

## Preparación de persulfuros de bajo peso molecular

Dayana Benchoam, Beatriz Alvarez y Ernesto Cuevasanta

*Laboratorio de Enzimología, Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay*  
***dbenchoam@fcien.edu.uy***

Los persulfuros (RSSH) son probables intermediarios en la transducción de los efectos fisiológicos reportados para el sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ) en mamíferos. En este trabajo se investigaron distintos métodos para obtener preparados de persulfuros de bajo peso molecular con el fin de estudiar su estabilidad y sus propiedades nucleofílicas y electrofílicas. Se ha reportado que se obtiene persulfuro de cisteína a partir de cistina por acción de la cistationina  $\beta$ -sintasa (CBS) [1]. Se procedió a incubar cistina y CBS humana trunca recombinante, carente de los 143 aminoácidos C-terminales, y se cuantificó la cantidad de persulfuro formado por el método de cianólisis fría. Este método consiste en la reacción entre cianuro y los persulfuros para formar tiocianato y en la posterior detección del tiocianato formado con cationes férricos en medio ácido que forma un complejo coloreado que absorbe a 460 nm. Se comparó el rendimiento a distintos tiempos, diferentes concentraciones de sustrato y enzima y en presencia y ausencia de piridoxal-5'-fosfato, el cofactor catalítico de la CBS. Si bien este método presenta ciertos inconvenientes debido a la baja solubilidad de la cistina, se logró formar persulfuro de cisteína exitosamente, aunque se obtuvo un rendimiento bajo, 3-4 % respecto a la cistina inicial. Por otro lado, se ha reportado la formación de persulfuro de glutatión mediante la incubación de glutatión disulfuro en medio alcalino [2]. En este trabajo se incubó glutatión disulfuro a pH 13 y se tomaron alícuotas en el tiempo que fueron mezcladas con ácido 5-5'-ditio-2-nitrobenzoico (DTNB) permitiendo ver el aumento en la concentración de tiol,  $H_2S$  y persulfuro. Para confirmar la formación del persulfuro de glutatión se repitió el ensayo en viales cerrados a los cuales se les añadió ditioneitol (DTT) y se cuantificó el  $H_2S$  formado por el método de azul de metileno. Sin embargo, el DTT interfirió con este método. Manteniendo las condiciones, paralelamente se estudió la formación de persulfuro de cisteína a partir de la incubación de cistina en medio alcalino, aunque aún no se han obtenido resultados concluyentes. Actualmente se están explorando otros métodos de formación de persulfuros de bajo peso molecular.

[1] Yadav, P. K. et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2016, 138, 289-299. [2] Jones, A. J.; Helmerhorst, E.; Stokes, G. B. *Biochem J.* 1983, 211, 499-502.