

БИООРГАНИЧЕСКАЯ И МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ

УДК 577.1:543.422.27

DOI 10.26456/vtchem2022.4.16

ГЕЛЕОБРАЗОВАНИЕ В ЦИСТЕИН-СЕРЕБРЯНОМ РАСТВОРЕ, ИНИЦИИРОВАННОЕ ИОДИД-АНИОНОМ

А.А. Баранник, С.Д. Хижняк, А.И. Иванова, П.М. Пахомов

Тверской государственный университет, г. Тверь

В работе впервые реализован одностадийный способ гелеобразования в водных системах на основе аминокислоты L-цистеин (L-Cys), нитрата серебра и иодида калия. Получены прозрачные, устойчивые во времени гидрогели с молярным соотношением компонентов $\text{Ag}^+/\text{L-Cys}$ в диапазоне 1,5-2,0 при постоянной концентрации $\text{KI} - 0,75\text{мМ}$. Процесс гелеобразования в водных системах L-цистеин- AgNO_3 - KI исследован с помощью методов вискозиметрии, спектроскопии УФ-видимого диапазонов, динамического светорассеяния (ДСР), просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии (ПЭМ и СЭМ). Установлено, что процессы самосборки и гелеобразования в низкоконцентрированном водном растворе L-цистеина и AgNO_3 (ЦСР), инициированные высокоселективным иодид-анионом, зависят, главным образом, от содержания соли серебра.

Ключевые слова: L-цистеин, нитрат серебра, иодид-анион, водный раствор, супрамолекулярная структура, гидрогель, нанокластеры и наночастицы серебра

Супрамолекулярные гидрогели на основе низкомолекулярных соединений (аминокислот, пептидов и др.) привлекают повышенное внимание исследователей как перспективные материалы для биомедицинского применения и как модельные системы для изучения процессов самосборки [1-5]. Гелеобразование в таких системах может быть инициировано различными факторами – добавкой электролита, изменением pH, нагреванием, облучением и др. Особый интерес представляют процессы самосборки и гелеобразования в результате анионного отклика, что открывает новые возможности в создании и направленном дизайне анион-чувствительных супрамолекулярных органо- и гидрогелей биомедицинского назначения [6-8].

В работе [9] сообщалось об одностадийном способе гелеобразования в низкоконцентрированных водных растворах аминокислоты L-цистеин, нитрата серебра и хлорида натрия, в котором водные растворы исходных компонентов смешивают сразу – in one pot – в определенной последовательности. Реализация такого способа гелеобразования позволила получить стабильные во времени гидрогели,

не проявляющие признаков разрушения (помутнение, выпадение осадка, синерезис) в течение 2-3 месяцев, в зависимости от содержания нитрата серебра и хлорид-аниона, при хранении без доступа дневного света.

Можно было предположить, что синтез гидрогелей по этой методике возможен и с иодид-анионом. Однако устойчивость во времени таких гидрогелей была под вопросом, принимая во внимание, что константы устойчивости (образования) AgX ($X = Cl^-, I^-$) соединений равны $1,05 \cdot 10^{10}$ и $1,08 \cdot 10^{16} M^{-1}$, соответственно, тогда как для $Ag(I)$ тиолатов они составляют величину порядка $10^{13} M^{-1}$ [10-12].

Следует отметить, что гидрогели на основе ЦСР с хлоридами различных металлов можно получить двухстадийным способом [13-14]. В этом случае электролит добавляют в ЦСР, который является геле-прекурсором. Гелеобразование под влиянием хлорид-анионов в таких системах – процесс быстрый, в зависимости от концентрации электролита гидрогели формируются в течение 5-30 минут, однако они не устойчивы во времени и разрушаются через 3-10 дней.

В данной работе впервые под воздействием иодид-аниона были получены прозрачные, устойчивые во времени гидрогели путем смешения в определенной последовательности растворов всех исходных компонентов (рис. 1) по так называемому одностадийному методу. В образцах при постоянном содержании аминокислоты и иодида калия варьировали концентрацию нитрата серебра, при этом молярное соотношение компонентов ($Ag^+/L-Cys$) изменяли в интервале 1.5 – 2.2, концентрация KI составляла 0.75 мМ.

Целью данной работы является изучение процесса гелеобразования, по так называемой *one pot* методике, в низкоконтентрированных водных растворах на основе аминокислоты L-цистеин (L-Cys), нитрата серебра и иодида калия с помощью методов вискозиметрии, спектроскопии УФ-видимого диапазона, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии.

Экспериментальная часть

В работе использованы реактивы: нитрат серебра 99% («Lancaster»), L-цистеин 99% («Acros»), иодид калия (х.ч.). Все растворы готовили на бидистиллированной воде.

Для приготовления гидрогелей на основе L-цистеина и нитрата серебра по одностадийному методу использовали водные растворы исходных компонентов с концентрацией 0,01 М, концентрация раствора KI составляла 0,05 М. Образцы для исследований получали по следующей схеме: к раствору L-Cys приливали рассчитанные количества воды и раствора иодида калия, а затем раствор нитрата серебра. В табл. 1 представлены концентрации всех исходных компонентов в исследованных образцах. Как мы видим в образцах при постоянной концентрации L-Cys и KI изменяли концентрацию нитрата серебра, при

этом соотношение молярных концентраций $Ag^+/L-Cys$ варьировали в интервале 1,33-2,00. Смесь растворов энергично перемешивали после добавления каждого компонента, это обязательное условие гелеобразования в данной системе. Хранили все образцы в защищенном от света месте при комнатной температуре.

Таблица 1

Концентрация компонентов в L-Cys-AgNO₃-KI образцах, мМ

Образец C, мМ	1	2	3	4	5
C _{Cys}	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
CKI	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
C _{AgNO₃}	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0
C _{AgNO₃} /C _{Cys}	1,33	1,5	1,67	1,83	2,0

Измерение вязкости выполняли при температуре 20⁰С в специальных кюветах из поликарбоната объемом 12 мл на вибрационном вискозиметре SV-10 фирмы «A&D Company», в котором вибрация сенсорных пластин осуществляется с частотой 30 Гц и постоянной амплитудой около 1 мм.

Электронные спектры исследуемых образцов регистрировали на спектрофотометре “Evolution Array” фирмы "Thermo Scientific" в кварцевой кювете с толщиной слоя 1 мм.

Распределения частиц по размерам в образцах получены с помощью метода динамического светорассеяния (ДСР). Измерения проведены на анализаторе Zetasizer “Nano ZS” фирмы “Malvern” с He-Ne-лазером (633 нм) мощностью 4 мВт при 25⁰С в конфигурации обратного рассеяния (173⁰), обеспечивающей наибольшую чувствительность прибора.

Морфологию гидрогелей исследовали с помощью методов СЭМ на микроскопе «JEOL JSM-6610 LV», снабженного энергодисперсионным спектрометром «Oxford Instruments INCA Energy 350», и ПЭМ на микроскопе «Leo 912 AB OMEGA», фирмы «Carl Zeiss». Пробоподготовку в обоих случаях проводили по стандартной методике.

На рис. 1 показаны фотографии L-Cys-AgNO₃-KI гидрогелей с различным молярным соотношением $Ag^+/L-Cys$ и фиксированной

концентрацией иодида калия. У нас есть возможность наблюдать гели и начало деструкции (коагуляции) образца с минимальным содержанием нитрата серебра (образец справа). Как мы видим из рисунка все образцы имеют слегка желтый оттенок.

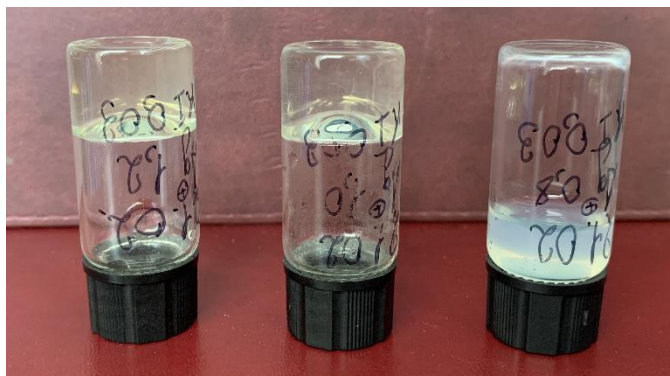


Рис. 1. Фотографии L-Cys-AgNO₃-KI образцов с различным молярным соотношением Ag⁺/L-Cys: 2,0; 1,67; 1,33 (слева направо), СКI = 0,75 мМ, С_{Cys} = 3,0 мМ

Рис. 2 демонстрирует зависимость относительной вязкости от времени для гидрогелей с разным молярным соотношением Ag⁺/L-Cys, характерная особенность которой – уменьшение вязкости в процессе измерения. Скорее всего, это связано с частичной деструкцией пространственной гель-сетки из-за изменения числа зацеплений между ее фрагментами в результате осцилляций сенсорных пластин. Из представленных на рис. 2 данных следует, что образец с молярным соотношением Ag⁺/L-Cys равным 1,67 характеризуется максимальными значениями относительной вязкости в начальный момент измерений, выполненных на вибрационном вискозиметре через 1 день после синтеза (рис. 2а, кривая 1) и затем через 1 и 2 недели (рис. 2а, кривая 2 и 3). Как мы видим, за время между измерениями структура гель-сетки не только восстанавливается, но и происходит ее дополнительное структурирование, которое сопровождается возрастанием вязкости образца. Установлено, что такая зависимость вязкости от времени является типичной для этого типа гидрогелей, включая систему с соотношением Ag⁺/L-Cys, равным 1,5 (не показана на рисунке), различаются только предельные значения вязкости. Значение вязкости образца с максимальным содержанием нитрата серебра (Ag⁺/L-Cys = 2,00) оказалась наименьшим (рис. 2в), кроме того, признаки разрушения, о чем свидетельствует помутнение образца, были отмечены через 10 дней после синтеза. Слабый, непрочный гель был получен на системе с минимальным содержанием нитрата серебра (Ag⁺/L-Cys = 1,33), в котором фазовое разделение (коагуляция) (рис. 1) обнаружилось через несколько дней после его получения. Таким образом, с помощью

вискозиметрических измерений была определена концентрационная область гелеобразования в серии образцов на основе L-Cys-AgNO₃-KI.

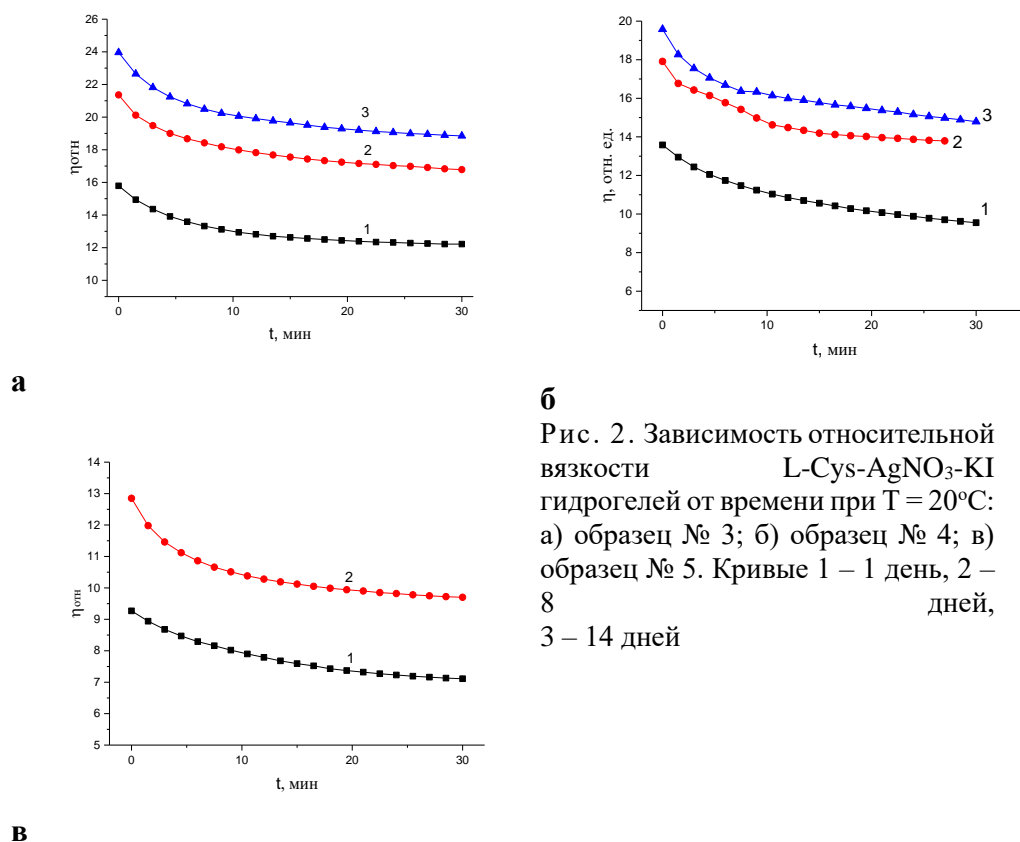


Рис. 2. Зависимость относительной вязкости L-Cys-AgNO₃-KI гидрогелей от времени при T = 20°C: а) образец № 3; б) образец № 4; в) образец № 5. Кривые 1 – 1 день, 2 – 8 дней, 3 – 14 дней

Для понимания механизма гелеобразования в водных растворах L-Cys-AgNO₃-KI исследовали зависимость электронных спектров от времени для образцов с разным содержанием нитрата серебра и концентрацией исходных компонентов (рис. 3). Из рисунка видно, что в свежеприготовленных растворах с молярным соотношением компонентов Ag⁺/L-Cys равным 1,67 и 2,0, и концентрацией компонентов в 2 раза меньшим, чем в гелеобразующих растворах, (C_{L-Cys}=1,5 мМ), с течением времени (30 мин) наблюдается незначительное возрастание поглощения в двух диапазонах длин волн ~260-266 и ~340-364 нм (рис. 3а, б). Полоса поглощения в области ~260-266 нм предположительно соответствует электронной конфигурации кластерных цепочек, которые формируют фрагменты пространственной гель-сетки [15, 16]. Поглощение в диапазоне ~340-364 нм может быть связано с переносом заряда и образованием супрамолекулярных кластеров типа [(-Ag-S(R)-)n Ag], где R – остаток L-Cys [17-19]. Поскольку в растворе присутствует избыток нитрата серебра, то избыточные ионы Ag⁺ могут

координироваться как с атомом серы молекул меркаптида серебра (показано выше), так и с иодид-анионом, образуя фрагменты $[(-\text{Ag}-\text{S}(\text{R})-\text{I})_n \text{Ag}]^-$. На рис. 4 схематично представлены варианты координации иодид-аниона с серебром.

Если обратить внимание на изменение формы полосы поглощения в диапазоне $\sim 340\text{-}364$ нм при различных соотношениях исходных компонентов (рис. 3), то это подтверждает идею протекания двух параллельных нековалентных взаимодействий: $\text{Ag}-\text{S}$ и $\text{Ag}-\text{I}$. Увеличение концентрации исходных компонентов в 2 раза приводит к появлению полосы поглощения ~ 407 нм, что связано с формированием наночастиц серебра в образце № 5 с максимальным содержанием серебра (рис. 3в) [20].

Исследования свежеприготовленных растворов с разным молярным соотношением $\text{Ag}^+/\text{L-Cys}$ и концентрацией всех компонентов в 2 раза меньшим, чем в гель-образцах, с помощью метода динамического светорассеяния, указывают на процессы самосборки и формирование кластеров и агрегатов (рис. 5).

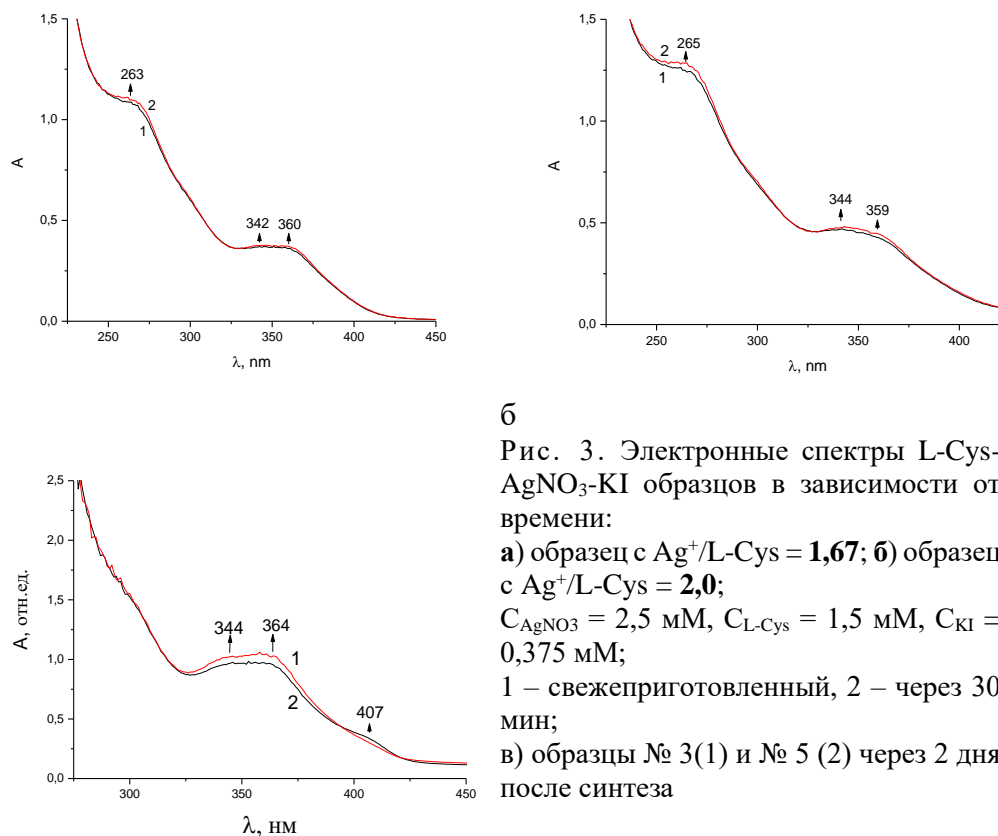


Рис. 3. Электронные спектры L-Cys-AgNO₃-KI образцов в зависимости от времени:
 а) образец с $\text{Ag}^+/\text{L-Cys} = 1,67$; б) образец с $\text{Ag}^+/\text{L-Cys} = 2,0$;
 $C_{\text{AgNO}_3} = 2,5$ мМ, $C_{\text{L-Cys}} = 1,5$ мМ, $C_{\text{KI}} = 0,375$ мМ;
 1 – свежеприготовленный, 2 – через 30 мин;
 в) образцы № 3(1) и № 5(2) через 2 дня после синтеза

В

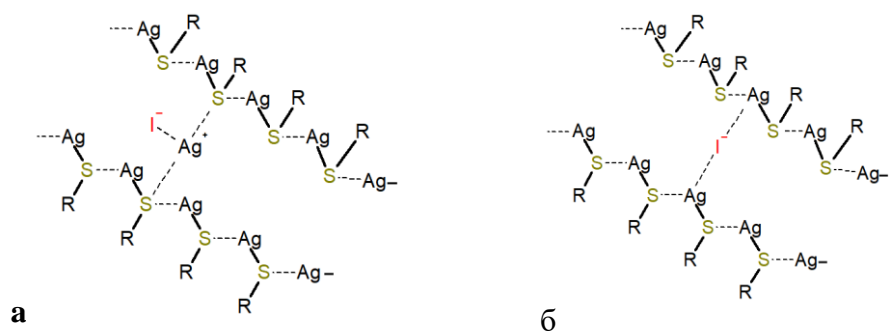
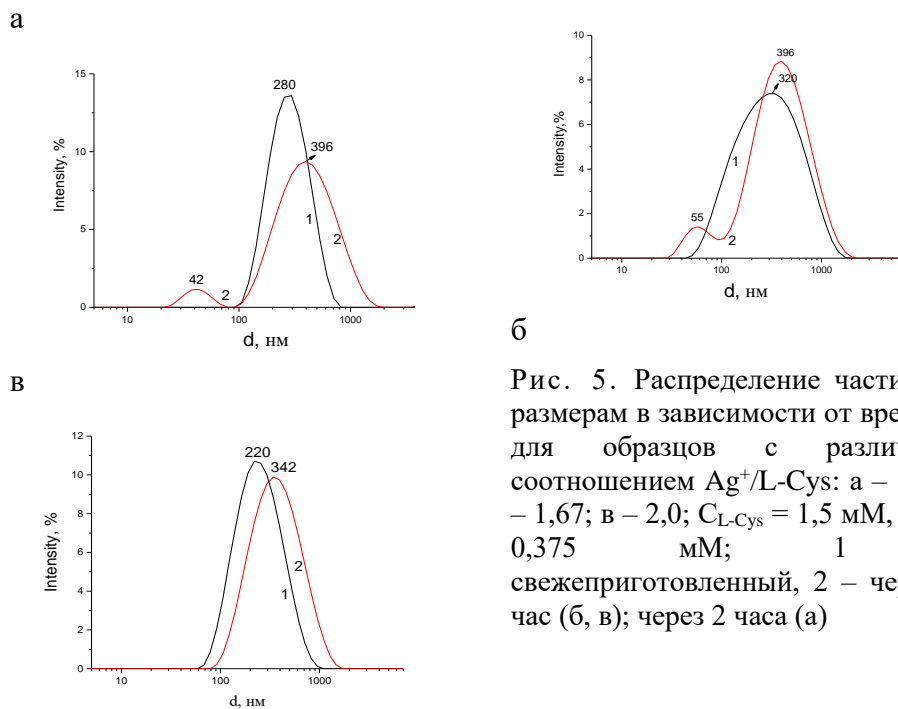


Рис. 4. Предполагаемые схемы координации иодид-аниона в процессе гелеобразования в $\text{AgNO}_3\text{-L-Cys-KI}$ системах

На рис. 5а представлены распределения частиц по размерам в модельной системе с $\text{Ag}^+/\text{L-Cys}$ равным 1,5 в разные моменты времени: через 10 минут после приготовления образца и через 2 часа. Как мы видим, в начальный момент измерений система характеризуется мономодальным распределением частиц с размером ~ 280 нм, а затем происходит формирование агрегатов двух типов: ~ 42 и 396 нм. Увеличение содержания нитрата серебра в образце (рис. 5б) приводит к росту размера агрегатов в начальный момент времени (320 нм) и при этом сохраняется мономодальный характер распределения частиц. Однако через 1 час наблюдается два типа частиц с размерами 55 и 396 нм. При максимальном содержании серебра (рис. 5в) агрегаты образуются более компактными, их размер меньше, чем для соотношений $\text{Ag}^+/\text{L-Cys} - 1,5$ и $1,67$, хотя преимущественно фиксируется мономодальное распределение частиц и сохраняется тенденция к увеличению размера агрегатов со временем. Индекс полидисперсности для всех измерений находится в интервале $0,246\text{-}0,261$, в котором алгоритм расчета распределений наиболее достоверен. Таким образом, данные ДСР подтверждают образование нанокластеров ($42, 55$ нм) предположительно в результате частичной дефрагментации супрамолекулярных цепочек $[(-\text{Ag-S(R)}-)]_n \text{Ag}$ под влиянием иодид-аниона.

Формирование пространственной гель-сетки и наночастиц в гидрогелях подтверждается данными просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии. На ПЭМ фотографии гидрогеля (рис. 6а) мы видим сильно развитую сетку пересекающихся волокон, в структуру которых встраиваются мелкие наночастицы, размер которых варьируется. СЭМ изображения также подтверждают наличие НЧС как структурных элементов **3D** сетки (рис. 6б, в).



б

Рис. 5. Распределение частиц по размерам в зависимости от времени для образцов с различным соотношением $Ag^+/L-Cys$: а – 1,5; б – 1,67; в – 2,0; $C_{L-Cys} = 1,5$ мМ, $C_{KI} = 0,375$ мМ; 1 – свежеприготовленный, 2 – через 1 час (б, в); через 2 часа (а)

Результаты энергодисперсионного микроанализа (рис. бв, табл. 2) подтверждают предположение о протекании параллельных или конкурентных процессов координации избыточных ионов серебра с атомами серы молекул меркаптида серебра и с иодид-анионами. В табл. 2 представлен элементный состав (в весовых процентах) в точках, отмеченных на СЭМ изображении перекрестьем (рис. бв). Если проанализировать содержание всех элементов и дополнительно рассчитать соотношения S/Ag и I/Ag , то можно заметить некоторую корреляцию в их содержании. Так, в спектрах 1-2 фиксируется повышенное содержание серебра, а в спектрах 3-4 весовой процент серебра почти в 2 раза меньше, при этом разброс в значениях S/Ag и I/Ag незначительный. Области, обогащенные серебром, (спектры 1-2), могут соответствовать мелким нанокластерам, сформированным за счет избыточного серебра и разрыва связи $S---Ag$ в супрамолекулярных цепочках под влиянием иодид-аниона.

Таким образом, в работе впервые одностадийным методом (one pot) был получен стабильный во времени гидрогель на основе низкомолекулярных соединений – аминокислоты L-цистеин, нитрата серебра и иодида калия. Данное исследование подтверждает возможность применения такого высокоселективного аниона как иодид для синтеза гидрогелей на основе системы $L-Cys-AgNO_3$, что открывает новые перспективы в создании анион-чувствительных супрамолекулярных гидрогелей биомедицинского назначения.

Работа выполнена на оборудовании лабораторий спектроскопии и электронной микроскопии центра коллективного пользования ТвГУ.

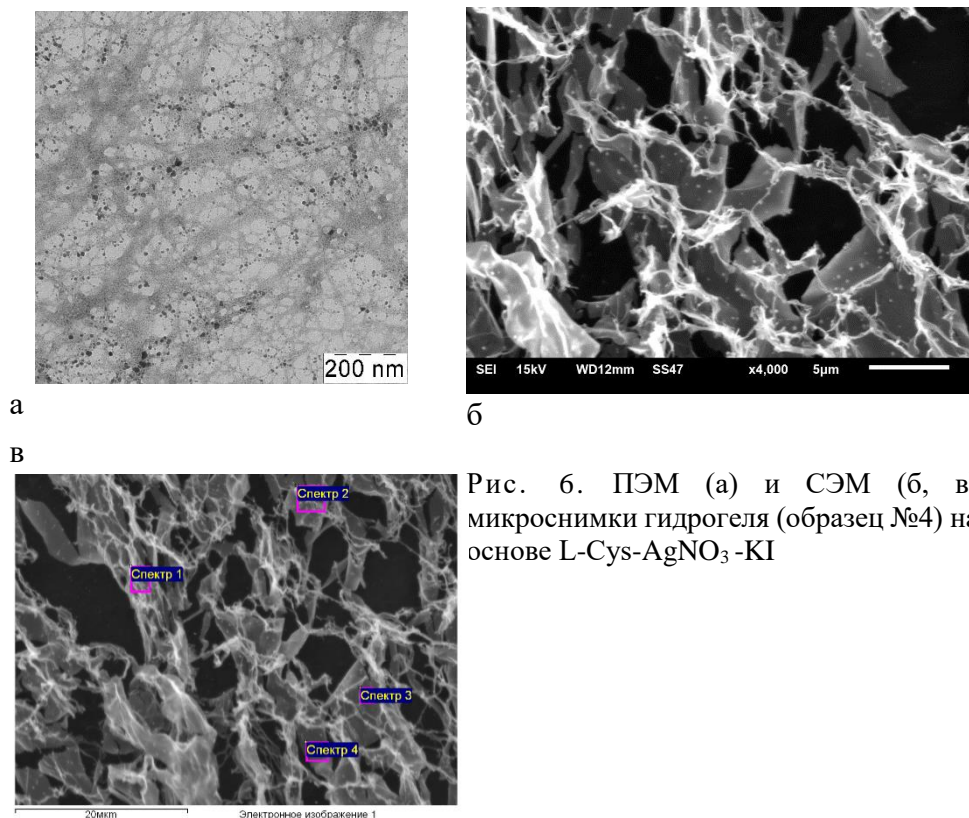


Рис. 6. ПЭМ (а) и СЭМ (б, в) микроснимки гидрогеля (образец №4) на основе L-Cys-AgNO₃-KI

Таблица 2

Элементный состав L-Cys-AgNO₃-KI гидрогеля, образец №4

Спектр	C	N	O	S	S/Ag	Ag	I	I/Ag	Итого
Спектр 1	55.62	11.96	15.63	1.70	0,14	12.23	2.85	0,23	100.00
Спектр 2	58.04	10.46	16.98	1.50	0,14	10.73	2.29	0,21	100.00
Спектр 3	72.84	5.41	13.21	1.12	0,18	6.11	1.31	0,21	100.00
Спектр 4	72.47	5.04	13.59	0.97	0,14	6.71	1.21	0,18	100.00

Список литературы

1. Qin L., Wang P., Guo Y., Chen C., Liu M. // Adv. Sci., 2015, P. 1500134 (1-7). DOI: 10.1002/advs.201500134
2. Du X., Zhou J., Shi J., Xu B. // Chem. Rev., 2015, V 115, P. 13165.
3. Haring M., Diaz D.D. // Chem. Commun., 2016, 52, P. 13068-13081. DOI: 10.1039/c6cc06533c www.rsc.org/chemcomm
4. Thangavel G., Tan M.W.M., Lee P.S. // Nano Convergence, 2019, V 6, issue 29 <https://doi.org/10.1186/s40580-019-0199-9>

5. Draper E.R., Adams D.J. // Chem., 2017, V 3, P. 390–410
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
6. Mulvee M., Vasiljevic N., Mann S., Patil A.J. // Gels 2021, 7, 146.
<https://doi.org/10.3390/gels7030146>
7. Picci G., Mulvee M., Caltagirone C., Lippolis V., Frontera A. and etc // Molecules 2022, 27, 1257. <https://doi.org/10.3390/molecules27041257>
8. Zhang J., Zhang B., Chen Q., Zhang B., Song J. // Nanoscale Research Letters. 2019, V 14, issue 5. P. 1-9. <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2823-8>
9. Овчинников М.М., Лагусева В.С., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Вестник Тверского государственного университета, Серия: Химия, 2017, №4. С. 135-145.
10. Shen J.-S., Li D.-H., Qing-Guo Cai Q.-G., Yun-Bao Jiang Y.-B. // J. Mater. Chem., 2009, 19, 6219–6224
11. L.G. Sillen L.G. Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Section I: Inorganic Ligands, RSC, London, 1964, p 263–339.
12. Adams N. W. H., Kramer J. R. // Aquat. Geochem., 1999, 5, P 1–11.
13. Андрианова Я.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. О процессе самоорганизации в водных цистеин-серебряных растворах под воздействием хлоридов металлов. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2016. №2. С.99-107.
14. Адамян А.Н., Аверкин Д.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Процесс гелеобразования в водном растворе L-цистеина и ацетата серебра под воздействием сульфатов и хлоридов металлов. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2018. №3. С.52-65. DOI: 10.26456/vtchem7.
15. Malyshev M.D., Khizhnyak S.D., Zherenkova L.V., Pakhomov P.M., Komarov P.V. // Soft Matter. 2022. V.18. P.7524-7536. <https://doi.org/10.1039/D2SM00846G>.
16. Randazzo R., Di Mauro A., D'Urso A., Messina G.C., Compagnini G., Villari V. and etc // J. Phys. Chem. B, 2015, V 119, P. 4898-4904. doi:10.1021/acs.jpcc.5b00847
17. Zhang L., Zhang H. // Nanoscale Research Letters, 2022, V 17, issue 114 <https://doi.org/10.1186/s11671-022-03752-x>
18. Tunaboylu K., Schwarzenbach G. // Helvet. Chim. Acta, 1971, V 54, P. 2166–2185.
19. Leung B.O., Jalilehvand F., Mah V., Parvez M., Wu Q. // Inorg Chem., 2013, V 52, N 8, P. 4593–4602 doi:10.1021/ic400192c.
20. Адамян А.Н., Хижняк С.Д., Барсегян Т.А., Иванова А.И., Малышев М.Д., Пахомов П.М. // Известия РАН, серия химическая, 2022, Т. 71, № 10, С. 2130-2137.

Об авторах:

БАРАННИК Александр Андреевич – студент 4 курса химико-технологического факультета, Тверского государственного университета, (170002, г. Тверь, Садовый переулок, 35); e-mail: aabarannik2001@mail.ru

ХИЖНЯК Светлана Дмитриевна – кандидат химических наук, доцент кафедры

физической химии, зав. лабораторией спектроскопии ЦКП Тверского государственного университета, (170002, г. Тверь, Садовый переулок, 35); e-mail: sveta_khizhnyak@mail.ru

ИВАНОВА Александра Ивановна – кандидат физико-математических наук, доцент кафедры прикладной физики, зав. лабораторией электронной микроскопии ЦКП Тверского государственного университета, (170002, г. Тверь, Садовый переулок, 35); e-mail: alex.ivanova33@mail.ru

ПАХОМОВ Павел Михайлович – доктор химических наук, профессор, зав. кафедрой физической химии Тверского государственного университета, (170002, г. Тверь, Садовый переулок, 35); e-mail: pavel.pakhomov@mail.ru

GELATION IN L-CYSTEINE-SILVER AQUEOUS SOLUTIONS INITIATED BY IODIDE ANION

A.A. Barannik, S.D. Khizhnyak, A.I. Ivanova, P.M. Pakhomov

Tver State University, Tver

One stage (one pot) gelation in aqueous solutions of the amino acid L-Cysteine, silver nitrate and potassium iodide is realized for the first time. Transparent, stable over time hydrogels with molar ratio of $\text{Ag}^+/\text{L-Cys}$ in the range of 1,5-2,0 and concentration of KI equal to 0,75 mM are synthesized. Gelation in L-Cys- AgNO_3 -KI solutions is studied by viscometry, UV spectroscopy, dynamic light scattering (DLS), transmission and scanning electron microscopy (TEM and SEM). It is established that self-assembly and gelation in supramolecular L-cysteine-silver solution initiated by highly selective iodide anion depend mainly on silver salt concentration.

Keywords: *hydrogel, nanoparticle, nanocluster, L-Cysteine, silver nitrate, iodide anion, supramolecular structure.*