

## 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 смешанолигандных 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:** смешанолигандное 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.

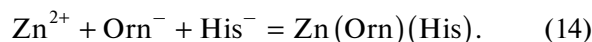
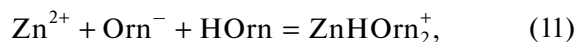
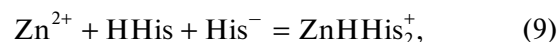
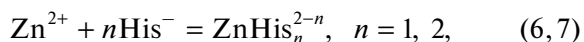
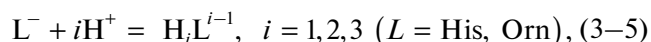
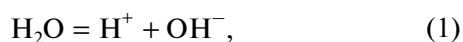
Ранее тройные системы M(II)–His–Orn (M = Ni, Zn) исследовали в основном потенциометрическим методом [8, 9], и структурный аспект в этих работах ограничивался почти исключительно анализом констант равновесия. Более того, в указанных работах в основном рассчитывали константы устойчивости смешанных комплексов 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 Zn : His : 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 (Ni : His : Orn = 1 : 1 : 1), 4–9.3 (Ni : His : Orn = 1 : 1 : 2) и 4–10.0 (Ni : His : 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 РНМЕТР [11], основанной на минимизации функции правдоподобия  $F = \sum (p_c H_{\text{эксп}} - p_c H_{\text{расч}})^2$ , где  $p_c H = -\lg[H^+]$  – соответственно экспериментальные и рассчитанные по модели величины с учетом протекания реакций:



Обработку потенциометрических данных проводили аналогично [10]. В случае соотношения Zn : His : 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 Zn : His : 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  $\text{Zn}(\text{His})(\text{Orn})^-$  не выявлено по причине гетерогенного характера системы при высоких значениях рН. В случае соотношения Zn : His : 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 Zn с орнитинном 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 Zn : His : 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 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 смешанолигандных комплексов в системе  $Zn^{2+}-His^{-}-Orn^{-}-H^{+}$  при 298.15 К и  $I = 0.5$  ( $KNO_3$ )

Равновесие	$\lg K$	$-\Delta_r G^0$ , кДж/моль	$\Delta_r H$ , кДж/моль	$\Delta_r S$ , Дж/(моль К)
$Zn^{2+} + His^{-} + Orn^{-} = ZnHisOrn$	$12.23 \pm 0.07$	$69.81 \pm 0.49$	$-43.75 \pm 0.67$	$87.4 \pm 2.8$
$Zn^{2+} + Orn^{-} + His^{-} + H^{+} = ZnHOrnHis^{+}$	$20.84 \pm 0.06$	$118.95 \pm 0.34$	$-83.74 \pm 0.93$	$118.1 \pm 3.9$
$Zn^{2+} + Orn^{-} + His^{-} + 2H^{+} = ZnHHisHOrn^{2+}$	$28.14 \pm 0.05$	$160.62 \pm 0.30$	$-123.68 \pm 1.45$	$123.9 \pm 4.8$
$Zn^{2+} + 2His^{-} + Orn^{-} = ZnHis_2Orn^{-}$	$15.84 \pm 0.08$	$90.41 \pm 0.46$	$-48.88 \pm 0.30$	$139.3 \pm 1.8$
$Zn^{2+} + 2His^{-} + Orn^{-} + H^{+} = ZnHHis_2Orn$	$25.63 \pm 0.08$	$146.29 \pm 0.46$	$-109.32 \pm 0.45$	$124.0 \pm 4.2$
$Zn^{2+} + 2His^{-} + Orn^{-} + 2H^{+} = ZnHHis_2HOrn^{+}$	$34.24 \pm 0.07$	$195.44 \pm 0.40$	$-143.88 \pm 0.27$	$172.9 \pm 4.7$
$Zn^{2+} + His^{-} + 2Orn^{-} + 3H^{+} = ZnHHis(HOrn)_2^{2+}$	$42.27 \pm 0.14$	$241.27 \pm 0.80$	$-188.9 \pm 1.8$	$183.7 \pm 5.2$
$Zn^{2+} + His^{-} + 2Orn^{-} + 2H^{+} = ZnHis(HOrn)_2^{+}$	$33.68 \pm 0.26$	$192.2 \pm 1.5$	$-136.6 \pm 2.2$	$155 \pm 9$
$ZnHis^{+} + Orn^{-} = ZnHisOrn$	$5.92 \pm 0.07$	$33.79 \pm 0.40$	$-23.65 \pm 0.67$	$34.0 \pm 2.6$
$ZnHis^{+} + HOrn = ZnHisHOrn^{+}$	$4.01 \pm 0.06^1$	$22.89 \pm 0.34$	$-11.72 \pm 0.93$	$37.5 \pm 3.3$
	$5.70 \pm 0.06^2$	$32.54 \pm 0.34$	$-16.56 \pm 0.93$	$53.6 \pm 3.3$
$Zn^{2+} + HOrn + HHis = ZnHHisHOrn^{2+}$	$8.42 \pm 0.05^1$	$48.06 \pm 0.30$	$-26.61 \pm 1.45$	$71.9 \pm 5.0$
	$11.35 \pm 0.05^2$	$64.78 \pm 0.30$	$-41.26 \pm 1.45$	$78.9 \pm 5.0$
$ZnHisOrn + His^{-} = ZnHis_2Orn^{-}$	$3.61 \pm 0.10$	$20.61 \pm 0.87$	$-5.13 \pm 0.30$	$51.9 \pm 3.1$
$ZnHis_2 + Orn^{-} = ZnHis_2Orn^{-}$	$4.00 \pm 0.07$	$22.83 \pm 0.40$	$-3.28 \pm 0.30$	$65.6 \pm 1.7$
$ZnHis_2 + HOrn = ZnHHis_2Orn$	$3.27 \pm 0.08$	$18.66 \pm 0.46$	$-11.82 \pm 0.45$	$22.9 \pm 2.2$
	$4.96 \pm 0.08$	$28.31 \pm 0.46$	$-16.64 \pm 0.45$	$39.1 \pm 2.2$
$ZnHis^{+} + HHis + HOrn = ZnHOrnHHis^{+}$	$8.21 \pm 0.14^1$	$46.86 \pm 0.80$	$-26.71 \pm 0.27$	$67.6 \pm 3.1$
	$11.14 \pm 0.14^2$	$63.59 \pm 0.80$	$-41.36 \pm 0.27$	$74.6 \pm 3.1$
	$9.90 \pm 0.14^3$	$56.51 \pm 0.80$	$-31.55 \pm 0.27$	$83.7 \pm 3.1$
$ZnHisOrn + HHis = ZnHHis_2Orn$	$4.20 \pm 0.11^1$	$23.97 \pm 0.63$	$-15.29 \pm 0.81$	$29.1 \pm 3.4$
	$7.13 \pm 0.11^2$	$40.70 \pm 0.63$	$-29.94 \pm 0.81$	$36.1 \pm 3.4$
	$12.03 \pm 0.14^1$	$68.66 \pm 0.80$	$-39.9 \pm 1.8$	97
$Zn^{2+} + HHis + 2HOrn = ZnHHis(Horn)_2^{2+}$	$14.96 \pm 0.14^2$	$85.39 \pm 0.80$	$-54.6 \pm 1.8$	103
$Zn^{2+} + His^{-} + 2HOrn = ZnHis(HOrn)_2^{+}$	$12.64 \pm 0.26$	$72.26 \pm 1.5$	$-32.8 \pm 2.2$	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 термодинамического 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  $^1H$  и  $^{13}C$  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 ( $\delta_{\text{экс}} = 1.77$  м. д. для  $^1H$  и  $\delta_{\text{экс}} = 27.6$  м. д. для  $^{13}C$ ). Была приготовлена серия растворов (растворитель –  $D_2O$ ) с соотношением Zn : His : Orn = 1 : 1 : 1 и 1 : 2 : 1 при величине pH,



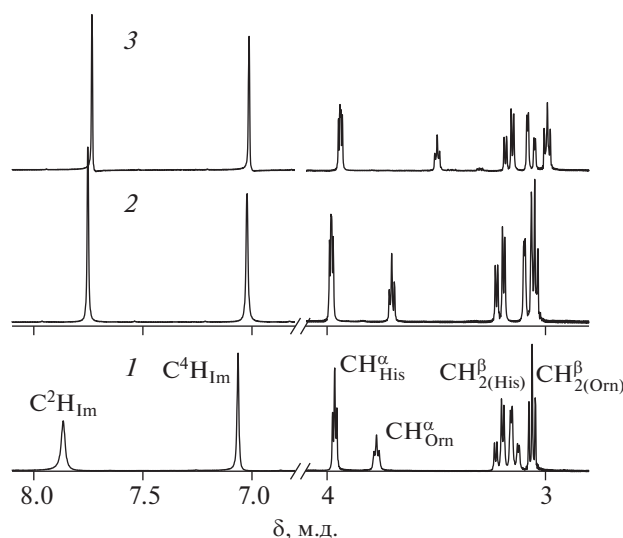


Рис. 5. Спектры ПМР растворов, содержащих  $ZnSO_4$ ,  $HHis \cdot HCl$ ,  $HOrn \cdot HCl$  и  $KOH$  в мольном соотношении 1 : 2 : 1 : 4 (1), 1 : 2 : 1 : 5 (2) и 1 : 2 : 1 : 6 (3); растворитель –  $D_2O$ ;  $C_{Zn} = 0.2$  моль/кг растворителя.

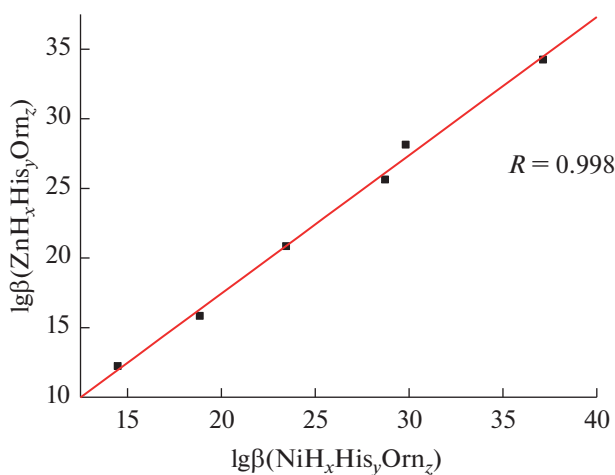


Рис. 6. Корреляционная зависимость констант образования смешанных комплексов  $Ni(II)$  и  $Zn$  с гистидином и орнитинном при 298.15 К и  $I = 0.5$  ( $KNO_3$ ).

с учетом различий в условиях эксперимента. Таким образом, представляло интерес не только уточнить ионный состав растворов в системе  $Zn-His-Orn$  в широком интервале концентрационных соотношений и рН, 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  $Zn$ . В частности, при повышении рН раствора до 7.5 катион  $Zn(II)$  оказывается связанным с донорными атомами  $N_{am}$ ,  $O_{COO}$  и  $N_{im}$  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  $^{15}N-^{15}N$  PDSД 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  $^{13}C$  ЯМР-эксперимента. Полученный при рН 7.5 комплекс

His–Zn(II) наиболее близок по структуре к кристаллическому  $Zn(D,L\text{-His})_2$  [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 Zn–O<sub>COO</sub> значительно больше связей Zn–N<sub>am</sub> и Zn–N<sub>im</sub>). При подкислении раствора (pH ~ 5.87) комплекс принимает октаэдрическую геометрию с четырьмя внутрисферными молекулами воды и двумя монодентатными гистидиновыми лигандами, координированными посредством α-аминогруппы. Предложенная авторами структура комплекса  $[Zn(HHis)_2(H_2O)_4]^{2+}$ , 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  $[ZnHHis_2]^+$ , 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 комплексообразования Zn с гистидином и глицином [20] в качестве модельных процессов. Так, реакция присоединения анионной формы орнитина к комплексу  $ZnHis^+$  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  $HOm^{\pm}$  к  $ZnHis^+$  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  $Zn(His)(Om)$ . 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  $HOm^{\pm}$  к  $ZnHis^+$ , рассчитанные с учетом протонирования α-аминогруппы и предполагающие координацию цвиттер-ионной формы орнитина посредством ε-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  $ZnHis^+$  и  $ZnGly^+$  (табл. 2).

Термодинамические параметры присоединения цвиттер-ионных форм гистидина и орнитина к катиону цинка с образованием комплекса  $Zn(HHis)(HOm)^{2+}$  рассчитывали с учетом возможного протонирования остатка гистидина как по α-аминогруппе, так и по имидазольному кольцу. При этом остаток орнитина считали преимущественно протонированным по ε-аминогруппе и, как следствие, координированным по глицинатному фрагменту. Учет протонирования остатка гистидина по имидазольному фрагменту дает явно завышенные значения  $\lg K$  и экзоэффекта 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 α-аминогруппе и, как следствие, координация  $HHis^{\pm}$  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  $Zn(HHis)(HOm)^{2+}$  (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)

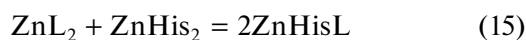
Реакция	L = Gly			Ссылка	L = Orn			Ссылка
	lg K	$\Delta_r H$	$\Delta_r S$		lg K	$\Delta_r H$	$\Delta_r S$	
ZnHis + L = ZnHisL	4.71	–12.75	47.4	[20]	5.92	–23.65	34.0	Наст. работа
ZnHis + HL = ZnHisHL					4.01	–11.72	37.5	
ZnHisL + His = ZnHis <sub>2</sub> L	3.00	–17.35	–1.0		3.61	–5.13	51.9	
ZnHisL + 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 <sub>am</sub> <sup>α</sup> , N <sub>im</sub> , 2O <sub>COO</sub> } ↔ {2N <sub>am</sub> <sup>α</sup> , N <sub>im</sub> , N <sub>am</sub> <sup>ω</sup> , 2O <sub>COO</sub> }
ZnHisHOrn <sup>+</sup>	{2N <sub>am</sub> <sup>α</sup> , N <sub>im</sub> , 2O <sub>COO</sub> }
ZnHHisHOrn <sup>2+</sup>	{2N <sub>am</sub> <sup>α</sup> , 2O <sub>COO</sub> }
ZnHis <sub>2</sub> Orn <sup>–</sup>	{3N <sub>am</sub> <sup>α</sup> , N <sub>im</sub> , 2O <sub>COO</sub> }
ZnHHis <sub>2</sub> Orn	{3N <sub>am</sub> <sup>α</sup> , 3O <sub>COO</sub> }
ZnHHis <sub>2</sub> HOrn <sup>+</sup>	{3N <sub>am</sub> <sup>α</sup> , N <sub>im</sub> , 2O <sub>COO</sub> }
ZnHis(HOrn) <sub>2</sub> <sup>+</sup>	{3N <sub>am</sub> <sup>α</sup> , 3O <sub>COO</sub> }, {3N <sub>am</sub> <sup>α</sup> , N <sub>im</sub> , 2O <sub>COO</sub> }
ZnHHis(HOrn) <sub>2</sub> <sup>2+</sup>	{3N <sub>am</sub> <sup>α</sup> , 3O <sub>COO</sub> }

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 сопропорционирования



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 lgK<sub>(15)</sub> ненамного 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<sub>(15)</sub> 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-

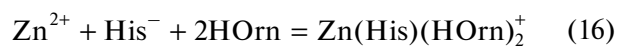
единение остатка гистидина или орнитина здесь возможно только за счет понижения дентатности уже координированных остатков аминокислот. Слабый экзoeffект свидетельствует о том, что присоединение третьего аминокислотного остатка приводит к перераспределению дентатности лигандов в комплексе, не сопровождающемуся увеличением числа координированных атомов азота аминного типа. При этом присоединение His<sup>-</sup> к комплексу Zn(His)(Orn) характеризуется несколько большим экзoeffектом, 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 экзoeffектом, 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 ZnHis<sub>i</sub>Orn<sub>2</sub>, где  $i = 2, 3$  (заряды опущены). Экзoeffект 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 экзoeffекта. 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. Экзoeffект 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 смешиваются 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 химсдвига 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  $Zn(His)(HOm)^+$  и  $Zn(His)(Om)$  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 существовании в растворе как минимум двух структур одного и того же комплекса, различающихся типом координации либо характером межлигандного взаимодействия. В условиях относительно 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 ( $NHis \cdot HCl + HOm \cdot HCl + NaOH + KNO_3$ ) 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.