

# INTERACTION OF SILVER NANOPARTICLES WITH THE PLASMA MEMBRANE: QUANTUM-CHEMICAL MODELING

Zinchenko T.O., Yavorovsky O.P., Tsendra O.M., Lobanov V.V.

## ВЗАЄМОДІЯ НАНОЧАСТИНКИ СРІБЛА З ПЛАЗМАТИЧНОЮ МЕМБРАНОЮ: КВАНТОВО-ХІМІЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ

# Я

**ЗІНЧЕНКО Т.О.,  
ЯВОРОВСЬКИЙ О.П.,  
ЦЕНДРА О.М.,  
ЛОБАНОВ В.В.**  
Національний медичний  
університет  
ім. О.О. Богомольця,  
Інститут хімії поверхні  
ім. О.О. Чуйка НАН України,  
м. Київ

УДК 544.182:669

**Ключові слова:**  
наночастинки срібла,  
плазматична мембрана,  
квантово-хімічне  
моделювання.

Якщо раніше дослідження механізму взаємодії плазматичної мембрани тваринних клітин з наночастинками металів мали винятково утилітарний характер з метою з'ясування їхніх токсикологічних властивостей [1-3], то за останній час роль подібних досліджень значно зросла у зв'язку з можливим використанням нанорозмірних частинок в якості медичних препаратів або діагностичних агентів [4, 5]. Такі дослідження важливі також для виявлення суті явищ, що відбуваються у геомікробіології, у багатьох промислових і біомедичних процесах, а також для розробки ефективних засобів захисту навколишнього середовища [6]. Перебіг відповідних процесів і можливість керувати ними зумовлені знаннями про взаємодії, що відбуваються на молекулярному рівні при безпосередньому контакті функціональних термінальних груп поверхні нанорозмірної частинки з фосфоліпідами і білками плазматичної мембрани [7]. При вивченні таких реакцій слід враховувати хімічні властивості взаємодіючих об'єктів та структуру поверхні і об'ємну

фазу металічної частинки.

Плазматична мембрана — це не лише пасивний бар'єр між клітиною та навколишнім середовищем, який перешкоджає вільному переносу розчинених речовин. Функція мембрани заслуговує особливої уваги, бо в її основі полягають закономірності взаємодії між фосфоліпідним бішаром і розчиненими чи завислими у водному середовищі іонами, неполярними і полярними молекулами, наночастинками твердих речовин, зокрема срібла. Для чотирьох названих типів об'єктів, які можуть бути присутніми у фізіологічному середовищі, що оточує клітину, механізм цієї взаємодії суттєво відмінний і переважно визначається властивостями самої мембрани (якщо не враховувати транспорт речовин, що каталізується білками) і особливостями будови згаданих частинок [8].

Враховуючи, що наночастинка срібла і плазматична мембрана мають певний заряд на поверхні, можна стверджувати, що взаємодія між ними на відстані, яка у 5-10 разів перевищує довжину хімічних зв'язків (~1,5 Å), має в основному електростатичний характер. При їх поступовому зближенні зростає роль поляризації, внаслідок якої відбуваються конформаційні зміни молекул фосфоліпідів, перерозподіл зарядів на поверхні частинки і у бішарі, що зрештою може призвести до розриву мембрани [9, 10]. Прикріплення фосфоліпідів до поверхні наночастинок відбувається у декілька стадій, серед яких на перших етапах переважає електростатичне притягування, за яким настають певні хімічні перетворення. При розгляді первинної стадії якісно виявилася модель, в якій основна увага приділена сольватаційним та електростатичним взаємодіям (SE модель)

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА С  
ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНОЙ: КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ  
МОДЕЛИРОВАНИЕ**

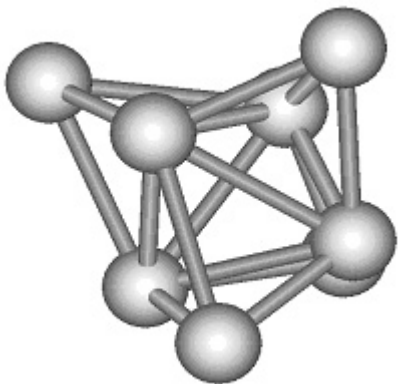
**Зинченко Т.А., Яворовский А.П., Цендра О.М.,  
Лобанов В.В.**

Методом теории функционала плотности установлено равновесное пространственное строение и энергии образования комплексов между наночастицами серебра с различной степенью гидроксирования и моделью липидного участка плазматической мембраны. Полученные результаты продемонстрировали возможность внедрения наночастиц серебра в плазматическую мембрану с дальнейшим их проникновением во внутриклеточное пространство.

**Ключевые слова:** наночастицы серебра, плазматическая мембрана, квантово-химическое моделирование.

© Зінченко Т.О., Яворовський О.П., Цендра О.М.,  
Лобанов В.В. СТАТТЯ, 2011.

**Рисунок 1**  
**Схематичне зображення**  
**базового кластера  $Ag_8$**



[11]. У рамках цієї моделі враховуються зміни енергії сольватації при адсорбції зарядженої частинки на поверхні мембрани та електростатичних сил, які й призводять до адсорбції. Подальший хід взаємодії "мембрана-наночастинка металу" визначається силами різної природи: силами ван-дер-Ваальса, які виникають у подвійному електричному шарі, силами сольватації, кислотно-основними силами Льюїса, "стеричними" і "гідрофобними" силами, розгляд яких можливий у рамках простої моделі Дерягіна-Ландау-Фервея-Овербека (ДЛФО) [12, 13], розширеної моделі ДЛФО і моделі гідрофобних поверхонь. У всіх цих моделях взаємодії "фосфоліпідна мембрана-поверхня металевої частинки" хімічна природа твердого тіла майже не враховується [8]. Модель SE було спочатку розроблено для описання взаємодії іона невеликого розміру з плазматичною мембраною. Їх не можна без змін застосовувати для розгляду взаємодії фосфоліпідного шару з наночастинкою. Основний недолік теорії SE полягає у тому, що попри переоцінку електростатичного притягання на ранніх стадіях взаємодії найважливішу роль у зміні

структури мембрани відіграють подальші стадії.

Фосфоліпіди, як відомо, складаються з довгих гідрофобних вуглеводневих ланцюгів, приєднаних до гідрофільної полярної групи, яку зазвичай називають голівкою. Полярною голівкою часто є фосфорильна група, вторинний або четвертинний амін. Відповідно до найбільш прийнятної теорії мембранолітичної дії деяких наночастинок вважається, що їхня поверхня взаємодіє з мембранними білками або з фосфатними і аміновмісними ліпідами, що призводить до конформаційних змін молекул фосфоліпідного бішару і, зрештою, до вигину мембрани, а потім і до її розриву. Взаємодія частинки металу з мембраною визначається електростатичними силами, які виникають між позитивно зарядженою четвертинною амонієвою групою фосфоліпідної голівки і негативними зарядами поверхневих центрів наночастинок. Як альтернативний розглядається варіант водневого зв'язку між гідроксильними центрами поверхні наночастинок і негативно зарядженим залишком  $PO_4$  голівки фосфоліпиду або ж з негативним зарядом кислотного залишку мембранного білка.

У рамках запропонованих

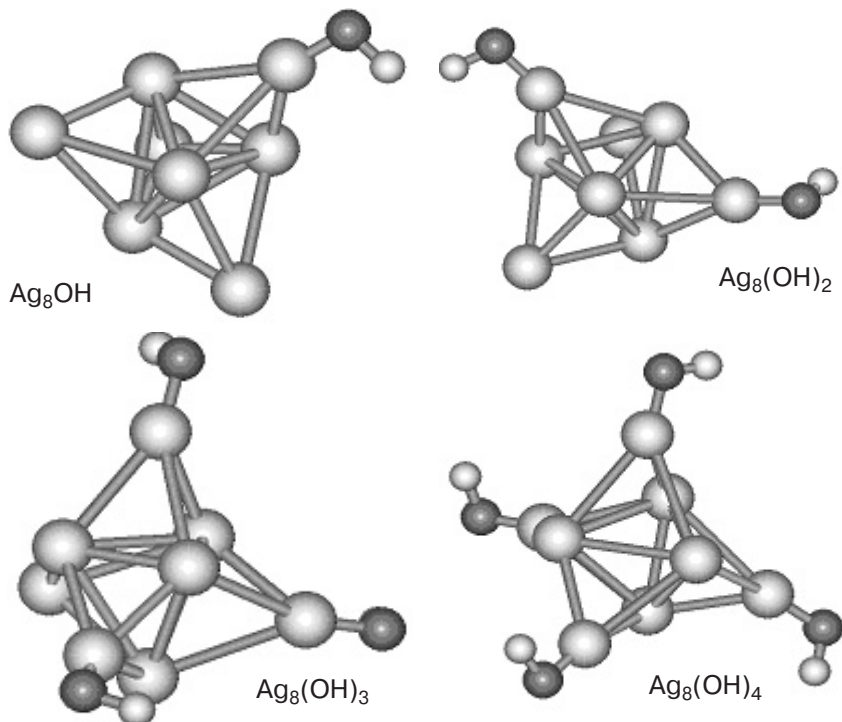
моделей зовсім ігнорується роль фізіологічного розчину, під дією якого поверхневі функціональні групи дисоціюють з переходом протонів у водне середовище, а на поверхні металевих наночастинок і зовнішній поверхні плазматичної мембрани виникає негативний заряд.

Бішар плазматичної мембрани складається переважно з фосфатидинових кислот, фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну і холестерину. Оскільки двоосновні фосфатидинові кислоти належать до сильних кислот ( $pK_1=3,9$  і  $pK_2=8,3$ ) [14], то на поверхні плазматичної мембрани завжди є певний негативний заряд. Негативний заряд плазматичної мембрани, зумовлений дисоціацією фосфатидинових кислот і С-закінчень мембранних білків, частково компенсується позитивно зарядженими групами  $[-N(CH_3)_3]^+$  фосфатидилхоліну.

Незважаючи на мозаїчну структуру зовнішньої поверхні плазматичної мембрани (чергування позитивно і негативно заряджених центрів) поверхня мембрани у цілому заряджена негативно [8], отже на деякій відстані від неї у фізіологічному розчині локалізуються протиіони [8, 15]. З іншого боку, відомо, що наночастинка срібла також може нести на собі незнач-

**Рисунок 2**

**Схематичне зображення частково гідроксильованих кластерів срібла**



ний негативний заряд внаслідок слабких кислотних властивостей поверхневих гідроксильних груп (електролітична дисоціація за схемою  $\equiv \text{Ag-O-H} \rightleftharpoons \equiv \text{Ag-O}^- + \text{H}^+$ ) або додаткової у результаті дисоціації за зв'язком  $\text{Ag-OH} (\equiv \text{Ag-O-H} \rightleftharpoons \equiv \text{Ag}^+ + \text{OH}^-)$ .

Однак, попри наявність на плазматичній мембрані і наночастинці срібла негативного заряду експериментальні дані свідчать про доволі сильну взаємодію між ними. Прості розрахунки показують, що у рамках припущення про електростатичну взаємодію між негативно зарядженим центром наночастинки срібла і позитивно зарядженою групою  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  фосфатидилхоліну неможливо пояснити причини притягання між клітиною і частинкою кремнезему.

Для з'ясування суті процесів, що відбуваються при безпосе-



## ГІГІЄНИЧНІ ПРОБЛЕМИ НАНОТЕХНОЛОГІЙ

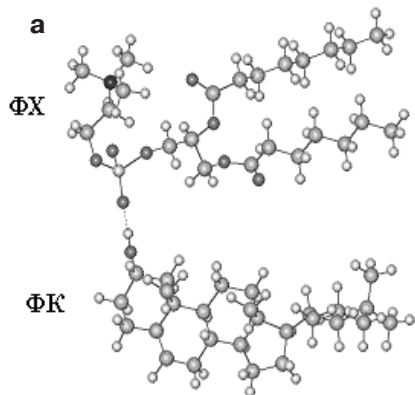
влено, що найбільш активними у бактерицидному плані є наночастинки срібла, діаметр яких становить  $\sim 5 \pm 2$  нм [16]. Токсичний і бактерицидний ефекти наночастинок суттєво залежать від їхніх розмірів і зростають з їх зменшенням. Статистичні дослідження показали, що в інтервалі 1-10 нм  $\sim 98\%$  наночастинок срібла являють собою декаедри і ікосаедри, які утворюються тетрае-

дричними кластерами срібла, з'єднаними гранями. Виходячи цього, а також зважаючи на різке зростання обчислювального часу зі збільшенням розміру наночастинок, в якості базової моделі було обрано кластер  $\text{Ag}_8$ , утворений при зчленуванні 5 тетраедрів (рис. 1). Разом з ним було розглянуто ще кілька кластерів, які відрізняються від базового тим, що до деяких з атомів срібла приєднувалися гідроксильні групи, які можуть утворюватися у фізіологічних розчинах (рис. 2).

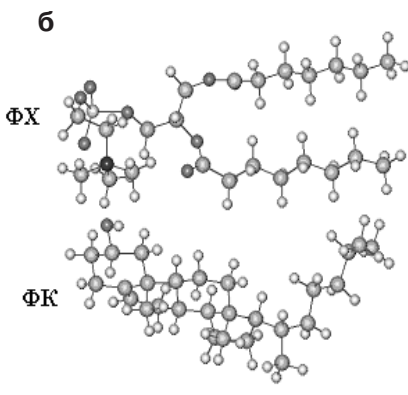
Для представлення плазматичної мембрани було обрано кластер, що моделює її характерну ліпідну ділянку і складається з комплексу молекул фосфатидинової кислоти (ФК) і фосфатидилхоліну (ФХ) [8]. Для спрощення розрахунків кількість атомів вуглецю у жирнокислотних радикалах фосфоліпідів було скорочено до 6-7.

Усі розрахунки виконувалися у рамках наближення теорії функціонала густини (ТФГ) [17, 18] з обмінно-кореляційним функціоналом B3LYP [19] у базисі SBKJC [20]. Популярність і

### Можливі структури комплексу [ФХ•ФК] та відповідні їм енергії зв'язування



$$E_{\text{зв.}} = 21,7 \text{ кДж/моль}$$



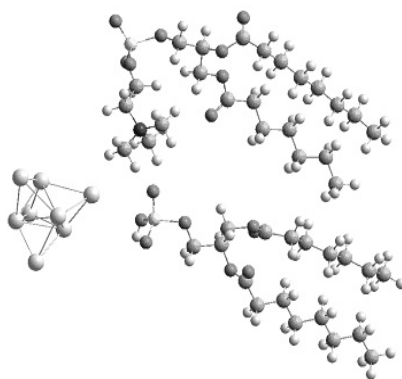
$$E_{\text{зв.}} = 45,6 \text{ кДж/моль}$$

Рисунок 3

редньому контакті наночастинки срібла з поверхнею плазматичної мембрани клітини, слід застосувати підходи, здатні описати взаємодії, які мають локальний характер. До них належать насамперед методи квантової хімії молекул, в яких використовуються детальні відомості про просторову будову, тобто про взаємне розташування атомів у місцях контактів наночастинки срібла з поверхнею плазматичної мембрани. Зрозуміло, що, зважаючи на складність і великі розміри складових плазматичної мембрани, важлива роль при застосуванні квантово-хімічних методів відводиться адекватному вибору відповідних моделей.

Експериментально встано-

### Рівноважна просторова структура комплексу між базовим кластером $\text{Ag}_8$ і ліпідною ділянкою [ФК•ФХ]. Енергія зв'язку 15 кДж/моль



### Рівноважна просторова структура комплексу між кластером $\text{Ag}_8(\text{OH})_2$ та ліпідною ділянкою [ФК•ФХ]. Енергія зв'язку 24 кДж/моль (пунктирними лініями позначені водневі зв'язки)

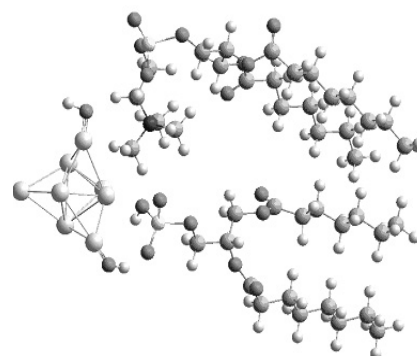


Рисунок 4

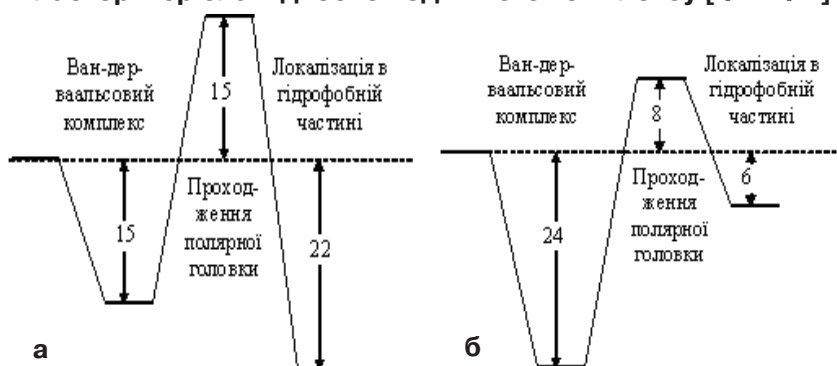
Рисунок 5

ністю прогнозувати значення енергетичних величин та просторову структуру молекул великих розмірів, а й єдиним шансом одержати прийнятну точність при розрахунку властивостей, чутливих до тонких деталей електронної густини.

Молекула ФХ має цвіттер-іонну структуру з локалізацією позитивного заряду на четвертинному атомі азоту, а негативного — на гідроксильній групі, тому комплекс ФК з молекулою ФХ

Рисунок 6

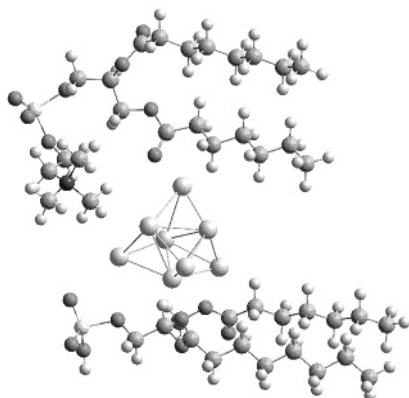
**Зміна енергії зв'язування потрійних комплексів  $Ag_8 \cdot [FK \cdot FX]$  (а) та  $Ag_8(OH)_2 \cdot [FK \cdot FX]$  (б) залежно від розміщення кластерів срібла відносно подвійного комплексу  $[FK \cdot FX]$**



привабливість ТФГ як квантово-хімічного методу розрахунку просторової будови і електронної структури складних молекул (у тому числі біологічних) різко зросла завдяки розробці обмінно-градієнтного наближення [21], що дозволило істотно підвищити точність описання фізико-хімічних об'єктів. Успіх гібридного функціонала B3LYP пов'язаний не тільки з його винятковою здат-

Рисунок 7

**Рівноважна просторова структура комплексу між базовим кластером  $Ag_8$  і молекулами ФК та ФХ при розміщенні наночастинки у районі вуглеводневих хвостів. Енергія зв'язку 22 кДж/моль**

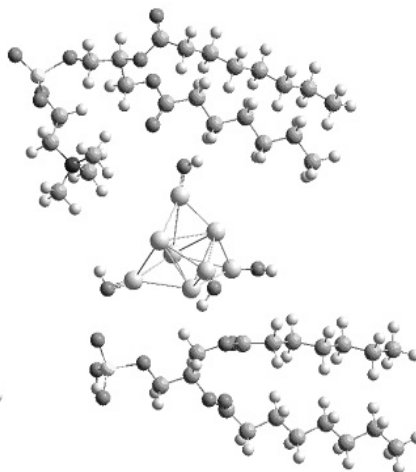


може мати дві структури (рис. 3). Безпосередні розрахунки свідчать про більшу стабільність структури, формування якої зумовлене диполь-дипольною взаємодією та ван-дер-ваальсовою взаємодією вуглеводневих ланцюгів (рис. 3, б).

При наближенні наночастинки  $Ag_8$  до зовнішньої поверхні

Рисунок 8

**Рівноважна просторова структура комплексу між базовим кластером  $Ag_8(OH)_4$  і молекулами ФК та ФХ при розміщенні наночастинки у районі вуглеводневих хвостів. Енергія зв'язку 6 кДж/моль**



клітини відбувається її зв'язування, зумовлене винятково дисперсійними силами, побічним доказом чого є мала енергія зв'язування (15 кДж/моль) і досить велика відстань (3,5 Å) між периферійними атомами наночастинки і кластера  $[FK \cdot FX]$ , який моделює ліпідну ділянку мембрани (рис. 4). Тим не менш, на потенціальній поверхні взаємодіючих систем наявний чітко визначений мінімум, який відповідає утворенню ван-дер-ваальсового комплексу. Слід відзначити, що при зближенні наночастинки  $Ag_8$  і кластера, який являє ділянку плазматичної мембрани, останній зазнає достатньо помітної структурної перебудови, яка виражається у віддаленні молекул ФК і ФХ одна від одної.

Заміна у потрійному комплексі  $Ag_8 \cdot [FK \cdot FX]$  базового кластеру  $Ag_8$  на двічі гідроксильований  $Ag_8(OH)_2$  призводить до помітного збільшення енергії зв'язування до 24 кДж/моль, що можна пояснити утворенням водневих зв'язків. До того ж, розташування гідроксильних груп у кластері  $Ag_8(OH)_2$  таке, що призводить до стягування молекул ФК і ФХ, отже до утворення більш тісного комплексу (рис. 5). Аналогічне зростання енергії зв'язування спостерігається і для інших гідроксильованих кластерів срібла  $Ag_8(OH)$ ,  $Ag_8(OH)_3$  і  $Ag_8(OH)_4$ . Подальше переміщення кластерів срібла у простір між молекулами ФК і ФХ пов'язане зі зменшенням енергії зв'язування у потрійному комплексі і подоланням потенціального бар'єру при проходженні через ділянку локалізації полярних головок. При потраплянні кластерів срібла у район розташування вуглеводневих хвостів молекул ФК і ФХ енергія зв'язування зростає (рис. 6). Особливо це помітно для негідроксильованого кластера  $Ag_8$ , що можна пояснити його гідрофобною природою. Структуру потрійних комплексів молекул ФК і ФХ за участю кластерів срібла  $Ag_8$  і  $Ag_8(OH)_4$  наведено на рис. 7 і 8.

Таким чином, розрахунки рівноважної просторової будови потрійних комплексів молекул ФК, ФХ і кластерів срібла  $Ag_8$ ,  $Ag_8(OH)$ ,  $Ag_8(OH)_3$ ,  $Ag_8(OH)_4$  продемонстрували можливість проходження останніх через плазматичну мембрану з по-

дальшим їх проникненням у внутрішньоклітинний простір.

За даними літератури, наночастинки срібла розмірами до 100 нм провокують цитотоксичний ефект за типом "троянського коня", механізм якого полягає у тому, що наносрібло проникає до клітини шляхом фагоцитозу, викликаючи зростання ступеня генерації активних форм кисню та збільшення секреції фактора некрозу пухлини- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ). Збільшення ФНП- $\alpha$  призводить до пошкодження мембрани і апоптозу клітини [22-24].

Наведена модель взаємодії з плазматичною мембраною стосується кластеру срібла, розмір якого становить приблизно 0,35 нм. Можна припустити, що отримані результати будуть справедливими і для наночастинок срібла більших розмірів, оскільки зберігаються їхні якісні властивості проникнення через вуглеводну частину плазматичної мембрани.

Отже, незважаючи на розмір наномасштабні об'єкти проникають у внутрішньоклітинний простір та взаємодіють з його компонентами і структурами. Отримані результати можуть слугувати основою для подальших досліджень на атомно-молекулярному рівні токсичної дії не лише наночастинок срібла, а й інших токсикантів з метою нейтралізації та профілактики їхнього негативного впливу на організм.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Aaseth J., Olsen A., Halse J., Hovig T. Argyria-tissue deposition of silver as selrside // *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* — 1981. — V. 41 — P. 247-251.
2. Baldi C., Minoia C., Di Nucci A., Capodaglio E., Manzo L. Effect of silver in isolated rat hepatocytes // *Toxicol. Lett.* — 1988. — V. 41 — P. 261-269.
3. Borm P.J., Kreyling W.J. Toxicological hazards of inhaled nanoparticles-potential implications for drug delivery. — 2004. — V. 4 — P. 521-551.
4. Armitage S.A., White M.A., Wilson H.K. The determination of silver in whole blood and its application to biological monitoring of occupationally exposed groups // *Ann. Occup. Hyg.* — 1996. — V. 40 — P. 331-338.
5. Bouts B.A. Images in clinical medicine // *Engl. J. Med.* — 1999. — V. 340 — P. 1554-1556.
6. Albright L.J., Wilson E.M.

#### INTERACTION OF SILVER NANOPARTICLES WITH THE PLASMA MEMBRANE: QUANTUM-CHEMICAL MODELING

**Zinchenko T.O., Yavorovsky O.P., Tsendra O.M., Lobanov V.V.** Density functional theory method had established equilibrium spatial structure and energy of complexes formation between the silver nanoparticles with varying degrees of hydroxylation and lipid model plot the plasma membrane. The results were showed the possibility of introducing silver nanoparticles in the plasma membrane to further their penetration into the intracellular space.

**Key words: silver nanoparticles, plasma membrane, the quantum-chemical modeling.**

Sub-lethal effects of several metallic salt-organic compounds combinations upon heterotrophic microflora of a natural water // *Water Res.* — 1974. — V. 8. — P. 101-106.

7. Цендра О.М., Лобанов В.В., Погорелий В.К. Квантовохімічне дослідження контактної взаємодії ліпідної ділянки плазматичної мембрани з високодисперсним кремнеземом // *Фізико-хімія конденсованих систем і міжфазних кордонів: Зб. наук. праць / Київський національний університет ім. Т.Г. Шевченка.* — К.: Київський університет, 2005. — Вип. 2. — С. 112-116.

8. Геннис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функции / Р. Геннис; пер. с англ. Л.И. Барсукова, А.Я. Мулкиджаняна [и др.] — М.: Мир, 1997. — 622 с.

9. Болдырев А.А. Введение в биохимию мембран / Болдырев А.А. — М.: Высшая школа, 1980. — 112 с.

10. Кагава Я. Биомембраны / Я. Кагава. — М.: Высш. шк., 1985. — 303 с.

11. Depasse J. Comparison between two hypothesis about the physicochemical basis of the toxicity of silica / J. Depasse // *J. Col. Interf. Sci.* — 1977. — V. 60, № 2. — P. 414-415.

12. Дерягин Б.В. Поверхностные силы / Дерягин Б.В., Чураев Н.В., Муллер В.М. — М.: Наука, 1987. — 399 с.

13. The Role of Mechanochemistry in the pulmonary toxicity caused by particulate minerals / I. Fenoglio, G. Martra, L. Prandi [et al.] // *J. Mater. Synth. and Process.* — 2000. — V. 8, № 3-4. — P. 145-153.

14. Кольман Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем. — М.: Мир, 2000. — 469 с.

15. Coexistence of molecular and ion associates in hydrated complexes of methylphosphonic acid / O. Tsendra, V. Lobanov, A. Grebenyuk // *Book of abstracts of 3-rd*

International Symposium "Methods and Applications of Computational Chemistry". — Odesa, Ukraine, 28 June — 2 July, 2009. — P. 103.

16. Egorova E.M., Revina A.A. Synthesis of metallic nanoparticles in reverse micelles in the presence of quercetin // *Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects.* — 2000. — Vol. 168. — P. 87-96.

17. Hohenberg P., Kohn W. Inhomogeneous electron gas // *Phys. Rev.* — 1964. — V. 136, № 21. — P. 864-871.

18. Kohn W., Sham L.J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects // *Phys. Rev. A* — 1965. — V. 140, № 4. — P. 1133-1138.

19. Koch W., Holthausen M.C. A Chemist's Guide to Density Functional Theory, 2-nd Edition. — N.Y.: Wiley-VCH, 2001.

20. Stevens W.J., Basch H., Krauss M. Compact effective and efficient shared-exponent basis sets for the first- and second-row atoms // *J. Chem. Phys.* — 1984. — V. 88. — P. 6026-6033.

21. Perdew J.P., Yue W. Accurate and simple density functional for the electronic exchange energy: Generalized gradient approximation // *Phys. Rev. B.* — 1986. — V. 33, № 12 — P. 8800-8802.

22. Arora S., Jain J., Rajwade J.M., Paknikar K.M. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2009. — № 4. — P. 310-318.

23. AshaRani P.V., Low Kah Mun G., Hande M.P., Valiyaveetil S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells // *ACS Nano.* — 2009. — V. 3, № 12 — P. 279-290.

24. Eun-Jung Park, Jongheop Yi, Younghun Kim, Kyunghye Choi, Kwangsik Park // Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism Toxicology in Vitro. — 2010. — № 24. — P. 872-878.

Надійшла до редакції 16.04.2011.