

УДК 661.235.2

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2020.2.12

ОКИСЛЕНИЕ L-ЦИСТЕИНА В ПРИСУТСТВИИ СОЛЕЙ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ

© Т. В. Берестова^{1*}, Л. А. Низаметдинова¹,
О. В. Лусина¹, А. Г. Мустафин^{1,2}

¹Башкирский государственный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450076 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.

²Уфимский институт химии УФИЦ РАН
Россия, Республика Башкортостан, 450054 г. Уфа, пр. Октября, 71.

Тел./факс: +7 (347) 229 96 97.

*Email: berestovaty@gmail.com

В представленной работе изучена реакция окисления депротонированного L-цистеина до L-цистина в присутствии соединений переходных металлов (Ni(II), Co(II), Fe(III), Cu(II)). Установлено, что реакция протекает с образованием L-цистина за 5–1440 мин с выходом 21–99% в зависимости от природы соли переходного металла. Максимальный выход L-цистина получен при окислении депротонированного с помощью раствора гидроксида натрия L-цистеина с участием солей Cu(II). В этом случае, реакция проходит за 5 минут с выходом L-цистина, достигающим 99%.

Ключевые слова: окисление депротонированного L-цистеина, L-цистин, соли переходных металлов, ИК-спектроскопия.

Введение

Исследование биологической роли серосодержащих аминокислот и механизм их действия в организме является важной и актуальной задачей современного естествознания. Интерес к окислению L-цистеина обусловлен реакционной способностью тиольной группы, которая играет ключевую биологическую роль в ферментативном катализе и служит определенным ориентиром для многих посттрансляционных модификаций [1–2].

Известно, что ключевую роль в реакции окисления тиолов играет уровень pH среды. Так, например, окисление L-цистеина может осуществляться непосредственным окислением кислородом воздуха в слабощелочной среде [3]. Также, согласно литературным данным, окисление L-цистеина в кислой среде протекает, как правило, с образованием сульфокислот [2]. Так, например, продуктами окисления L-цистеина в кислой среде могут быть сульфеновая кислота, сульфиновая кислота и сульфоновая кислота [2; 4]. В качестве окислителя в данной реакции часто применяется H₂O₂ [4–7], активные хлорсодержащие соединения NaClO₃, ClO₂ [8] и др. Кроме того, окислительную роль в этой реакции способны выполнять ионы некоторых переходных металлов, например, Fe(III) [7; 9–11] и Cu(II) [12–13].

В настоящее время, механизм окисления тиолов в присутствии соединений переходных металлов активно изучается. В частности, окисление тиолов в присутствии соединений Cu(II) предполагает в качестве ключевого интермедиата металлокомплекс Cu–L-цистеин [13].

В качестве методов, применяемых для анализа экспериментально полученных промежуточных про-

дуктов окисления тиолов, чаще всего используется ЯМР [13], УФ [12] и ИК-спектроскопия, а также хроматографические методы [5; 7; 9; 12].

Ранее нами были изучены аминокислотные комплексы Cu(II) [14–18] и Ni(II) [19] с применением ИК спектроскопии. Также было показано, что L-цистин может реагировать с ионами Cu(II) с образованием комплексных соединений по бисглициновому типу [20].

В данной работе, с целью исследования реакции окисления L-цистеина до L-цистина в зависимости от pH среды, изучена реакция окисления депротонированного L-цистеина в присутствии соединений переходных металлов (Ni(II), Co(II), Fe(III) и Cu(II)).

Экспериментальная часть

В реакции использовали аминокислоту L-цистеин, 99% для синтеза («AppliChem Panreac» ITW Companies). Растворы CuCl₂, CuSO₄, Cu(NO₃)₂, FeCl₃, Fe₂(SO₄)₃, Fe(NO₃)₃, NiCl₂, NiSO₄, CoCl₂ и NaOH готовили из соответствующих кристаллогидратов CuCl₂·2H₂O, CuSO₄·5H₂O, Cu(NO₃)₂·6H₂O, FeCl₃·6H₂O, Fe₂(SO₄)₃, Fe(NO₃)₃·9H₂O, NiCl₂·6H₂O, NiSO₄·7H₂O, CoCl₂·6H₂O и NaOH («АВИЛОН-КОМПАНИХИМ», квалификации «ч.д.а.» Россия). Для приготовления всех растворов использовали дистиллированную воду.

Твердые образцы продуктов реакций анализировали методом FTIR-спектроскопии (таблетки KBr), которые готовили по стандартной процедуре. ИК-спектры поглощения регистрировали в диапазоне 450–3700 см⁻¹ с использованием Фурье-спектрометра FTIR-8400S (Shimadzu) при комнатной температуре. Разрешение – 4 см⁻¹, количество сканирований 20.

Реакция окисления *L*-цистеина до *L*-цистина. В колбу объемом 100 мл, установленную на магнитной мешалке, помещали 0.2 г (1.65 ммоль) *L*-цистеина в 10 мл дистиллированной H_2O и 1,65 мл раствора NaOH (1M) и перемешивали в течение 30 минут. К полученной смеси добавляли 10 мл раствора, содержащего 0.28–0.72 г (1.65 ммоль) $CuCl_2$, $CuSO_4$, $Cu(NO_3)_2$, $FeCl_3$, $Fe_2(SO_4)_3$, $Fe(NO_3)_3$, $NiCl_2$, $NiSO_4$, $CoCl_2$. Реакцию проводили при температуре 20 °C при непрерывном перемешивании в течение 5–1440 мин до появления взвеси. После формирования осадка, полученный продукт дважды промывали на фильтре водой. Получали мелкокристаллический порошок белого цвета с выходом 21–99%.

ИК (KBr), cm^{-1} (*L*-цистин): 2718–3233ср. $\nu_{as,s}(CH)$; 1621ср., 1584ср. $\nu_{as}(COO)$; 1487ср. $\delta(NH_3^+)$; 1408ср., 1382ср. $\nu_s(COO)$; 1337ср., 1298ср., 1192ср. $\delta(CH,CH_2)$.

Результаты и их обсуждение

Нами установлено, что характер окисления кислородом воздуха депротонированного с помощью NaOH *L*-цистеина до *L*-цистина зависит от природы вовлекаемого в реакцию переходного металла. Например, в присутствии соединений Cu(II) реакция может проходить достаточно быстро, в течение 5 мин с выходом *L*-цистина, достигающим 99%. В присутствии соединений Ni(II) реакция идет достаточно медленно, в течение суток (схема, табл. 1). Однако в этом случае основным продуктом реакции также является *L*-цистин.

Показано, что взаимодействие *L*-цистеина с соединениями Cu(II) и Fe(III), способными к вос-

становлению до Cu(I) и Fe(II) за счет работы редокс-пар $\varphi^\circ(Fe^{III}/Fe^{II}) = 0,77$ В и Cu(II) $\varphi^\circ(Cu^{II}/Cu^{I}) = 0,34$ В, проходит достаточно быстро (в течение 5–20 минут) с образованием *L*-цистина (58–99%).

В присутствии ионов Co(II) и Ni(II), восстановление которых возможно только до металла в нулевой степени окисления, реакция идет достаточно медленно. Время реакции в этом случае составляет 24 ч.

По-видимому, образование *L*-цистина в качестве основного продукта при зависит от скорости образования промежуточных комплексных соединений исходного *L*-цистеина с переходным металлом. Подобные комплексные соединения способны выступать интермедиатами этой реакции [13].

Анализ продуктов реакции проведен методом ИК спектроскопии. Образование *L*-цистина легко отследить в ИК спектрах продуктов реакции, поскольку к характеристическим полосам поглощения *L*-цистина относится интенсивный пик в области 1487–1490 cm^{-1} (табл. 2).

Другие характеристические полосы поглощения *L*-цистина представлены в табл. 2. В ИК спектрах *L*-цистина наблюдается смещение полос поглощения антисимметричных валентных колебаний $\nu_{as}(COO)$ карбоксилатного иона в область 1577–1589 cm^{-1} и 1621–1626 cm^{-1} , и симметричных валентных колебаний $\nu_s(COO)$ в область 1380–1383 cm^{-1} и 1405–1406 cm^{-1} соответственно относительно исходной аминокислоты. Широкий диапазон частот, характерный для валентных колебаний $\nu(CH)$ проявляется при 2718–3233 cm^{-1} .

Схема

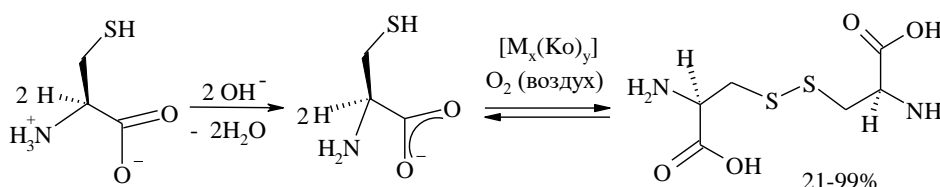


Таблица 1

Выход *L*-цистина в реакции окисления *L*-цистеина в присутствии солей переходных металлов

Соединение переходного металла ($M_x(Ko)_y$)	Соотношение <i>L</i> -cys:NaOH: $M_x(Ko)_y$	Выход <i>L</i> -цистина, %	Время реакции, мин
$CuCl_2$	1:1:1	99	5
$CuSO_4$	1:1:1	99	5
$Cu(NO_3)_2$	1:1:1	79	5
$FeCl_3$	1:1:1	84	20
$Fe_2(SO_4)_3$	1:1:1	78	20
$Fe(NO_3)_3$	1:1:1	58	20
$NiCl_2$	1:1:1	88	1440
$NiSO_4$	1:1:1	86	1440
$CoCl_2$	1:1:1	21	1440

Таблица 2

Характеристические полосы поглощения *L*-цистеина и *L*-цистина

Соединение	Полосы поглощения функциональных групп, см ⁻¹					
	$\nu(\text{CH})$	$\nu(\text{S-H})$	$\nu_{\text{as}}(\text{COO})$	$\delta(\text{NH}_3^+)$	$\nu_2(\text{COO})$	$\delta(\text{CH}_2\text{CH}_2)$
<i>L</i> -cysH	2851ср	2578ср	1603с	1518с	1400с, 1429ср.	1350ср.
<i>L</i> -cystH	2718–3233ср	–	1584с, 1621ср.	1487с	1382ср, 1408с.	1337ср, 1298ср, 1192ср.

Для деформационных частот $\delta(\text{CH}_2\text{CH}_2)$ *L*-цистина наблюдается смещение полос поглощения в более длинноволновую область, а также появление сигналов в области 1297–1298 см⁻¹ и 1192–1197 см⁻¹ по сравнению с *L*-цистеином (табл. 2).

Таким образом, все ИК характеристики *L*-цистина практически полностью совпадают с имеющимися литературными данными [21] и не вызывают сомнений.

Выводы

В ходе проведенного исследования было показано, что реакция окисления депротонированного *L*-цистеина в присутствии солей переходных металлов Ni(II), Co(II), Fe(III), Cu(II) проходит с образованием преимущественно *L*-цистина за 5–1440 мин с выходом 21–99% в зависимости от природы переходного металла. Наибольший выход *L*-цистина получен при окислении депротонированного *L*-цистеина с участием солей Cu(II) и составляет 99%.

ЛИТЕРАТУРА

- Conte M. L., Carroll K. S. The Chemistry of Thiol Oxidation And Detection // Oxidative Stress and Redox Regulation. 2013. P. 1–42.
- Scuderi D., Bodo E., Chiavarino B., Fornarini S., Crestoni M. E. Amino Acid Oxidation: A Combined Study of Cysteine Oxo Forms by IRMPD Spectroscopy and Simulations // Chem. Eur. J. 2016. V. 22. P. 1–13.
- Чичибабин А. Е. Основные начала органической химии. М.: Госхимиздат, 1963. Т. 1. С. 910.
- Chauvin J.-P. R., Pratt D. A. On the Reactions of Thiols, Sulfenic Acids, and Sulfenic Acids with Hydrogen Peroxide // Angew. Chem. Int. Ed. 2017. V. 56. P. 6255–6259.
- Luo D., Smith S. W., Anderson B. D. Kinetics and mechanism of the reaction of cysteine and hydrogen peroxide in aqueous solution // J. Pharm. Sci. 2005. V. 94. No. 2. P. 304–316.
- Truong T. H., Carroll K. S. Redox regulation of EGFR signaling through cysteine oxidation // Biochem. 2012, V. 51(50). P. 9954–9965.
- Zager R. A., Burkhart K. M. Differential effects of glutathione and cysteine on Fe²⁺, Fe³⁺, H₂O₂ and myoglobin-induced proximal tubular cell attack // Kidney Int. 1998. V. 53. P. 1661–1672.
- Darkwa J., Olojo R., Chikwana E., Simoyi R.H. Antioxidant Chemistry: Oxidation of *L*-Cysteine and Its Metabolites by Chlorite and Chlorine Dioxide // J. Phys. Chem. 2004. V. 108. P. 5576–5587.
- Ruetz M., Kumutima J., Lewis B. E., Filipovic M. R., Lehner N., Stemmler T. L., Banerjee R. A distal ligand mutes the interaction of hydrogen sulfide with human neuroglobin // J. Biol. Chem. 2017. V. 292(16). P. 6512–6528.
- Challand M. R., Salvadori E., Driesener R. C., Kay C. W. M., Roach P. L., Spence J. Cysteine Methylation Controls Radical Generation in the Cfr Radical AdoMet rRNA Methyltransferase // PLOS one. 2013. V. 8. P. 1–10.
- Karami B., Montazerzohori M., Moghadam M., Habibi M.H., Niknam K. Selective Oxidation of Thiols to Disulfides Catalyzed by Iron(III) – Tetra Phenyl Porphyrin Using Urea-Hydrogen Peroxide as Oxidizing Reagent // Turk J. Chem. 2005. V. 29. P. 539–546.
- Smith R. C., Reed V. D., Hill W. E. Oxidation of thiols by copper(II) // Phosphorus, Sulfur, and Silicon. 1994. V. 90. P. 147–154.
- Rigo A., Corazza A., Paolo M.L.d., Rossetto M., Ugolini R., Scarpa M. Interaction of copper with cysteine: stability of cuprous complexes and catalytic role of cupric ions in anaerobic thiol oxidation // J. Inorg. Biochem. 2004. V. 38. P. 1495–1501.
- Берестова Т. В., Амантаева Г. Ю., Кузина Л. Г., Аминева Н. А., Массалимов И. А. Высокодисперсные суспензии разнолигандных хелатов Cu(II) с некоторыми α-аминокислотами // Вестник БашГУ. 2014. Т. 19. С. 1182–1184.
- Берестова Т. В., Амантаева Г. Ю., Мифтахова Г. В., Кузина Л. Г., Массалимов И. А. ИК-характеристики стереоизомеров транс- бис- и разнолигандных комплексов Cu(II) с *DL*-треонином // Вестник ТвГУ, сер. химическая. 2015. №2. С. 118–124.
- Берестова Т. В., Михалевич А. П., Кузина Л. Г., Аминева Н. А., Фаттахова А. Х., Мустафин А. Г. Характеристические валентные колебания и геометрические параметры структурных изомеров плоско-квадратных бис-аминокислотных комплексов Cu(II), Pt(II), Pd(II) // Вестник БашГУ. 2017. Т. 22. №1. С. 53–58.
- Berestova T. V., Kuzina L. G., Amineva N. A., Faizrahmanov 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. 1137. P. 260–266.
- 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. 2020. V. 229. 117950.
- Шагиева Л. С., Берестова Т. В. Характеристические частоты поглощения в ИК-спектрах бис- и разнолигандных комплексов [Ni^bL₁^bL₂] (^bL₁, ^bL₂ – gly, *L*-ala, *DL*-val) // Вестник БашГУ. 2016. Т. 21. С. 41–46.
- Берестова Т. В., Низаметдинова Л. А., Носенко К. Н., Хамитов Э. М., Мустафин А. Г. Бис- и разнолигандные комплексы Cu(II) с *L*-цистеином // Вестник БашГУ. 2018. Т. 23. №4. С. 1037–1041.
- Spectral Database for Organic Compounds. URL: https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/direct_frame_top.cgi

Поступила в редакцию 16.11.2019 г.

После доработки – 22.04.2020 г.

**THE OXIDATION OF L-CYSTEINE
IN THE PRESENCE OF TRANSITION METALS SALTS**

© T. V. Berestova^{1*}, L. A. Nizametdinova¹, A. V. Lusina¹, A. G. Mustafin^{1,2}

¹*Bashkir State University
32 Zaki Validi Street, 450076 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

²*Ufa Institute of Chemistry, Ufa Federal Research Center of RAS
71 Oktyabrya Avenue, 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

Phone: +7 (347) 229 96 97.

**Email: berestovatv@gmail.com*

The study of a biological role of sulfur-containing amino acids and the mechanism of their action in an organism is an important and relevant problem. The interest to oxidation of *L*-cysteine is caused by reactivity of a thiol group, which plays a key biological role in fermentation catalysis and serves as a particular reference point for many post-translational modifications. The pH level of the medium is known to play a key role in the thiol oxidation reaction. For example, oxidation of *L*-cysteine can be carried out by direct oxidation with oxygen of air in a weakly alkaline medium. Also, according to literature, oxidation of *L*-cysteine in acidic medium usually occurs to form sulfonic acids. For example, the oxidation products of *L*-cysteine in an acidic medium may be *L*-cysteine sulfenic acid, *L*-cysteine sulfic acid, and *L*-cysteine sulfonic acid. As an oxidant in this reaction, H₂O₂, active chlorine-containing compounds NaClO₃, ClO₂, etc. are often used. In addition, some of transition metals ions, for example, Fe(III) and Cu(II), can play an oxidizing role in this reaction. The authors of the article studied the oxidation of *L*-cysteine to *L*-cystine in the presence of transition metals (Ni(II), Co(II), Fe(III), Cu(II)). It was found that the reaction proceeds with the formation of *L*-cystine in 5–1440 minutes with the yield of 21–99% depending on kind of transition metal. The maximum yield of *L*-cystine is obtained by oxidizing deprotonated *L*-cysteine with Cu(II) salts. In this case, the reaction was carried out in 5 minutes with an *L*-cystine yield of 99%.

Keywords: oxidation of deprotonated L-Cysteine, L-Cystine, transition metals salts, IR spectroscopy.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Conte M. L., Carroll K. S. Oxidative Stress and Redox Regulation. 2013. Pp. 1–42.
2. Scuderi D., Bodo E., Chiavarino B., Fornarini S., Crestoni M. E. Chem. Eur. J. 2016. Vol. 22. Pp. 1–13.
3. Chichibabin A. E. Osnovnye nachala organicheskoi khimii. Moscow: Goskhimizdat, 1963. Vol. 1. Pp. 910.
4. Chauvin J.-P. R., Pratt D. A. Angew. Chem. Int. Ed. 2017. Vol. 56. Pp. 6255–6259.
5. Luo D., Smith S. W., Anderson B. D. J. Pharm. Sci. 2005. Vol. 94. No. 2. Pp. 304–316.
6. Truong T. H., Carroll K. S. Biochem. 2012, V. 51(50). Pp. 9954–9965.
7. Zager R. A., Burkhart K. M. Kidney Int. 1998. Vol. 53. Pp. 1661–1672.
8. Darkwa J., Olojo R., Chikwana E., Simoyi R.H. J. Phys. Chem. 2004. Vol. 108. Pp. 5576–5587.
9. Ruetz M., Kumutima J., Lewis B. E., Filipovic M. R., Lehnert N., Stemmler T. L., Banerjee R. J. Biol. Chem. 2017. Vol. 292(16). Pp. 6512–6528.
10. Challand M. R., Salvadori E., Driesener R. C., Kay C. W. M., Roach P. L., Spence J. PLOS one. 2013. Vol. 8. Pp. 1–10.
11. Karami B. Turk J. Chem. 2005. Vol. 29. Pp. 539–546.
12. Smith R. C., Reed V. D., Hill W. E. Phosphorus, Sulfur, and Silicon. 1994. Vol. 90. Pp. 147–154.
13. Rigo A., Corazza A., Paolo M.L.d., Rossetto M., Ugolini R., Scarpa M. J. Inorg. Biochem. 2004. Vol. 38. Pp. 1495–1501.
14. Berestova T. V., Amantaeva G. Yu., Kuzina L. G., Amineva N. A., Massalimov I. A. Vestnik BashGU. 2014. Vol. 19. Pp. 1182–1184.
15. Berestova T. V., Amantaeva G. Yu., Miftakhova G. V., Kuzina L. G., Massalimov I. A. Vestnik TvGU, ser. khimicheskaya. 2015. No. 2. Pp. 118–124.

16. Berestova T. V., Mikhalevich A. P., Kuzina L. G., Amineva N. A., Fattakhov A. Kh., Mustafin A. G. Vestnik BashGU. 2017. Vol. 22. No. 1. Pp. 53–58.
17. Berestova T. V., Kuzina L. G., Amineva N. A., Faizrakhmanov I. S., Massalimov I. A., Mustafin A. G. J. Mol. Struct. 2017. 1137. Pp. 260–266.
18. Berestova T. V., Khursan S. L., Mustafin A. G. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular. 2020. Vol. 229. 117950.
19. Shagieva L. S., Berestova T. V. Vestnik BashGU. 2016. Vol. 21. Pp. 41–46.
20. Berestova T. V., Nizametdinova L. A., Nosenko K. N., Khamitov E. M., Mustafin A. G. Vestnik BashGU. 2018. Vol. 23. No. 4. Pp. 1037–1041.
21. Spectral Database for Organic Compounds. URL: https://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi

Received 16.11.2019.

Revised 22.04.2020.