

# КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ L-ГИСТИДИНА С ИЗОМЕРАМИ ПИРИДИНКАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ВОДНОМ БУФЕРНОМ РАСТВОРЕ ПРИ 298.15 К: КАЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ

© 2025 г. Е. Ю. Тюнина<sup>a</sup>, \*, И. Н. Межевой<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Институт химии растворов им. Г.А. Крестова, РАН, Иваново, 153045, Россия

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

Поступила в редакцию 23.04.2024 г.

После доработки 15.05.2024 г.

Принята к публикации 17.05.2024 г.

Методом калориметрии растворения исследованы особенности взаимодействия гетероциклической аминокислоты L-гистидина (His) со структурными изомерами пиридинкарбоновой кислоты: пиколиновой (PA), никотиновой (NA) и изоникотиновой (INA) кислотами в фосфатном буфере, pH 7.4 при  $T = 298.15$  К. Определены термодинамические параметры: константы связывания, энталпии комплексообразования, энергии Гиббса и энтропии. Установлено, что для His и пиридинмонокарбоновых кислот образование водородных связей и электростатические взаимодействия являются основной силой, определяющей образование комплексов между ними в буферном растворе, о чем свидетельствуют большие отрицательные значения энталпии, а также положительные значения энтропии. Стабильность полученных комплексов зависит от структурной изомерии пиридинкарбоновой кислоты и повышается в ряду: PA < NA < INA. Показано, что основной вклад в стабилизацию образуемых комплексов вносит энталпийная составляющая свободной энергии Гиббса комплексообразования.

**Ключевые слова:** энталпия растворения, гистидин, изомеры пиридинмонокарбоновой кислоты, буферный раствор, термодинамические характеристики

DOI: 10.31857/S0044453725010081, EDN: EIKIBI

## ВВЕДЕНИЕ

В последние годы внимание исследователей привлекают взаимодействия между модельными соединениями белков 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. В исследованиях, посвященных подобным взаимодействиям, чаще всего фиксируется изменение различных физико-химических свойств (вязкости, плотности, скорости ультразвука, др.) растворов, содержащих в основном алифатические аминокислоты при добавлении лекарственных средств, без рассмотрения возможности образования межмолекулярных комплексов [1–3]. Ощущается недостаток исследований по термодинамике взаимодействия аминокислот, содержащих полярные или заряженные боковые цепи, с биологически активными соединениями (лигандами) в условиях жидких сред с физиологическими значениями pH.

L-Гистидин, His (или 2-амино-3-(4-имиадозил)пропионовая кислота) – одна из 20 наиболее

распространенных природных аминокислот в живых организмах. В отличие от алифатических аминокислот, не имеющих полярных боковых групп, молекула His содержит имидазольное кольцо в боковой цепи, которое потенциально способно взаимодействовать с лигандом, наряду с концевыми  $\alpha$ -амино- и  $\alpha$ -карбоксильной группами. Гистидин играет жизненно важную роль в профилактике различных заболеваний, таких как астма, цирроз печени, хронические заболевания почек, сердечно-сосудистые заболевания [4, 5]. Структура и химический состав гистидина служат основой для многих активных центров ферментов, ионных каналов и металлопротеинов [5].

Три изомерные молекулы пиколиновой (пиридин-2-карбоновой) кислоты, никотиновой (пиридин-3-карбоновой) кислоты и изоникотиновой (пиридин-4-карбоновой) кислоты представляют собой производные пиридина и имеют фармакологическое значение благодаря своим химическим и биологическим свойствам. Пиридинкарбоновые кислоты (РуCOOH) и их производные широко применяются в качестве витаминов группы



Рис. 1. Структура исследуемых соединений.

В, химиотерапевтических средств для улучшения обмена веществ, антигиперлипидемических агентов для снижения уровня холестерина, противотуберкулезных препаратов и т.д. [6–8]. Имеющиеся в литературе результаты исследований взаимодействия производных пиридина с различными металлами и органическими соединениями [9–12] показали, что реакционная способность карбоксильной группы зависит от ее расположения в пиридиновом кольце. Ранее [13–15] нами изучена термодинамика взаимодействия изомеров пиридинмонокарбоновой кислоты с такими аминокислотами, как L-аспарагиновая кислота (Asp) и L-аспарагин (Asn) в водных растворах, и L-лизин (Lys) в буферном растворе, которые содержат в алкильной боковой цепи полярные группы кислотного, нейтрального и основного характера, соответственно. Настоящая работа направлена на дальнейшее изучение факторов, определяющих образование комплексов между изомерами PyCOOH и гетероциклической аминокислотой L-гистидином в водном буферном растворе. Структуры исследуемых соединений приведены на рис. 1.

Метод калориметрии растворения использован для исследования взаимодействия реагентов при  $T=298.15$  К в фосфатном буфере, pH 7.4. В этих условиях наблюдается диссоциация  $\alpha$ -COOH-группы и протонирование  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-группы молекулы L-гистидина, а имидазольное кольцо в его боковой цепи депротонировано [16], и, следовательно, His существует преимущественно в цвиттерионной форме ( $HL^{\pm}$ ), при этом вероятность наличия катионной формы ( $H_2L^+$ ) составляет менее 5%. Как было показано ранее [14, 17], никотиновая (NA), пиколиновая (PA) и изоникотиновая (INA) кислоты в буферном растворе с pH 7.4 принимают форму анионов ( $L^-$ ). Роль имидазольной группы в боковой цепи His будет проанализирована путем сравнения полученных результатов с данными по комплексообразованию Lys с теми же изомерами PyCOOH в буферном растворе [15]. Будет также рассмотрено изменение способности His к взаимодействию с PyCOOH при расположении карбоксильной группы в 2-, 3-, 4-положениях в пиридиновом кольце. Будут определены термодинамические характеристики комплексообразования ( $\lg K_c$ ,

$\Delta_c G^\circ$ ,  $\Delta_c H^\circ$ ,  $\Delta_c S^\circ$ ), которые позволят обсудить движущие силы, участвующие во взаимодействии His с исследуемыми молекулами пиридин-монокарбоновых кислот в буферном растворе.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали L-гистидин (Sigma-Aldrich, Japan, CAS63-91-2, >0.99), никотиновую кислоту (Sigma-Aldrich, Germany, CAS59-67-6, ≥0.98), пиколиновую кислоту (Aldrich, CAS98-98-6, ≥0.99) и изоникотиновую кислоту (Aldrich, CAS55-22-1, 0.99). Аминокислоту и изомеры пиридинкарбоновой кислоты сушили при 356 К в вакуумном шкафу в течение 48 ч непосредственно перед использованием. Исследования проводили в водном буферном растворе при pH 7.4, что приближает среду к условиям реальных биологических систем. Значения pH растворов фиксировали цифровым pH-метром Mettler Toledo, модель Five-Easy. Все растворы приготовлены весовым методом, используя весы Sartorius-ME215S (с точностью взвешивания  $1 \times 10^{-5}$  г). Погрешность приготовления растворов нужной концентрации не превышала  $\pm 2 \times 10^{-4}$  моль кг<sup>-1</sup>.

Энталпии растворения кристаллического L-гистидина (фиксированная навеска) в буферных растворах, содержащих разную концентрацию пиридинкарбоновой кислоты, измерены на калориметре с изотермической оболочкой и емкостью реакционного стакана 60 см<sup>3</sup> при температуре  $298.15 \pm 0.01$  К. Схема экспериментальной установки и описание термометрической процедуры приведены в [18, 19]. Данные калибровки калориметра и расчет погрешности измерений представлены в дополнительных материалах к статье [20]. Относительная стандартная погрешность в измерениях энталпий растворения составляла не более 0.7%.

Калориметр был протестирован путем измерения энталпии растворения хлористого калия (KCl) (Sigma-Aldrich, CAS7447-40-7, степень чистоты 99.5 мас. %) в H<sub>2</sub>O при  $T=298.15$  К, рекомендованного в качестве стандарта в работах [21–23]. Наши значения ( $\Delta_{sol} H^\circ = 17.23 \pm 0.07$  кДж моль<sup>-1</sup>) при бесконечном разбавлении находятся в хорошем согласии с рекомендованными

**Таблица 1.** Энталпии растворения L-гистидина (His) в водных буферных растворах пиридинкарбоновых кислот (NA, INA, PA) при 298.15 К

His <sup>a</sup> – NA – буфер [25]		His <sup>a</sup> – INA – буфер		His <sup>a</sup> – PA – буфер	
$m_{\text{NA}}$ , моль $\text{kg}^{-1}$	$\Delta_{\text{sol}}H_m(s+L)$ , $\text{кДж моль}^{-1}$	$m_{\text{INA}}$ , моль $\text{kg}^{-1}$	$\Delta_{\text{sol}}H_m(s+L)$ , $\text{кДж моль}^{-1}$	$m_{\text{PA}}$ , моль $\text{kg}^{-1}$	$\Delta_{\text{sol}}H_m(s+L)$ , $\text{кДж моль}^{-1}$
0.000	8.68	0.000	8.68	0.000	8.68
0.0032	7.74	0.0038	5.25	0.0064	6.61
0.0064	6.83	0.0057	3.34	0.0129	5.29
0.0096	6.10	0.0095	2.41	0.0193	4.36
0.0161	4.86	0.0133	1.05	0.0321	2.42
0.0224	3.35	0.0211	-1.14	0.0448	0.59
0.0288	2.04	0.0284	-2.25	0.0576	-0.81
0.0321	1.39	0.0354	-3.41	0.064	-1.25
0.0416	-0.10	0.0438	-4.69	0.0832	-2.54
0.0520	-1.82	0.0521	-5.31	0.104	-3.26
0.0640	-3.40	0.064	-5.62	—	—
0.0768	-3.77	—	—	—	—

<sup>a</sup>  $m_{\text{His}}=0.0064$  моль  $\text{kg}^{-1}$ .

литературными данными ( $\Delta_{\text{sol}}H^\circ = 17.25 \pm 0.04$  кДж  $\text{моль}^{-1}$  [23] и  $(17.22 \pm 0.04)$  кДж  $\text{моль}^{-1}$  [21, 22]). Кроме того, сравнение полученных нами ранее значений энталпий растворения некоторых аминокислот в воде с данными других авторов показало, что наши значения  $\Delta_{\text{sol}}H^\circ = 14.25 \pm 0.06$  кДж  $\text{моль}^{-1}$  для глицина [24],  $\Delta_{\text{sol}}H^\circ = -3.22 \pm 0.02$  кДж  $\text{моль}^{-1}$  для L-пролина [20] и  $\Delta_{\text{sol}}H^\circ = 14.30 \pm 0.08$  кДж  $\text{моль}^{-1}$  для L-гистидина [25] при бесконечном разбавлении в воде согласуются с литературными значениями ( $14.23 \pm 0.02$  кДж  $\text{моль}^{-1}$ ) [26], ( $-3.25 \pm 0.03$  кДж  $\text{моль}^{-1}$ ) [27] и ( $14.32 \pm 0.06$  кДж  $\text{моль}^{-1}$ ) [27] соответственно, что дополнительно подтверждает достоверность результатов, полученных нами на данном калориметре.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Экспериментальные значения энталпии растворения гистидина в буферных растворах, содержащих изоникотиновую и никотиновую кислоты переменной концентрации, представлены в табл. 1; там же для сравнения приведены данные для никотиновой кислоты, полученные нами ранее [25]. Как видно из табл. 1, эндотермичность процесса растворения аминокислоты уменьшается с ростом концентрации пиридинмонарбоновой кислоты в буферном растворе.

На основании экспериментальных значений энталпии растворения His в буфере,  $\Delta_{\text{sol}}H_m(s)$ , и в буферном растворе с добавками лиганда,  $\Delta_{\text{sol}}H_m(s+L)$ , (где L – PyCOOH) определены

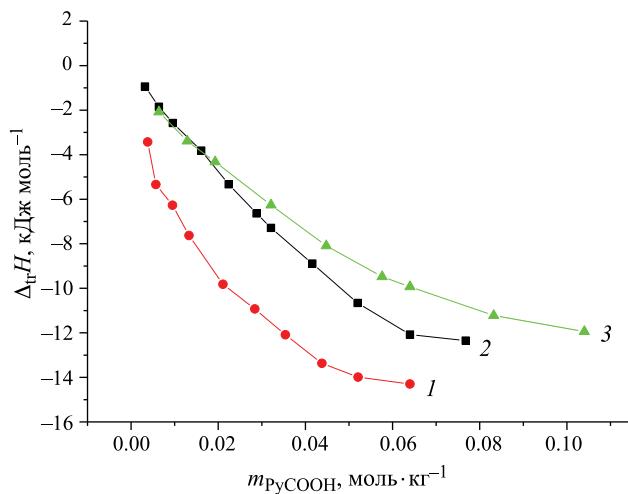
энталпии переноса,  $\Delta_{\text{tr}}H$ , аминокислоты из буфера в буферный раствор лиганда по соотношению:

$$\Delta_{\text{tr}}H = \Delta_{\text{sol}}H_m(s+L) - \Delta_{\text{sol}}H_m(s). \quad (1)$$

Полученное значение разности энталпий ( $\Delta_{\text{tr}}H$ ) можно рассматривать как энталпию, пропорциональную энталпии комплексообразования His с изомерами PyCOOH. Об образовании комплекса His с NA, PA, INA можно судить по зависимости значений  $\Delta_{\text{tr}}H$  от концентрации пиридинкарбоновой кислоты (PA, INA). Как видно из рис. 2, концентрационные зависимости энталпий переноса  $\Delta_{\text{tr}}H = f(m_L)$  носят нелинейный характер. Для сравнения на рис. 2 также представлены результаты, полученные для системы (His + NA + буфер) в предыдущей работе [25]. Для исследованных систем энталпии переноса снижаются с увеличением концентрации пиридинкарбоновой кислоты до достижения практически постоянных значений. Такое поведение возникает в результате связывания лигандов (NA, PA, INA) гистидином и позволяет предположить существование в исследуемых системах взаимодействий, приводящих к образованию комплекса.

Полученные калориметрические данные ( $\Delta_{\text{sol}}H_m$ ,  $\Delta_{\text{tr}}H$ ) были обработаны с помощью компьютерной программы “HEAT” [28], в которой поиск неизвестных параметров ( $\lg K_c$ ,  $\Delta H_c^0$ ) сводится к численной минимизации функционала  $F$  по исключенным параметрам:

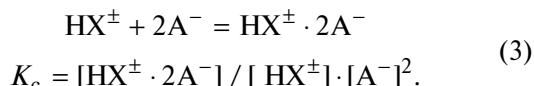
$$F = \sum_{i=1}^n w_i \left( \Delta H_i^{\text{exp}} - \Delta H_i^{\text{theor}} \right)^2, \quad (2)$$



**Рис. 2.** Зависимости энталпий переноса L-гистидина (His) из буфера в буферный раствор изомеров пиридинкарбоновой кислоты (1 – INA, 2 – NA, 3 – PA) от концентрации PyCOOH при  $T = 298.15$  К. Моляльность аминокислоты  $m_{\text{His}} = 0.0064$  моль  $\text{kg}^{-1}$ .

где  $\Delta H_i$  – тепловой эффект  $i$ -й реакции,  $n$  – число опытов,  $w_i$  – весовые множители, которые рассчитываются как  $w_i = A / (\delta \Delta H_i)^2$  (где  $A$  – коэффициент, выбираемый из условия  $\sum w_i = n$ , т.е. сумма весов равна числу опытов;  $\delta \Delta H_i$  – абсолютная погрешность измерения  $\Delta H_i$ ). Поскольку кислотно-основные равновесия, в которых участвуют реагенты в растворах, могут вносить определенный вклад в значения искомой величины ( $\lg K_c$  и  $\Delta_c H^\circ$ ), то тепловые эффекты и константы равновесия реагентов [17, 29–33] дополнительно вводились в вычислительную программу при расчете термодинамических параметров комплексообразования.

Расчет равновесного состава для исследуемых систем с учетом различных стехиометрических схем взаимодействия показал наилучшее соответствие условию минимизации соотношения (2) в случае образования комплекса состава His/2L, где  $L = \text{NA, INA, PA}$ . Процесс комплексообразования между цвиттерионом His ( $\text{HX}^\pm$ ) и анионной формой лиганда ( $\text{A}^-$ ) можно представить схемой:



Энергия Гиббса и энтропия комплексообразования вычислены с помощью термодинамических соотношений:

$$\Delta_c G^\circ = -RT \ln K_c, \quad (4)$$

$$\Delta_c G^\circ = \Delta_c H^\circ - T \Delta_c S^\circ. \quad (5)$$

В табл. 2 представлены термодинамические параметры ( $\lg K_c$ ,  $\Delta_c G^\circ$ ,  $\Delta_c H^\circ$ ,  $T \Delta_c S^\circ$ ), которые получены при стандартных условиях ( $p = 1.01 \times 10^5$  Па,  $T = 298.15$  К) и относятся к процессу взаимодействия реагентов, взятых предполагаемо в стандартном состоянии, то есть обладающих свойствами как в бесконечно разбавленном растворе. Учитывая низкие моляльные концентрации использованных в экспериментах реагентов, а также их органическую природу, указанные термодинамические параметры можно рассматривать как соответствующие таковым для стандартного состояния. Данные в табл. 2 свидетельствуют о том, что в буферном растворе (рН 7.4) гетероциклическая аминокислота His образует с изомерами пиридинкарбоновой кислоты молекулярные комплексы состава 1:2, имеющие константы связывания средней силы.

Анализ полученных результатов показывает, что значения  $\Delta_c G^\circ$  отрицательны для всех систем. Значения  $\lg K_c$  образуемых комплексов His/2PyCOOH **повышаются в ряду изомеров PA → NA → INA**. Аналогичная последовательность наблюдается и для полученных значений  $T \Delta_c S^\circ$  (тенденция к увеличению) и  $\Delta_c G^\circ$  (тенденция к снижению). Более стабильный комплекс His/2INA образуется при нахождении карбоксильной группы ( $\text{COO}^-$ ) в 4- положении в пиридиновом кольце, а ее смещение в 3- и 2- места приводит к понижению способности NA и PA изомеров образовывать комплексы с His. Следует отметить, что при растворении пиридинкарбоновых кислот в буфере (рН 7.4) образующиеся в процессе депротонирования анионы (PyCOO<sup>-</sup>) при 2- и 4- расположении ( $\text{COO}^-$ ) группы в пиридиновом кольце стабилизируются путем делокализации отрицательного заряда по сопряженной системе, включающей гетероатом (N), в отличие от 3-пиридинкарбоновой кислоты, в которой COO<sup>-</sup> группа не сопряжена с гетероатомом [9]. Взаимодействие между His и изомерами NA, PA, INA происходит через перекрывание их гидратных сфер и сопровождается дегидратацией исходных веществ. Очевидно, что расположение отрицательно заряженной карбоксильной группы ближе к атому азота с неподеленной парой электронов приводит к изменению гидратных состояний, а также кислотных свойств указанных изомеров PyCOOH, что приводит к изменению реактивности веществ.

Значения энталпии  $\Delta_c H^\circ$  и энтропии  $\Delta_c S^\circ$  включают вклады: от процессов образования комплексов между реагентами вследствие нековалентных взаимодействий, от дегидратации растворенных веществ при их взаимодействии, от гидратации образуемых комплексов и реорганизации растворителя. Преобладание тех или иных процессов обусловливают отрицательные или положительные значения энталпии и энтропии комплексообразования [34, 35]. Молекулы исследуемых соединений His,

**Таблица 2.** Термодинамические характеристики комплексообразования L-гистидина (His) с николиновой (PA), никотиновой (NA) и изоникотиновой (INA) кислотами в водном буферном растворе, pH 7.4,  $T = 298.15$  К

Комплекс	$\lg K_c$	$\Delta_c G^\circ$ , кДж/моль	$\Delta_c H^\circ$ , кДж моль $^{-1}$	$T\Delta_c S^\circ$ , кДж моль $^{-1}$ К $^{-1}$
His:2PA	$3.03 \pm 0.01$	$-17.27 \pm 0.12$	$-16.05 \pm 0.23$	$1.23 \pm 0.29$
His:2NA*	$3.16 \pm 0.01^*$	$-18.02 \pm 0.06^*$	$-14.32 \pm 0.25^*$	$3.69 \pm 0.42^*$
His:2INA	$4.14 \pm 0.01$	$-23.60 \pm 0.10$	$-15.27 \pm 0.21$	$8.33 \pm 0.31$

\*Данные взяты из [25].

NA, PA, INA содержат зарядные центры ( $\text{COO}^-/\text{NH}_3^+$ ,  $\text{COO}^-$ ), гидрофильные ( $>\text{C}=\text{O}$ ,  $>\text{N}$ ,  $-\text{NH}$ ) и гидрофобные группы. В образовании комплекса могут участвовать такие взаимодействия, как силы Ван-дер-Ваальса, водородные связи, электростатические и гидрофобные взаимодействия. В буферных растворах (pH 7.4) отрицательно заряженная карбоксильная группа  $\text{COO}^-$  в молекулах изомеров PyCOOH участвует в электростатических взаимодействиях с концевыми зарядными ( $\text{COO}^-$ ,  $\text{NH}_3^+$ ) группами цвиттерионной формы His. Полярные группы основной цепи, а также два атома азота в имидазольном кольце боковой цепи гистидина и полярные ( $\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{N}_{\text{pyr}}$ ) группы пиридинкарбоновых кислот могут участвовать в образовании водородных связей, а имеющиеся неполярные углеводородные группы в их молекулах – в гидрофобных и ван-дер-ваальсовых взаимодействиях. Кроме того, исследуемые реагенты His, NA, PA, INA содержат имидазольное и пиридиновые кольца, которые могут взаимодействовать посредством  $\pi$ -стэкинга. Полученные большие отрицательные значения  $\Delta_c H^\circ$  и положительные значения  $\Delta_c S^\circ$  свидетельствуют о том, что основной вклад в стабилизацию комплексов His/2PyCOOH в растворах с pH 7.4 вносят электростатические силы и водородные связи наряду с существующими гидрофобными и, возможно, стэкинг взаимодействиями [34].

Показано, что экзотермический эффект взаимодействия исследуемой аминокислоты с изомерами пиридинкарбоновой кислоты преобладает над эндотермическим эффектом их дегидратации. Выявлено влияние положения карбоксильной группы в пиридиновом кольце изомеров PyCOOH на значения  $\Delta_c H^\circ$ . Наблюдается снижение экзотермичности процесса комплексообразования His с PyCOOH в последовательности: PA > INA > NA, симбатной уменьшению константы диссоциации  $K_{a,1}$  COOH-группы (увеличению  $pK_{a,1}$ ) указанных изомеров пиридинкарбоновой кислоты. По-видимому, это происходит за счет преобладания положительного вклада, обусловленного дегидратацией растворенных веществ и гидрофобными взаимодействиями [34].

Энталпийный вклад благоприятно влияет на образование комплексов His с пиридинмонокар-

боновыми кислотами. Величина энталпии  $\Delta_c H^\circ$  определяется несколькими эффектами, среди которых разрыв водородных связей между молекулами воды при растворении реагента (реорганизация растворителя), дегидратация исходных молекул при взаимодействии и гидратация образуемого комплекса. Первые два эффекта дают эндотермические вклады, а третий – экзотермический вклад в величину  $\Delta_c H^\circ$ . Необходимо отметить, что гидратное состояние растворенных веществ оказывает влияние на способность к связыванию аминокислоты с изомерами PyCOOH. Представляло интерес сравнить энталпии сольватации изомеров PyCOOH в водном растворе (при отсутствии данных для буферного раствора). На основе использования имеющихся литературных данных по энталпиям растворения ( $\Delta_{\text{sol}} H_m^\infty$ ) никотиновой, николиновой и изоникотиновой кислот в водных растворах [36–38] и энталпиям сублимации ( $\Delta_{\text{sub}} H_m^\infty$ ) [39] определены энталпии их сольватации при 298.15 К по соотношению:

$$\Delta_{\text{solv}} H_m^\infty = \Delta_{\text{sol}} H_m^\infty - \Delta_{\text{sub}} H_m^\infty. \quad (6)$$

Полученные значения молярной энталпии сольватации при бесконечном разбавлении ( $\Delta_{\text{solv}} H_m^\infty$ ) для PA, NA, INA в воде отрицательны (табл. 3) и становятся менее экзотермичными в ряду: INA > NA > PA. В той же последовательности уменьшается константа ( $\lg K_c$ ) образования комплексов His/2PyCOOH (табл. 2).

Очевидно, несмотря на то что на образование комплекса His с PA затраты на энергию дегидратации меньше, чем с двумя другими изомерами, и сам процесс является более энталпийно выгодным, однако энтропийный вклад и конфигурационная упаковка комплекса являются, по-видимому, неблагоприятными факторами, которые приводят к наименьшей устойчивости His/2PA-комплекса. Более того, молекула николиновой кислоты имеет три наиболее стабильных конформера (один с внутримолекулярной водородной связью и два без водородной связи), никотиновая кислота может существовать в двух конформациях, различающихся ориентацией карбоксильной группы, и только один стабильный конформер описан для

**Таблица 3.** Значения стандартной молярной энталпии сублимации ( $\Delta_{\text{sub}}H_m^\circ$ ), молярной энталпии растворения ( $\Delta_{\text{sol}}H_m^\circ$ ) и молярной энталпии сольватации ( $\Delta_{\text{solv}}H_m^\circ$ ) при бесконечном разбавлении в водном растворе николиновой (PA), никотиновой (NA) и изоникотиновой (INA) кислот при  $T = 298.15$  К

РуCOOH	$\Delta_{\text{sub}}H_m^\circ$ , кДж моль $^{-1}$	$\Delta_{\text{sol}}H_m^\circ$ , кДж моль $^{-1}$	$\Delta_{\text{solv}}H_m^\circ$ , кДж моль $^{-1}$
PA	92.7 $\pm$ 0.5	16.02 $\pm$ 0.25 <sup>б</sup>	-76.68 $\pm$ 0.76
NA	105.2 $\pm$ 0.6	14.27 $\pm$ 0.39 <sup>в</sup>	-90.93 $\pm$ 0.94
INA	111.3 $\pm$ 0.6	15.18 $\pm$ 0.25 <sup>г</sup>	-96.12 $\pm$ 0.86
<sup>а</sup> Данные из [39];	<sup>б</sup> Данные из [37];	<sup>в</sup> Данные из [36];	<sup>г</sup> Данные из [38]

изоникотиновой кислоты [40]. По-видимому, все эти факторы определяют различную способность указанных выше изомеров РуCOOH к образованию комплексов с His.

Полученные положительные значения  $\Delta_cS^\circ$  обычно расценивают как свидетельство наличия гидрофобных взаимодействий, существования различных конфигураций комплекса и дегидратации растворенных веществ в процессе комплексообразования [34, 41]. Как видно из табл. 2, значения  $T\Delta_cS^\circ$  возрастают в ряду: PA < NA < INA. Следовательно, энтропия комплексообразования становится более положительной при “перемещении” карбоксильной группы из 2- (PA) в 3- (NA) и 4- (INA) положения относительно атома азота пиридинового кольца, что связано, вероятно, с ослаблением стерических препятствий и эффектом релаксации в объем молекул воды из гидратных оболочек реагентов. Полученные результаты свидетельствуют о повышении вклада энтропийного фактора в стабилизацию образуемых комплексов His/2РуCOOH в указанной последовательности.

Сравнение результатов по комплексообразованию L-гистидина и L-лизина [15] с изомерами РуCOOH показало, что устойчивость образующихся комплексов аминокислота/РуCOOH зависит от строения боковых радикалов молекул аминокислот и их ионного состояния в буферном растворе. Лизин (Lys), вследствие наличия ионогенной аминогруппы в боковой цепи, обладает более выраженным основным свойством, чем His, у которого имидазольная группа является также основной благодаря резонансной делокализации заряда при протонировании в водных растворах. Отметим, что в буферном растворе, pH 7.4, Lys существует преимущественно в катионной форме ( $H_2L^+$ ), а вероятность наличия цвиттерионной формы ( $HL^\pm$ ) составляет менее 4% [15].

Установлено образование в буферном растворе молекулярных комплексов His и Lys с изомерами (NA, INA, PA) со стехиометрией 1:2 и 1:1 соответственно, что сопровождается отрицательными изменениями энталпии и положительными значениями энтропии. Тенденции изменения термодинамических параметров ( $\lg K_c$ ,  $\Delta_cH^\circ$ ,  $T\Delta_cS^\circ$ )

сохраняются при образовании комплексов His и Lys в ряду изомеров пиридинкарбоновых кислот. Вместе с тем, величина констант связывания реагентов больше для гистидина, чем для лизина:  $\lg K_c(\text{His}) > \lg K_c(\text{Lys})$ . Катионная форма лизина образует менее устойчивые комплексы с анионной формой изомеров РуCOOH, чем цвиттерионная форма His. Экзотермичность процесса образования комплексов Lys/РуCOOH значительно уменьшается [15] по сравнению с комплексами His/2РуCOOH. При специфическом связывании большую роль играет комплементарность при взаимодействии активных групп аминокислот и пиридинкарбоновых кислот. По-видимому, в буферном растворе более выражено структурное соответствие между изомерами РуCOOH и гетероциклической молекулой His, чем лизина, молекула которого имеет линейную боковую цепь ( $\text{NH}_2\text{--CH}_2\text{--CH}_2\text{--CH}_2\text{--CH}_2\text{--}$ ). Это подтверждается и более положительными изменениями энтропии в случае образования комплексов Lys/L, чем His/2L (где L – NA, PA, INA). Показано, что молекулярные комплексы His с NA, INA и PA стабилизированы преимущественно энталпийным вкладом, а молекулярные комплексы Lys с NA и INA – энтропийным вкладом в свободную энергию Гиббса комплексообразования. Стабильность комплекса Lys с PA определяется балансом между энталпийной и энтропийной составляющими энергии Гиббса [15]. Полученные результаты подтверждают доминирование электростатических взаимодействий и образование водородных связей среди других типов взаимодействий (гидрофобных, ван-дер-ваальсовых,  $\pi$ -стэкинга) при связывании указанных аминокислот с изомерами пиридинкарбоновой кислоты в комплекс в условиях буферного раствора, pH 7.4.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом калориметрии при 298.15 К определены энталпии растворения гетероциклической аминокислоты L-гистидина в водных буферных растворах (pH 7.4), содержащих структурные 2-, 3- и 4-изомеры пиридинкарбоновой кислоты (РуCOOH) при 298.15 К; рассчитаны термодинамические функции ( $\lg K_c$ ,  $\Delta_cG^\circ$ ,  $\Delta_cH^\circ$ ,  $T\Delta_cS^\circ$ )

процесса комплексообразования между реагентами. Установлено образование в буферном растворе комплексов His с изомерами (NA, INA, PA) средней силы со стехиометрией 1:2. Показано влияние структурной изомерии пиридинкарбоновой кислоты на стабильность образуемых комплексов с гистидином; значения констант стабильности ( $\lg K_c$ ) повышаются в ряду изомеров PyCOOH: PA < NA < INA. Энтропия комплексообразования становится более благоприятной (более положительной) при "смещении" карбоксильной группы из орто- (PA) в мета- (NA) и пара- (INA) положения относительно атома азота пиридинового кольца. Установлено, что экзотермический эффект взаимодействия His с изомерами PyCOOH преобладает над эндо-термическим эффектом их дегидратации в буферном растворе. Молекулярные комплексы His с NA, INA и PA стабилизированы преимущественно энталпийным вкладом в энергию Гиббса комплексообразования. Основными движущими силами процесса образования комплексов His/2PyCOOH являются электростатические взаимодействия и образование водородных связей между цвиттерионами L-гистидина и анионными формами изомеров NA, PA, INA в условиях фосфатного буферного раствора, pH 7.4.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Zhang J., Zhu C., Ma Y.* // *J. Chem. Thermodynamics.* 2017. V. 111. P. 52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jct.2017.02.024>
2. *Chauhan S., Singh K., Kumar K. et al.* // *J. Chem. Eng. Data.* 2016. V. 61. P. 788. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.5b00549>
3. *Sawhney N., Kumar M., Sharma A.K. et al.* // *J. Chem. Thermodynamics.* 2017. V. 115. P. 156. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2017.07.040>
4. *Tavallali H., Espergham O., Deilamy-Rad G. et al.* // *Anal. Biochem.* 2020. V. 604. P. 113811. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113811>
5. *Li Sh., Hong M.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2011. V. 133. P. 1534. <https://dx.doi.org/10.1021/ja108943n>
6. *Gille A., Bodor E.T., Ahmed K. et al.* // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2008. V. 48. P. 79. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094746>
7. *Zhang Y.* // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005. V. 45. P. 529. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.100120>
8. *El-Dean A.M.K., Abd-Ella A.A., Hassanien R. et al.* // *ACS Omega.* 2019. V. 4. P. 8406. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00932>
9. *Marinković A.D., Drmanić S.Ž., Jovanović B.Ž. et al.* // *J. Serb. Chem. Soc.* 2005. V. 70. P. 557.
10. *Gamov G.A., Kiselev A.N., Alexsandruiiskii V.V. et al.* // *J. Mol. Liq.* 2017. V. 242. P. 1148. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2017.07.106>
11. *Al-Saif F.A., Al-Humaidi J.Y., Binjawhar D.N. et al.* // *J. Mol. Struct.* 2020. V. 1218. P. 128547. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128547>
12. *Lugo M.L., Lubes V.R.* // *J. Chem. Eng. Data.* 2007. V. 52. P. 1217. <https://doi.org/10.1021/je6005295>
13. *Tyunina E.Yu., Krutova O.N., Lytkin A.I.* // *Thermochimica Acta.* 2020. V. 690. P. 178704. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2020.178704>
14. *Tyunina E.Yu., Krutova O.N., Lytkin A.I. et al.* // *J. Chem. Thermodynamics.* 2022. V. 171. P. 106809. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2022.106809>
15. *Tyunina E.Yu., Mezhevoi I.N.* // *Ibid.* 2023. V. 180. P. 107020. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2023.107020>
16. *Чернова Р.К., Варыгина О.В., Березкина Н.С.* // *Изв. Саратовского ун-та. Нов. Сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* 2015. Т. 15. № 4. С. 15. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2015-15-4-15-21>
17. *Лыткин А.И., Баделин В.Г., Крутова О.Н. и др.* // *Журн. общей химии.* 2019. Т. 89. № 11. С. 1719. [Lytkin A.I., Badelin V.G., Krutova O.N. et al.] // *Russ. J. Gen. Chem.* 2019. V. 89. P. 2235. <https://doi.org/10.1134/S1070363219110124>.
18. *Баделин В.Г., Тюнина Е.Ю., Межевой И.Н.* // *Журн. прикл. химии.* 2007. Т. 80. № 5. С. 732. [Badelin V.G., Tyunina E.Yu., Mezhevoi I.N.] // *Russ. J. Appl. Chem.* 2007. V. 80. P. 711. <https://doi.org/10.1134/S1070427207050047>
19. *Tyunina E.Yu., Mezhevoi I.N., Dunaeva V.V.* // *J. Chem. Thermodynamics.* 2020. V. 150. P. 106206. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2020.106206>
20. *Smirnov V.I., Badelin V.G.* // *Thermochim. Acta.* 2015. V. 606. P. 41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2015.03.007>
21. *Wadsö I., Goldberg R.N.* // *Pure Appl. Chem.* 2001. V. 73. P. 1625.
22. *Parker V.B.* Thermal properties of univalent electrolytes, vol. 2, Nat. Stand. Ref. Data Ser. Nat. Bur. Stand., US Gov., Washington, DC2, 1965, pp. 66.
23. *Archer D.G.* // *Phys. Chem. Ref. Data.* 1999. V. 28. P. 1. <https://doi.org/10.1063/1.556034>
24. *Баделин В.Г., Смирнов В.И., Межевой И.Н.* // *Журн. физ. химии.* 2002. Т. 76. № 7. С. 1299.
25. *Tyunina E.Yu., Badelin V.G., Mezhevoi I.N.* // *J. Mol. Liq.* 2019. V. 278. P. 505. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.01.092>
26. *Palecz B.* // *J. Therm. Anal. Calorim.* 1998. V. 54. P. 257.
27. *Palecz B.* // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. V. 127. P. 17768.

28. *Бородин В.А., Козловский Е.В., Васильев В.П. // Журн. неорган. химии. 1982. Т. 27. № 9. С. 2169. [Borodin V.A., Kozlovsky E.V., Vasil'ev V.P. // Russ. J. Inorg. Chem. 1982. V. 27. P. 2169–2172].*

29. Chemistry and biochemistry of the amino acids. / Ed. By G.C. Barret, Chapman and Hall, London-N.Y.; 1985.

30. *Pettit L.D. // Pure Appl. Chem. 1984. V. 56. P. 247.*

31. *Васильев В.П., Кочергина Л.А., Гаравин В.Ю. // Журн. общ. химии. 1985. Т. 55. С. 2780. [Vasil'ev V.P., Kochergina L.A., Garavin V.Yu. // Russ. J. Gen. Chem. 1985. V. 55. P. 2780.]*

32. *Nagal H., Kuwabara K., Carta G. // J. Chem. Eng. Data. 2008. V. 53. P. 619. <https://doi.org/10.1021/je700067a>*

33. *Ashton L.A., Bullock J. // J. Chem. Soc. Faraday Trans. Part 1. 1982. V. 78. P. 1177.*

34. *Ross P.D., Subramanian S. // Biochemistry. 1981. V. 20. P. 3096. <https://doi.org/10.1021/bi00514a017>*

35. *Castronuovo G., Niccoli M., Varriale L. // Tetrahedron. 2007. V. 63. P. 7047. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.05.014>*

36. *Куранова Н.Н. Комплексообразование и кислотно-основные равновесия в водно-органических растворах  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  и никотиновой кислоты: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Иваново: ИГХТУ, 2019. 16 с.*

37. *Лыткин А.И., Черников В.В., Крутова О.Н. и др. // Журн. физ. химии. 2020. Т. 94. С. 1904. [Lytkin A.I., Chernikov V.V., Krutova O.N., Krutova E.D. // Russ. J. Phys. Chem. A. 2020. V. 94. P. 2569. [https://doi.org/10.1134/S003602442012016X\]](https://doi.org/10.1134/S003602442012016X)*

38. *Лыткин А.И., Черников В.В., Крутова О.Н. и др. // Журн. физ. химии. 2020. Т. 94. № 2. С. 1002. [Lytkin A.I., Chernikov V.V., Krutova O.N., Krutova E.D. // Ibid. A. 2020. V. 94. P. 1342. [https://doi.org/10.1134/S0036024420070213\]](https://doi.org/10.1134/S0036024420070213)*

39. *Sabbah R., Ider S. // Can. J. Chem. 1999. V. 77. P. 249. <https://doi.org/10.1139/cjc-77-2-249>*

40. *Koczoń P., Dobrowolski J.Cz., Lewandowski W. // J. Molec. Struct. 2003. V. 655. P. 89. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(03\)00247-3](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(03)00247-3)*

41. *Haj-Zaroubi M., Schmidtchen F.P. // Chem. Phys. Chem. 2005. V. 6. P. 1181. <https://doi.org/10.1002/cphc.200400559>*

## Physical chemistry of solutions

### COMPLEXATION OF L-HISTIDINE WITH PYRIDINE CARBOXYLIC ACID ISOMERS IN AQUEOUS BUFFER SOLUTION AT 298.15 K: A CALORIMETRIC STUDY

E. Yu. Tyunina<sup>a</sup>, \* and I. N. Mezhevoi<sup>a</sup>

<sup>a</sup>G. A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Ivanovo, 153045 Russia

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

**Abstract.** The peculiarities of interaction of heterocyclic amino acid of L-histidine (His) with structural isomers of pyridine carboxylic acid: picolinic (PA), nicotinic (NA), and isonicotinic (INA) acids in the phosphate buffer, pH 7.4 at  $T = 298.15$  K, are studied by the method of solution calorimetry. Thermodynamic parameters, viz. binding constants, enthalpies of complexation, Gibbs energies and entropies, are determined. For His and pyridine monocarboxylic acids, the formation of hydrogen bonds and electrostatic interactions is found to be the main force determining the formation of complexes between them in the buffer solution, as evidenced by large negative enthalpy values and positive entropy values. The stability of the obtained complexes depends on the structural isomerism of pyridine carboxylic acid and increases in the series: PA < NA < INA. The main contribution to the stabilization of the formed complexes is shown to be made by the enthalpic component of the Gibbs free energy of complexation.

**Keywords:** enthalpy of solution, histidine, pyridine monocarboxylic acid isomers, buffer solution, thermodynamic characteristics