.212	1024.377	1022.332
0.0039	1030.782	1028.083	1026.367	1024.531	1022.486
0.0077	1030.936	1028.235	1026.518	1024.681	1022.635
0.0102	1031.032	1028.330	1026.613	1024.776	1022.729
0.0125	1031.125	1028.422	1026.704	1024.866	1022.820
0.0169	1031.303	1028.598	1026.879	1025.040	1022.993
0.0198	1031.416	1028.710	1026.991	1025.151	1023.104
0.0218	1031.496	1028.792	1027.072	1025.232	1023.184
0.0241	1031.588	1028.881	1027.160	1025.320	1023.272
0.0307	1031.852	1029.142	1027.420	1025.579	1023.530
m_{PA} , моль кг ⁻¹	Система: PA – буфер; ρ , кг м ⁻³				
0.0034	1030.678	1027.979	1026.262	1024.426	1022.379
0.0069	1030.731	1028.030	1026.311	1024.474	1022.426
0.0101	1030.775	1028.073	1026.354	1024.514	1022.465
0.0123	1030.805	1028.103	1026.381	1024.542	1022.491
0.0170	1030.871	1028.168	1026.443	1024.602	1022.550
0.0201	1030.911	1028.208	1026.482	1024.641	1022.586
0.0250	1030.975	1028.272	1026.545	1024.699	1022.645
0.0301	1031.041	1028.332	1026.600	1024.754	1022.698

Примечание. Погрешность экспериментальных значений $\rho \pm 6 \times 10^{-3}$ кг м⁻³.

Таблица 2. Плотность (ρ) водных буферных растворов, содержащих пиколиновую кислоту (PA) и L-метионин (Met), при разных концентрациях и температурах

m , моль кг ⁻¹	288.15 К	298.15 К	303.15 К	308.15 К	313.15 К
	Система: PA–Met–буфер; ρ , кг м ⁻³				
0	1031.125	1028.422	1026.704	1024.866	1022.820
0.0035	1031.177	1028.472	1026.753	1024.915	1022.860
0.0068	1031.224	1028.519	1026.799	1024.959	1022.912
0.0105	1031.276	1028.569	1026.848	1025.009	1022.961
0.0125	1031.302	1028.595	1026.873	1025.035	1022.987
0.0175	1031.375	1028.666	1026.942	1025.104	1023.056
0.0208	1031.423	1028.716	1026.991	1025.152	1023.102
0.0221	1031.442	1028.735	1027.010	1025.170	1023.119
0.0249	1031.488	1028.779	1027.056	1025.216	1023.161
0.0309	1031.585	1028.884	1027.157	1025.311	1023.247
0.0327	1031.616	1028.916	1027.192	1025.342	1023.273

Обозначения: m – молярная концентрация пиколиновой кислоты (PA), $m_{\text{Met}} = (0.0125 \pm 0.0002)$ моль кг⁻¹. Погрешность экспериментальных значений $\rho \pm 6 \times 10^{-3}$ кг м⁻³

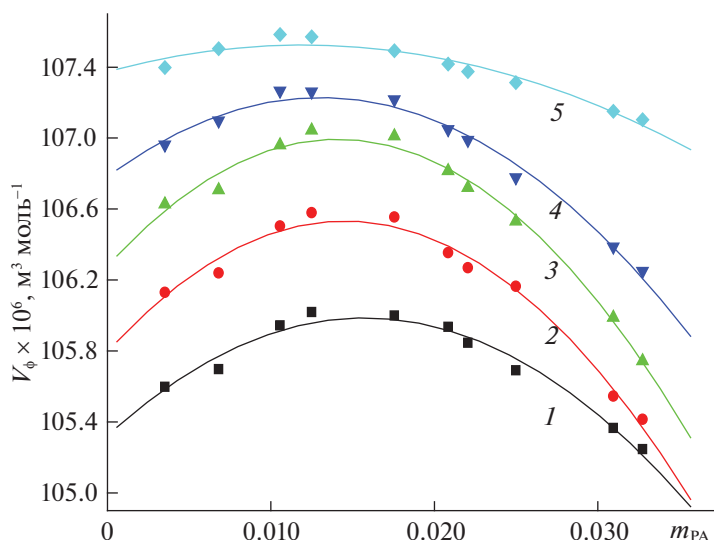


Рис. 2. Концентрационные зависимости кажущихся молярных объемов пиколиновой кислоты (V_ϕ) в водном буферном растворе L-метионина при температурах: 288.15 (1), 298.15 (2), 303.15 (3), 308.15 (4), 313.15 K (5); $m_{\text{Met}} = 0.0125 \pm \pm 0.002$ моль кг^{-1} .

где α , β и γ – константы, T – температура. Значения $(\partial V_\phi^0/\partial T)_p$ и $(\partial^2 V_\phi^0/\partial T^2)_p$ были получены путем дифференцирования уравнения (9). В табл. 3 приведены значения первой производной парциального молярного объема по температуре при по-

стоянном давлении для исследуемых тройных растворов $(\partial V_\phi^0/\partial T)_p$, положительные значения которых указывают на высвобождение электрострикционно сжатой воды из гидратных сфер цвитттер-ионов Met и анионов PA/NA в раствор в процессе их связывания в комплекс, что сопровождается увеличением объема системы.

Таблица 3. Предельные кажущиеся молярные объемы растворенных веществ (V_ϕ^0) и значения производной $(\partial V_\phi^0/\partial T)_p$ в водных буферных растворах при разных температурах

T , K	$V_\phi^0 \times 10^6$, $\text{м}^3 \text{ моль}^{-1}$	$V_\phi^0 \times 10^6$, $\text{м}^3 \text{ моль}^{-1}$	$(\partial V_\phi^0/\partial T)_p \times 10^6$, $\text{м}^3 \text{ моль}^{-1} \text{ K}^{-1}$
	Met-буфер	NA-Met-буфер [29]	
288.15	107.09 ± 0.02	107.84 ± 0.22	0.172 ± 0.06
298.15	107.64 ± 0.01	109.67 ± 0.14	0.214 ± 0.04
303.15	107.97 ± 0.02	110.83 ± 0.21	0.236 ± 0.06
308.15	108.31 ± 0.01	112.35 ± 0.14	0.257 ± 0.12
313.15	108.57 ± 0.02	113.38 ± 0.10	0.278 ± 0.15
	PA-буфер	PA-Met-буфер	
288.15	104.75 ± 0.05	105.32 ± 0.06	0.037 ± 0.01
298.15	105.46 ± 0.05	105.87 ± 0.07	0.073 ± 0.03
303.15	106.08 ± 0.06	106.28 ± 0.07	0.091 ± 0.04
308.15	106.64 ± 0.05	106.78 ± 0.05	0.109 ± 0.05
313.15	107.26 ± 0.05	107.38 ± 0.05	0.127 ± 0.06

Примечание. $(\partial V_\phi^0/\partial T)_p$ вычислены по соотношению: $(\partial V_\phi^0/\partial T)_p = \beta + 2T\gamma$, где β и γ – константы из (9), $m_{\text{Met}} = 0.0125$ моль кг^{-1} .

Влияние растворенного вещества на структуру растворителя может быть оценено с использованием уравнения Хеплера [47]:

$$(\partial C_p^0/\partial T)_p = -T(\partial^2 V_\phi^0/\partial T^2)_p. \quad (10)$$

Если значения второй производной $(\partial^2 V_\phi^0/\partial T^2)_p$ отрицательны, то имеет место структуро-разрушающий эффект растворенного вещества, тогда как положительные значения указывают на его способность укреплять структуру растворителя [47]. Во всех исследуемых растворах параметр $(\partial^2 V_\phi^0/\partial T^2)_p$ имеет положительные значения: $0.00026 \text{ см}^6 \text{ моль}^{-2} \text{ K}^{-2}$ для Met в буфере, $0.00208 \text{ см}^6 \text{ моль}^{-2} \text{ K}^{-2}$ для PA в буфере, $0.00360 \text{ см}^6 \text{ моль}^{-2} \text{ K}^{-2}$ для PA в смеси Met с буфером и $0.00422 \text{ см}^6 \text{ моль}^{-2} \text{ K}^{-2}$ для NA в смеси Met с буфером. Следовательно, растворение указанных веществ в буфере или в буферном растворе, содержащем Met, приводит к стабилизации структуры растворителя. Следует отметить, что величина $(\partial^2 V_\phi^0/\partial T^2)_p$ для NA больше, чем для PA. По-видимому, больший эффект на структуру растворителя оказывает никотиновая кислота, чем ее изомер (PA). При этом буферные системы с PA/NA и Met более структурирова-

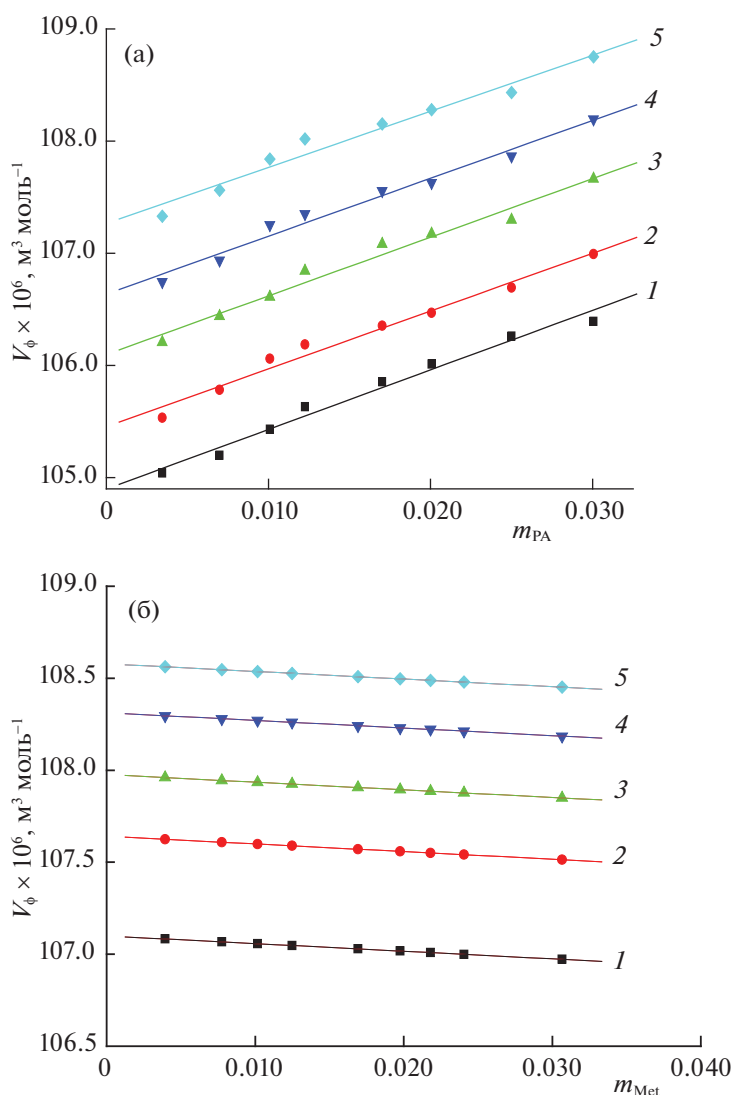


Рис. 3. Концентрационные зависимости кажущихся молярных объемов (V_ϕ) пиколиновой кислоты (а) и L-метионина (б) в водном буферном растворе при температурах: 288.15 (1), 298.15 (2), 303.15 (3), 308.15 (4), 313.15 К (5).

ны, чем буферные растворы пиколиновой и никотиновой кислот.

Результаты квантово-химического исследования. В представленной работе проведено теоретическое исследование взаимодействия пиколиновой и никотиновой кислот с L-метионином (Met). Квантово-химические расчеты выполнены в пакете программ Gaussian03 [30] методом теории функционала плотности DFT/B3LYP в комбинации с корреляционно-согласованным базисом cc-pVTZ. Соотношение компонентов принималось равным 1 : 1 для комплексов пиридинкарбоновая кислота – метионин, образуемых в газовой фазе. В этом случае, в отличие от водных растворов, пиридинкарбоновые кислоты присутствуют в молекулярной форме. Следует отметить, что в задачи данной работы не входило выполнение полного

теоретического расчета структуры и колебательных характеристик всех конформеров аминокислоты, пиколиновой и никотиновой кислот. Здесь представлены некоторые результаты с использованием метода DFT/B3LYP/cc-pVTZ, чтобы помочь в визуализации и интерпретации экспериментальных данных.

Подобно всем аминокислотам, молекула метионина имеет множество вращательных степеней свободы и, как следствие, большое количество конформеров, близких по энергиям. Результаты исследования конформационного многообразия метионина приведены ранее в работах [48, 49] и были использованы при построении комплекса. Вследствие широкого изучения структуры молекул пиридинкарбоновых кислот, исходная геометрия для PA и NA взята из работ [50, 51]. После

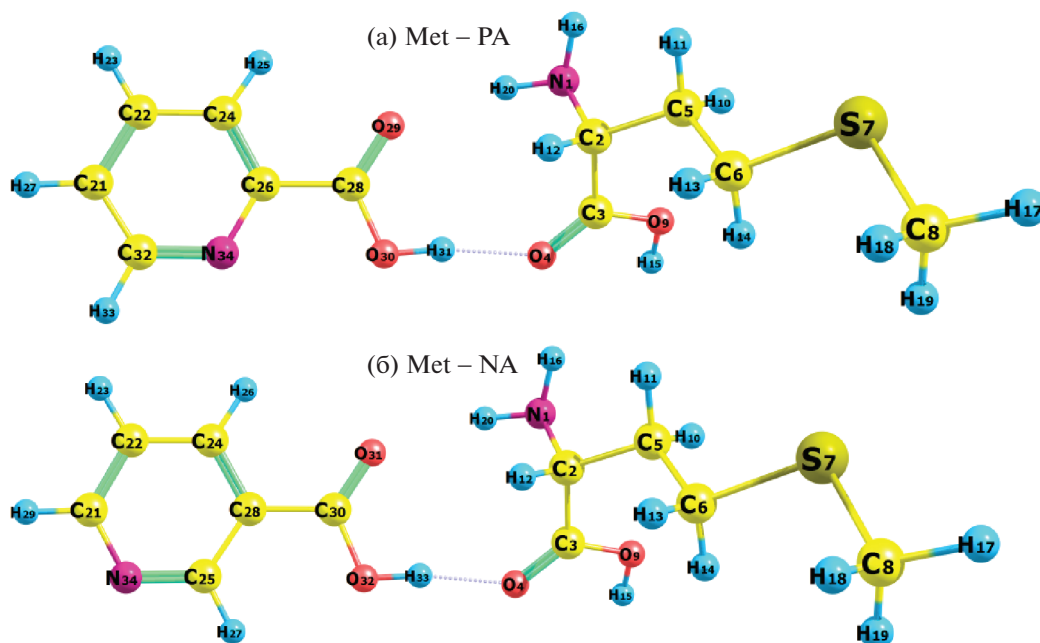


Рис. 4. Оптимизированные конфигурации комплексов, образованных молекулами метионина с пиколиновой (а) и никотиновой (б) кислотами в газовой фазе (Gaussian_03/B3LYP/cc-pVTZ).

этого выполнено построение комплексов метионин–пиридинкарбоновая кислота, проведена оптимизация их геометрии на более высоком уровне теории B3LYP/cc-pVTZ, получены энергии и частоты колебаний, сделан NBO-анализ природы и прочности водородных связей. Структуры наиболее устойчивых конформеров образуемых комплексов приведены на рис. 4. Показано, что между молекулами компонентов комплекса возникают водородные связи.

В рамках NBO-анализа образование H-связи объясняется переносом парциальных отрицательных зарядов (или электронной плотности) от неподеленной пары атома донора (азота или кислорода) на разрыхляющую орбиталь акцептора (связи H–N, H–O) [52, 53]. Величина переноса заряда (q_{CT}) должна быть выше 0.01e [52]. Среди геометрических критериев водородной связи одним из основных является расстояние между донором и акцептором, которое должно быть менее 2.5 Å [53].

Установлено, что в образовании водородной связи между исследуемыми молекулами вовлекаются две орбитали, соответствующие неподелен-

ным электронным парам атома кислорода карбонильного фрагмента (C=O) метионина, и разрыхляющие орбитали OH-связи в молекулах пиридинкарбоновых кислот. NBO-анализ распределения электронной плотности показал, что геометрические параметры, приведенные в табл. 4, соответствуют промежуточному типу водородной связи, преимущественно электростатического характера [53]. Рассчитаны значения энергии перекрывания ($E[LP(\text{донор})-BD^*(\text{акцептор})]$) и величины перенесенного заряда q_{CT} с каждой из двух орбиталей кислорода (донора) на разрыхляющую орбиталь связи H–O (акцептора). Значения q_{CT} переноса заряда между донором и акцептором, указанные в скобках в табл. 5, в основном удовлетворяют энергетическому критерию образования водородной связи [52]. Таким образом, полученные геометрические и энергетические параметры H-связи подтверждают наличие достаточно сильной межмолекулярной водородной связи, которая вносит вклад в стабилизацию структуры исследуемых комплексов.

Вместе с тем, существует вероятность образования второй водородной связи между неподе-

Таблица 4. Геометрические параметры водородной связи в комплексах метионина с пиридинкарбоновыми кислотами

Система	$r(\text{O}\cdots\text{H}_\text{O})$, Å	$r(\text{O}\cdots\text{H}_\text{N})$, Å	$r(\text{O}\cdots\text{O})$, Å	$r(\text{N}\cdots\text{O})$, Å	$\angle(\text{OH}\cdots\text{O})$, град	$\angle(\text{NH}\cdots\text{O})$, град
Met–NA	1.741	2.153	2.723	3.103	171.3	155.1
Met–PA	1.762	2.142	2.743	3.098	171.6	156.1

Таблица 5. Энергетические параметры взаимодействия метионина с пиридинкарбоновыми кислотами

Система	$E[\text{LP1}(\text{O})-\text{BD}^*(\text{OH})]$, кДж/моль ($q_{\text{ст}}$)	$E[\text{LP2}(\text{O})-\text{BD}^*(\text{OH})]$, кДж/моль ($q_{\text{ст}}$)	$E[\text{LP1}(\text{O})-\text{BD}^*(\text{NH})]$, кДж/моль ($q_{\text{ст}}$)	$E[\text{LP2}(\text{O})-\text{BD}^*(\text{NH})]$, кДж/моль ($q_{\text{ст}}$)	$E^{\text{вз}}$, кДж/моль
Met-NA	30.64 (0.010)	49.15 (0.027)	5.77 (0.002)	5.52 (0.003)	-50.5
Met-PA	28.42 (0.009)	44.08 (0.025)	6.19 (0.002)	5.94 (0.003)	-47.6

ленной электронной парой кислорода карбонильного фрагмента (C=O) молекулы пиридинкарбоновой кислоты (донора) и аминогруппой (NH₂) метионина (акцептора), тем более, что геометрические параметры благоприятствуют этому (табл. 4). Однако энергетический критерий не подтверждает образования достаточно прочной водородной связи (табл. 5). В таком случае, можно говорить лишь о слабой водородной связи между указанными атомами [53].

Изменение энергии взаимодействия ($\Delta E^{\text{вз}}$) в процессе образования комплексов Met...PA и Met...NA рассчитывали по уравнению

$$\Delta E^{\text{вз}} = E_{\text{Met...PA/NA}} - E_{\text{Met}} - E_{\text{PA/NA}}, \quad (11)$$

где $E_{\text{Met...PA/NA}}$ — значение полной энергии оптимизированной структуры комплекса, E_{Met} и $E_{\text{PA/NA}}$ — энергии молекул аминокислоты и изомеров (PA, NA), соответственно, полученные путем “single point” вычислений их геометрии в комплексе для газовой фазы. Как видно из табл. 4, энергия взаимодействия более отрицательна для комплекса Met...NA, чем для комплекса Met...PA. По-видимому, это связано с расположением карбоксильной группы и атома азота в пиридиновом кольце. Распределение электронной плотности молекулы изменяется в зависимости от “орто” (в молекуле PA) или “мета” (в молекуле NA) положения карбоксильной группы в ароматическом кольце относительно атома азота [54, 55]. Более удаленное “мета”-положение COOH группы в молекуле NA по сравнению с “орто”-положением в молекуле PA в меньшей степени ограничивает степень миграции электронов кольца к –COOH группе [20, 55]. Кроме того, в молекуле PA возможно образование дополнительной внутримолекулярной водородной связи между атомом азота пиридинового кольца и водородом Н–О фрагмента в карбоксильной группе (типа хелатной формы) [20], что ограничивает возможность взаимодействия PA с аминокислотой через Н-связи. Следовательно, образование комплекса Met...NA энергетически более выгодно, чем Met...PA.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методами денсиметрии исследованы молекулярные взаимодействия в водных буферных рас-

творках, содержащих метионин и пиридинкарбоновую кислоту (PA, NA) при разных температурах. Определены кажущиеся (V_{ϕ}) и парциальные (V_{ϕ}^0) молярные объемы, а также предельные кажущиеся молярные объемы переноса ($\Delta_{\text{tr}}V_{\phi}^0$) пиридинкарбоновых кислот из буфера в буферный раствор, содержащий аминокислоту. Показано, что нелинейный характер концентрационных зависимостей $V_{\phi} = f(m)$ в тройных системах (PA–Met–буфер) и (NA–Met–буфер) свидетельствует об образовании молекулярного комплекса со стехиометрией Met к PA/NA как ~1 : 1. Полученные положительные значения параметров $(\partial V_{\phi}^0 / \partial T)_p$, $(\partial^2 V_{\phi}^0 / \partial T^2)_p$ и $\Delta_{\text{tr}}V_{\phi}^0$ свидетельствуют о существенном вкладе электростатических, сольватационных эффектов и водородных связей во взаимодействие между растворенными веществами. Показано, что NA оказывает больший структурно-укрепляющий эффект на растворитель, чем ее изомер PA. Буферные растворы, содержащие PA/NA и Met, более структурированы, чем растворы пиколиновой и никотиновой кислот в буфере. Таким образом, добавление пиридинкарбоновой кислоты вызывает уменьшение склонности молекул Met к агрегации с PA и увеличение — к агрегации с NA в буферных растворах.

Методом квантовой химии (DFT/B3LYP/cc-pVTZ) проведено моделирование комплексов метионина с молекулами пиколиновой и никотиновой кислот. Определены строение и энергии образования двух комплексов Met...PA и Met...NA в газовой фазе. Образование комплекса Met...NA энергетически более выгодно, чем Met...PA. Показано, что более стабильный комплекс характеризуется наличием прочной межмолекулярной водородной связи.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Ивановской области РФ в рамках научного проекта № 18-43-370018. Измерения плотности выполнены на оборудовании центра коллективного пользования “Верхневолжский региональный центр физико-химических исследований” ИХР РАН (<http://www.isc-ras.ru/ru/struktura/ckp>).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Nain A.K., Pal R., Droliya P.* // J. Chem. Thermodynamics. 2016. V. 95. P. 77.
2. *Zhang J., Zhu C., Ma Y.* // Ibid. 2017. V. 111. P. 52.
3. *Lianga P., Zhengb J., Daia Sh. et al.* // J. Control. Release. 2017. V. 260. P. 22.
4. *Ahmad I., Anwar Z., Ali S.A. et al.* // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. 2016. V. 157. P. 113.
5. *Koch-Weser J., Sellers E.M.* // N. Engl. J. Med. 1976. V. 294. P. 311.
6. *Kumar A., Rani R., Saini B., Bamezai R.K.* // J. Solution Chem. 2017. V. 46. P. 931.
7. *Patyar P., Kaur G., Kaur T.* // J. Solution Chem. 2018. V. 47. P. 2039.
8. *EI-Dossoki F.I.* // Ibid. 2015. V. 44. P. 264.
9. *Landaeta V.R., Barrera Y., Del Carpio E. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2018. V. 474. P. 297.
10. *Заводинский В.Г., Гниденко А.А., Давыдова В.Н.* // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. 2003. № 2. С. 11.
11. *Zhang Y., Yang J., Fan H., Li Ch.* // J. Mol. Struct.: Theochem. 2010. V. 951. Iss. 1–3. P. 21.
12. *Токавкина Н.А., Бауков Ю.И., Зурабян С.Э.* Биорганическая химия. М.: Просвещение, 2010. 416 с.
13. *Brosnan J.T., Brosnan M.E.* // J. Nutr. 2006. V. 136. P. 1636S.
14. *Sharma S., Gomes J.* // Eng. Life Sci. 2001. V. 1. P. 69.
15. *Vale J.A., Meredith T.J., Goulding R.* // Arch. Intern. Med. 1981. V. 141. P. 394.
16. *Meininger V., Flamier A., Phan T. et al.* // Rev. Neurol. 1982. V. 138. P. 297.
17. *Campbell J.W., Goldstein L.* (Eds.). Nitrogen Metabolism and Environment. London: Academic Press, 1972.
18. *Ziemer S.P., Woolley E.M.* // J. Chem. Thermodynamics. 2007. V. 39. P. 493
19. *Świdorski G., Kalinowska M., Wojtulewski S., Lewandowski W.* // Spectrochim. Acta. Part A: Mol. Biomol. Spectrosc. 2006. V. 64. P. 24.
20. *Miyagawa M., Alai N., Nakata M.* // J. Mol. Structure. 2015. V. 1086. P. 1.
21. *Wettersgren Y., Carlsson G., Odin E., Gustavsson B.* // Cancer. 2012. V. 6. P. 2935.
22. *Fernandez-Pol J.A., Klos D.J., Hamilton P.D.* // Anticancer Res. 2001. V. 21. P. 3773.
23. *Grant R.S., Coggan S.E., Smythe G.A.* // Int. J. Tryptophan Res. 2009. V. 2. P. 71.
24. *Datta D., Uslu H., Kumar S.* // Chem. Eng. Res. Design. 2015. V. 95. P. 105.
25. *Evans G.W., Johnson E.C.* // J. Nutr. 1981. V. 111. P. 68.
26. *Broadhurst C.L., Domenico P.* // Diabetes Technol. Ther. 2006. V. 8. P. 677.
27. *Sarkar K., Roy M.N.* // Indian J. Adv. Chem. Sci. 2018. V. 6. P. 96.
28. *Świdorski G., Kalinowska M., Wilczewska A.Z. et al.* // Polyhedron. 2018. V. 150. P. 97.
29. *Tyunina E.Yu., Smirnov V.I., Tarasova G.N.* // Russ. J. Phys. Chem. A. 2020. V. 94. P. 2238.
30. *Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al.* Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003.15.SDD, Gaussian 03, Revision B.03.
31. *Лыткин А.И., Черников В.В., Крутова О.Н. и др.* // Журн. физ. химии. 2016. Т. 90. № 5. С. 717.
32. *Ashton L.A., Bullock J.* // J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1. 1982. V. 78. P. 1177.
33. *Lytkin A.I., Badelin V.G., Krutova O.N. et al.* // Russ. J. Gen. Chem. 2019. V. 89. P. 2235.
34. *Sharma V.K., Zinger A., Millero F.J., De Stefano C.* // Biophys. Chem. 2003. V. 105. P. 79.
35. *Gonçalves E.M., Joseph A., Conceição A.C.L., Minas da Piedade M.E.* // J. Chem. Eng. Data. 2011. V. 56. P. 2964.
36. *Liang Y., Noda L.K., Sala O.* // J. Mol. Struct. 2000. V. 554. P. 271.
37. *Бородин В.А., Васильев В.П., Козловский Е.В.* Математические задачи химической термодинамики. Новосибирск: Наука, 1985. С. 219.
38. *Badeline V.G., Tyunina E.Y., Mezhevoi I.N., Tarasova G.N.* // Russ. J. Phys. Chem. A. 2013. V. 87. P. 1306.
39. *Tyunina E.Yu., Badelin V.G.* // J. Solution Chem. 2016. V. 45. P. 475.
40. *Terekhova I.V., De Lisi R., Lazzara G. et al.* // J. Therm. Anal. Cal. 2008. V. 92. P. 285.
41. *Zielenkiewicz W., Pietraszkiewicz O., Wszelaka-Rylic M. et al.* // J. Solution Chem. 1998. V. 27. P. 121.
42. *Tyunina E.Yu., Badelin V.G., Mezhevoi I.N.* // J. Chem. Thermodynamics. 2019. V. 131. P. 40.
43. *Franks F.* Water: A comprehensive treatise. V. 3. New York: Plenum Press., 1973.
44. *Gurney R.W.* Ionic processes in solution. New York: McGraw Hill, 1953.
45. *Tyunina E.Yu., Badelin V.G., Mezhevoi I.N., Tarasova G.N.* // J. Mol. Liq. 2015. V. 211. P. 494.
46. *Tyunina E.Yu., Badelin V.G., Mezhevoi I.N.* // J. Solution Chem. 2017. V. 46. P. 249.
47. *Hepler L.G.* // Can. J. Chem. 1969. V. 47. P. 4613.
48. *Тюнина В.В., Жабанов Ю.А., Гиричева Н.И.* // Тез. докл. VII Всерос. шк.-конф. молодых ученых "Теоретическая и экспериментальная химия жидкофазных систем" (Крестовские чтения). 12–16 ноября 2012. Иваново: ИХР. 2012. С. 3.
49. *Tyunina V.V., Krasnov A.V., Tyunina E.Yu. et al.* // J. Chem. Thermodynamics. 2019. V. 135. P. 287.
50. *Singh P., Yadav T.K., Karabacak M. et al.* // Spectrochim. Acta A: Molec. Biomolec. Spectrosc. 2012. V. 96. P. 163.
51. *Vogt N., Marochkin I.I., Rykov A.N.* // Phys. Chem. Chem. Phys. 2018. V. 20. P. 9787.
52. *Grabowski S.J.* // Annu. Rep. Prog. Chem. 2006. V. 102. P. 131.
53. *Цирельсон В.Г.* Квантовая химия. Молекулы, молекулярные системы и твердые тела. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. 2010. 496 с.
54. *Koczoń P., Dobrowolski J.Cz., Lewandowski W., Mazurek A.P.* // J. Mol. Structure. 2003. V. 655. P. 89.
55. *Stephenson H.P., Sponer H.* // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. P. 2050.