

## ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ L-ЦИСТЕИН- И N-АЦЕТИЛ-L-ЦИСТЕИН-СЕРЕБРЯНЫХ ЗОЛЕЙ С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ДНК

С.Д. Прокофьева, В.Д. Денисенко, А.С. Левина,  
Е.Э. Полякова, Д.В. Вишневецкий

ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь

Методами УФ-спектроскопии и динамического рассеяния света (ДРС) исследовано влияние L-цистеин- и N-ацетил-L-цистеин-серебряных золей на стабильность молекулы ДНК. Установлено, что при смешивании исходных золей и ДНК происходит увеличение оптической плотности максимума при ~262 нм, который соответствует поглощению азотистых оснований в нуклеиновой кислоте. Показано, что при введении золей в раствор ДНК и увеличении их содержания, гидродинамические размеры молекул ДНК уменьшаются.

**Ключевые слова:** L-цистеин, N-ацетил-L-цистеин, соли серебра, золи, ДНК, гиперхромный и батохромный сдвиг, гидродинамические размеры

Создание новых, эффективных соединений и материалов на их основе, особенно для медицинских применений, является очень сложной задачей. Большие надежды, в этой связи, возлагаются на новую науку – супрамолекулярную химию, которая изучает закономерности получения сложных, многоатомных объектов, обладающих специфическими биологическими свойствами [1]. Исследование процессов самосборки супрамолекулярных структур в растворах вызывает повышенный интерес с научной точки зрения. Проблема очень актуальна, так как охватывает формирование важнейших физико-химических и биологических объектов.

Экспериментальные и теоретические исследования гелеобразования в цистеин-серебряном растворе [2] указывают на то, что при сливании водных растворов L-цистеина и соли серебра происходит замещение атома водорода тиольной группы серебром, в результате чего формируются цвиттер-ионы меркаптида серебра (МС). Данный факт подтверждается методами УФ-спектроскопии и ИК-спектроскопии. Далее, молекулы МС могут группироваться в олигомерные цепочки типа -Ag-S---Ag-S---Ag-S-. Трехмерный физический объект, полученный путем связывания таких олигомерных цепочек ионами серебра, называется «фрактальным кластером». Он может образовываться при очень небольшом содержании вещества в растворе. Недавно было показано, что самосборка с участием исходных соединений может

протекать и по другому механизму, когда в зависимости от химической природы аминокислоты (L-цистеина или N-ацетил-L-цистеина) возможно формирование частиц с «ядром» кристаллической и некристаллической фазы серебра, окруженного «оболочкой», состоящей из комплексов - аминокислота/Ag<sup>+</sup> [3]. На поверхности частиц расположены amino- и карбоксильные группы, отвечающие за растворимость и стабильность результирующих золей [4]. В работах [2-4] было также установлено, что заряд полученных частиц может иметь как положительные, так и отрицательные значения в зависимости от химической природы аминокислоты, соли серебра, а также pH среды.

Недавно было показано, что исследуемые золи и гели на их основе обладают противораковыми [5], антибактериальными и антибиопленочными [3] свойствами по отношению к бактериям семейства ESKAPE, которые представляют наибольшую проблему в практической медицине. Одним из механизмов подавления раковых и бактериальных клеток может быть угнетение активности молекулы ДНК [6]. Однако, изучение взаимодействия различных частиц с молекулой ДНК непосредственно внутри клетки является довольно сложной задачей. Таким образом, данные, полученные на основе модельного эксперимента, могут дать первичную информацию по вышеупомянутому вопросу.

Целью данной работы было изучение взаимодействий L-цистеин- и N-ацетил-L-цистеин-серебряных золей с низкомолекулярной ДНК.

### **Экспериментальная часть**

В работе использованы следующие реактивы: нитрат серебра 99% («ДИАМ»), нитрит серебра 99% («Lancaster»), ацетат серебра 99% («Acros»), L-цистеин 99% («Вектон»), N-ацетил-L-цистеин 99,5% («Acros»), ДНК (D3159, MM=10-30 кДа, «Sigma Aldrich»). Все растворы готовили на дистиллированной воде.

Для приготовления смесей на основе L-цистеина/N-ацетил-L-цистеина и солей серебра использовали водные растворы исходных компонентов с концентрацией 0,01 М. Готовые цистеин- и ацетил-цистеин-серебряные золи получали по следующей схеме: к 6,5 мл воды приливали 6 мл раствора L-цистеина/N-ацетил-L-цистеина, а затем 7,5 мл раствора солей серебра. Молярное отношение исходных компонентов в этом случае аминокислота/Ag<sup>+</sup> = 1,25. После энергичного перемешивания растворов получали слегка мутный желтовато-зеленый раствор. Опалесцирующий раствор выдерживали в течение 3 часов в темном месте при комнатной температуре. В результате, с использованием L-цистеина (ЦИС), получали прозрачный слегка желтоватый раствор. В случае с N-ацетил-L-цистеином (НАЦ) получали прозрачный бесцветный раствор.

Для приготовления конечных образцов использовали водный раствор ДНК ( $10^{-5}$  М) и золь с различным объемным соотношением компонентов (табл.1).

Таблица 1

Составы исследуемых растворов			
№ образца	V (ДНК/золь), мл.	V (ДНК/соль серебра), мл.	V (золь/ $H_2O$ ), мл.
1	1,0/0	1,0/0	0,1/0,9
2	0,9/0,1	0,9/0,1	0,2/0,8
3	0,8/0,2	0,8/0,2	0,3/0,7
4	0,7/0,3	0,7/0,3	0,4/0,6
5	0,6/0,4	0,6/0,4	0,5/0,5
6	0,5/0,5	0,5/0,5	0,6/0,4
7	0,4/0,6	0,4/0,6	0,7/0,3
8	0,3/0,7	0,3/0,7	0,8/0,2
9	0,2/0,8	0,2/0,8	0,9/0,1
10	0,1/0,9	0,1/0,9	1,0/0

Электронные спектры образцов регистрировали на спектрофотометре Evolution Array фирмы «Thermo Scientific» при комнатной температуре в кварцевой кювете (толщина слоя 1 мм).

Исследование образцов методом динамического рассеяния света (ДРС) проводили на анализаторе Zetasizer Nano ZS (“Malvern”) с He-Ne-лазером (633 нм) мощностью 4 мВт. Все измерения осуществлялись при температуре 25°C в конфигурации обратного рассеяния (173°).

### Результаты и их обсуждение

Электронные спектры в УФ-видимом диапазоне образцов ДНК/соль серебра представлены на рис. 1. В исходном спектре ДНК можно наблюдать основную полосу поглощения ~262 нм, которая соответствует поглощению азотистых оснований в ДНК. Добавление солей серебра вызывает снижение поглощения при ~262 нм и сдвиг полосы в более длинноволновую область. Снижение поглощения может быть связано с эффектом разбавления системы, а вот сдвиг полосы является, вероятно, следствием взаимодействия ионов серебра с фосфатными группами и азотистыми основаниями ДНК. Такое явление хорошо известно и называется батохромным сдвигом.

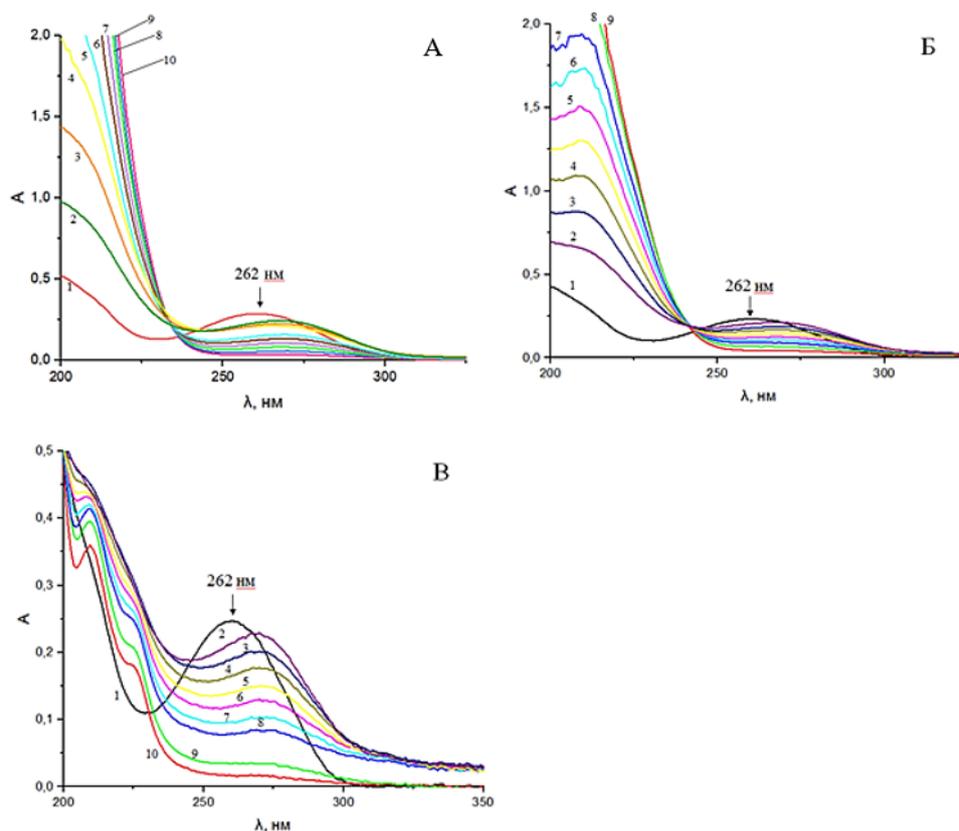


Рис. 1. УФ-спектры поглощения образцов ДНК/соль серебра: А) ДНК/ $\text{AgNO}_3$ ; Б) ДНК/ $\text{AgNO}_2$ ; В) ДНК/ $\text{CH}_3\text{COOAg}$ . Состав образцов: № 1-10, соответственно (табл. 1).

С помощью метода УФ-спектроскопии было установлено, что при введении в раствор ДНК исследуемых золей и увеличении их содержания оптическая плотность максимума при  $\sim 262$  нм постепенно возрастает (Рис. 2). Это явление связано с гиперхромным сдвигом, обусловленным разрывом водородных связей между азотистыми основаниями ДНК, раскручиванием двойной спирали, что тем самым приводит к увеличению поглощения азотистых оснований в индивидуальных цепочках. При этом все системы показывают приблизительно одинаковый эффект.

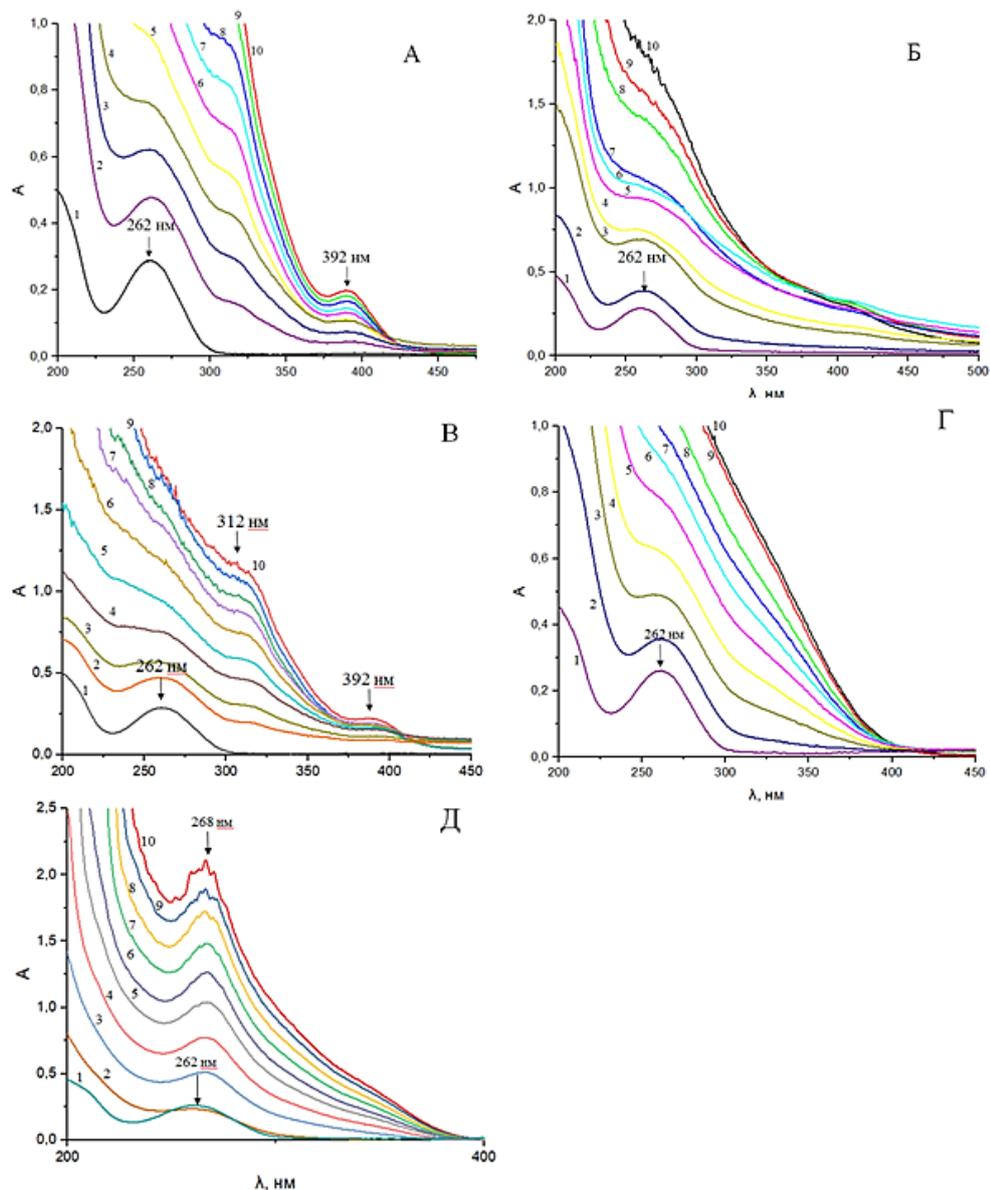


Рис. 2. УФ-спектры поглощения образцов ДНК/золь: А) ДНК/ЦИС- $\text{AgNO}_3$ ; Б) ДНК/ЦИС- $\text{AgNO}_2$ ; В) ДНК/ЦИС- $\text{CH}_3\text{COOAg}$ ; Г) ДНК/НАЦ- $\text{AgNO}_2$ ; Д) ДНК/НАЦ- $\text{CH}_3\text{COOAg}$ . Состав образцов: № 1-10, соответственно (табл. 1)

Для контроля на рис. 3 представлены электронные спектры разбавленных зольей. Видно, что в области 260 нм. нет четкого экстремума по сравнению с системами золь-ДНК. Для ЦИС- $\text{AgOOCCH}_3$  золя наблюдается максимум при 268 нм., который связан с поглощением  $\text{C}=\text{O}$  хромофора от ацетатной группы, и он перекрывается с полосой поглощения ДНК.

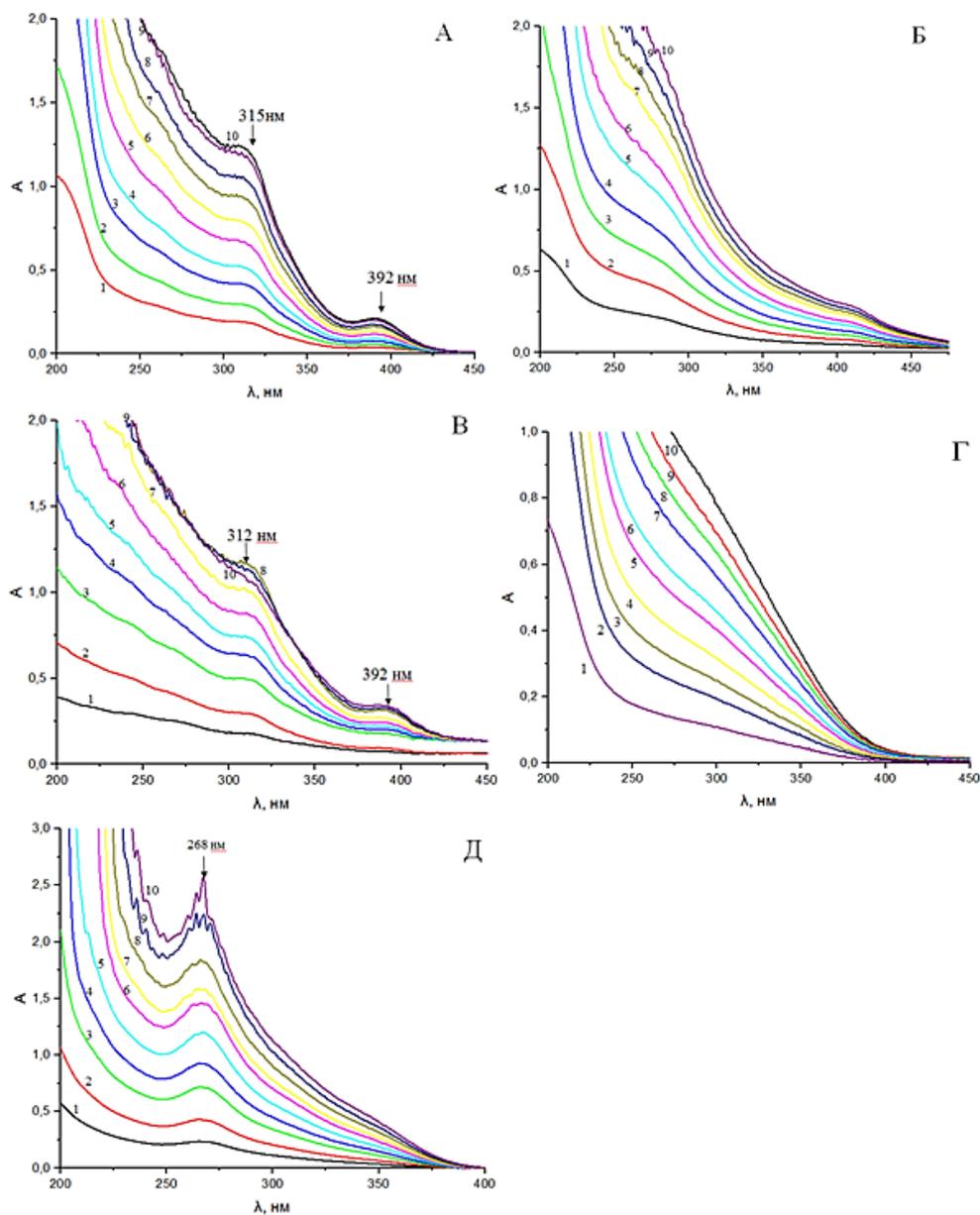


Рис. 3. Уф-спектры поглощения образцов золь/Н<sub>2</sub>О: А) ЦИС-АgNO<sub>3</sub>/Н<sub>2</sub>О; Б) ЦИС-АgNO<sub>2</sub>/Н<sub>2</sub>О; В) ЦИС-СН<sub>3</sub>СООАg/Н<sub>2</sub>О; Г) НАЦ-АgNO<sub>2</sub>/Н<sub>2</sub>О; Д) НАЦ-СН<sub>3</sub>СООАg/Н<sub>2</sub>О. Состав образцов: № 1-10, соответственно (табл. 1)

Изучение образцов с помощью динамического рассеяния света (ДРС) показало, что размеры молекул ДНК уменьшаются при введении чистых солей серебра (рис. 5). Аналогичные закономерности наблюдаются и для систем золь-ДНК. Однако в системах наблюдается и формирование более крупных агрегатов, что для систем золь-ДНК может

быть связано с образованием довольно стабильных интерполиэлектролитных комплексов.

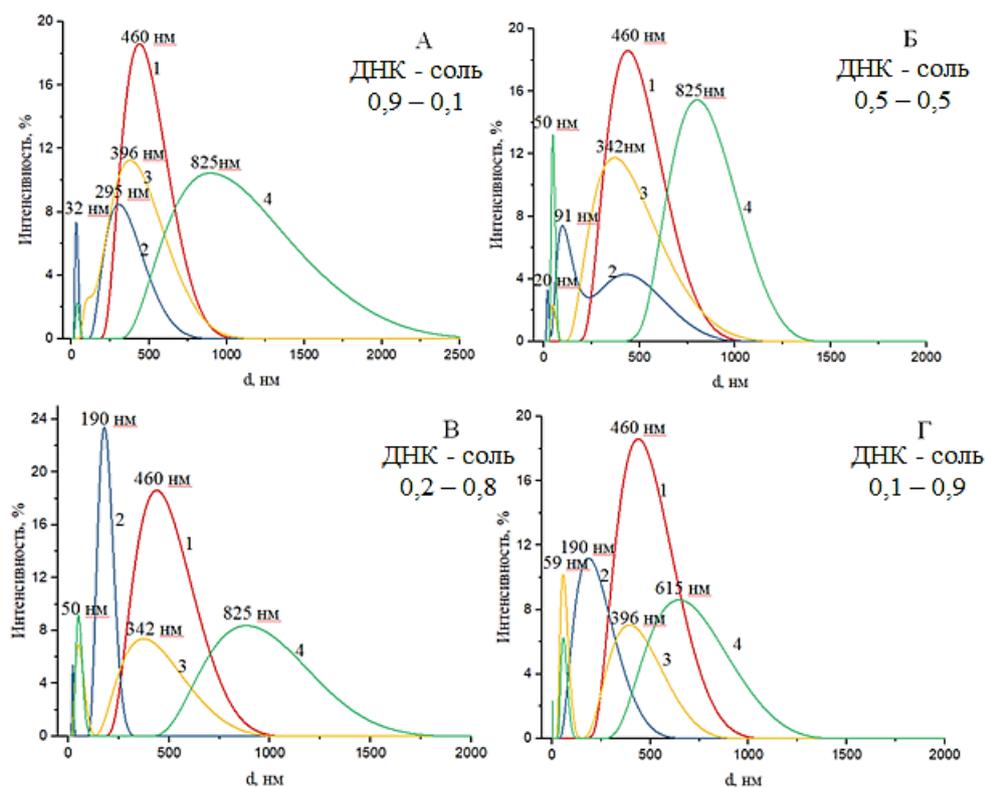


Рис. 5. Распределение частиц по размерам в образцах ДНК/соль серебра при разном соотношении компонентов: 1 - ДНК, 2 - ДНК-AgNO<sub>3</sub>, 3 - ДНК-AgNO<sub>2</sub>, 4 - ДНК-CH<sub>3</sub>COOAg.

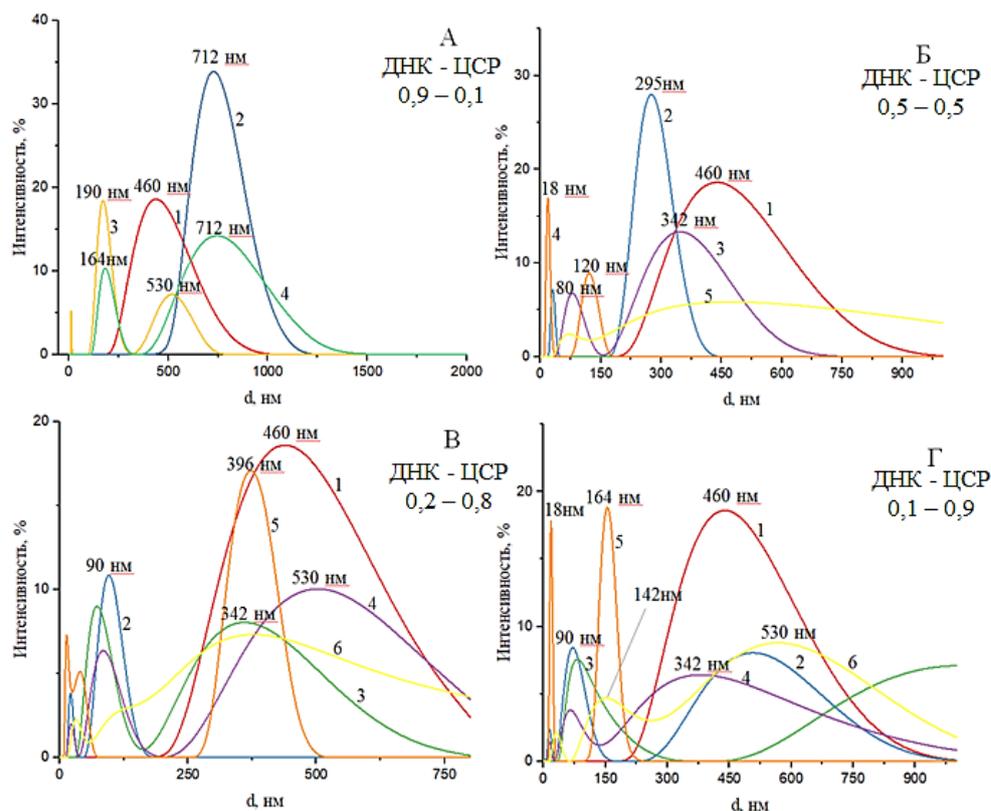


Рис. 6. Распределение частиц по размерам в образцах ДНК/золь при разном соотношении компонентов: А) 1 - ДНК, 2 - ДНК-ЦИС- $\text{CH}_3\text{COOAg}$ , 3 - ДНК-НАЦ- $\text{AgNO}_2$ , 4 - ДНК-НАЦ- $\text{CH}_3\text{COOAg}$ ; Б) 1 - ДНК, 2 - ДНК-ЦИС- $\text{AgNO}_3$ , 3 - ДНК-ЦИС- $\text{CH}_3\text{COOAg}$ , 4 - ДНК-НАЦ- $\text{AgNO}_2$ , 5 - ДНК-НАЦ- $\text{CH}_3\text{COOAg}$ ; В) 1 - ДНК, 2 - ДНК-ЦИС- $\text{AgNO}_3$ , 3 - ДНК-ЦИС- $\text{AgNO}_2$ , 4 - ДНК-ЦИС- $\text{CH}_3\text{COOAg}$ , 5 - ДНК-НАЦ- $\text{AgNO}_2$ , 6 - ДНК-НАЦ- $\text{CH}_3\text{COOAg}$ ; Г) 1 - ДНК, 2 - ДНК-ЦИС- $\text{AgNO}_3$ , 3 - ДНК-ЦИС- $\text{AgNO}_2$ , 4 - ДНК-ЦИС- $\text{CH}_3\text{COOAg}$ , 5 - ДНК-НАЦ- $\text{AgNO}_2$ , 6 - ДНК-НАЦ- $\text{CH}_3\text{COOAg}$

Таким образом, в результате проведенных исследований, при сопоставлении результатов УФ и ДСР можно сделать предварительное заключение, что взаимодействие солей серебра с молекулой ДНК приводит к батохромному сдвигу полосы 260 нм. и уменьшению размеров последней, что может быть связано с подавлением эффекта полиэлектролитного набухания, вследствие экранирования отрицательного заряда фосфатных групп катионами серебра, при этом молекула ДНК сворачивается, но не теряет свою стабильность. При введении золь в раствор ДНК наблюдается гиперхромный сдвиг и уменьшение размеров нуклеиновой кислоты. В данном случае происходит как подавление полиэлектролитного набухания, так и дестабилизация двойной спирали ДНК путем разрыва водородных связей между азотистыми основаниями.

### Список литературы

1. Du, X.; Zhou, J.; Shi, J.; Xu, B. *Chem. Rev.* 2015, 115, 13165–13307
2. S.D. Khizhnyak, P.V. Komarov, M.M. Ovchinnikov, L.V. Zherenkova, P.M. Pakhomov. *Soft Matter*, 2017, 30, 5168-5185
3. Vishnevetskii D.V., Averkin D.V., Efimov A.A., Lizunova A.A., Shamova O.V., Vladimirova E.V., Sukhareva M.S., Mekhtiev A.R. *J. Mater. Chem. B*, 2023, 11, 5794-5804.
4. Vishnevetskii D.V., Semenova E.M., Averkin D.V., Mekhtiev A.R. *Mend. Commun.*, 2023, 33, 431–432.
5. Vishnevetskii D.V., Mekhtiev A.R., Perevozova T.V., Ivanova A.I., Averkin D.V., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. *Soft Matter*, 2022, 18, 3031-3040.
6. M. Chen, Z. Yang, H. Wu, X. Pan, X. Xie, C. Wu. *Int. J. Nanomedicine*, 2011, 6, 2873-2877.

### Об авторах:

ПРОКОФЬЕВА Софья Денисовна – студентка 2 курса магистратуры химико-технологического факультета, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г.Тверь, e-mail: sofya200010@yandex.ru

ДЕНИСЕНКО Василий Денисович – студент 4 курса химико-технологического факультета, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь, e-mail: denvas48@yandex.ru

ЛЕВИНА Алла Степановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры органической химии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь, e-mail: levina.as@tversu.ru

ПОЛЯКОВА Елизавета Эдуардовна – студентка 3 курса химико-технологического факультета, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь, e-mail: elizabeth03pol@gmail.com

ВИШНЕВЕЦКИЙ Дмитрий Викторович – кандидат химических наук, доцент кафедры физической химии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь, e-mail: rickashet@yandex.ru

**PECULIARITIES OF INTERACTION OF L-CYSTEINE-  
AND N-ACETYL-L-CYSTEINE-SILVER SOLS  
WITH LOW MOLECULAR WEIGHT DNA**

**S.D. Prokofieva, V.D. Denisenko, A.S. Levina,  
E.E. Polyakova, D.V. Vishnevetskii**

*Tver State University, Tver*

The effect of L-cysteine- and N-acetyl-L-cysteine-silver sols on the stability of the DNA molecule has been studied by UV spectroscopy and dynamic light scattering (DLS). It was found that when the initial sols and DNA are mixed, the optical density of the maximum increases at ~262 nm, which corresponds to the absorption of nitrogenous bases in nucleic acid. It has been shown that when salts are introduced into a DNA solution and their content increases, the hydrodynamic sizes of DNA molecules decrease.

**Keywords:** *L-cysteine, N-acetyl-L-cysteine, silver salts, sols, DNA, hyperchromic and bathochromic shift, hydrodynamic sizes.*

Дата поступления в редакцию: 22.09.2023.

Дата принятия в печать: 23.10.2023.