

## 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- $\text{AgNO}_3$ - $\text{KI}$  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  $\text{AgNO}_3$  (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  $\text{Ag}^+/\text{L-Cys}$  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-AgNO<sub>3</sub>-KI образцах, мМ

Образец C, мМ	1	2	3	4	5
C <sub>Cys</sub>	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
CKI	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
C <sub>AgNO<sub>3</sub></sub>	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0
C <sub>AgNO<sub>3</sub></sub> /C <sub>Cys</sub>	1,33	1,5	1,67	1,83	2,0

Измерение вязкости выполняли при температуре 20<sup>0</sup>С 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 25<sup>0</sup>С в конфигурации обратного рассеяния (173<sup>0</sup>), 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-AgNO<sub>3</sub>-KI гидрогелей с различным молярным соотношением  $\text{Ag}^+/\text{L-Cys}$  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.

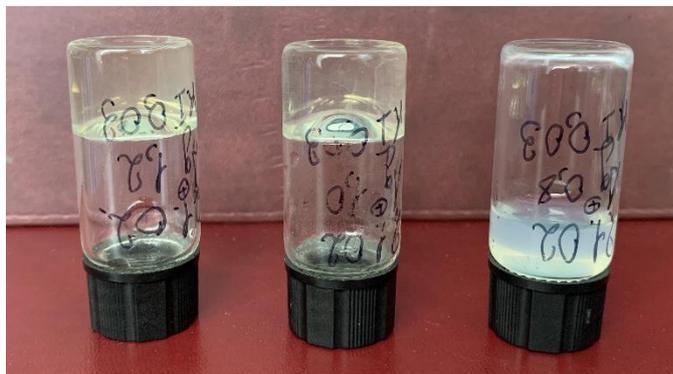
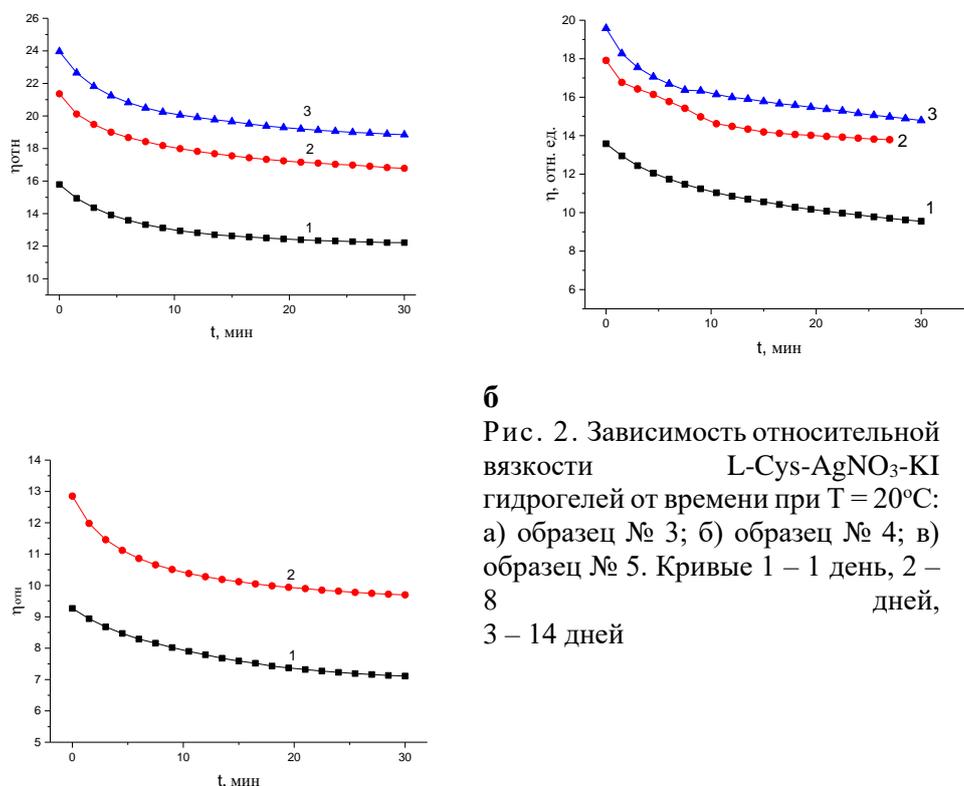


Рис. 1. Фотографии L-Cys-AgNO<sub>3</sub>-KI образцов с различным молярным соотношением Ag<sup>+</sup>/L-Cys: 2,0; 1,67; 1,33 (слева направо), СКI = 0,75 мМ, С<sub>Cys</sub> = 3,0 мМ

Рис. 2 демонстрирует зависимость относительной вязкости от времени для гидрогелей с разным молярным соотношением Ag<sup>+</sup>/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<sup>+</sup>/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<sup>+</sup>/L-Cys, равным 1,5 (не показана на рисунке), различаются только предельные значения вязкости. Значение вязкости образца с максимальным содержанием нитрата серебра (Ag<sup>+</sup>/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<sup>+</sup>/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-AgNO<sub>3</sub>-KI.



**а**

**б**

**в**

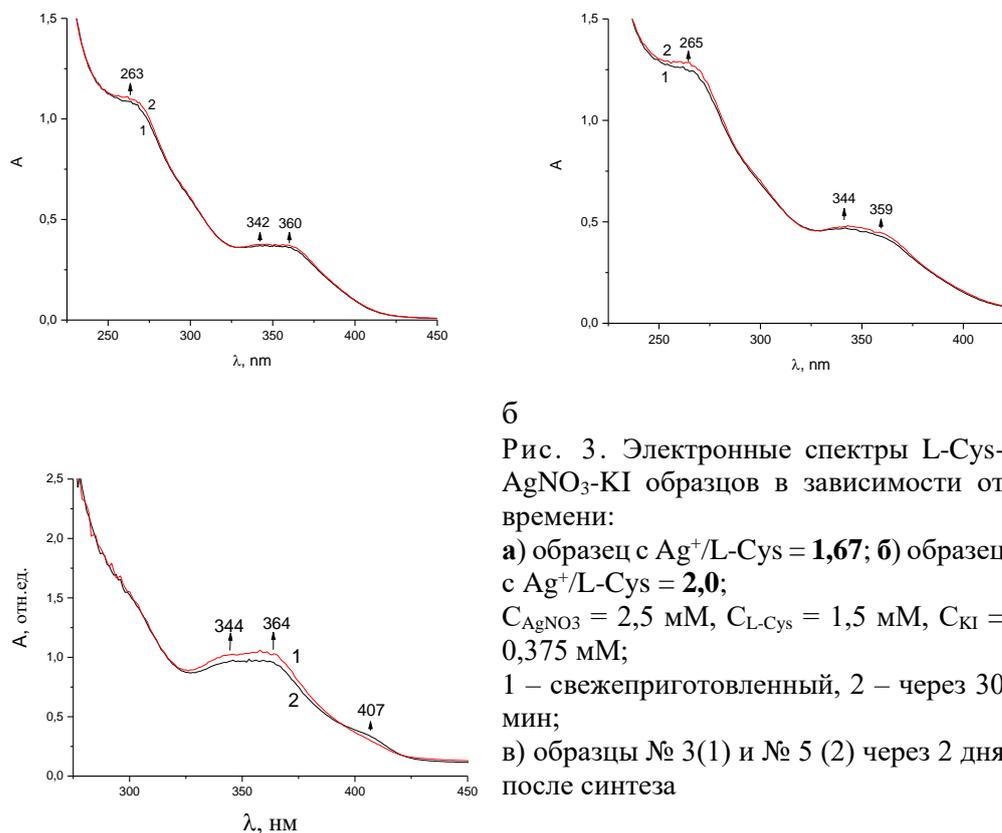
Рис. 2. Зависимость относительной вязкости L-Cys-AgNO<sub>3</sub>-KI гидрогелей от времени при T = 20°C: а) образец № 3; б) образец № 4; в) образец № 5. Кривые 1 – 1 день, 2 – 8 дней, 3 – 14 дней

Для понимания механизма гелеобразования в водных растворах L-Cys-AgNO<sub>3</sub>-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<sup>+</sup>/L-Cys равным 1,67 и 2,0, и концентрацией компонентов в 2 раза меньшим, чем в гелеобразующих растворах, (C<sub>L-Cys</sub>=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)-)---Ag], где R – остаток L-Cys [17-19]. Поскольку в растворе присутствует избыток нитрата серебра, то избыточные ионы Ag<sup>+</sup> 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  $\sim 407$  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).



**б**  
Рис. 3. Электронные спектры L-Cys-AgNO<sub>3</sub>-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**

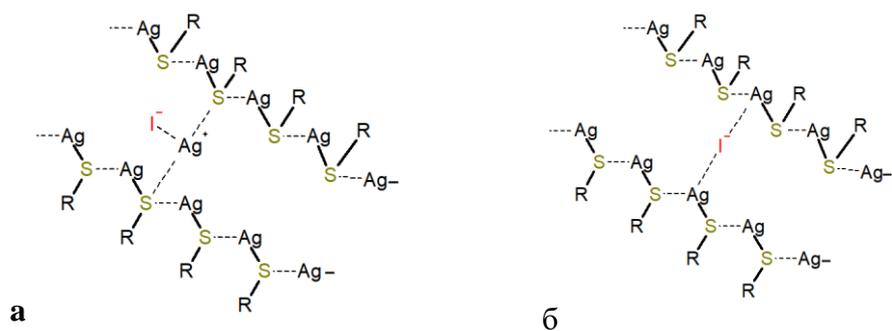
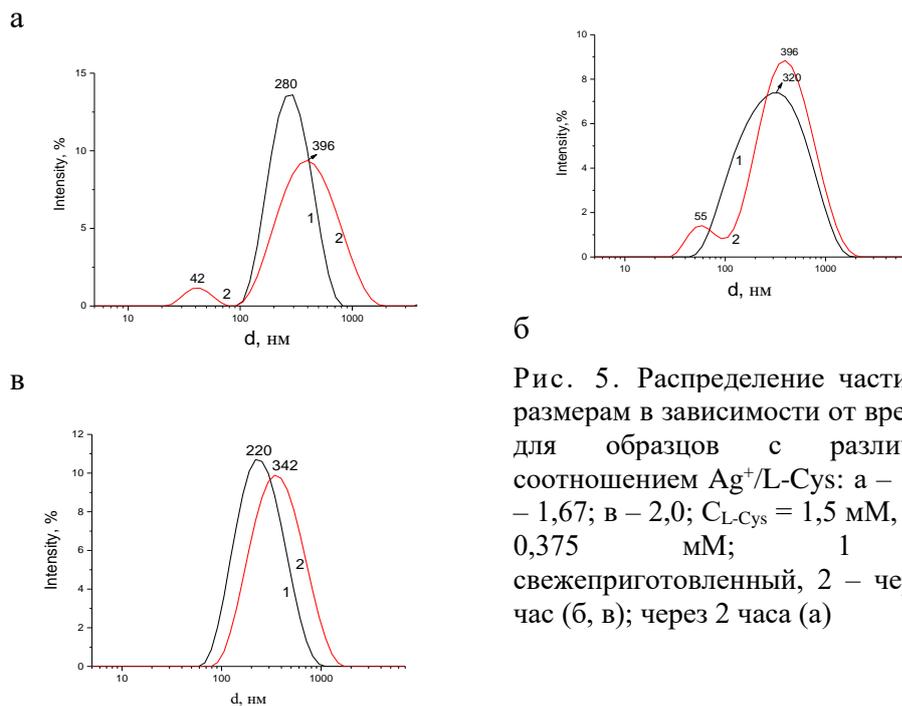


Рис. 4. Предполагаемые схемы координации иодид-аниона в процессе гелеобразования в  $\text{AgNO}_3\text{-L-Cys-KI}$  системах

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  $\sim 280$  нм, а затем происходит формирование агрегатов двух типов:  $\sim 42$  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<sup>+</sup>/L-Cys: а – 1,5; б – 1,67; в – 2,0; C<sub>L-Cys</sub> = 1,5 мМ, C<sub>KI</sub> = 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<sub>3</sub>, 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.

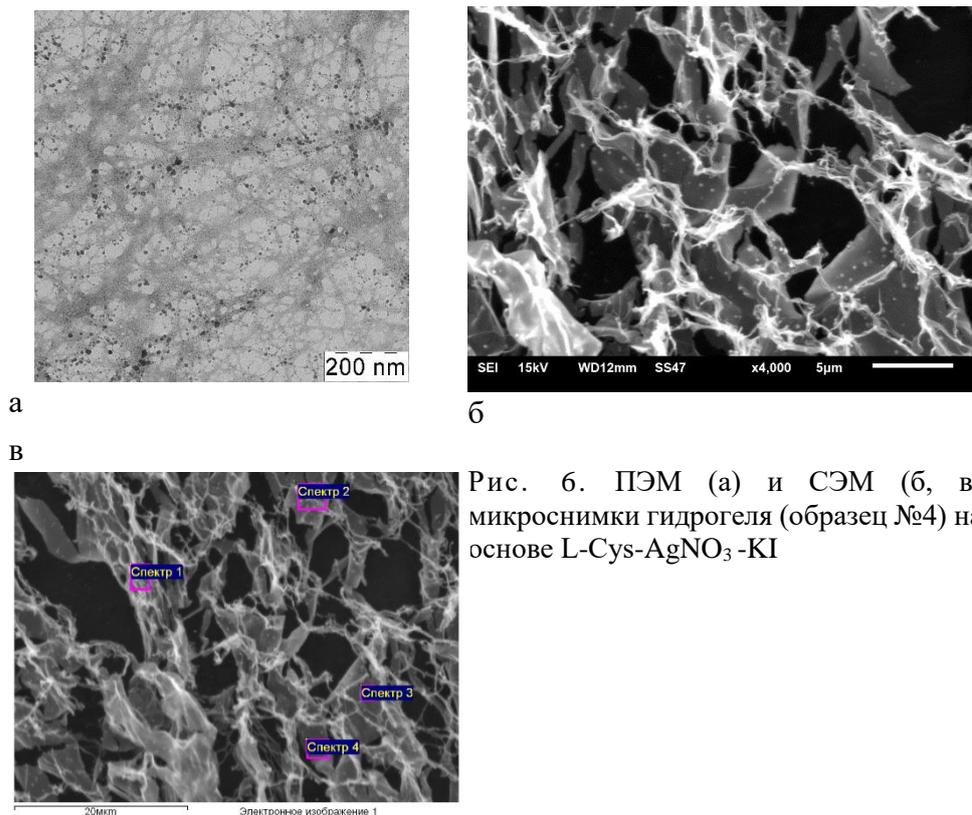


Рис. 6. ПЭМ (а) и СЭМ (б, в) микроснимки гидрогеля (образец №4) на основе L-Cys-AgNO<sub>3</sub>-KI

Таблица 2  
Элементный состав L-Cys-AgNO<sub>3</sub>-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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto: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- $\text{AgNO}_3$ -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.*