

УДК 544.421.032.4
DOI 10.26456/vtchem2026.3.2

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КАТИОНОВ МЕТАЛЛОВ НА ПРОЦЕСС САМООРГАНИЗАЦИИ В ЦИСТЕИН-СЕРЕБРЯНОМ РАСТВОРЕ

Я.В. Андрианова, Е.С. Бурлаков, Д.В. Вишневецкий, П.М. Пахомов

ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь

Аннотация. Исследовано влияние катионов металлов на процесс самоорганизации в цистеин-серебряном растворе. Установлено, что при взаимодействии нитратов металлов с ЦСР гелеобразования не происходит, таким образом, можно определить влияние исключительно катиона металла на структуру ЦСР. Методами УФ и ИК спектроскопии установлено взаимодействие катиона металла со структурой ЦСР. На микроуровне исследовано изменение размеров частиц методом динамического светорассеяния, а также проведены исследования на цитотоксичность систем ЦСР/нитрат металла, установлен положительный эффект на подавление роста раковых клеток при взаимодействии ЦСР и нитрата меди и натрия.

Ключевые слова: *L-цистеин, нитрат серебра, ЦСР, нитраты металлов, УФ и ИК спектроскопия, вискозиметрия, ДСР, дзета-потенциал, цитотоксичность.*

1. Введение

Процессы самосборки с участием низкомолекулярных соединений являются уникальным явлением не только с точки зрения фундаментальной, но и прикладной науки. Примером такой системы можно назвать систему цистеин-серебряных гидрогелей на основе аминокислоты L-цистеина и нитрата серебра. В качестве инициатора гелеобразования в данном процессе выступают соли биоактивных металлов. Ранее [1] было установлено, что для образования прочного гидрогеля необходимо участие в процессе гелеобразования как катиона, так и аниона. Однако, влияние катиона и аниона по отдельности не было исследовано. В данной работе исследованы процессы самоорганизации в цистеин-серебряном растворе (ЦСР) при взаимодействии с нитратами металлов, т.к. именно с нитрат-анионом не происходит образования гидрогеля, это дает возможность проанализировать встраивание в структуру именно катиона.

Кроме того, исследование влияния не гидрогелей, а именно жидких растворов на цитотоксичность, ранее не проводилось, оценить

© Андрианова Я.В., Бурлаков Е.С.,
Вишневецкий Д.В., Пахомов П.М.,
2026

влияние именно катиона металла на жизнеспособность раковых и здоровых клеток стало одной из основных целей исследования.

Актуальность исследования данной системы обусловлена двумя ключевыми факторами. Во-первых, исследуемые системы не являются гидрогелем, а потому представляют собой уникальную модельную систему для фундаментального изучения механизмов самоорганизации в низкоконтентрированных водных средах ($C=0,01$ М) в условиях отсутствия геля. Во-вторых, система обладает высоким потенциалом для прикладного использования в качестве биосистемы, способной самостоятельно проявлять антираковые свойства и служить для разработки медицинских препаратов. Данный потенциал определяется тем, что исходные прекурсоры характеризуются физиологической инертностью, отсутствием токсичности при сохранении выраженных антибактериальных и регенерирующих свойств.

Ранее [1,2] было исследовано влияние хлоридов и сульфатов металлов на процессы гелеобразования в ЦСР. Также установлено, что в процессе самосборки гель-сетки в ходе гелеобразования электролит (инициатор гелеобразования) участвует в качестве бязрядной системы: для образования геля или золя необходимо участие как катиона, так и аниона. Однако, исследование влияния исключительно катионов не было проведено. данной работе будет рассмотрено влияние катионов металлов по средством добавления их нитратов во избежание влияния аниона на процесс самоорганизации.

Целью настоящей работы являлось комплексное изучение процессов самоорганизации в ЦСР под воздействием нитратов металлов, установление влияния только катиона на структурирование в ЦСР и анализ цитотоксичности исследуемых систем.

2. Экспериментальная часть

Объектами исследования являлись водные растворы L-цистеина и нитрата серебра. Для получения ЦСР смешивали водные растворы исходных компонентов в концентрациях 1,0 мМ таким образом, чтобы выполнялось определенное соотношение концентраций исходных веществ $C_{AgNO_3}/C_{cys}=1,25$ [1,2]. В качестве электролитов использовали нитраты следующих металлов: Na^+ , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} . Электролиты в ЦСР добавляли в концентрации, соответствующей концентрации вязкого гидрогеля, оцененного в 5 баллов по пятибалльной шкале [3], для сульфатов тех же металлов: 0,6 мМ для $Cu(NO_3)_2$, 1,5 мМ для $NaNO_3$, 2,8 мМ для $Mg(NO_3)_2$, 4,5 мМ для $Al(NO_3)_3$. После добавления солей металлов растворы, перед исследованием, оставляли на 10-15 минут для полной координации в системе веществ. Процесс координирования катиона металла в ЦСР проводили на УФ-спектрометре «Evolution

Аггау» фирмы фирмы Thermo Scientific в кварцевой кювете толщиной поглощающего слоя 1 мм при заданной температуре (25°C) и наблюдали за скоростью изменения интенсивности исследуемых полос поглощения 310 и 390 нм. Динамическую вязкость гидрогелей измеряли на вибрационном лепестковом вискозиметре SV-10 фирмы A&D Company. Вибрация пластин датчика осуществлялась с частотой 30 Гц и постоянной амплитудой около 1 мм. Для измерения вязкости готовили по 10 мл растворов в специальных поликарбонатных стаканчиках (A&D). Изменение размера частиц, образующихся в результате взаимодействия катиона металла и ЦСР, а также изменение дзета-потенциала (ζ -потенциала) определяли методом динамического рассеяния света с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern). Качественный анализ структур, полученных систем исследовали, методом ИК-спектроскопии. ИК-спектры образцов регистрировались на спектрометре Vertex 70 (Bruker) в диапазоне 7000-400 см⁻¹ при разрешении 4 см⁻¹. Количество сканирований составляло 64. Исследуемые образцы предварительно замораживали, полученные осадки высушивали при 40°C. 25 мг образца смешивали с 720 мг KBr и прессовали в таблетку. Клетки рака молочной железы человека MCF-7 и нормальные эмбриональные клетки легких человека WI-38, полученные из Американской коллекции тканей и клеток (ATCC), культивировали в 96-луночных планшетах при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в среде DMEM с добавлением L-глутамина (2 мМ), антибиотиков (100 единиц на мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина) и 10% НФБ. Клетки инкубировали в сыворотке с тестируемыми соединениями в различных концентрациях в течение 48 ч. для MCF-7 и 24, 72 ч. для Wi-38. В каждую лунку добавляли НФБ (10 мкл), содержащий МТТ (5 мг/мл), и клетки инкубировали при 37°C в течение 4 ч. Культуральную среду удаляли, в каждую лунку добавляли ДМСО (100 мкл), планшет трясли в течение 20 минут, а затем измеряли оптическое поглощение в каждой лунке при 570 нм. с помощью прибора для считывания микропланшетов Multiskan Spectrum (Thermo Scientific, США). Показания теста МТТ были усреднены для трех независимых определений. Показания теста МТТ, в отсутствие тестируемых соединений были приняты за 100%. Для цитофлюориметрии клетки MCF-7 инкубировали в 6-луночных планшетах в течение 24 ч. в среде с добавлением 10% НФБ и тестируемых соединений в различных концентрациях, затем последовательно обрабатывали раствором Версена (2 мл.) и 0,25% раствором трипсина, после выдержки при 37°C в течение 1 мин. их суспендировали в 2 мл среды. Клетки центрифугировали при 1500 об./ мин. в течение 3 мин., промывали НФБ(2× 3 мл), обрабатывали 70% EtOH (0,5 мл.) и хранили при

температуре -20°C . Перед экспериментом клетки промывали НФБ (2×3 мл.) и суспендировали в 1 мл НФБ, затем добавляли 200 мкл РНКазы А (200 мкг/мл) и после инкубации при 37°C в течение 30 мин. добавляли 100 мкл йодида пропидия (1 мг/мл), после чего клетки выдерживали при 20°C в течение 10 мин. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре Beckmann MoFlo XDP в режиме FL3.

3. Результаты исследования

Ранее с помощью метода УФ спектроскопии нами было установлено [2-4], что в начальный момент при смешивании водных растворов L-цистеина и нитрата серебра практически мгновенно происходило образование молекул меркаптида серебра (МС). Затем в ходе процесса «созревания» ЦСР происходит образование двух полос поглощения 310 и 390 нм, в результате образования супрамолекулярных цепочек из молекул МС за счет донорно-акцепторного взаимодействия между атомами серы и серебра. Данные полосы поглощения соответствуют образованию комплексов с переносом заряда при формировании супрамолекулярных цепей.

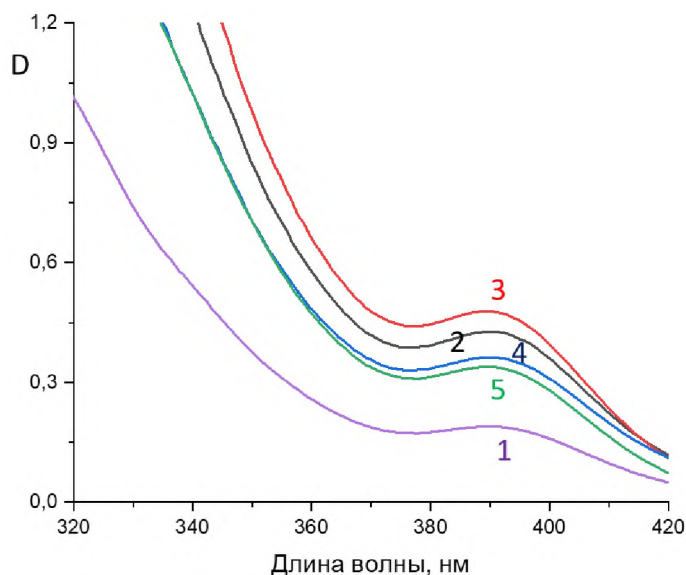


Рис.1. Изменение интенсивности УФ полос поглощения при 310 и 390 нм в зависимости от времени при добавлении в ЦСР (1) нитратов металлов: NaNO_3 (2), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ (3), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (4), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ (5), $T=25^{\circ}\text{C}$

Установлено, что при добавлении нитратов металлов в созревший ЦСР происходит незначительное изменение интенсивности данных полос (рис.1), что свидетельствует о том, что катионы металлов не вступают во взаимодействие с основной супрамолекулярной

цепочкой ЦСР и не наносят разрушение в слабые межмолекулярные связи, как это происходит с хлоридами металлов [3].

Методом вибрационной вискозиметрии установлено, что при добавлении в систему нитратов металлов происходит увеличение вязкости среды. Так, на рис.2 видно, что изначально вязкость ЦСР составляет ~4,0 отн.ед. Однако, при добавлении соли происходит незначительное увеличение вязкости. При добавлении нитрата натрия вязкость раствора составила ~4,6. Для нитрата магния и алюминия значение динамической вязкости возросло до ~5,7 и ~5,3 соответственно. Отличием стал нитрат меди – его значение вязкости

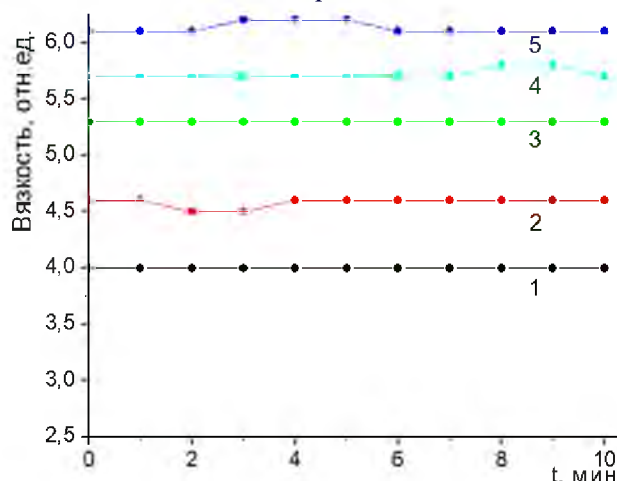


Рис.2. Изменение динамической вязкости систем на основе ЦСР (1) и нитратов металлов: NaNO_3 (2), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ (3), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (4), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ (5)

составило ~6,1 отн.ед. по сравнению с другими нитратами исследуемых металлов, что может говорить о большем координировании со структурой МС в соответствии с их силой комплексообразования.

Данные, полученные методом динамического светорассеяния (ДСР) (рис. 3) хорошо коррелируют с вискозиметрическими данными.

Так, на рис.3 показаны изменения размеров частиц, образовавшихся в результате взаимодействия нитратов исследуемых металлов с ЦСР. Видно, что в ЦСР частицы соответствуют размеру ~75 нм. При добавлении электролита происходит изменение размеров частиц, что связано с взаимодействием катионов металлов со структурой ЦСР. При добавлении нитрата натрия происходит небольшое смещение в сторону больших размеров (~на 20 нм по сравнению с ЦСР), в то время как для нитрата меди полоса расширяется и смещается к ~96,5 отн.ед. Для нитрата магния и алюминия также происходит смещение полос в сторону больших размеров: ~106 и ~104 отн.ед. соответственно. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что катион металла

оказывает влияние на ЦСР посредством увеличения размера частиц в системе в результате встраивания катиона в структуру ЦСР. Добавление натрия оказывает незначительное влияние на увеличение размеров частиц относительно частиц ЦСР, в то время как медь, магний и

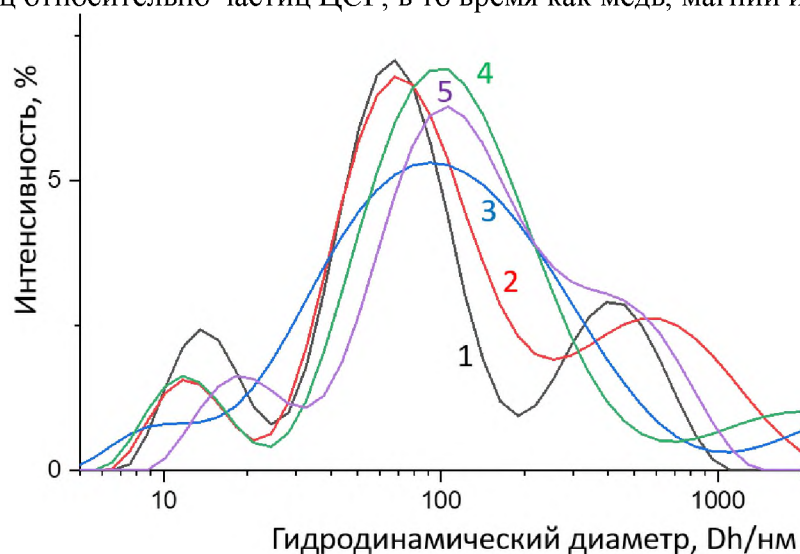


Рис.3. Распределение рассеивающих частиц по размерам гидродинамического диаметра в ЦСР (1) при добавлении нитратов металлов: NaNO_3 (2), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ (3), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (4), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ (5), $T=25^\circ\text{C}$

алюминий оказывают значительное влияние на увеличение размера частиц.

Измерение ζ -потенциала (рис. 4) показало, что при добавлении в ЦСР электролита происходит изменение ζ -потенциала относительно

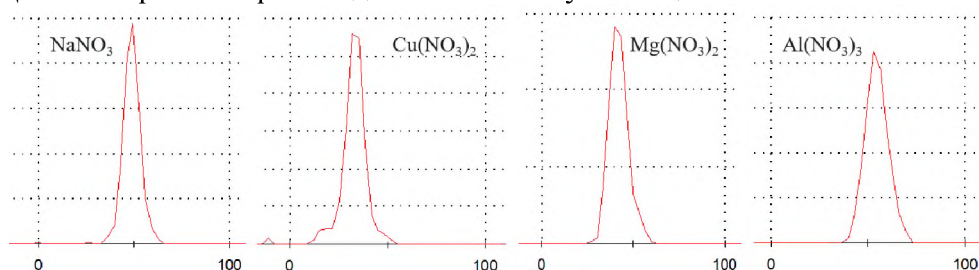


Рис.4. Измерение дзета-потенциала в исследуемых системах на основе ЦСР при добавлении нитратов металлов: NaNO_3 (1), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ (2), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (3), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ (4)

значения ЦСР (+60 мВ). При добавлении в ЦСР $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ происходит незначительное изменение значения (+53 мВ). Примерно такое же влияние оказывает катион натрия на изменение ζ -потенциала (+49,5 мВ). Катион магния оказывает большее влияние на двойной

электрический слой в частицах ЦСР (+40,2 мВ), чем натрий и алюминий. Однако, наибольшее изменение ζ -потенциала происходит при добавлении нитрата меди (+32 мВ).

С помощью метода ИК спектроскопии установлено, что при добавлении в ЦСР нитрата металла происходит смещение некоторых полос. Данные изменения основаны на наличии реперной полосы деформационных колебаний $\delta(\text{NO}_3^-)$ в области 1386 см^{-1} . У ЦСР (рис.5) колебание аминогруппы проявляется в области 1496 см^{-1} , соответствующей деформационным колебаниям $\delta(\text{NH}_3^+)$, при добавлении нитрата натрия происходит небольшое смещение данной полосы $\delta(\text{NH}_3^+)$ в область 1469 см^{-1} , для нитрата меди - 1479 см^{-1} , для нитрата магния - 1485 см^{-1} , для нитрата алюминия - 1477 см^{-1} , т.е. происходит смещение как минимум на 11 см^{-1} во всех случаях. Эти смещения говорят о том, что металлы, образуя связь с группой COO^- , разрушают водородную связь между NH_3^+ и COO^- .

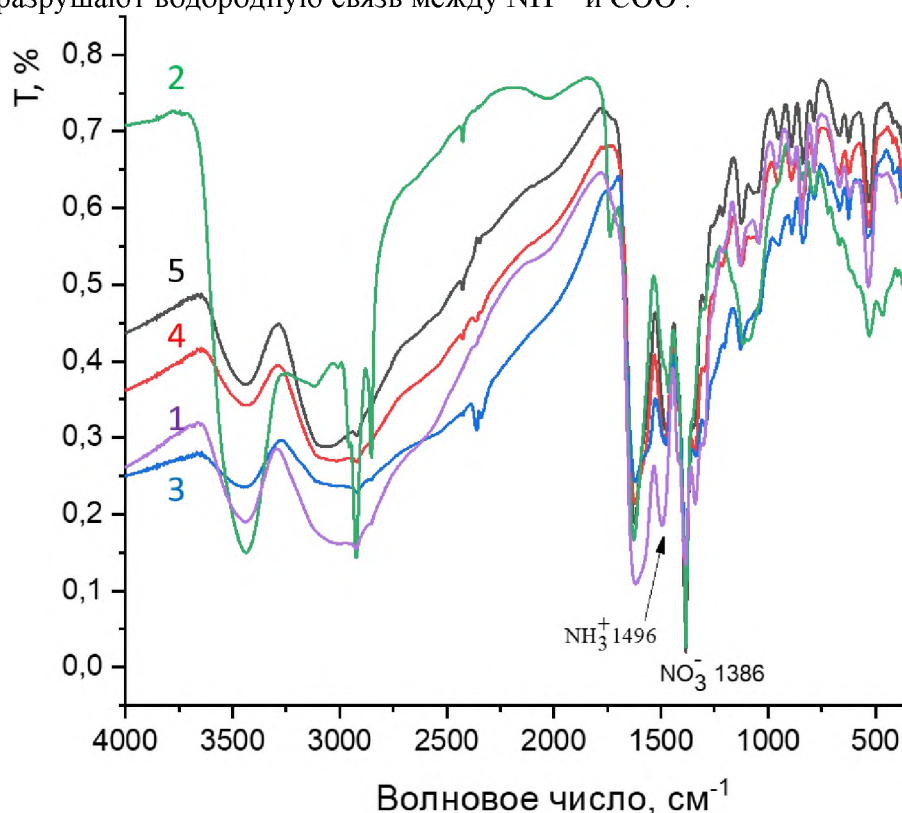


Рис.5. ИК спектр пропускания высушенных образцов ЦСР (1) при добавлении нитратов металлов: NaNO_3 (2), $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ (3), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (4), $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ (5)

Проведены исследования на проявление цитотоксичности исследуемых систем на основе ЦСР и нитратов металлов на жизнеспособность клеток

карциномы молочной железы линии MCF-7 и живых клеток нормального эпидермиса HaCat. Для сравнения активности исследованы также сульфаты тех же металлов (рис.6). Установлено, что гидрогели с катионом Cu^{2+} в обоих случаях (с сульфат- и нитрат-анионом) сильнее всего подавляют рост раковых клеток от 100 до 10%, не нанося существенного вреда живым клеткам организма HaCat, где выживаемость данных клеток снизилась только на 20% (от 100 до 80%). Причем анионы (SO_4^{2-} и NO_3^-) в данном случае не оказывали существенного влияния на результат исследования.

Образцы с нитратом магния и алюминия не показали существенных результатов на цитотоксичность, поэтому этими данными решено было пренебречь и не вносить на общий график по цитотоксичности.

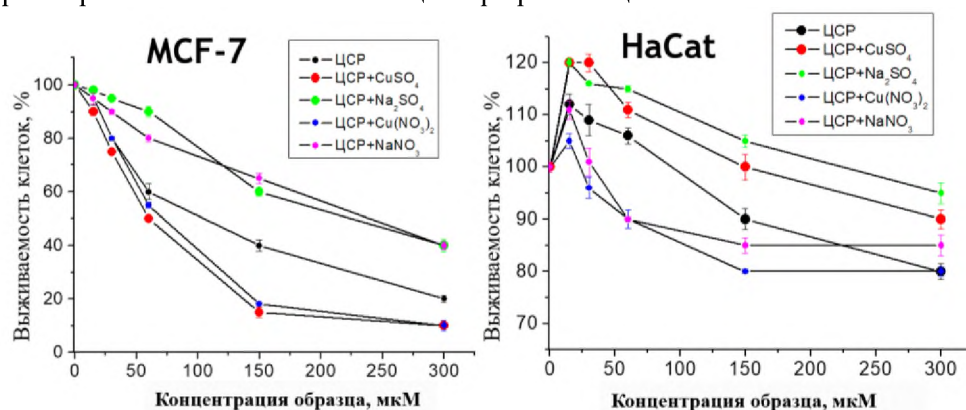


Рис.6. Цитотоксичность ЦСР ($C = 1,00$ мМ) и гидрогелей (сульфатов и нитратов металлов: Na^+ , Cu^{2+}) ($C_{\text{эл-та}} = 1,00$ мМ) по отношению к клеткам карциномы молочной железы линии MCF-7 и живых клеток HaCat в зависимости от концентрации образца

4. Выводы

Таким образом, в результате исследований установлено, что катион Na^+ оказывает слабое воздействие на вязкость системы, что также подтверждается данными динамического светорассеяния, в частности отсутствием увеличения размеров молекулы после его добавления. Это также доказывает величина ζ -потенциала: небольшое уменьшение относительно значения ЦСР, за счет депротонированных карбоксильных групп, и данные ИК спектроскопии: взаимодействием с NH_3^+ – группами. По данным УФ-спектра, катион Na^+ увеличивает поглощение молекулой света, что объясняется возможностью Na^+ депротонировать карбоксильную группировку, за счет чего происходит небольшое сжатие двойного электрического слоя (ДЭС). При МТТ-тесте на раковых клетках он показал хорошую антираковую активность.

При этом меньшую токсичность чем медь по отношению к клеткам HaCat.

Катион Mg^{2+} показал высокое значение вязкости, а также крупные частицы на ДСР. ζ -потенциал также снизился на +20 мВ. Все это объясняется лучшей координирующей силой в сравнении с катионом Na^+ . При этом на УФ-спектре он показал более слабое воздействие на поглощательную способность молекулы за счет меньшей силы к депротонированию, а, следовательно, и к сжатию ДЭС.

Катион Al^{3+} меньше двухзарядных катионов повлиял на вязкость, а также минимально на ζ -потенциал. Это можно объяснить тем, что Al^{3+} является амфотерным металлом, и в водной среде подвержен гидролизу. В этом случае, за счет самого низкого среди выбранных металлов произведения растворимости, образуется коллоидной золь $Al(OH)_3$, который может образовывать слабые связи с частицами ЦСР. На УФ-спектре он показал минимальное значение поглощения света относительно других металлов. Этому поспособствовало отсутствие или малая сила к депротонированию, а также слабое влияние на ДЭС молекулы ЦСР.

Катион Cu^{2+} дал наибольшее увеличение вязкости среды, а также увеличил размеры частиц на $\sim +20$ нм. Сильнее всех оказал влияние на ДЭС (+32мВ) за счет тех же возможностей к депротонированию, что катион Na^+ и Mg^{2+} . Это также подтверждается данными по УФ-спектроскопии, где он оказал самое сильное влияние на поглощение света, а, следовательно, на сжатие молекулы. МТТ-тест показал, что катион меди сильнее прочих катионов замедляет рост раковых клеток за счет способностей меди к образованию купроптоза в раковых клетках MCF-7, и практически не влияет на здоровые клетки HaCat.

Список литературы

1. Андрианова Я.В., Вишневецкий Д.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Исследование процессов гелеобразования в цистеин-серебряном растворе при добавлении сульфатов металлов // *Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия.* – 2023. – №3 – Вып. 53. – С. 21-29.
2. П. М. Пахомов, М. М. Овчинников, С. Д. Хижняк, М. В. Лавриенко, W. Nierling, M. D. Lechner, Коллоид. журн., 2004, 66, 73 [P. M. Pakhomov, M. M. Ovchinnikov, S. D. Khizhnyak, M. V. Lavrienko, W. Nierling, M. D. Lechner, *Russ. Colloid J.*, 2004, 66-70. doi.org/10.1023/B:COLL.0000015059.50285.e9].
3. Андрианова Я.В., Вишневецкий Д.В., Иванова А.И., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Процессы гелеобразования в водном растворе L-цистеин/ $AgNO_3$ под влиянием солей металлов различной валентности // *Известия Академии наук. Серия химическая.* – 2023. – Т.72. – №9. – С. 2171-2179.

Об авторах:

АНДРИАНОВА Яна Вячеславовна - ассистент, ведущий инженер кафедры физической химии, ФГБОУ ВО «Тверского государственного университета», (170002, г. Тверь, Садовый пер., д.35), e-mail: nuri-chan-87@mail.ru, SPIN-код: 6135-7603, AuthorID: 846970.

БУРЛАКОВ Егор Сергеевич – аспирант 1 года обучения кафедры аналитической и неорганической химии Тверского государственного университета (170002, г. Тверь, Садовый пер., д.35), e-mail: EGOR6427@GMAIL.COM, SPIN-КОД: 6623-3001, РИНЦ AUTHOR ID: 1336189.

ВИШНЕВЕЦКИЙ Дмитрий Викторович – кандидат химических наук, доцент кафедры физической химии Тверского государственного университета (170002, г. Тверь, Садовый пер., д.35), e-mail: rickashet@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-1382-9451, SPIN-код: 2891-3298, РИНЦ Author ID: 1091139.

ПАХОМОВ Павел Михайлович – доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой физической химии, ФГБОУ ВО «Тверского государственного университета», (170002, г. Тверь, Садовый пер., д.35), e-mail: Pakhomov.PM@tversu.ru, ORCID-0000-0002-2303-1913, SPIN-код 4060-8967, AuthorID: 42897.

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF METAL CATIONS ON THE SELF-ORGANIZATION PROCESS IN A CYSTEINE-SILVER SOLUTION

Y.V. Andrianova, E.S. Burlakov, D.V. Vishnevetskii, P.M. Pakhomov

Tver State University, Tver

Abstract. The influence of metal cations on the self-organization process in a cysteine-silver solution (CSS) was investigated. It was established that no gelation occurs upon the interaction of metal nitrates with the CSS, thereby allowing for the determination of the specific effect of the metal cation on the CSS structure. Interactions between the metal cation and the CSS structure were identified using UV and IR spectroscopy. At the micro-level, changes in particle size were investigated using dynamic light scattering and cytotoxicity studies of CSS/metal nitrate systems were conducted; a positive effect regarding the inhibition of cancer cell growth was observed for the interaction of CSS with copper and sodium nitrates.

Keywords: *L-cysteine, silver nitrate, metal nitrates, UV and IR spectroscopy, viscometry, DLS, zeta potential, cytotoxicity.*

Дата поступления в редакцию: 1.09.2026.

Дата принятия в печать: 5.09.2026.