

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 544.174.3

DOI 10.26456/vtchem2024.4.1

ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА *L*-ЦИСТЕИНА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ПРОВЕДЕНИЯ РЕАКЦИИ

О.В. Лусина¹, Т.В. Берестова¹, Р.Р. Гизатов¹, М.Ф. Гарифуллин¹,
А.Г. Мустафин^{1,2}

¹Уфимский университет науки и технологий, г. Уфа

²Уфимский институт химии УНЦ РАН, г. Уфа

Изучено окисление *L*-цистеина в присутствии соединений металлов (Na^+ , Mg^{+2} , Mn^{+2} , Cu^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Fe^{+3}) в зависимости от природы аниона и условий проведения реакции. Показано, что окисление *L*-цистеина (*L*-cysH) в щелочной среде приводит к образованию *L*-цистина (*L*-cys₂) в течение 2-72 ч с выходом до 99%. Вовлечение в реакцию *L*-цистеина в виде цвиттер-иона с серосодержащими солями переходных и непереходных металлов приводит к образованию в реакционном растворе побочных продуктов окисления - серосодержащих кислот и их производных.

Ключевые слова: окисление *L*-цистеина, продукты окисления *L*-цистеина, ИК спектроскопия.

В последнее время реакции окисления *L*-цистеина с участием различных окислителей являются предметом активного исследования. В первую очередь это связано с протеканием подобных реакций в биологических системах и их важной функциональной составляющей [1-4].

Продуктами окисления могут являться различные окисленные формы *L*-цистеина в зависимости от условий проведения реакции и выбранного окислителя [5-7]. Кроме того, тиольная функциональная группа SH- является чувствительным маркером на любые изменения в организме и способна взаимодействовать не только с активными окислителями, но и с ионами переходных и непереходных металлов.

В данной работе изучены восстановительные свойства *L*-цистеина в присутствии солей металлов в зависимости от природы аниона и условий проведения реакции.

Экспериментальная часть

L-цистеин приобретён в «AppliChemPanreac». Растворы были приготовлены по стандартным методикам. Для приготовления растворов солей использовались соли «х.ч.» и «ч.д.а.», $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,

$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, MgSO_4 , $\text{ZnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, Na_2SO_4 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, Na_2SO_3 .

Твердые образцы полученных соединений анализировали методом ИК-спектроскопии (таблетки KBr) и методом ИК спектроскопии многократного нарушенного полного внутреннего отражения (МНПВО) (приставка PIKE, США). ИК-спектры поглощения зарегистрированы в диапазоне $450\text{—}3700\text{ см}^{-1}$ на Фурье-спектрометре FTIR-8400S (Shimadzu, Япония) при комнатной температуре, разрешение 4 см^{-1} , количество сканирований 20.

Взаимодействие L-цистеина с солями переходных и непереходных металлов. Реакцию проводили в реакторе объемом 100 мл на магнитной мешалке в стандартных условиях. К раствору L-цистеина 0.2 г (1.65 ммоль) в 10 мл. дистиллированной воды при комнатной температуре добавляли 5-45 мл раствора, содержащего необходимое количество соли металла. Перемешивали в течение 3-72 ч при комнатной температуре. В результате реакции наблюдали появление в реакционной массе взвеси или осадка. После фильтрования реакционной смеси получали мелкокристаллический L-цистин с выходом до 77%. Фильтрат сушили и анализировали методом ИК спектроскопии. Интерпретацию продуктов окисления проводили путем анализа ИК спектров.

Взаимодействие L-цистеина с солями переходных и непереходных металлов в щелочной среде [5]. Реакцию проводили в реакторе объемом 100 мл на магнитной мешалке в стандартных условиях. К раствору L-цистеина 0.2 г (1.65 ммоль) в 10 мл. дистиллированной воды при комнатной температуре добавляли эквивалентное количество 1М раствора NaOH. Реакционную массу перемешивали в течение 30 минут и затем добавляли 5-45 мл раствора, содержащего необходимое количество соли металла. Перемешивали в течение 3-72 ч при комнатной температуре. В результате реакции наблюдали появление в реакционной массе взвеси или осадка. После фильтрования реакционной смеси получали мелкокристаллический L-цистин с выходом до 99%. Фильтрат сушили и анализировали методом ИК спектроскопии. Интерпретацию продуктов окисления проводили путем анализа ИК спектров.

L-цистин ($L\text{-cys}_2$) ЯМР ^1H (500 МГц, D_2O , 298 К) δ 3.06 (дд, 1H, $^2J = 16.8\text{ Гц}$, $^3J = 7.7\text{ Гц}$, СНН); 3.28 (дд, $^2J = 14.1\text{ Гц}$, $^3J = 4.1\text{ Гц}$, 1H, СНН); 3.83 (дд, $^2J = 12\text{ Гц}$, $^3J = 4.5\text{ Гц}$, 1H, CH_2CHCOOH). ЯМР ^{13}C (500 МГц, D_2O , 298 К) 42.00 (C^1 , $\text{C}^{1'}$), 54.61 (C^2 , $\text{C}^{2'}$), 178.64 (C^3 , $\text{C}^{3'}$). ИК (KBr, см^{-1}): 3360-3219; $\nu_{\text{as,s}}(\text{OH})$; 1623с, 1589ср. $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$; 1495 с $\delta_{\text{as,s}}(\text{NH}_3^+)$; 1404 ср $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$; 1346 ср, 1293 $\delta(\text{CH}, \text{CH}_2)$.

Обсуждение результатов

Установлено, что добавление к раствору L-цистеина в виде

цвиттер-иона эквивалентного количества раствора серосодержащей ($S_2O_8^{2-}$, $S_2O_3^{2-}$, SO_3^{2-} , SO_4^{2-}) соли металла (Na^+ , Mg^{+2} , Mn^{+2} , Cu^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Fe^{+3}) не приводит к образованию комплексных соединений [8-11], а способствует образованию *L*-цистина с выходом до 77% в течение 3-72 ч. (схема 1, табл. 1).

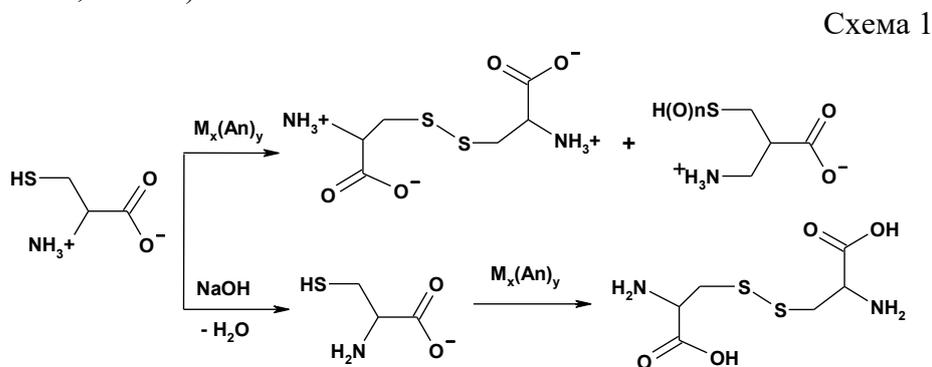


Таблица 1

Продукты реакции *L*-цистеина с солями металлов

Реагент (раствор соли)	Соотношение <i>L</i> -цистеин: реагент	рН	Продукты реакции	
			<i>L</i> - цистин, %	Смесь серосодержащих кислот и их производных
MgSO ₄	1:1	4	3	+
Na ₂ SO ₃	1:1	7.5	39	+
(NH ₄) ₂ S ₂ O ₈	1:1	1	65	+
CoSO ₄	2:1	5	15	-
CoSO ₄	1:1	5	35	-
CuSO ₄	1:1	1	77	+
CuSO ₄	2:1	2	следы	+
MnSO ₄	1:1	4	15	-
CaSO ₄	1:1	5*	следы	+
Na ₂ S ₂ O ₃	1:1	9	73	+
Fe ₂ (SO ₄) ₃	1:1	1	32	+
Na ₂ SO ₄	1:1	7.5-8	25	+

*температура реакция 30 °С

Максимальный выход *L*-цистина наблюдался в случае применения в реакции (NH₄)₂S₂O₈, Na₂S₂O₃ в соотношении 1:1 и CuSO₄ в избытке цистеина, а наименьший – при использовании MgSO₄ и CaSO₄. По-видимому, следовые количества *L*-цистина в реакционной среде *L*-цистеин:CuSO₄ (2:1) обусловлены протеканием параллельной реакции комплексообразования [12].

При этом в реакционном растворе часто наблюдалось появление

смеси серосодержащих соединений, которые образуются как побочные продукты окисления *L*-цистеина (рис.1). Так, по данным анализа ИК спектров реакционных растворов, в области $1650\text{-}1475\text{cm}^{-1}$ наблюдается наличие частот, соответствующих валентным колебаниям карбоксилат-иона и деформационным колебаниям протонированной амино-группы, которые были отнесены различным формам окисления *L*-цистеина, а именно, *L*-цистеинсульфеновой, *L*-цистеинсульфиновой и *L*-цистеинсульфоновой кислотам [7].

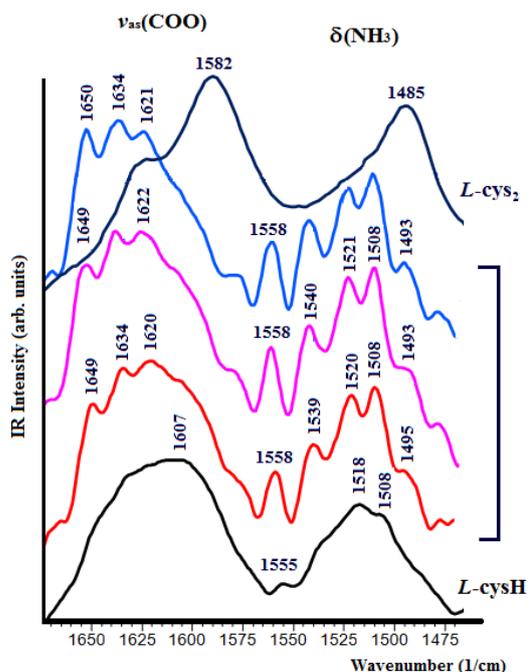


Рис.1. ИК спектры продуктов окисления *L*-цистеина в области $1650\text{-}1475\text{cm}^{-1}$

При этом из перечня вовлекаемых в реакцию солей окислительную роль способны оказывать лишь ионы Cu(II) и Fe(III) [13-14].

Согласно литературным данным [15], серосодержащий анион способен принимать участие в окислительном процессе *L*-цистеина. Этот факт объясняется электронной структурой валентной оболочки (s^2p^4) серы, благодаря которой она проявляет окислительно-восстановительную активность в физиологических условиях и участвует в ряде жизненно важных процессов, которые часто включают обмен атомами, а не только реакции с участием переноса электрона.

В сочетании со способностью халькогенов к катенации и образования межхалькогенных связей, гибкостью степеней окисления (от -2 до $+6$) допускается особый и столь же сложный вид биологического окислительно-восстановительного поведения, которое

до сих пор полностью не изучено. Ключевым отличием активных форм серы (RSS) является то, что, в отличие от кислорода или азота, сера не только образует множество специфических активных частиц, но и нацеливается на себя, поскольку молекулы, содержащие серу, т.е. пептиды, белки и ферменты, преимущественно реагируют с RSS. Не удивительно, что в настоящее время окислительно-восстановительная передача сигналов с участием серы внутри живой клетки является острой проблемой, которая уже переступила границу тиоловой/дисульфидной биохимии и превратилась в сложный лабиринт взаимодействующих путей передачи сигналов и контроля, которые включают различные степени окисления серы. Активные формы серы вездесущи и, в некоторых случаях, являются истинной причиной окислительно-восстановительного процесса. Возможно, RSS являются более важными интермедиатами, чем активные формы кислорода или активные формы азота, которые на протяжении десятилетий доминировали в области окислительно-восстановительного потенциала [16].

Реакции *L*-цистеина с солями металлов в щелочной среде (схема 1, табл. 2) с образованием *L*-цистина происходили намного быстрее, по-видимому, из-за образования тиольного радикала RS[•] [17-18].

Таблица 2
Продукты реакции *L*-цистеина с растворами солей металлов при добавлении NaOH

Реагент (раствор соли)	Соотношение (<i>L</i> -cys:реагент:NaOH)	pH	Выход <i>L</i> -цистина, %
NiSO ₄	1:1:1	5	86
CuSO ₄	1:1:1	3	99
CuCl ₂	1:1:1	5	99
Na ₂ SO ₄	1:1:1	9	13
CuCl ₂	1:0.8:1	5	99
CuCl ₂	1.2:1:1.2	3	99
Fe(NO ₃) ₃	1:1:1	5-6	58
Fe ₂ (SO ₄) ₃	1:1:1	3-4	78
FeCl ₃	1:1:1	3	60
CuSO ₄	1:0.8:1	5.5	99

В этом случае, наибольший выход *L*-цистина (99%) наблюдался в реакции с ионами Cu(II) в соотношении 1:1:1 в стандартных условиях [5] (табл. 2).

Таким образом, в ходе проведенного исследования было установлено, что окислительные свойства *L*-цистеина во многом определяются кислотностью среды и природой вовлекаемой в реакцию соли металла. Так, в условиях щелочной среды из *L*-цистеина образуется

L-цистин (рис. 2-3) с количественным выходом.

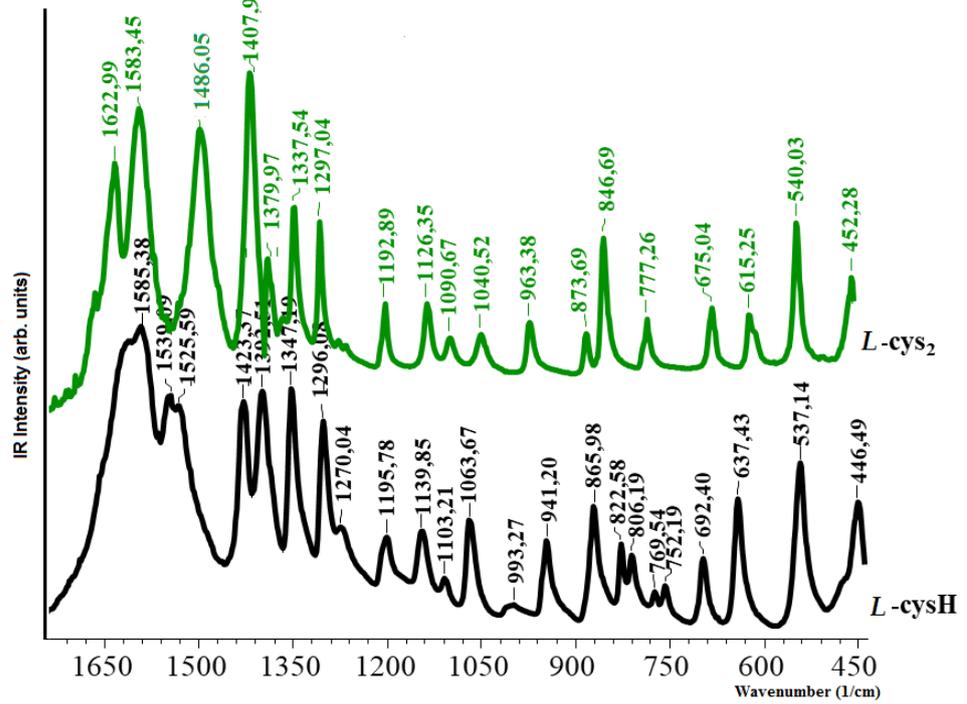


Рис 2. ИК спектры *L*-цистеина и *L*-цистина в области характеристических полос поглощения

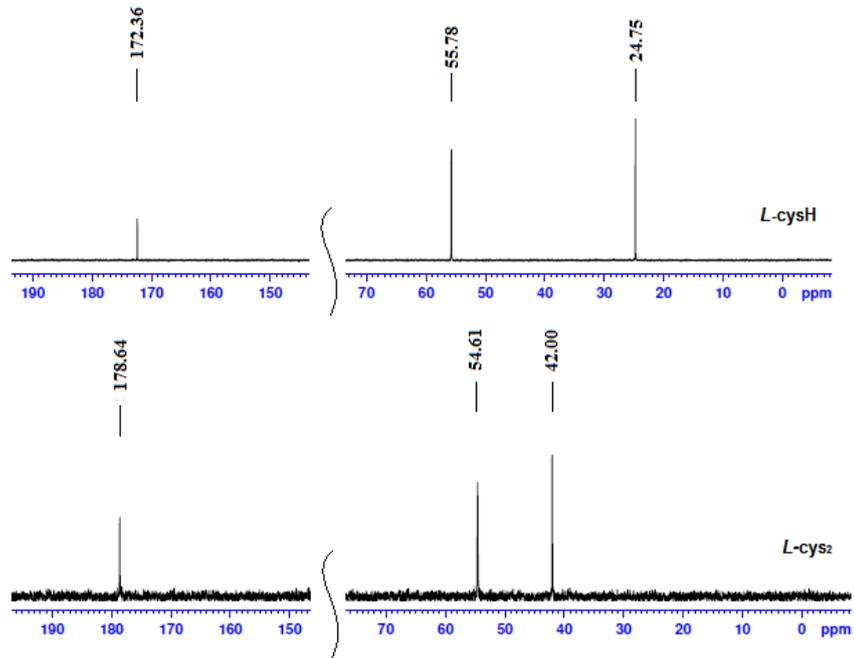


Рис 3. Спектры ЯМР ¹³C *L*-цистеина и *L*-цистина

Добавление к раствору *L*-цистеина в виде цвиттер-иона эквивалентного количества раствора серосодержащей соли металла приводило к образованию *L*-цистина в течение 2-72 ч с выходом до 77%.

В этом случае в реакционном растворе в качестве побочных соединений наблюдалась смесь продуктов окисления - серосодержащих кислот и их производных. Показано, что в процессе окисления *L*-цистеина способны принимать активное участие ион переходного металла и анион вовлекаемой соли.

Благодарности. Спектры ЯМР зарегистрированы на оборудовании ЦКП «Химия» УФИХ РАН и РЦКП «Агидель» УФИЦ РАН. Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Уфимского университета науки и технологий (ПРИОРИТЕТ-2030).

Список литературы

1. Cysteine - New Insights/ Edit. Nina Filip, Andrei Surguchov. 2024. 98 P.
2. Turell L., Zeida A., Trujillo M. Mechanisms and consequences of protein cysteine oxidation: the role of the initial short-lived intermediates//Essays Biochem. 2020. Vol. 64 (1). Pp. 55–66.
3. Alcock L. J. Perkins M. V., Chalker J. M. Chemical methods for mapping cysteine oxidation // Chem. Soc. Rev. 2018. 47. 1. Pp. 231–268.
4. Bonifácio V. D. B., Pereira S. A., Serpa J., Vicente J. B. Cysteine metabolic circuitries: druggable targets in cancer // Br. J. Cancer. 2021. 124. Pp. 862-879
5. Берестова Т.В., Низаметдинова Л.А., Лусина О.В., Мустафин А.Г. Окисление *L*-цистеина в присутствии солей переходных металлов. // Вестник Башкирск. ун-та. 2020. Т. 25. No 2. С. 297-301
6. Берестова Т.В., Низаметдинова Л.А., Лусина О.В., Мустафин А.Г. Способ получения *L*-цистина из депротонированного *L*-цистеина. 2021. RU 2743344.
7. Berestova, T.V., Khamitova, L.A., Lusina, O.V., Kuzina L.G., Lobov, A.N., Mustafin, A.G. NMR study of thiosulfate-assisted oxidation of *L*-cysteine// Mendeleev Communications 2023. 33(1). pp. 99–102
8. Лусина О.В., Берестова Т.В., Кузина Л.Г., Лобов А.Н., Мустафин А.Г. Спектральные характеристики *L*-цистеинсульфеновой кислоты //Вестник Тверск. Ун-та. Серия: Химия. 2022. № 3 (49). С. 80-88.
9. Berestova T. V., Kuzina L. G., Amineva N. A., Faizrakhmanov I. S., Massalimov I. A., Mustafin A. G. ATR-FTIR spectroscopic investigation of the *cis*- and *trans*-bis-(α -amino acids) copper(II) complexes. // J. Mol. Struct. 2017. Vol. 1137. Pp. 260–266.
10. Berestova T. V., Khursan S. L., Mustafin A. G. Experimental and theoretical substantiation of differences of geometric isomers of copper(II) α -amino acid chelates in ATR-FTIR spectra // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2020. Vol. 229. 117950.

11. Berestova T. V., Gizatov R. R., Galimov M. N., Mustafin A. G. Influence of the absolute configuration of the ligand's chiral center on the structure of planar-square phenyl-containing bis-(N,O)copper(II) chelates. // J. Mol. Struct. 2021. Vol. 1236. 130303.
12. Берестова Т.В., Низаметдинова Л.А., Носенко К.Н., Хамитов Э.М., Мустафин А.Г. Бис- и разнолигандные комплексы Cu(II) с L-цистином // Вестник Башкирского университета. 2018. 23(4). С.1037-1041.
13. Berestova, T.V., Nosenko, K.N., Lusina, O.V., Kuzina L.G., Kulish E.I., Mustafin A.G. Estimating the stability of metal–ligand bonding in carboxyl-containing polymer complexes by IR spectroscopy. // J. Struct. Chem. 2020. Vol. 61. Pp. 76–1887.
14. Berestova T.V., Nizametdinova L.A., Lusina O.V., Lobov A.N., Mustafin A.G. Analysis of the Products from the Reaction of L-Cysteine with Fe(III) Compounds in Acidic Medium // J Appl Spectrosc. 2022. P.1-6.
15. Enache T.A., Oliveira-Brett A.M. Boron doped diamond and glassy carbon electrodes comparative study of the oxidation behaviour of cysteine and methionine // Bioelectrochemistry. 2011. V. 81. № 1. P. 46–52.
16. Giles G.I., Jacob C. Reactive Sulfur Species: An Emerging Concept in Oxidative Stress // J. Biol. Chem. - 2002. V. 383. № 3–4.
17. Giles G. I. et al. The reactive sulfur species concept: 15 years on // Antioxidants. 2017. V. 6. №. 2. P. 38.
18. Pecci L., Montefoschi G., Musci G., Cavallini D. Novel findings on the copper catalysed oxidation of cysteine // Amino acids. 1997. V. 13. №. 3. P. 355-367.

Об авторах:

ЛУСИНА Ольга Валерьевна – соискатель ученой степени кафедры физической химии и химической экологии ФГБОУ ВО Уфимский университет науки и технологий (450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32), e-mail: lysinaolga24@gmail.com

БЕРЕСТОВА Татьяна Вячеславовна — кандидат химических наук, доцент кафедры физической химии и химической экологии ФГБОУ ВО Уфимский университет науки и технологий (450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32), e-mail: berestovatv@gmail.com

ГИЗАТОВ Руслан Рустамович – ассистент кафедры физической химии и химической экологии ФГБОУ ВО Уфимский университет науки и технологий (450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32), e-mail: gizatovrr@mail.ru

ГАРИФУЛЛИН Марсель Фиданович – студент 4 курса бакалавриата кафедры физической химии и химической экологии ФГБОУ ВО Уфимский университет науки и технологий (450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32), e-mail: marselgar2003@gmail.com

МУСТАФИН Ахат Газизьянович – доктор химических наук, профессор кафедры физической химии и химической экологии ФГБОУ ВО

Уфимский университет науки и технологий (450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32); ведущий научный сотрудник, Уфимский институт химии УНЦ РАН (450054, г. Уфа, Проспект Октября, 71), e-mail: agmustafin@gmail.com

REDUCING PROPERTIES OF *L*-CYSTEINE DEPENDING ON REACTION CONDITIONS

O.V. Lusina¹, T.V. Berestova¹, R.R. Gizatov¹, M.F. Garifullin¹,
A.G. Mustafin^{1,2}

¹*Ufa University of Science and Technology, Ufa*

²*Ufa Institute of Chemistry, Ufa Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa*

The oxidation of *L*-cysteine in the presence of metal compounds (Na⁺, Mg⁺², Mn⁺², Cu⁺², Co⁺², Ni⁺², Fe⁺³) was studied depending on the nature of the anion and reaction conditions. It was shown, that the oxidation of *L*-cysteine in an alkaline medium leads to the formation of *L*-cystine within 2-72 hours with a yield of up to 99%. Involvement of *L*-cysteine in the reaction in the form of a zwitterion with sulfur-containing salts of transition and non-transition metals leads to the appearance of oxidation by-products in the reaction solution - sulfur-containing acids and their derivatives.

Keywords: *oxidation of L-cysteine, oxidation products of L-cysteine, IR spectroscopy.*

Дата поступления в редакцию: 26.11.2024.

Дата принятия в печать: 29.11.2024.