

УДК 577.1:543.422.27

## ГЕЛЕОБРАЗОВАНИЕ В НИЗКОКОНЦЕНТРИРОВАННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ L-ЦИСТЕИНА И ПЕРХЛОРАТА СЕРЕБРА

М.Ю. Удальцова, М.О. Савельев, К.А. Шухина,  
С.Д. Хижняк, П.М. Пахомов

ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь

Обнаружено, что низкоконцентрированные водные растворы перхлората серебра ( $\text{AgClO}_4$ ) и аминокислоты L-цистеин (L-Cys) при молярном соотношении компонентов Ag/Cys от 1.50 до 2.00 образуют супрамолекулярные гели при добавлении электролитов (сульфата и хлорида натрия). Механизм гелеобразования исследован при помощи методов вискозиметрии, просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), УФ-спектроскопии и динамического светорассеяния (ДСР). Установлено, что в результате процессов самоорганизации в водном растворе L-Cys– $\text{AgClO}_4$  на первой стадии происходит образование супрамолекулярных цепочек ( $-\text{AgS}\dots\text{AgS}-$ )<sub>n</sub>. Формирование гидрогеля (вторая стадия) инициируется добавлением электролита.

**Ключевые слова:** L-цистеин, перхлорат серебра, процесс самоорганизации, супрамолекулярный гидрогель.

**DOI:** 10.26456/vtchem7

Изучение строения и свойств гелей, а также процессов гелеобразования [1; 2] является важной задачей современной прикладной и фундаментальной науки. С фундаментальной точки зрения гели представляют интерес как системы с фрактальной структурой. Следует отметить, что гелеобразование (студнеобразование) присуще самым различным по своей природе коллоидным материалам – природным полимерам, системам, состоящим из органических солей полифункциональных металлов (нафтенаты алюминия или ванадия), и самым разным многокомпонентным материалам, содержащим в своем составе синтетические полимеры. Свойства, которыми обладают супрамолекулярные гели, стали причиной их интенсивных исследований. Главные свойства супрамолекулярных гелей – это динамичность и обратимость. Возможность контроля над механизмом формирования, огромное количество известных строительных блоков для них и возможность управления стабильной устойчивой стойкостью

соединений дает возможность получать и применять широчайший ряд веществ с легко регулируемыми свойствами.

С практической точки зрения супрамолекулярные гидрогели представляют интерес благодаря возможности их использования в биомедицинских целях (тканевая инженерия, контролируемое высвобождение лекарственных препаратов). В связи с этим одним из важнейших преимуществ супрамолекулярных гидрогелей, по сравнению с обычными полимерными гелями, является то, что они обладают лучшей биоразлагаемостью и позволяют внедрять лекарственные средства и биологически активные молекулы непосредственно в гелеобразующий компонент, не производя его захвата [3].

Возможность внедрения в структуру супрамолекулярных гелей ионов или наночастиц серебра делает их претендентами для промышленного производства материалов, обладающих биомедицинским потенциалом [4]. Ионы серебра препятствуют размножению болезнетворных бактерий, микробов, вирусов, грибов. При этом диапазон действия коллоидного серебра распространяется на более чем 650 видов бактерий (для сравнения – спектр действия любого антибиотика составляет примерно 5–10 видов бактерий). Лечебные свойства серебра не исчерпываются только антисептическим аспектом. Доказано его положительное воздействие на процессы жизнедеятельности человека и животных [5]. Серебро значительно повышает специфическую защиту организма, что особенно важно при слабой иммунной системе. Ионы серебра участвуют в обменных процессах организма. В зависимости от концентрации его катионы могут как стимулировать, так и угнетать активность ряда ферментов. Под воздействием серебра вдвое увеличивается интенсивность окислительного фосфорилирования в митохондриях головного мозга, а также увеличивается содержание нуклеиновых кислот, что улучшает функцию головного мозга [6].

L-цистеин – серосодержащая аминокислота, отвечающая за формирование вторичной и третичной структуры белков, играющая важную роль в обмене веществ и выполняющая защитную функцию при связывании токсичных тяжелых металлов в живом организме. Цистеиновые комплексы выполняют разнообразные функции в медицине, биологии, поэтому гели на основе цистеина и серебра могут быть перспективной основой для разработки новых биологически активных веществ и фармацевтических препаратов [7].

Цель настоящей работы состояла в комплексном исследовании условий получения, механизма самоорганизации и физико-химических свойств низкоконцентрированных водных растворов L-цистеина и перхлората серебра, а также гидрогелей на их основе.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использованы реактивы: перхлорат серебра  $\text{AgClO}_4$  99% («Aldrich»), L-цистеин 99% («Acros»), сульфат натрия и хлорид натрия хч. Все растворы готовили на бидистиллированной воде.

Методика получения цистеин-серебряных растворов (ЦСР) на основе L-цистеина и перхлората серебра заключалась в смешение водных растворов исходных компонентов в необходимых соотношениях и концентрациях (см. таблицу). К свежеприготовленному раствору перхлората серебра приливали такое количество свежеприготовленного раствора L-цистеина, чтобы мольное соотношение  $\text{Ag}/\text{Cys}$  варьировалось в диапазоне 1.50 – 2.00. Также к смеси растворов L-цистеина и перхлората серебра добавляли некоторое количество дистиллированной воды для получения нужной концентрации компонентов. Смесь водных растворов энергично перемешивали и оставляли созревать в защищенном от света месте на время, определяемое конкретным экспериментом (от нескольких минут до суток). В результате получали бледно-желтый опалесцирующий раствор, который при стоянии в течение 6–12 ч при комнатной температуре в темноте становился прозрачным.

Супрамолекулярные гели на основе ЦСР готовили путем добавления к ним определенного количества водных растворов электролитов – инициаторов гелеобразования.

В качестве электролитов использовали сульфат и хлорид натрия. Концентрация электролита в добавляемом водном растворе составляла  $2 \cdot 10^{-2}$  М. Раствор энергично перемешивали встряхиванием и оставляли в покое до образования гидрогеля. При этом время формирования геля и его прочность зависели от типа электролита и его концентрации.

Состав исследуемых образцов

№ образца	1	2	3	4
$C_{\text{Cys}}$	$1 \cdot 10^{-2}$ М			
$C_{\text{AgClO}_4}$	$1 \cdot 10^{-2}$ М	$1 \cdot 10^{-2}$ М	$1 \cdot 10^{-2}$ М	$1 \cdot 10^{-2}$ М
$\text{Ag}/\text{Cys}$	1.50	1.67	1.75	1.83
Концентрация электролита	$2 \cdot 10^{-2}$ М			

Вязкость образцов измеряли на вибрационном вискозиметре SV-10 (японская фирма «A&D Company»), в котором вибрация сенсорных пластин осуществлялась с частотой 30 Гц и постоянной амплитудой около 1 мм. Измерение вязкости растворов и гелей проводили при

комнатной температуре. Вязкость гидрогелей определяли через 30 мин и более после добавления электролита.

Анализ морфологии ЦСР и гидрогелей на его основе осуществляли с помощью метода ПЭМ в центре коллективного пользования «Просвечивающая электронная микроскопия» МГУ им. М.В. Ломоносова, используя электронный микроскоп «LEO 912 AB OMEGA» (Carl Zeiss, Германия). Водный раствор или гидрогель наносили на стандартную медную сетку с полимерной подложкой из формвара (поливинилформала) толщиной около 100 нм, высушивали и помещали в электронный микроскоп.

Электронные спектры исследуемых образцов регистрировали на спектрофотометре «Evolution Array» (фирма "Thermo Scientific") в кварцевой кювете с толщиной поглощающего слоя 1 мм.

Измерения интенсивности светорассеяния в исследуемых растворах проводили методом ДСР на анализаторе «Zetasizer ZS» («Malvern Instruments Ltd.», Великобритания) с He-Ne лазером ( $\lambda=633$  нм) мощностью 4 мВт. Все измерения осуществлялись при 25 °С. Расчет распределений частиц по размерам производился по формуле Энштейна–Стокса:

$$D = kT / 6\pi\eta R,$$

где  $D$  – коэффициент диффузии;  $k$  – константа Больцмана;  $T$  – абсолютная температура;  $\eta$  – вязкость среды;  $R$  – радиус рассеивающих частиц. Измерение электрофоретической подвижности агрегатов в образцах проводили в U-образных капиллярных кюветах.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены результаты реологических испытаний гидрогелей на основе водных растворов L-Cys и  $\text{AgClO}_4$  при добавлении водного раствора  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  с концентрацией  $2 \cdot 10^{-2} \text{M}$ , которые демонстрируют различия в структурировании системы во времени. Вязкость свежеприготовленных гидрогелей с соотношением компонентов  $\text{Ag}/\text{Cys}$  1.50 в начальный момент времени (до 6 мин) незначительно возрастает, что свидетельствует об увеличении структурированности системы, а затем снижается (рис. 1, кривая 1). Однако следует отметить, что вязкость геля спустя 1 и 2 дня после его приготовления (рис. 1, кривые 2 и 3) значительно ниже исходных значений свежеприготовленного образца. Поэтому можно сделать вывод, что использование  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  в качестве электролита для данной системы нецелесообразно, т.к. гель-сетка в ЦСР получается очень слабой и со временем не упрочняется.

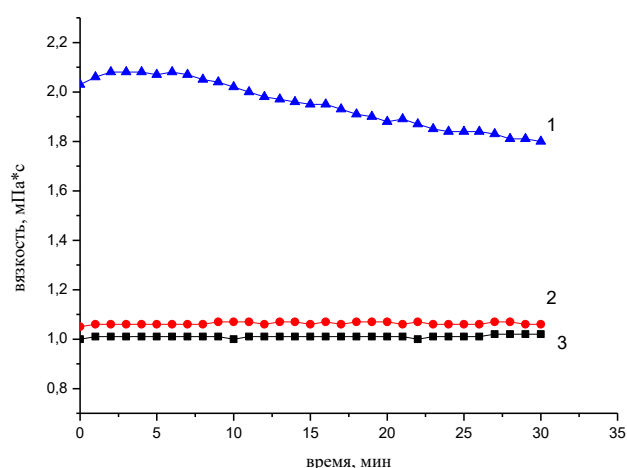


Рис. 1. Кинетические кривые изменения вязкости гидрогеля, полученного добавлением  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (соотношение компонентов Ag/Cys составляет 1.50): 1 – свежеприготовленный гель (30 мин); 2 – спустя 1 день после приготовления; 3 – спустя 2 дня после приготовления

Чтобы окончательно убедиться в нецелесообразности применения  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  в качестве электролита, была увеличена его концентрация в ЦСР. Результаты, представленные на рис. 2, показывают, что увеличение содержания электролита в 2 раза ведет к еще большему снижению вязкости, т.е. к разупрочнению пространственной сетки геля.

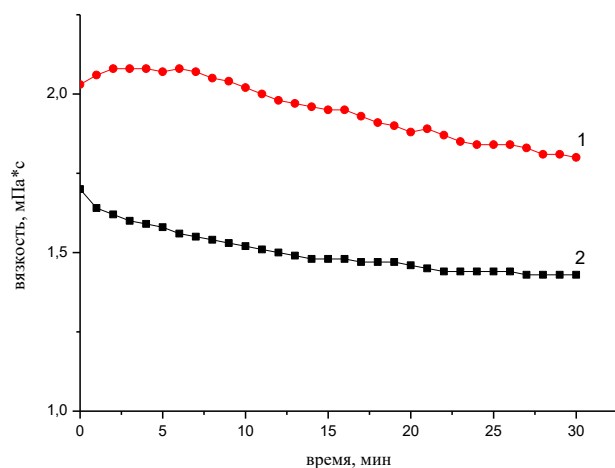


Рис. 2. Кинетические кривые изменения вязкости гидрогеля, полученного добавлением  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (соотношение компонентов Ag/Cys составляет 1.50) через 30 мин после добавления соли: 1 – содержание  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.025 мл на 1 мл исходного ЦСР; 2 – содержание  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.05 мл на 1 мл исходного ЦСР

На рис. 3 представлены результаты реологических испытаний гидрогеля на основе водных растворов L-Cys и  $\text{AgClO}_4$  при добавлении электролита  $\text{NaCl}$  с той же концентрацией, что и в случае  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Вязкость свежеприготовленных гидрогелей заметно возрастала во времени, что свидетельствует об упрочнении гель-сетки. Кроме того, вязкость геля на основе  $\text{NaCl}$  была значительно выше вязкости геля на основе  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (сравните рис. 1 и рис. 3). Однако следует отметить, что вязкость геля спустя 3 дня после приготовления была значительно ниже исходных значений свежеприготовленного образца, но заметно увеличивалась в течение 30 мин (рис. 3, кривая 2). Поэтому можно сделать вывод, что использование  $\text{NaCl}$ , по сравнению с  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , приводит к более существенному упрочнению гель-сетки.

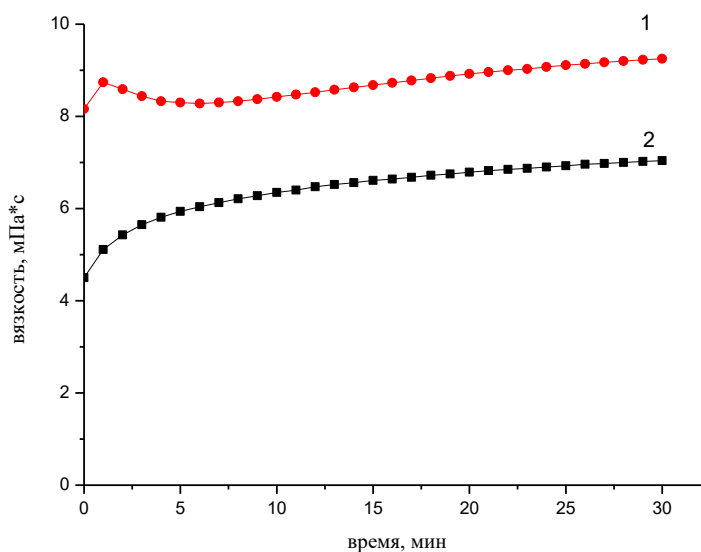


Рис. 3. Кинетические кривые изменения вязкости гидрогеля, полученного добавлением  $\text{NaCl}$  (соотношение компонентов  $\text{Ag/Cys}$  составляет 1.50): 1 – свежеприготовленный гель (30 мин); 2 – спустя 3 дня после приготовления

На рис. 4 представлены результаты реологических испытаний гидрогеля при различном соотношении компонентов  $\text{Ag/Cys}$ , в котором в качестве электролита использовался  $\text{NaCl}$ . Данный график отображает различия в структурировании свежеприготовленной системы во времени. Чем меньше соотношение компонентов, тем выше исходные значения вязкости. Затем в течение последующих 30 мин происходило практически симбатное нарастание вязкости. Для гелей с  $\text{NaCl}$ , сформированных в течение получаса, значение вязкости было существенно выше, чем для ЦСР. Установлено, что ЦСР сохранял гелеобразующую способность при хранении в темноте в течение длительного времени (2 месяца и более).

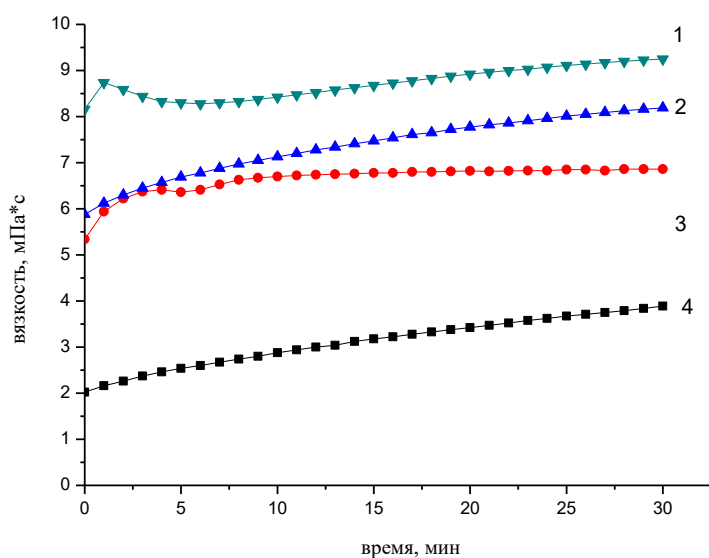


Рис. 4. Кинетические кривые изменения вязкости гидрогеля, полученного через 30 мин после добавления NaCl: 1 – соотношение компонентов Ag/Cys составляет 1.50; 2 – соотношение Ag/Cys составляет 1.67; 3 – соотношение Ag/Cys составляет 1.83; 4 – соотношение Ag/Cys составляет 2.00

ПЭМ снимки, показанные на рис. 5, подтверждают факт самоорганизации в образцах: в ЦСР наблюдаются цепочки, состоящие из отдельных кластеров разного размера от 1.5 до 3 нм (рис. 5а и 5б). Добавление водного раствора NaCl к ЦСР приводит к формированию пространственной сетки, имеющей четкую волоконную структуру (рис. 5в). Гель-сетка с сульфатом натрия выглядит иначе, она состоит из коротких цепочек (рис. 5г). Данные метода ПЭМ подтверждают результаты реологических исследований, свидетельствующие о предпочтительности использования NaCl в качестве электролита, по сравнению с Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, при получении наиболее прочных гидрогелей на основе водного раствора L-цистеина и перхлората серебра.

Рис. 6 характеризует изменения в электронном спектре ЦСР в зависимости от времени созревания раствора при различном соотношении компонентов. Видно, что со временем в УФ-спектре ЦСР возникают две полосы поглощения (314 и 398 нм). Следует отметить, что формирование указанных полос при соотношении компонентов Ag/Cys 1.50 (рис. 6а) происходит быстрее, чем при соотношении 1.83 (рис. 6б) из-за избытка ионов серебра.

Кинетические зависимости изменения величины поглощения для полос с максимумами 314 и 398 нм (рис. 7) показывают, что формирование обеих полос во времени происходит симбатно, но с

разной скоростью. Чем меньше соотношение компонентов в растворе, тем быстрее растет интенсивность полос 314 и 398 нм.

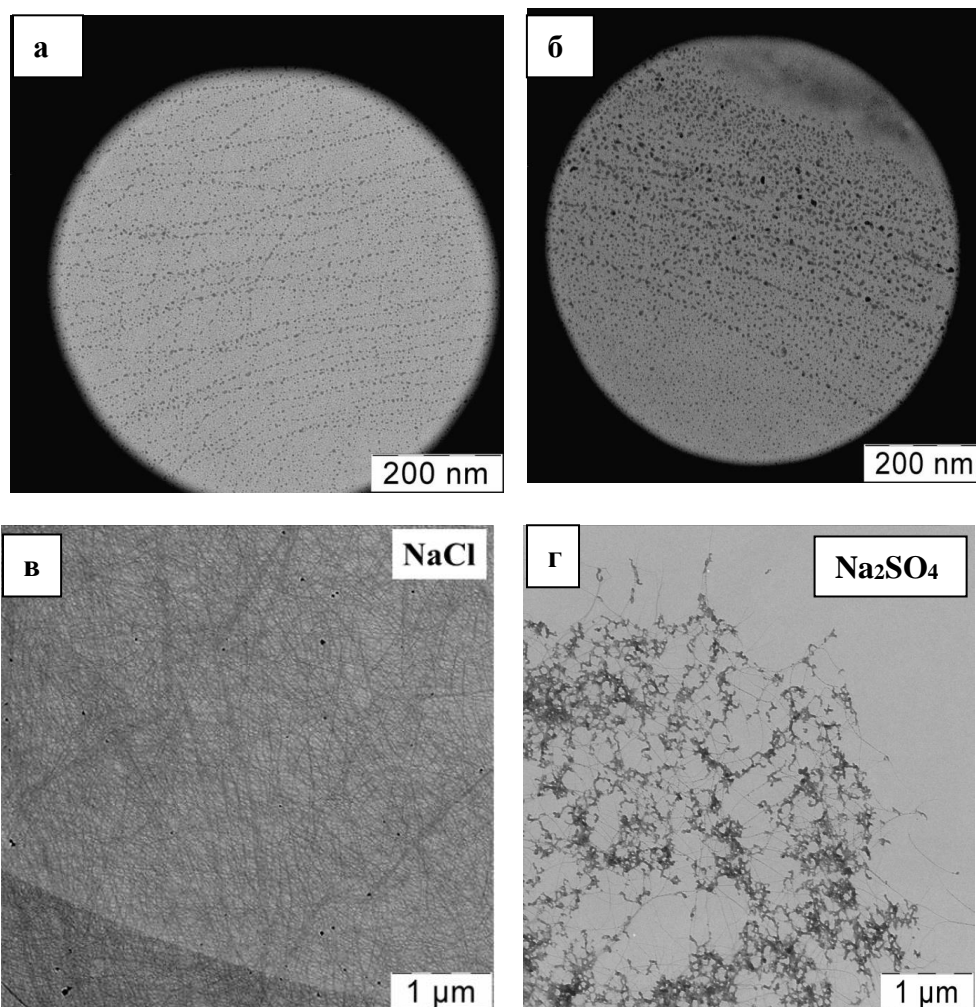


Рис. 5. ПЭМ снимки образцов ЦСР при соотношении компонентов Ag/Cys 1.67 (а) и 1.83 (б); гидрогели, полученные добавлением хлорида натрия (в) и сульфата натрия (г)

Происхождение этих полос, как и в случае ЦСР на основе L-цистеина и AgNO<sub>3</sub> [8], связано с формированием супрамолекулярных цепочек (--Ag-S(Cys)--Ag-S(Cys)--)<sub>n</sub>, образованных за счет нековалентного взаимодействия молекул меркаптида серебра. Природа полосы 314 нм связана с переносом заряда S→Ag по донор-акцепторному принципу, происходит образование супрамолекулярных цепочек из молекул меркаптида серебра, а полоса поглощения 398 нм связана с взаимодействием Ag-S. Согласно многочисленным литературным источникам [9–12] полосы поглощения 314 нм и 398 нм



наиболее часто приписывают взаимодействию близко расположенных атомов металлов в координационных соединениях, объясняя их наличие электронными переходами.

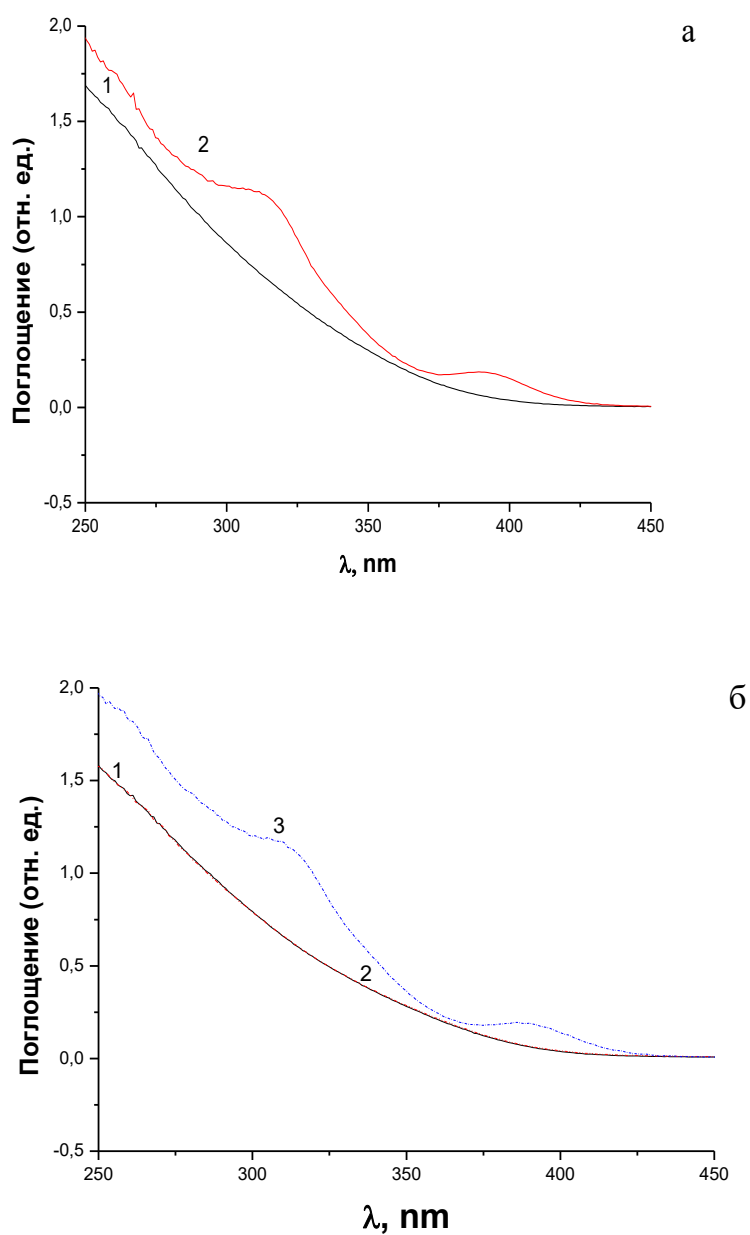


Рис. 6. Изменение интенсивности полос поглощения 314 и 398 нм во времени для ЦСР с различным соотношением компонентов в растворе (Ag/Cys): 1,50 (а) и 1,83 (б): а – сразу после смешивания компонентов (1) и через 40 мин (2); б – сразу после смешивания компонентов (1), через 40 мин (2) и через 1 сутки (3)

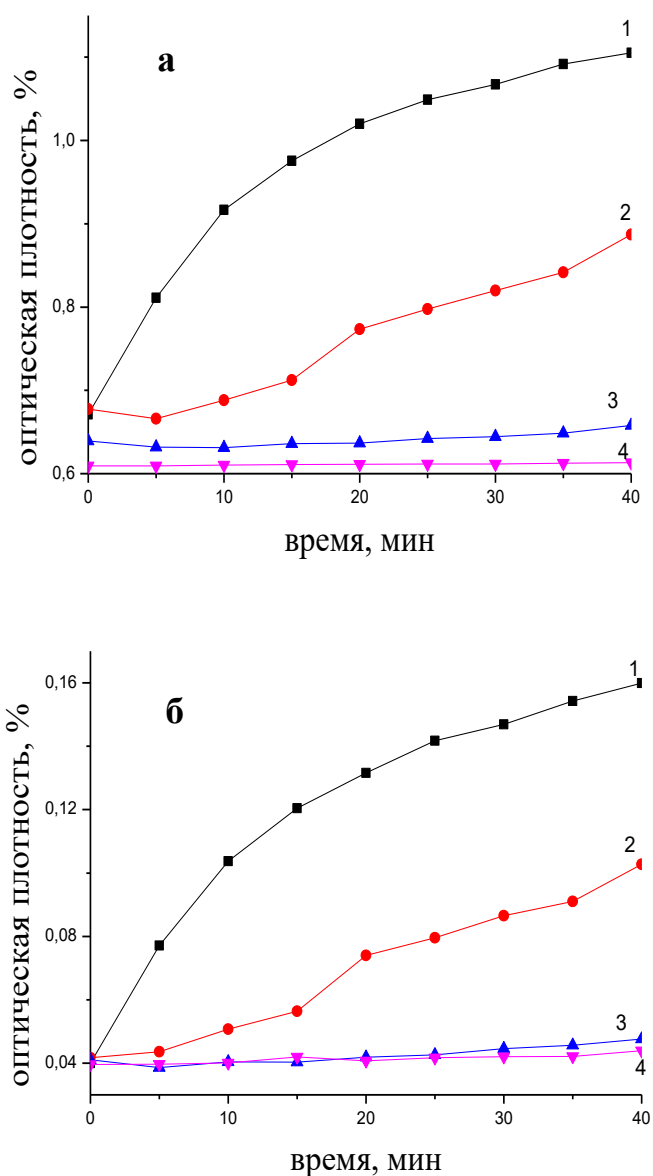


Рис. 7. Зависимость величины поглощения для полосы с максимумом 314 нм (а) и 398 нм (б) от времени созревания для ЦСР с различным соотношением исходных компонентов Ag/Cys: 1 – 1.50; 2 – 1.67; 3 – 1.75; 4 – 1.83

На рис. 8 представлены УФ-спектры поглощения гидрогеля с разным мольным соотношением компонентов Ag/Cys в растворе. Обнаружено, что в гидрогелях с соотношением компонентов 1.50 и 1.67 присутствует только одна характеристическая полоса поглощения с максимумом 340 нм (рис. 8а, спектры 1 и 2). В то же время в гелях с мольным соотношением компонентов 1.75 и 1.83 наблюдаются две

полосы с максимумами 319 и 405 нм (рис. 8б, спектр 1) и 332 и 398 нм (рис. 8б, спектр 2) соответственно.

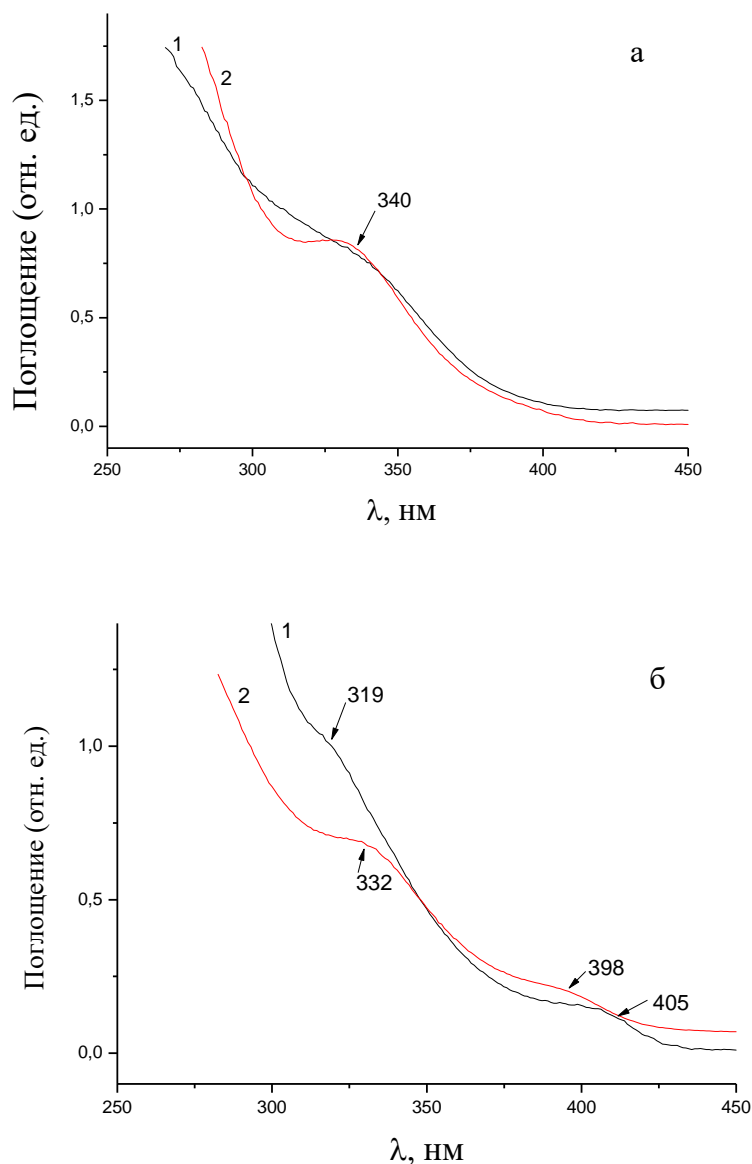


Рис. 8. УФ-спектры поглощения гидрогелей, полученные добавлением NaCl ( $2 \cdot 10^{-2}$  М) в ЦСР и различным мольным соотношением компонентов в растворе Ag/Cys: а) 1 – 1.50, 2 – 1.67; б) 1 – 1.75, 2 – 1.83

Причина проявления в гидрогеле одной полосы поглощения (рис. 8а, спектры 1 и 2) вместо двух в ЦСР (рис. 6) пока не установлена. Однако можно предположить, что в формировании супрамолекулярной пространственной гелевой сетки из молекул меркаптида серебра

важнейшую роль играют иницирующие анионы, специально вводимые в ЦСР для запуска процесса гелеобразования. Из чего следует, что благодаря избытку электролита как раз и происходит исчезновение одной из полос. Исследования по подбору правильных соотношений и концентраций электролита будут проводиться в дальнейшем.

По данным метода ДСР, распределение частиц по размерам в ЦСР бимодальное, достаточно широкое, среднее значение диаметра частиц  $\sim 100$  нм. Размер агрегатов в водных системах цистеин–перхлорат серебра оказывается достаточно устойчивым в пределах времени проведения измерений. При увеличении содержания  $\text{AgClO}_4$  в системе отмечается незначительное изменение размеров агрегатов. На рис. 9 представлены распределения частиц ЦСР (с мольным соотношением 1.50 – 1.83) по размерам во времени. Отчетливо видно уменьшение и уплотнение размеров агрегатов, что свидетельствует о создании кластеров и фрагментов супрамолекулярных цепей.

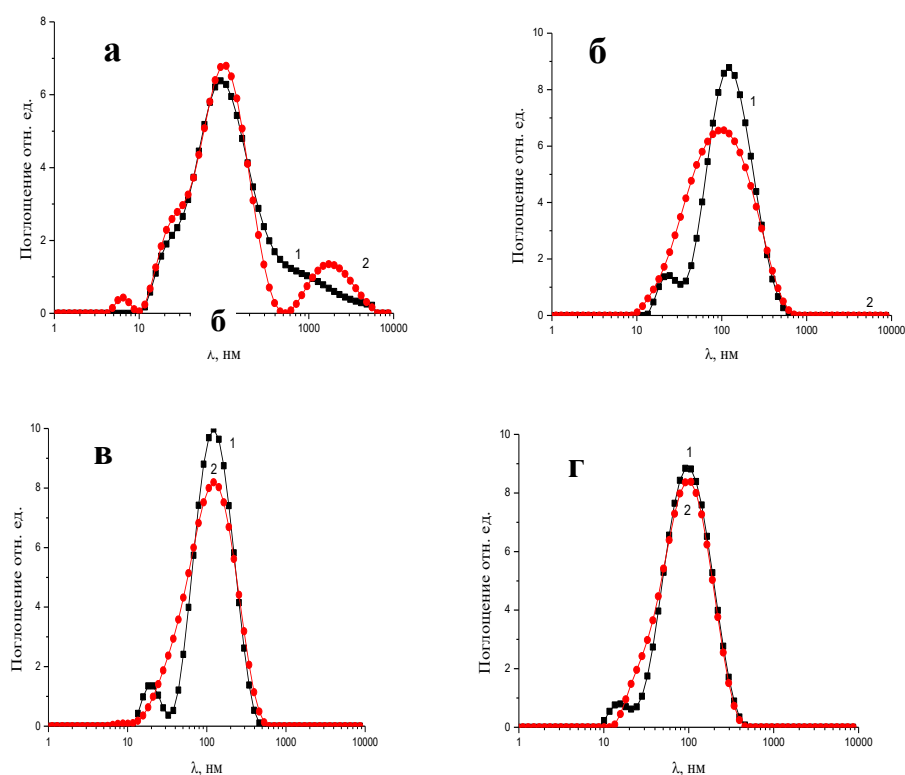


Рис. 9. Распределение частиц ЦСР по размерам (в единицах интенсивности) в зависимости от времени созревания при мольном соотношении компонентов  $\text{Ag}/\text{Cys}$ : а) 1.50 (1 – 10 мин; 2 – 25 мин); б) 1.67 (1 – 8 мин; 2 – 60 мин); в) 1.75 (1 – 5 мин; 2 – 60 мин); г) 1.83 (1 – 5 мин; 2 – 60 мин)

## ВЫВОДЫ

В ходе данной работы установлены условия, необходимые для процесса гелеобразования в водном растворе L-цистеина и перхлората серебра. Соотношение концентраций исходных компонентов Ag/Cys должно составлять от 1.50 до 2.00. При этих концентрациях образуется прозрачный ЦСР.

Для образования гидрогелей были использованы соли NaCl и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Методом вискозиметрии установлено, что в данных системах образуются гидрогели при использовании в качестве электролита NaCl с содержанием 0.025 мл на 1 мл исходного ЦСР. При введении электролита формируется пространственная сетка, об образовании которой можно судить по увеличению вязкости гидрогеля (в сравнении с вязкостью исходного ЦСР).

В результате проведенных исследований становится очевидным, что гелеобразование в системе на основе L-цистеина и перхлората серебра, инициированное сульфатом или хлоридом натрия, имеет существенные различия. Установлены временные критерии протекания каждой стадии образования гидрогеля; первая стадия (созревание ЦСР) – от 30 мин и выше, вторая (образование гидрогеля) – не менее 10 мин до полного завершения процесса структурирования в зависимости от соотношения компонентов Ag/Cys. Скорость созревания ЦСР тем выше, чем меньше соотношение компонентов Ag/Cys в рассматриваемых пределах. Эти гидрогели являются интересным объектом для изучения процессов самоорганизации в наноструктурированных системах на основе низкомолекулярных соединений, особенно принимая во внимание простоту их синтеза и возможность модификации.

*Авторы выражают благодарность С.Н. Абрамчуку за любезно предоставленные микроснимки (ПЭМ) изучаемых образцов.*

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки Российской Федерации в рамках государственных работ в сфере научной деятельности (проект №4.5508.2017/БЧ) на оборудовании Центра коллективного пользования Тверского государственного университета.*

## Список литературы

1. Gortner R.A., Hoffman W.F. // J. Am. Chem. Soc. 1921. V. 43. P. 2199.
2. Wolfe C.G.L., Rideal E.K. // Biochem. J. 1922. V.16. P. 548.
3. Odriozila I. Macromol. Symp. 2008. P. 96.
4. Kwang Hahn S. Smart. // Society of Biomaterials. 2014.
5. Casuso P. // Organic and Biomolecular Chemistry. 2010. P. 5455.

6. Muhamad I.I. // International Journal of Biology and Biomedical Engineering. 2013. V. 7. P. 108.
7. Hackelbusch S. // Springer Science+Business Media Singapore. 2015. P. 151.
8. Пахомов П.М, Хижняк С.Д., Овчинников М.М., Комаров П.В. Супрамолекулярные гели. Тверь: Твер. гос. ун-т, 2011. 272 с.
9. Mandal S., Gole A., Lala N., Gonnad R., Ganvir V., Sastry M. // Langmuir. 2001. V.17. P. 6262.
10. Shiotsuka M., Koumura H., Suwaki Y., Asai M., Tatemitsu H., Ozawa T., Masuda H. // Transition Metal Chemistry. 2009. V. 34, № 3. P. 353.
11. Leung K.H., Phillips D.L., Mao Z., Che C.-H., Miskowski V.M., Chan C.-K. // Inorg. Chem. 2002. V. 41, № 8. P. 2054.
12. Brinas R.P., Hu M., Qian L., Lyman E.S., Hainfeld J.F. // J. Am. Chem. Soc. 2008. V. 130, № 3. P. 975.

### GEL FORMATION IN LOW-CONCENTRATED AQUEOUS SOLUTIONS OF L-CYSTEINE AND SILVER PERCHLORATE

M.Yu. Udaltsova, M.O. Saveliev, K.A. Shukhina, S.D. Khizhnyak, P.M. Pakhomov

Tver State University  
Department of Physical Chemistry

It has been found that low-concentration aqueous solutions of silver perchlorate ( $\text{AgClO}_4$ ) and amino acid L-cysteine (L-Cys) with a molar ratio of Ag / Cys components of 1.50 to 2.00 form supramolecular gels with the addition of electrolytes (sodium sulfate and sodium chloride). The mechanism of gelling is studied by means of viscometry, transmission electron microscopy (TEM), UV spectroscopy, and dynamic light scattering (DSD). It was found that as a result of self-organization in the aqueous solution of L-Cys- $\text{AgClO}_4$ , the formation of supramolecular chains ( $-\text{AgS} \dots \text{AgS}-$ ) occurs in the first stage. The formation of the hydrogel (second stage) is initiated by the addition of an electrolyte.

**Key words:** *L-cysteine, silver perchlorate, self-organization process, supramolecular hydrogel.*

*Об авторах:*

УДАЛЬЦОВА Мария Юрьевна – магистрант 1-го года обучения  
Тверского государственного университета, e-mail: u.valentin@bk.ru

САВЕЛЬЕВ Максим Олегович – магистрант 2-го года обучения  
Тверского государственного университета, e-mail: maxi\_owl@mail.ru

ШУХИНА Ксения Александровна – студент 3-го года обучения  
Тверского государственного университета, e-mail:  
shuhina.ksenya@gmail.com

ХИЖНЯК Светлана Дмитриевна – заведующая лабораторией  
спектроскопии ЦКП Тверского государственного университета, e-mail:  
svetlana\_khizhnyak@mail.ru

ПАХОМОВ Павел Михайлович – заведующий кафедрой физической  
химии Тверского государственного университета, e-mail:  
pavel.pakhomov@mail.ru

Поступила в редакцию 6 марта 2018 года