

УДК 532.614.2+678.02.66.095.24

## СРАВНЕНИЕ ПРОЦЕССА САМООРГАНИЗАЦИИ В РАСТВОРАХ L-ЦИСТЕИНА И СОЛЕЙ СЕРЕБРА НА ОСНОВЕ H<sub>2</sub>O И D<sub>2</sub>O

А.Н. Адамян, Д.В. Вишневецкий, С.Д. Хижняк,  
П.М. Пахомов

Тверской государственный университет  
*Кафедра физической химии*

Получены супрамолекулярные гидрогели на основе низкоконцентрированных растворов L-цистеина и ацетат серебра в тяжелой воде (D<sub>2</sub>O). Процессы самоорганизации L-цистеина и ацетата серебра в обычной и тяжелой воде исследованы методами УФ спектроскопии, динамического светорассеяния (ДСР) и спектроскопией ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Установлено, что при замене растворителя H<sub>2</sub>O на D<sub>2</sub>O происходит также происходит созревание цистеин-серебряного раствора, однако при этом наблюдается укрупнение размеров образующихся частиц в растворе. Добавление сульфата и хлорида натрия в созревший раствор L-цистеина и ацетат серебра на основе D<sub>2</sub>O приводит к гелеобразованию системы.

**Ключевые слова:** обычная и тяжелая вода, L-цистеин, ацетат серебра, самоорганизация, супрамолекулярный гидрогель.

DOI 10.26456/vtchem2019.2.3

В последнее время гидрогели на основе таких природных соединений, как аминокислоты, нуклеотиды, липиды и др., притягивают к себе все большее внимание, т.к. востребованы в области биомедицины, фармакологии и пищевых промышленности. Например, аминокислота L-цистеин обладает широким спектром фармакологического действия, а серебро характеризуется противовоспалительными и лечебными свойствами, поэтому изучение систем, на основе этих компонентов вызывает повышенный интерес. Авторы работы [1,2] обнаружили гелеобразование в низкоконцентрированных водных растворах (~0.01%) на основе аминокислоты L-цистеина (L-Cys) и нитрата серебра (ЦСР). Гелеобразование также происходит в растворах на основе L-cys и CH<sub>3</sub>COOAg [3]. L-Cys является уникальной аминокислотой, в состав которой входит три функциональных группы: amino, тиольная и карбоксильная. По-видимому, благодаря наличию именно этих функциональных групп реализуется простейший способ получения

гидрогелей на основе низкомолекулярных соединений путем смешивания водных растворов исходных компонентов.

На процесс гелеобразования оказывает влияние, как химическая природа аминокислоты, так и соли серебра. При этом возникает вопрос: а какова роль самой воды в процессе структурированности конечного гидрогеля? Возникают ли водородные связи непосредственно между группировками в цепях ЦСР или же они образуются с помощью воды? В работе [1] было показано, что смеси различных полярных растворителей, таких как пиридин, ДМСО, этанол, метанол с водой в определенных соотношениях ведут к процессу гелеобразования в ЦСР. Однако, в этом случае суммарные диэлектрические проницаемости смесей этих растворителей отличны от воды. В тоже время, известно, что диэлектрическая проницаемость тяжелой воды сходна с таковой для обычной воды [1]. Поэтому, следует ожидать, что замена  $H_2O$  на  $D_2O$  должна также вести к процессу гелеобразования. При этом следует отметить, что такие свойства, как прочность геля, размеры образующихся при самоорганизации частиц (кластеров или агрегатов) могут быть различными. Действительно, в работе [1] было показано, что замена обычной воды на тяжелую воду при гелеобразовании желатинаты увеличивала прочность гидрогеля, полученного на основе тяжелой воды, практически в два раза.

Тяжелая вода  $D_2O$  является изотопическим вариантом обычной воды  $H_2O$ , при этом каждый из атомов дейтерия  $D$  имеет дополнительный нейтрон, в то время как обычный водородный атом содержит только протон. Эти избыточные нейтроны делают тяжелую воду приблизительно на 10% более плотной, чем  $H_2O$ . Существует также еще несколько отличий  $D_2O$  от  $H_2O$ : во-первых, ОН-связи в  $H_2O$  более симметричны, чем ОD-связи в  $D_2O$ ; расстояние между атомами водорода в соседних молекулах на 2% больше для  $H_2O$ , чем в случае  $D_2O$ ; число водородных связей в расчете на одну молекулу воды меньше в  $H_2O$ , чем в  $D_2O$  (3,62 против 3,76) [4].

Кроме того, использование тяжелой воды может также решить важную задачу по определению молекулярной массы образующихся в ЦСР агрегатов и выяснению роли различных групп молекулы L-цистеина в процессе гелеобразования.

Целью данной работы является изучение процесса гелеобразования L-цистеин-ацетат и нитрат серебра в тяжелой воде при добавлении разных электролитов (хлорида и сульфата натрия) при помощи комплекса физико-химических методов исследования.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использованы реактивы: ацетат серебра 99%, («Lancaster»), L-цистеин 99% («Acros»), сульфат натрия и хлорид натрия

хч. Все растворы готовили на дейтерированной воде ООО «Астрахим», Санкт-Петербург.

Для приготовления смесей на основе L-цистеина и ацетата серебра (AgAc) использовали растворы в тяжелой воде исходных компонентов с концентрацией 0.01 М. Для получения 2 мл исследуемой смеси к 0,6 мл раствора L-цистеина приливали 0.65 мл воды, а затем 0.75 мл раствора AgAc. Отношение молярных концентраций ионов серебра и цистеина в данном случае равно 1.25. После энергичного перемешивания растворов исходных компонентов получали слегка мутный раствор, который при стоянии в защищенном от света месте при комнатной температуре через 24 ч становился прозрачным, приобретая слегка желтое окрашивание. Этот прозрачный раствор – ЦСР/D<sub>2</sub>O – являлся прекурсором гидрогеля. При добавлении в ЦСР раствор сульфата или хлорида натрия получались тиксотропные гидрогели.

Метод приготовления растворов на основе D<sub>2</sub>O не отличается от метода приготовления растворов на основе H<sub>2</sub>O.

Электронные спектры исследуемых образцов регистрировали на УФ спектрофотометре “Evolution Array” (фирма “Thermo Scientific”) в кварцевой кювете с толщиной слоя 1 мм.

Изучение растворов методом ДСР осуществляли с использованием анализатора Zetasizer “Nano ZS” (фирма “Malvern”) с He-Ne-лазером (633 нм) мощностью 4 мВт. Все измерения проводили при 25 °С в конфигурации обратного рассеяния (173°), обеспечивающей наибольшую чувствительность прибора. Расчет распределений частиц по размерам производился по формуле Стокса–Эйнштейна:

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

где  $k$  – константа Больцмана,  $T$  – абсолютная температура,  $\eta$  – вязкость среды,  $R$  – радиус рассеивающих частиц.

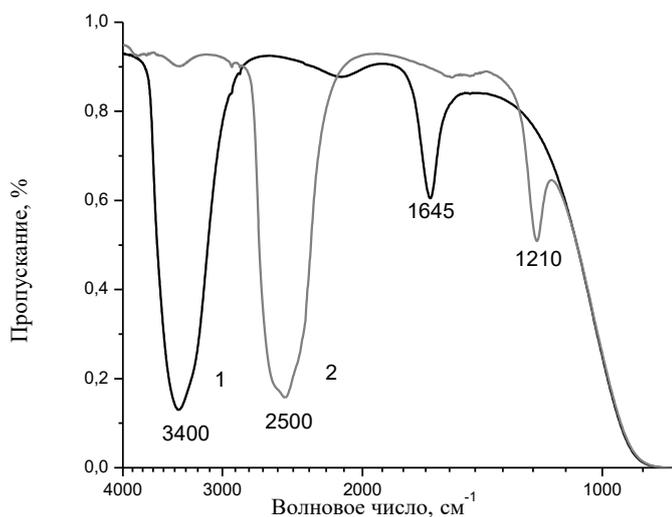
Исследование строения растворов и гелей также проводили методом ЯМР на спектрометре Bruker Avance 600 МГц, предназначенном для изучения жидких органических соединений (МГУ им. М.В. Ломоносова).

Прочность гелей оценивали по характеру деформации столбика геля в пробирке при переворачивании её на 180°. Соответствующая шкала прочности геля приведена в работах [1,5].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Химические реакции в тяжелой воде, в отличие от обычной воды, происходят медленнее, поскольку водородные связи с дейтерием сильнее, по сравнению с протием. В связи с этим свойства H<sub>2</sub>O и D<sub>2</sub>O существенно отличаются. H<sub>2</sub>O и D<sub>2</sub>O имеют также различные области

пропускания ИК излучения, что позволяет исследовать образцы в разных диапазонах ИК излучения. Спектры пропускания приведены на рис. 1. Как видно из рисунка, положение полос поглощения валентных и деформационных колебаний из-за различия в массе колеблющихся группировок существенно отличаются. Кстати, метод дейтерозамещения широко используется в ИК спектроскопии при отнесении полос поглощения [6].



Р и с . 1 . ИК спектры пропускания  $\text{H}_2\text{O}$  (1) и  $\text{D}_2\text{O}$  (2)

Как и в случае ЦСР на основе обычной воды, при смешении исходных компонентов, растворенных в тяжелой воде, также сначала образуется мутная смесь, являющаяся также продуктом взаимодействия катиона серебра и тиольной группы цистеина, однако через 3-6 часов раствор становится прозрачным с желтоватым оттенком, что может свидетельствовать об образовании цепочечных структур из молекул меркаптида серебра (МС) [7]. Об этом свидетельствует наличие в УФ спектрах ЦСР на основе  $\text{D}_2\text{O}$  двух полос поглощения –  $\sim 314$  нм и  $\sim 387$  нм (рис.1), аналогично данным УФ спектроскопии, полученным ранее для ЦСР на основе  $\text{H}_2\text{O}$ . Предполагается, что полоса  $\sim 314$  нм также связана с переносом заряда от донорных атомов серы к акцепторным атомам серебра, а слабая полоса с максимумом  $\sim 387$  нм, соответствует взаимодействию  $\text{Ag-S}$ . Однако УФ спектры этих образцов при одинаковой концентрации L-цистеина (3 мМ) имеют различия: полосы поглощения в системе ЦСР/ $\text{D}_2\text{O}$  более интенсивны, а также наблюдается сдвиг полосы в сторону больших длин волн, что может свидетельствовать о некотором отличии в формировании супрамолекулярных цепей из молекул МС.

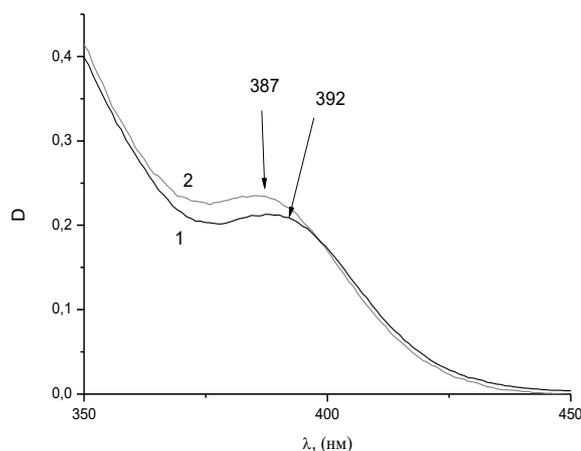


Рис. 2. Электронные спектры ЦСП/H<sub>2</sub>O (1) и ЦСП/D<sub>2</sub>O (2)

Добавление в раствор ЦСП/D<sub>2</sub>O электролитов (NaCl и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) приводит к гелеобразованию, по аналогии с ЦСП/H<sub>2</sub>O. При этом образуются 5-ти балльные по шкале прочности гидрогели.

Обнаружено, что добавление раствора хлорида натрия в ЦСП/D<sub>2</sub>O вносит значительные изменения в УФ спектрах (рис.3): в спектре видно, что исчезают две полосы поглощения с максимумами ~ 314 нм и ~ 387 нм и появляется новая полоса с максимумом ~ 354 нм (рис.3), которая свидетельствует об участии хлорид-иона в процессе гелеобразования.

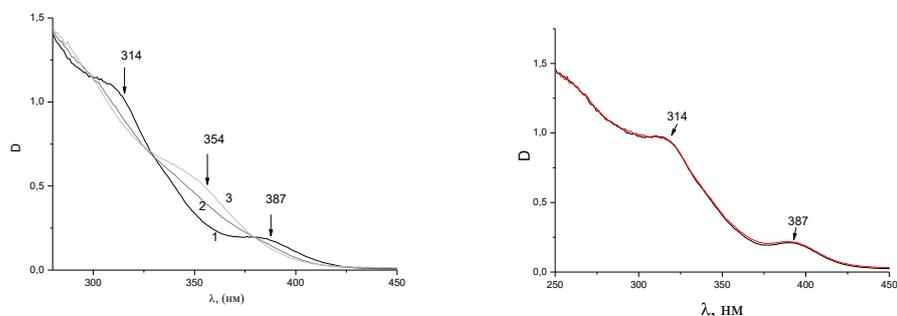


Рис. 3. Изменение электронных спектров образцов ЦСП/D<sub>2</sub>O + NaCl (а) через 1 мин. (1), через 1 ч. (2), через 3 ч (3) и ЦСП/D<sub>2</sub>O + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (б) через 1 мин (1), через 3 часа (2)

Различия спектров гелей на основе NaCl и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> показаны на рис. 3. Видно, что участие в процессе гелеобразования сульфат и хлорид иона происходит по-разному. При этом с хлорид-ионом происходит

образование комплексов, которые менее устойчивы во времени. Отсюда и наблюдаются значительные изменения в спектре по сравнению с сульфат-ионом.

По данным метода ДСР свежеприготовленный ЦСР/ $H_2O$  и ЦСР/ $D_2O$  имели полимодальное распределение частиц, имеющих разные размеры. Однако разбавление системы в 4 и 8 раз уже имели бимодальное распределение частиц, которые могут быть интерпретированы как фрагменты пространственной сетки, размеры которых меняются во времени (рис. 4). В ЦСР с  $D_2O$  диаметр частиц двух типов – зародышевых кластеров и агрегатов – заметно превосходит размеры этих же типов частиц в ЦСР с  $H_2O$ . Можно также заметить, что разбавление системы не приводит к разрушению кластеров на мелкие фрагменты, размер частиц с разбавлением изменяется не существенно (рис. 4б)

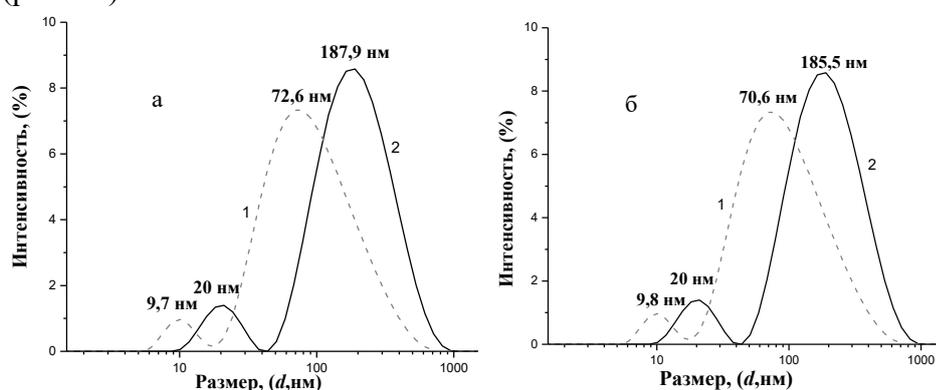


Рис. 4. Распределение частиц по размерам в системах L-Cys-CH<sub>3</sub>COOAg – (а - разбавленные системы на основе H<sub>2</sub>O (1) и D<sub>2</sub>O (2) в 4 раза) и L-Cys-CH<sub>3</sub>COOAg –б - разбавленные системы на основе H<sub>2</sub>O (1) и D<sub>2</sub>O (2) в 8 раз) C<sub>Cys</sub>=3.0 мМ, C<sub>Ag+</sub>=3.75 мМ

Замена H<sub>2</sub>O на D<sub>2</sub>O делает возможным изучение ЦСР и гелей на основе L-цистеина и ацетата серебра методом ЯМР спектроскопии. Повышенное внимание привлекают основные полосы, имеющие интенсивное поглощение. В спектре ацетата серебра наблюдается полоса поглощения, характерная для протонов метильной группы, равная 1,78 миллионных долей. Оказалось, что при переходе от раствора ацетата серебра в тяжелой воде к ЦСР в обычной воде происходит сильный сдвиг протонов CH<sub>3</sub>-группы (0.14 ppm) в область более слабого поля (1.92 миллионных долей), что свидетельствует об образовании супрамолекулярных цепей, а также о возможной локализации ацетатной заряженной группы в ядре супрамолекулярного кластера (рис. 5 а,б).

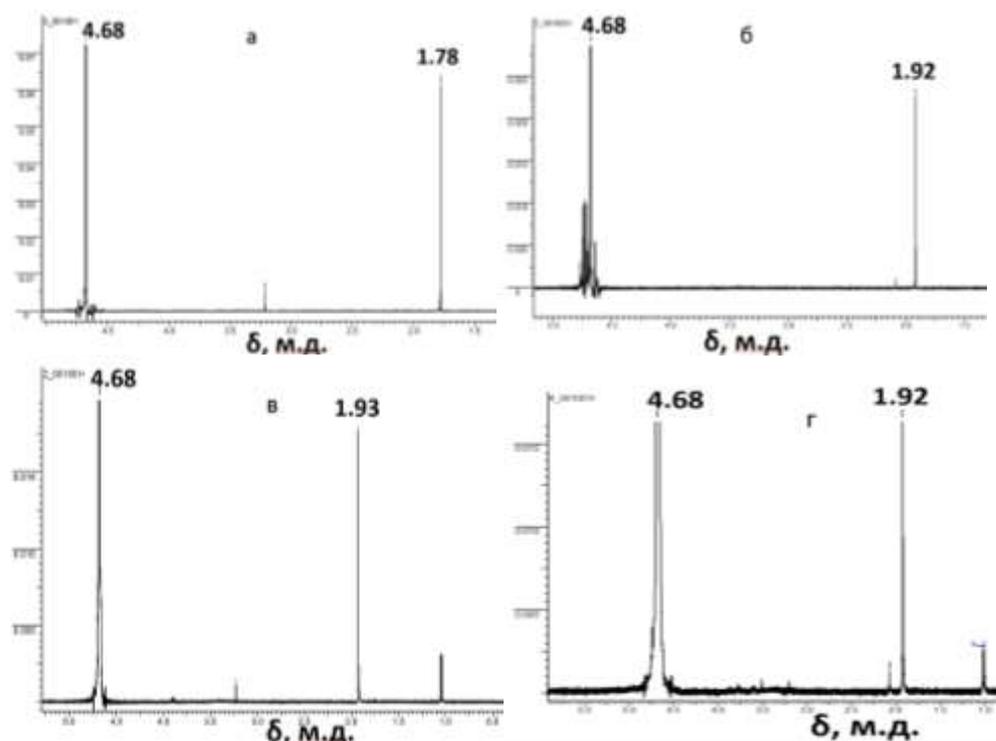
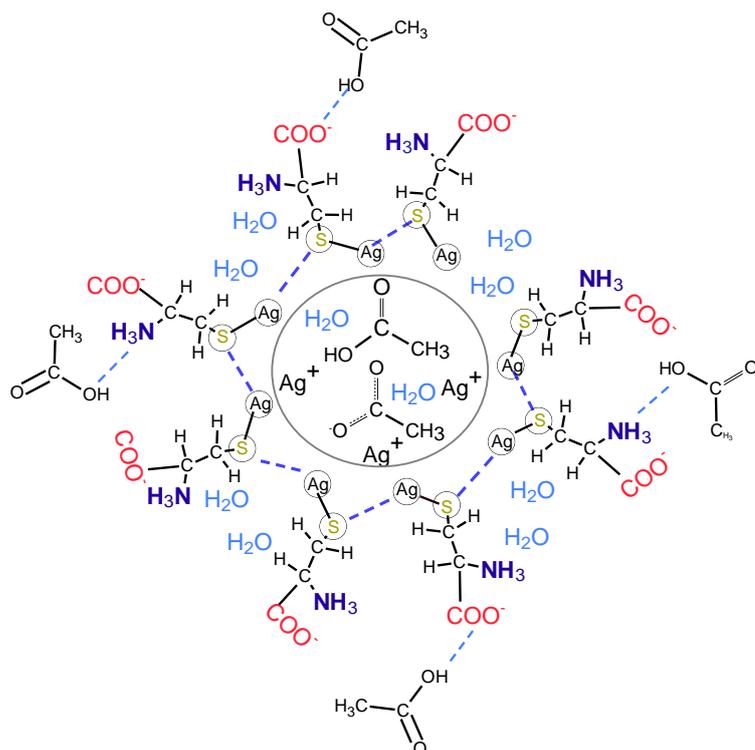


Рис. 5. ЯМР спектры раствора  $\text{CH}_3\text{COOAg}$  в  $\text{D}_2\text{O}$  (а), ЦСР/ $\text{D}_2\text{O}$  (б), гель с  $\text{NaCl}/\text{D}_2\text{O}$  (в), гель с  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (г)

Поскольку при переходе от ЦСР к гидрогелю сдвиг  $\text{CH}_3$ -группы не наблюдается, что может свидетельствовать о преимущественном образовании гель-сетки путем поверхностных взаимодействий кластеров (рис. 5 в,г).

Стоит отметить, что взаимодействует именно протонированная форма ацетат-иона в растворе, т.е. сама кислота, а не ацетат-анион (рис.б). Взаимодействие ацетат-аниона, по теории ЯМР, привело бы к сдвигу метильной группы в более сильное поле, однако наблюдается сдвиг в более слабое поле. Такой сдвиг говорит о возможности взаимодействия Н-протона протонированной формы ацетатной группы посредством образования водородной связи через этот протон и группировки кластера ЦСР ( $\text{NH}_3^+$ ,  $\text{COO}^-$ ,  $\text{COOH}$ ,  $\text{Ag}^+$ , S).

Полученные данные подтверждают полученные ранее результаты. Было установлено, что формируются супрамолекулярные цепочки типа  $(-\text{Ag-S(R)}-\text{Ag-S(R)}-)_n$  [8-10] и кластеры Ag-S. Исходя из этого предложено схематическое изображение образующихся кластеров МС в «созревшем» ЦСР (рис.б).



Р и с . 6. Схематическое изображение кластера МС в ЦСР

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

#### Список литературы

1. Пахомов П.М., Хижняк С.Д., Овчинников М.М., Комаров П.В. Супрамолекулярные гели. Тверь: Твер. гос. университет, 2011. 272 с.
2. Овчинников М.М., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Физико-химия полимеров – Тверь: ТвГУ, 2007. Вып. 13. С. 140–147.
3. Адамян А.Н., Аверкин Д.В., Хижняк С.Д., Овчинников М.М., Пахомов П.М. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2016. N2. С. 89.
4. Soper A. K., Benmore C. J. // Phys. Rev. Lett. 101, 2008, p. 313.
5. Pakhomov P.M., Ovchinnikov M.M., Khizhnyak S.D. etc. // Polymer Science. Ser. A. 2011. V.53. N9. P. 820.
6. Richard Chudoba, Jan Heyda and Joachim Dzubiella. // Physics.chem-ph. – 2017. № 13 (12). P. 6317–6327.
7. Khizhnyak S.D., Komarov P.V., Ovchinnikov M.M., Zherenkova L.V. and Pakhomov P.M. // Soft Matter. 2017. V.30. N13 .P. 5168–5184.
8. Овчинников М.М., Перезовова Т.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Физико-химия полимеров. Тверь: ТвГУ. 2014. Вып. 20. С. 106–113.

9. Andersson L.O. // J. Polym. Sci. Part. A1. 1972. N10. P. 1963.  
10. Randazzo R., Mauro A.D., Urso A.D., Messina G.C., Compagnini G. etc. // J. Phys. Chem. B. 2015. V.119. P. 4898.

## COMPARISON OF THE SELF-ORGANIZATION PROCESS IN L-CYSTEINE AND SILVER ACETATE SOLUTION BASED ON H<sub>2</sub>O AND D<sub>2</sub>O

A.N. Adamyan, D. V. Vishnevetsky, S.D. Khizhnyak, P.M. Pakhomov

Tver State University

This article is devoted to the preparation and study of supramolecular hydrogels based on low-concentrated solutions of L-cysteine and silver acetate in heavy water (D<sub>2</sub>O). The self-organization of L-cysteine and silver acetate in ordinary and heavy water was studied by UV spectroscopy, dynamic light scattering and NMR spectroscopy. It was found that the replacement of the solvent H<sub>2</sub>O to D<sub>2</sub>O also occurs maturation of the cysteine-silver solution, but there is an increase in the size of the resulting particles in the solution. Gelation in a solution of L-cysteine and silver acetate based on D<sub>2</sub>O is observed after the addition of sodium sulfate and chloride.

**Keywords:** *ordinary and deuterated water, L-cysteine, silver acetate, self-organization, supramolecular gel.*

### Об авторах:

АДАМЯН Анна Нориковна – аспирант химико-технологического факультета Тверского государственного университета, e-mail: [annadamyan1@rambler.ru](mailto:annadamyan1@rambler.ru)

ВИШНЕВЕЦКИЙ Дмитрий Викторович – кандидат химических наук, доцент кафедрф физической химии Тверского государственного университета, e-mail: [RICKASHET@YANDEX.RU](mailto:RICKASHET@YANDEX.RU)

ХИЖНЯК Светлана Дмитриевна – кандидат химических наук, заведующая лабораторией спектроскопии ЦКП Тверского государственного университета, e-mail: [sveta\\_khizhnyak@mail.ru](mailto:sveta_khizhnyak@mail.ru)

ПАХОМОВ Павел Михайлович – доктор химических наук, профессор, зав. кафедрой физической химии Тверского государственного университета, e-mail: [pavel.pakhomov@mail.ru](mailto:pavel.pakhomov@mail.ru)

Поступила в редакцию 23 апреля 2019 года.