

*На правах рукописи*

**Адамян Анна Нориковна**

**ПРОЦЕССЫ САМООРГАНИЗАЦИИ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ  
L-ЦИСТЕИНА С УЧАСТИЕМ СОЛЕЙ СЕРЕБРА, ВОДОРАСТВОРИМЫХ  
ПОЛИМЕРОВ И ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ОБЛУЧЕНИЯ**

Специальность 1.4.4. Физическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Тверь – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тверской государственный университет» на кафедре физической химии

**Научный руководитель** доктор химических наук, профессор,  
заслуженный работник высшей школы РФ,  
**Пахомов Павел Михайлович**

**Официальные  
оппоненты:** **Бронников Сергей Васильевич,**  
доктор физико-математических наук, профессор,  
ФГБУН Институт высокомолекулярных  
соединений Российской академии наук,  
заместитель директора по научной работе

**Долуда Валентин Юрьевич,**  
доктор химических наук, доцент,  
ФГБОУ ВО «Тверской государственный  
технический университет», профессор кафедры  
биотехнологии, химии и стандартизации

**Ведущая организация** федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки Ордена Трудового Красного  
Знамени Институт нефтехимического синтеза им.  
А.В. Топчиева Российской академии наук

Защита состоится 12 октября 2023 г. в 14-00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.411.02 при ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет» по адресу: 170002, г. Тверь, Садовый переулок, 35, ауд. 226.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет» по адресу: 170100, г. Тверь, ул. Трехсвятская, 16/31 и на сайте ТвГУ <http://dissertations.tversu.ru>.

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Е.В. Барабанова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Проблема создания высокоэффективных бактерицидных средств на сегодняшний день является чрезвычайно актуальной в связи со значительным ростом количества микробных (бактериальных, грибковых, вирусных и др.) инфекций. Кроме того, наблюдается тенденция проявления резистентности различных микроорганизмов к действию антибиотиков и дезинфицирующих средств, что заставляет искать новые материалы для эффективного заживления ран и ожогов.

Недавно на кафедре физической химии Тверского государственного университета был синтезирован супрамолекулярный гель (СМГ) на основе низко концентрированного водного раствора (0.01%) простейшей аминокислоты L-цистеина и нитрата серебра (цистеин-серебряный раствор – ЦСР), обладающий высокими бактерицидными и тиксотропными свойствами. Удивительным является то, как в результате простого смешивания двух водных растворов аминокислоты и соли серебра малое количество молекул, хаотично двигаясь относительно друг друга на больших расстояниях, может «находить» друг друга и формировать пространственную сетку геля. Выяснение механизма процессов самоорганизации в ЦСР, приводящего к образованию СМГ является актуальной проблемой, представляет научный интерес и практическое значение, принимая во внимание простоту синтеза, возможность модификации, экологичность и биосовместимость.

Хорошо известно, что УФ излучение часто используют для бактерицидной обработки различных материалов. В связи с этим представляет интерес выяснение вопроса о влиянии облучения на процессы самоорганизации, строение и свойства ЦСР и СМГ. Кроме того, бактерицидные материалы часто используются в виде прочных бинтов, тканей и пластырей. Поэтому важной задачей является исследование совместимости ЦСР или тиксотропного СМГ с водорастворимыми полимерами, процессов самоорганизации в указанной системе и возможности пленкообразования.

**Степень разработанности темы исследования.** Супрамолекулярные гели на основе L-цистеина и нитрата серебра исследовались ранее на кафедре физической химии Тверского государственного университета под руководством профессора Пахомова П.М. Так в диссертационных работах В.М. Спиридоновой «Супрамолекулярные гидрогели на основе L-цистеина и нитрата серебра: получение, структура и физико-химические свойства» и О.А. Барановой «Физико-химические аспекты самоорганизации супрамолекулярной системы на основе водного раствора L-цистеина и нитрата серебра» были установлены концентрационные и температурные диапазоны формирования ЦСР и СМГ, изучено их строение и свойства, установлена микробиологическая активность ЦСР и СМГ для ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий. Было установлено, что для получения СМГ на основе ЦСР смешивают водные растворы L-цистеина и нитрата серебра, обеспечивая при этом определенный избыток ионов серебра. Образующиеся гидрогели обладали тиксотропными свойствами, т.е. при легком встряхивании переходили в состояние раствора, а в состоянии покоя снова становились гелями. Однако не было известно, образуются ли СМГ с другими растворимыми солями серебра (например, ацетатом серебра), как влияет анион соли на процессы самоорганизации.

Ранее было обнаружено, что при длительном нахождении ЦСР и СМГ на свету они приобретали желтую окраску, однако механизм этого явления не был исследован. Наряду с созданием эффективных жидких бактерицидных материалов представляет

интерес получение бактерицидных пленок, волокон и тканей на основе ЦСР и СМГ. В связи с этим была сформулирована цель данной работы.

**Целью работы** являлось комплексное изучение процессов самоорганизации и гелеобразования в водных растворах L-цистеина и солей серебра, а также при добавлении в ЦСР водорастворимых полимеров и под воздействием облучения (дневной свет и УФ излучение).

Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Исследовать возможность синтеза СМГ на основе водных растворов L-цистеина и ацетата серебра. Сравнить процессы самоорганизации и гелеобразования в ЦСР с использованием ацетата и нитрата серебра. Провести комплексное исследование структуры и свойств ЦСР и СМГ с помощью различных физико-химических методов.
2. Изучить процессы самоорганизации и гелеобразования в ЦСР на основе дейтерированной воды.
3. Установить возможности получения растворов, гидрогелей и пленок на основе ЦСР и водных растворов полимеров (поливиниловый спирт – ПВС, карбоксиметилцеллюлоза – КМЦ и полигуанидин - ПГ).
4. Выяснить влияние облучения (дневной свет и УФ излучение) на процесс самоорганизации и гелеобразования в ЦСР с участием различных солей серебра (нитрат, ацетат и нитрит серебра).
5. Изучить бактерицидные свойства, а также биологическую активность ЦСР по отношению к клеткам карциномы молочной железы.

**Научная новизна** диссертационной работы заключается в том, что в ней впервые экспериментально получены СМГ на основе водного раствора L-цистеина и ацетата серебра (ЦСР), исследованы строение и свойства ЦСР и СМГ. В результате комплексных физико-химических исследований установлено, что избыток ионов серебра по отношению к L-цистеину для образования геля составляет 1.21-1.33. Показано, что при таком избытке серебра в растворе формируются супрамолекулярные цепи из молекул меркаптида серебра (МС). Молекула МС в растворе представляет цвиттер-ион. Процесс образования супрамолекулярных цепей («созревание» ЦСР) при комнатной температуре составляет от 3 до 6 часов. Введение в созревший ЦСР незначительного количества ( $\leq 0.01\%$ ) инициатора гелеобразования (соли металлов – сульфаты, хлориды, вольфраматы, молибдаты и др.) вело к, практически, мгновенному образованию пространственной сетки СМГ. Показано, что на строение и морфологию СМГ существенное влияние оказывает заряд катиона и аниона. Установлена возможность получения ЦСР и СМГ с использованием  $D_2O$ .

Исследовано влияние облучения (УФ излучение и дневной свет) на созревший ЦСР и СМГ. Показано, что под действием облучения происходит восстановление  $Ag(I)$  до  $Ag(0)$  и образование наночастиц серебра (НЧС), покрытых молекулами МС и олигомерами супрамолекулярных цепей. При этом ЦСР и СМГ окрашивались сначала в желтый, а затем коричневый цвет. СМГ постепенно разрушался.

Установлена хорошая смешиваемость водных растворов ЦСР с водными растворами ПВС, КМЦ и ПГ. Получены прочные пленки при содержании ПВС и КМЦ в смешанном растворе 1-2%. Из-за низкой молекулярной массы ПГ пленки получить не удалось.

Доказаны хорошие антибактериальные и цитостатические свойства новых ЦСР и СМГ. Обнаружено, что смешанный раствор на основе L-цистеина, ацетата серебра и ПГ

обладал воздействием на более широкий круг бактерий, так как ПГ дополнительно сам обладает антибактериальными свойствами.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Водные системы (ЦСР и СМГ) представляют собой удобные объекты для проведения всесторонних физико-химических исследований с целью выяснения механизмов, происходящих в них процессов самоорганизации и гелеобразования. Полученные результаты важны именно для понимания процессов самоорганизации и гелеобразования в наноструктурированных системах на основе низкомолекулярных соединений. С практической точки зрения выполненные исследования интересны в целях дальнейшего использования ЦСР, СМГ и пленок на их основе в биомедицинских целях. Выяснено, что ЦСР и СМГ обладают противомикробными свойствами, оказывают разрушительное действие на грамположительные и грамотрицательные бактерии, грибок. Также установлено, что СМГ обладают противоопухолевым свойством, в частности показали биологическую активность против клеток карциномы молочной железы. В связи вышеперечисленными свойствами полученные системы могут быть использованы в медицине, косметологии и фармацевтике. Высокая чувствительность ЦСР и СМГ к УФ излучению и дневному свету может найти применение в фотоэлектронике.

**Методология и методы исследования.** Методология работы основывается на комплексном использовании современных физико-химических методов исследования: оптическая, электронная и атомно-силовая микроскопия, электронография, энерго-дисперсионная рентгеновская спектроскопия (элементный анализ), ИК и УФ спектроскопия, спектроскопия ЯМР, динамическое и электрофоретическое светорассеяние, анализ траектории наночастиц, вискозиметрия, кондуктометрия, рН-метрия, антибактериальные и цитостатические испытания.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Главной структурной единицей созревшего ЦСР, полученного с использованием более безопасной для организма человека соли ацетата серебра и L-цистеина, является меркаптид серебра (в растворе цвиттер-ион). Механизм самоорганизации в ЦСР обусловлен способностью серебра замещать водород в тиольной группе L-цистеина с образованием МС. При определенном избытке ацетата серебра по отношению к L-цистеину из молекул МС за счет донорно-акцепторного взаимодействия образуются супрамолекулярные цепи (созревание раствора). Добавление в созревший ЦСР инициатора гелеобразования (соли различных металлов) приводит к связыванию супрамолекулярных цепей за счет водородных связей и солевых мостиков в пространственную сетку и быстрому образованию СМГ. ЦСР и СМГ имеют высокие антибактериальные и цитостатические свойства.

2. В растворе L-цистеина и ацетата серебра на основе дейтерированной воды также происходит процесс самоорганизации с образованием супрамолекулярных цепей, но из-за большей энергии водородного связывания в растворах с D<sub>2</sub>O образуются кластеры и агрегаты из супрамолекулярных цепей большего размера. В случае с обычной водой возможна локализация ацетатной заряженной группы в ядре супрамолекулярного кластера.

3. ЦСР хорошо совместим с водными растворами биосовместимого ПВС и биосовместимого, биоразлагаемого полисахарида (КМЦ). При концентрации полимера в растворе менее 0.1% возможно получение супрамолекулярного тиксотропного геля, а при концентрациях полимера более 0.5% образуются устойчивые физические гели макромолекулярной природы и появляется возможность получения пленочного материала. Иными словами, супрамолекулярная природа пространственной сетки геля

меняется макромолекулярной. Рассматриваемые смешанные водные растворы предполагается использовать для получения биоактивных пленочных материалов.

4. Под воздействием дневного света и УФ облучения в ЦСР и СМГ ионная форма серебра восстанавливается в металлическую и образуются НЧС. При этом НЧС имеют металлический сердечник и корону из молекул МС. Формирование НЧС в ЦСР и СМГ сопровождается окрашиванием системы сначала в желтый, а затем в коричневый цвет и разрушением супрамолекулярных цепей в созревшем растворе и геле.

5. Совместимость ЦСР с водным раствором бактерицидного олигомера ПГ и образование пространственной сетки гидрогеля уже без использования соли-инициатора путем связывания длинных молекул ПГ молекулами МС. Применение таких гидрогелей в медицине в качестве антибактериальных и противогрибковых средств расширяет круг поражаемых микробов.

**Публикации.** Основные результаты работы изложены в 15 публикациях, входящих в перечень ВАК, из них 7 работ в изданиях, индексируемых в базах данных WoS, Scopus. Материалы диссертации поддержаны двумя патентами РФ. Полученные в диссертации результаты докладывались автором на 32 всероссийских и международных конференциях по профилю выполнявшихся исследований.

**Личный вклад автора.** Все основные результаты диссертации получены автором самостоятельно. Результаты исследований обсуждались с научным руководителем. Автор впервые самостоятельно синтезировал и изучил условия получения ЦСР и СМГ на основе L-цистеина и ацетата серебра, исследовал строение физические и химические свойства СМГ. Получение композиционных растворов, гидрогелей и пленок с использованием ЦСР и водорастворимых полимеров также осуществлялось диссертантом самостоятельно. Результаты, полученные с использованием методов электронной микроскопии, антибактериальные и цитостатические исследования осуществлялись совместно с соавторами опубликованных статей.

**Достоверность и обоснованность результатов** обеспечена анализом литературных данных, последовательностью постановки исследовательских задач, комплексным использованием современных физико-химических методов регистрации и обработки экспериментальных данных, согласованностью полученных результатов с исследованиями других авторов.

#### **Апробация результатов работы**

Исследования по теме диссертационной работы выполнялись при поддержке РФФИ (проекты №20-33-90096 «Синтез супрамолекулярных гидрогелей на основе L-цистеина, ацетата серебра и водорастворимых полимеров, проявляющих антибактериальную и цитостатическую активность» и №18-33-00146 «Серосодержащие аминокислоты как прототипы новых низкомолекулярных загустителей»). Работа над диссертационной работой была поддержана также стипендией Президента РФ (2021). Адамян А.Н. - лауреат выставки «Истории о выдающихся изобретательницах: Тверские женщины – изобретатели» (Тверь, 2020) и победитель специализированного конкурса на XVII специализированной выставке «Изобретатель-рационализатор 2022» (Тверь, 2020).

Основные результаты диссертационной работы представлялись и докладывались на: XXV, XXVII и XXX Российской молодежной научной конференции «Проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Екатеринбург, 2015, 2017, 2020); XXIII – XXVIII Каргинских чтениях (Тверь, 2016 – 2022); VIII Международном симпозиуме «Design and synthesis of supramolecular architectures» (Казань, 2016); VII Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы естественнонаучной подготовки педагогов» (Астрахань, 2016);

XVIII Симпозиуме по межмолекулярному взаимодействию и конформациям молекул (Ярославль, 2016), Международном симпозиуме «Molecular mobility and order in polymer systems» (Санкт-Петербург, 2017); V Научной конференции Армянского химического общества «Актуальные задачи фундаментальной и прикладной химии» с международным участием (Ереван, 2017), VII Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры – 2017» (Москва, 2017); IX Научной конференции молодых ученых «Инновации в химии: достижения и перспективы» (Москва, 2018); 8-й Международная научная конференции «Химическая термодинамика и кинетика» (Тверь, 2018.); Международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2019, 2020, 2021); Восьмой Каргинской конференции. Полимеры в стратегии научно-технического развития РФ «Полимеры — 2020» (Москва, 2020); XIX международная конференция по химии и физикохимии олигомеров «Олигомеры-2022» (Суздаль, 2022). Международная научно-практическая конференция «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения». Нальчик, 3-8.07.2023.

**Структура и объём диссертации.** Диссертация состоит из введения, четырех глав, основных результатов и выводов, списка литературы (включающего 144 наименования), а также списка опубликованных по теме диссертации работ. Диссертация содержит 150 страниц, включая 15 таблиц и 84 рисунка.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи работы, указаны основные положения, выносимые на защиту, обозначены научная новизна, практическая и теоретическая значимость полученных результатов.

**Первая глава** «Супрамолекулярные гидрогели» содержит обзор литературы в области супрамолекулярной химии, дается классификация гелей, описаны известные и распространенные гели в природе. Особое внимание уделяется физическим супрамолекулярным гелям, пространственная сетка которых построена за счет слабых нековалентных взаимодействий между простейшими низкомолекулярными соединениями, в первую очередь аминокислотами. Обсуждаются процессы самоорганизации в водном растворе L-цистеина и нитрата серебра (цистеин-серебряный раствор – ЦСР), приводящие к образованию супрамолекулярного геля (СМГ). Характерной особенностью недавно открытого СМГ являлась низкая концентрация растворенного в воде вещества (~ 0.01%), явление тиксотропии и высокие антибактериальные свойства. Рассмотрены физико-химические методы исследования строения и свойств СМГ и возможные области их использования.

**Во второй главе** «Объекты и методы исследования» представлены химические реактивы и полимеры, используемые в работе, методики получения ЦСР и СМГ на основе водных растворов L-цистеина и солей серебра (ацетата, нитрата и нитрита серебра) и подготовки их к исследованиям. В настоящей работе впервые были синтезированы СМГ с использованием L-цистеина и ацетата серебра. Рассмотрены методики проведения антибактериальных испытаний и облучения растворов и гелей в видимом и УФ диапазонах электромагнитного излучения. Описан комплекс физико-химических методов исследования, применяемых при изучении строения и свойств СМГ, образующихся в процессе самоорганизации: Фурье-ИК и УФ спектроскопия, просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия (ПЭМ и СЭМ), электронография, спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), динамическое светорассеяние (ДСР) и измерение дзета-потенциала, кондуктометрия, элементный анализ, вискозиметрия, рН-метрия и др.

В третьей главе «Процессы самоорганизации в водном растворе L-цистеина и ацетата серебра» рассмотрен синтез нового ЦСР и гидрогеля на его основе, а также описаны процессы самоорганизации, происходящие при образовании СМГ и влияние растворителя на процессы самоорганизации в растворе.

### 3.1. Способ синтеза супрамолекулярного гидрогеля на основе водного раствора L-цистеина и ацетата серебра.

Описаны способы получения нового гидрогеля. Инициатором гелеобразования служили соли металлов (сульфаты, хлориды, вольфраматы металлов и др.). Концентрация солей в образцах была незначительна и варьировалась в пределах от 0.2 до 1.0 мМ. Выбирались соли с различным зарядом катиона из соображения хорошей растворимости и биосовместимости. Рис. 1 демонстрирует фотографии ЦСР и СМГ. Свежеприготовленный ЦСР (рис. 1.1) был мутным (опалесцирующим) со слегка желтоватым оттенком. После нахождения при комнатной температуре в состоянии покоя в течение 6 часов (стадия созревания) раствор становился прозрачным (рис. 1.2). На стадии гелеобразования при добавлении соли металла (рис. 1.3) образовывался гель, однако гель при длительном стоянии разрушался с образованием осадка (рис.1.4).



**Рис.1.** Фотографии свежеприготовленного ЦСР (1), «созревшего» ЦСР (2), геля с NaCl (3), осадка геля с NaCl через 30 дней стояния (4).  $C_{\text{Cys}}=3.0$  мМ,  $C_{\text{Ag}^+}=3.75$  мМ,  $C_{\text{NaCl}}=0.95$  мМ.

При использовании сульфатов металлов в качестве инициатора гелеобразования гели были устойчивы во времени и не разрушались. Выяснилось, что разные электролиты (соли металлов) образуют при их одинаковой концентрации разные по прочности гели, что связано с величиной заряда на катионах и анионах солей металлов.

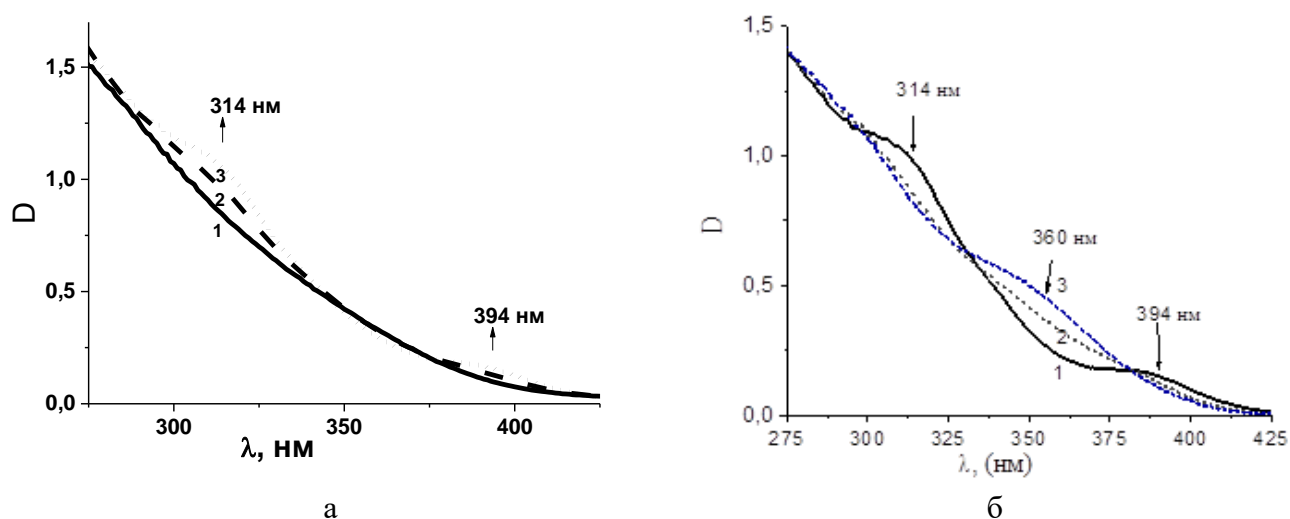
### 3.2. Процессы самоорганизации и гелеобразования в цистеин-серебряном растворе с различными солями-инициаторами гелеобразования

Установлено, что процессы самоорганизации и гелеобразования в низкоконцентрированном водном растворе L-цистеина и ацетата серебра начинаются с быстрого формирования молекул МС (цвиттер-ион в растворе) при смешивании двух исходных растворов и далее протекают в две стадии: первая стадия – это стадия созревания ЦСР, вторая стадия – это стадия образования гидрогеля путем добавления в ЦСР инициатора гелеобразования. Методом УФ спектроскопии исследовали процессы самоорганизации в ЦСР: кинетику формирования супрамолекулярных цепей и кинетику гелеобразования при добавлении соли-инициатора (рис. 2). Так, согласно данным, представленным на рис. 2а (спектр 1) полосы поглощения отсутствуют. Однако, спустя некоторое время (спектры 2 и 3), появляются две полосы поглощения с максимумами ~314 и 394 нм, интенсивность которых с течением времени возрастает. Происхождение этих полос, как и в случае системы на основе L-цистеина и нитрата серебра, связано с формированием супрамолекулярных цепочек  $(\dots\text{Ag-S}(\text{Cys})\dots\text{Ag-S}(\text{Cys})\dots)_n$ . Они образованы за счет нековалентного взаимодействия между молекулами МС серебра. Избыточные ионы серебра в растворе создают дополнительные точки роста цепей и структурируют систему. Полосы поглощения с максимумами ~ 314 и 394 нм связаны с переносом заряда от донорных атомов серы к акцепторным атомам серебра, тем самым с формированием супрамолекулярных цепочек из молекул МС.

Метод УФ спектроскопии подтверждает существенные отличия гелей с сульфатами и хлоридами металлов. Процесс самоорганизации в этих гелях также отличается. В УФ спектрах геля с  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  с течением времени стояния обе полосы



поглощения сохраняются, а в геле с NaCl (рис. 2б) со временем исчезают обе полосы поглощения с максимумами 314 нм и 394 нм и появляется новая полоса поглощения с максимумом 360 нм, которая связана с распадом супрамолекулярных цепочек и образованием из фрагментов супрамолекулярных цепей комплексов с хлор-анионом. Аналогичные зависимости и УФ спектры поглощения были получены для гелей с хлоридами других металлов ( $Mg^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ).

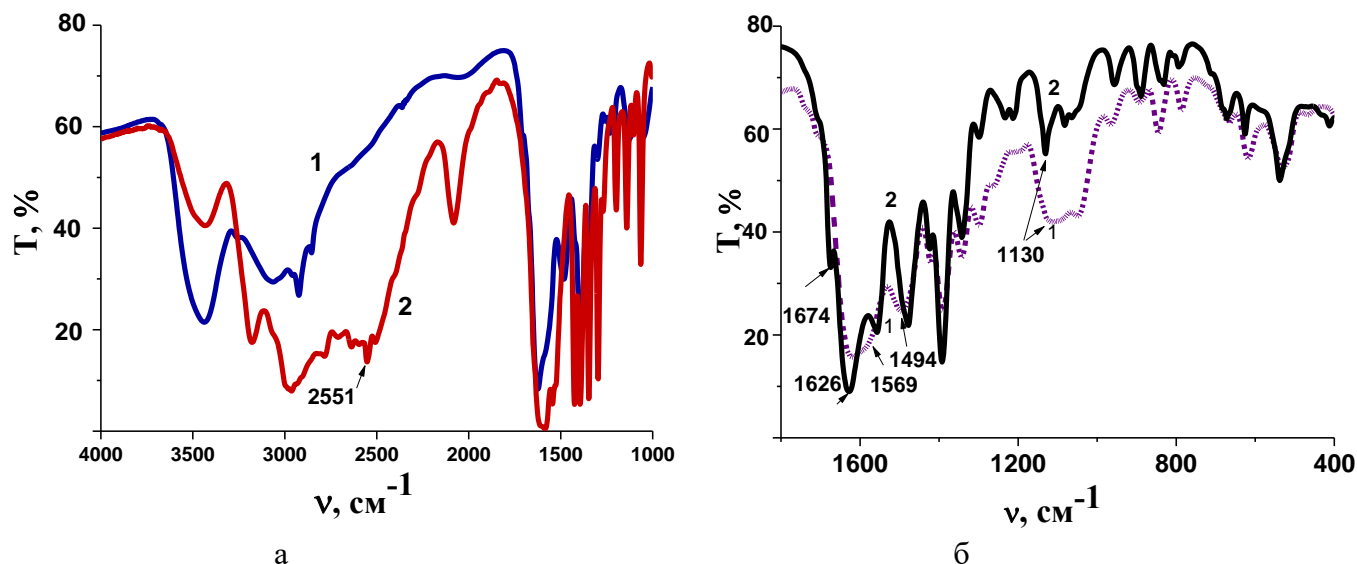


**Рис. 2.** Изменение УФ спектра ЦСР (а) и геля с NaCl (б) в зависимости от времени стояния раствора в покое при  $T=22^{\circ}C$ : 1 – свежеприготовленный раствор, 2 – через 1.5 час, 3 – через 4 час; 1 – свежеприготовленный гель, 2 – через 80 мин, 3 – через 6 час после приготовления.  $C_{Cys}=3.0$  мМ,  $C_{Ag^{+}}=3.75$  мМ,  $C_{NaCl}=0.95$  мМ.

По данным УФ спектроскопии можно легко определить время образования геля. Так, процесс гелеобразования в ЦСР с хлоридом алюминия завершился за 70 мин, а с хлоридом натрия за 300 мин. Оказалось, что заряд катиона в водном растворе также оказывает существенное влияние на процесс гелеобразования: чем выше заряд катиона в соли, тем быстрее происходит образование геля. Например, гелеобразование с хлоридом алюминия происходило быстрее, чем с хлоридом магния или натрия, при этом и концентрация самой добавленной соли может быть меньше. Действительно, для того чтобы получить одинаковые по прочности гели с NaCl,  $MgCl_2$ ,  $AlCl_3$ , требуется неодинаковое количество электролита: при добавлении 0.0125 мл  $AlCl_3$ , 0.01875 мл  $MgCl_2$  и 0.0375 мл NaCl получались одинаковые по прочности гели. В связи с этим, можно сделать вывод, что на процесс гелеобразования существенное влияние оказывает заряд катиона металла.

Было отмечено, что ЦСР на основе L-цистеина и ацетата серебра термодинамически устойчив к многократной заморозке при температуре  $-196^{\circ}C$  и последующей разморозке до комнатной температуры, при этом ЦСР не терял свои гелеобразующие свойства. В случае криохимической обработки удаление воды из гелей происходило без разрушения пространственной сетки геля. Вымораживание геля в жидком азоте  $T = -196^{\circ}C$  давало эффект «шоковой» заморозки. Известно, что «шоковая» заморозка является самым эффективным способом сохранения физических, вкусовых и биологических свойств, например, у продуктов питания или химических веществ.

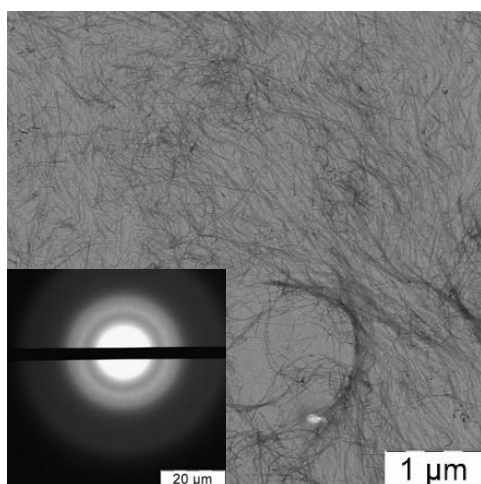
ИК спектральные исследования образцов ЦСР (рис.3а) и гелей (рис.3б) показали, что взаимодействие L-цистеина и ацетата серебра ( $CH_3COOAg$ ) происходит по тиольной группе, аналогично, как и в системе с нитратом серебра. Об этом свидетельствует отсутствие в ИК спектрах ЦСР и гелей с хлоридом и сульфатом алюминия полосы поглощения валентных колебаний SH-группы с максимумом  $\sim 2551$   $cm^{-1}$ .



**Рис. 3.** а) ИК спектры пропускания высушенного образца ЦСР (1) и L-цистеина (2). б) ИК спектры пропускания высушенных образцов гелей на основе L-цистеина и ацетата серебра с добавлением  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  (1) и  $\text{AlCl}_3$  (2),  $C_{\text{Ag}^+} = 3.75$  мМ,  $C_{\text{cys}} = 3.0$  мМ,  $C_{\text{соль}} = 0.95$  мМ.

Положение карбоксильной группы в образцах гелей предполагает ее участие в межмолекулярном взаимодействии за счет водородного связывания. Разная форма полос в спектрах гелей с сульфат- и хлорид-анионом говорит о различной степени вовлеченности этих групп в межмолекулярное связывание. Сульфат-анион в спектре геля проявляется в диапазоне  $\sim 1117\text{-}1050$   $\text{cm}^{-1}$ , подтверждая нековалентный характер взаимодействия с супрамолекулярной полимерной цепочкой. Для гелей с хлоридами характерно расщепление полосы в диапазоне значений  $1550\text{-}1570$   $\text{cm}^{-1}$ . У гелей с сульфатами в этом диапазоне присутствует одна широкая полоса. Более очевидное расщепление полосы для гелей с хлоридами наблюдается в диапазоне  $1040\text{-}1130$   $\text{cm}^{-1}$ , при этом у гелей с сульфатами происходит наложение полос.

Убедительным доказательством наличия пространственной сетки в СМГ являются



**Рис. 4.** Микроснимок СМГ, полученный методом просвечивающей электронной микроскопии. Врезка – электронограмма СМГ.  $C_{\text{Ag}^+} = 3.75$  мМ,  $C_{\text{cys}} = 3.0$  мМ,  $C_{\text{соль}} = 0.95$  мМ

данные просвечивающей электронной микроскопии (рис. 4). Врезка на микроснимке характеризует электронограмму СМГ. Наличие диффузного рассеяния (размытое кольцо) и отсутствие рефлексов свидетельствует о том, что серебро в СМГ присутствует преимущественно в ионной, а не в металлической форме. Таким образом, введение соли-инициатора в ЦСР приводит к образованию пространственной сетки геля.

Важным является вопрос практического применения ЦСР в медицинских целях. В связи с этим было исследовано влияние ЦСР (0.3 мМ) на жизнеспособность клеток карциномы молочной железы линии MCF-7 при 48 ч инкубации (табл.1). Очевидно, что даже при разбавлении ЦСР в 500 раз раствор оказывает пагубное влияние на раковые клетки.

Таблица 1.

Жизнеспособность карциномы молочной железы в зависимости от разбавления ЦСР

Прекурсор	Жизнеспособность клеток MCF-7, % от контроля (n=6)					
	1:10	1:20	1:50	1:100	1:200	1:500
ЦСР ( $C_{Ag^+} = 3.75$ мМ, $C_{Cys} = 3.0$ мМ)	9.88	7.36	11.73	45.35	83.72	97.77

### 3.3. Процессы самоорганизации в цистеин-серебряном дейтерированном растворе

На процесс гелеобразования оказывает влияние, как химическая природа аминокислоты, так и соли серебра. При этом возникает вопрос: а какова роль самой воды в процессе структурирования конечного гидрогеля? Возникают ли водородные связи непосредственно между группировками в цепях ЦСР или же на водородное связывание существенное влияние оказывает вода?

Для выяснения роли воды и водородных связей в процессе гелеобразования было решено приготовить серии образцов, в которых растворителем являлась не  $H_2O$ , а  $D_2O$ . Было предположено, что замена обычной воды на тяжёловодородную воду также будет способствовать гелеобразованию. В результате были получены ЦСР на основе L-цистеина,  $CH_3COOAg$  и  $D_2O$ , а также гелей с  $Na_2SO_4$  и  $NaCl$ . Полученные образцы внешне не отличаются от ЦСР и гелей на основе обычной воды, однако их свойства и сам процесс самоорганизации различаются. Образцы цистеин-серебряного раствора (ЦСР) и гидрогелей на его основе были исследованы с помощью таких физико-химических методов, как УФ, ИК и ЯМР спектроскопия, метод динамического светорассеяния (ДСР), рН-метрия.

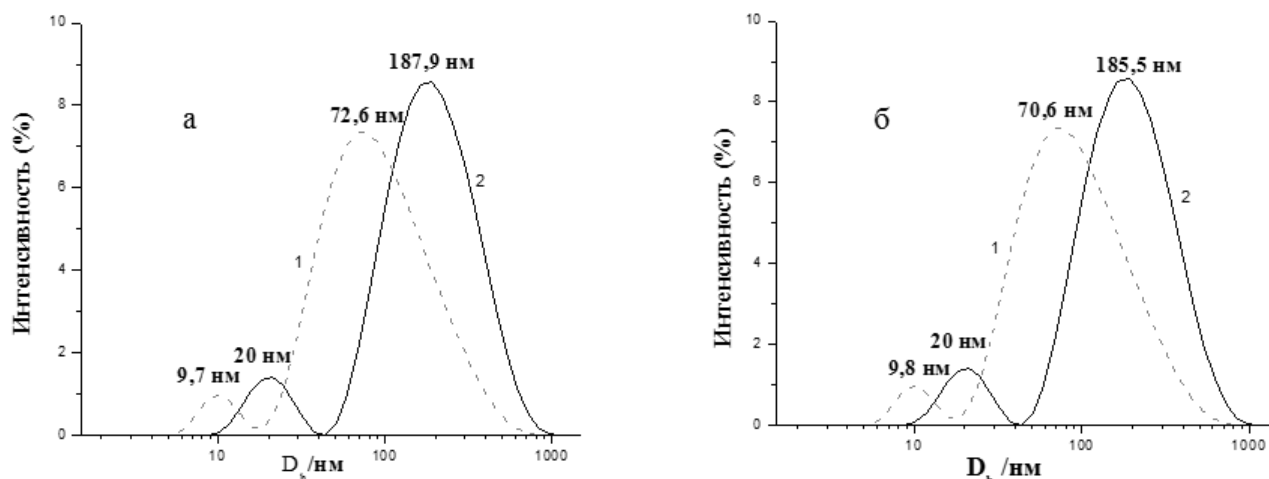
Как и в случае ЦСР на основе обычной воды, при смешении исходных компонентов, растворенных в тяжелой воде, также сначала образуется мутный коллоидный раствор, являющийся продуктом взаимодействия катиона серебра и тиольной группы цистеина (меркаптид серебра), однако через 3-6 часов раствор становится прозрачным с желтоватым оттенком, что может свидетельствовать об образовании цепочечных структур из молекул меркаптида серебра. На это также указывает наличие в УФ спектрах ЦСР на основе  $D_2O$  двух полос поглощения  $\sim 314$  нм и  $\sim 387$  нм, по аналогии с данными, полученным ранее для ЦСР на основе  $H_2O$ . Данные УФ спектроскопии, полученные для системы с использованием  $D_2O$  не имеют принципиальной разницы по сравнению с системами с  $H_2O$ . Однако УФ спектры этих образцов при одинаковой концентрации L-цистеина (3 мМ) имеют различия: полосы поглощения в системе ЦСР/ $D_2O$  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.

Добавление электролитов ( $NaCl$  и  $Na_2SO_4$ ) в раствор ЦСР/ $D_2O$  вызывает процесс гелеобразования в растворе по аналогии с ЦСР/ $H_2O$ .

По данным метода ДСР свежеприготовленный ЦСР/ $H_2O$  и ЦСР/ $D_2O$  имели полимодальное распределение частиц, имеющих разные размеры. Однако при разбавлении системы в 4 и 8 раз уже имело место бимодальное распределение частиц, которые могут быть интерпретированы как фрагменты пространственной сетки, размеры которых меняются во времени (рис. 5а).

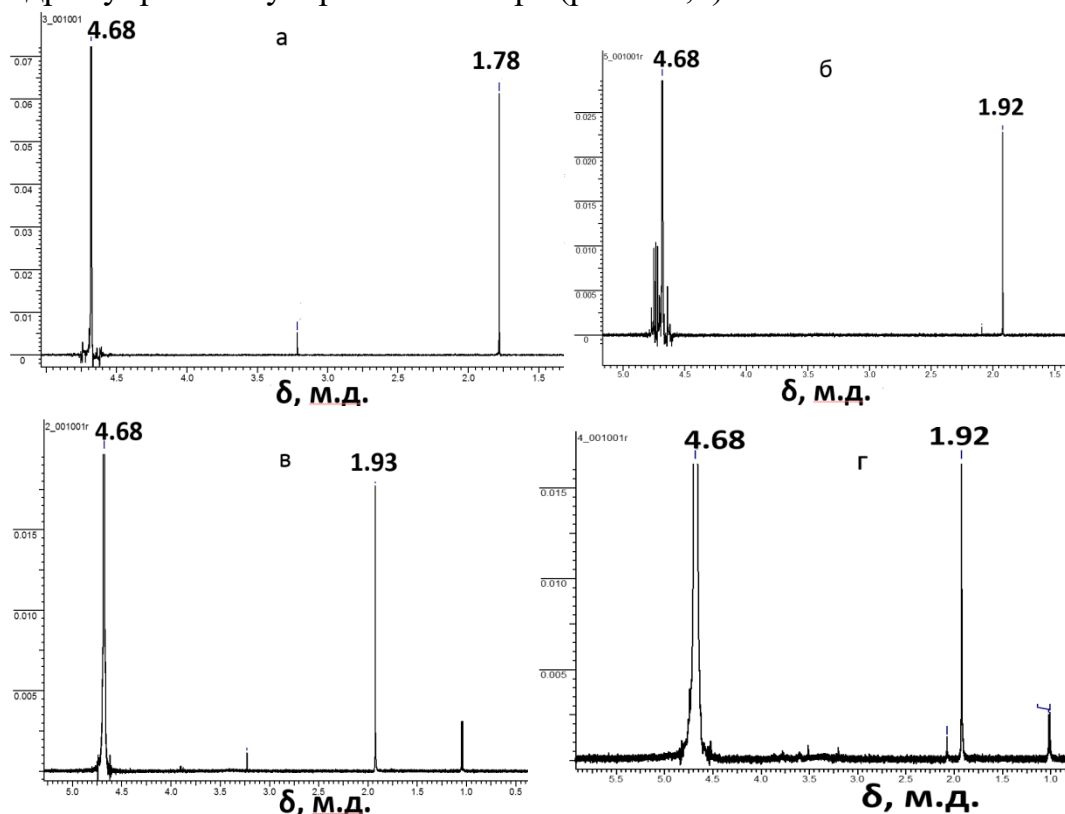
В ЦСР с  $D_2O$  диаметр частиц двух типов (зародышевых кластеров и агрегатов) заметно превосходит размеры этих же типов частиц в ЦСР с  $H_2O$ , что, по-видимому, связано с более высокой энергией водородного связывания в растворах на основе  $D_2O$ .

Можно также заметить, что разбавление системы не приводит к разрушению кластеров на мелкие фрагменты, размер частиц с разбавлением изменяется не существенно (рис. 5б).



**Рис. 5.** 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 СН<sub>3</sub>-группы (0.14 м. д.) в область более слабого поля (1.92 м. д.), что свидетельствует об образовании супрамолекулярных цепей, а также о возможной локализации ацетатной заряженной группы в ядре супрамолекулярного кластера (рис. 6 а,б).



**Рис. 6.** ЯМР спектры раствора CH<sub>3</sub>COOAg в D<sub>2</sub>O (а), ЦСР/D<sub>2</sub>O (б), гель с NaCl/D<sub>2</sub>O (в), гель с Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (г).

Поскольку при переходе от ЦСР к гидрогелю сдвиг  $\text{SN}_3$ -группы не наблюдается, что может свидетельствовать о преимущественном образовании геле-сетки путем поверхностных взаимодействий кластеров (рис. 6 в,г). Стоит отметить, что взаимодействует именно протонированная форма ацетат-аниона в растворе, т.е. сама кислота, а не ацетат-анион. 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).

В четвертой главе «Исследование влияния дневного света, УФ облучения и водорастворимых полимеров на строение и физико-химические свойства ЦСР и СМГ» описано влияние ПВС, ПГ и КМЦ, а также дневного света и УФ облучения на морфологию и свойства ЦСР и СМГ.

#### 4.1. Влияние дневного света на характер самоорганизации и строение ЦСР и СМГ

На процесс самоорганизации в ЦСР влияют многие факторы: соотношение концентраций исходных компонентов, рН среды, температура, облучение и др. Было отмечено, что при нахождении ЦСР и гидрогелей на свету они изменяют свою окраску от практически бесцветной до желтой и даже коричневой. Влияние дневного света на окраску образцов ЦСР демонстрирует рис. 7. Видно, что с ростом длительности освещения раствор изменяет окраску от бледно-желтой до темно-коричневой, что

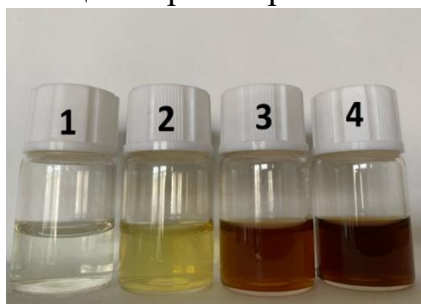


Рис. 7. Фотографии образцов ЦСР: до освещения (1), подвергнутых освещению в течение 1 (2), 2 (3) и 3 дней (4).

свидетельствует о восстановлении на свету металлического серебра и об образовании наночастиц серебра (НЧС). Подобным образом под действием света изменяли цвет и гели. Анализ электронных спектров растворов и гелей показывает, что в них наблюдаются существенные изменения под действием освещения (рис. 8). В созревшем ЦСР до освещения наблюдаются две полосы поглощения с максимумами 314 и 394 нм (рис. 8а, спектр 1), отвечающие супрамолекулярным цепочкам из молекул МС.

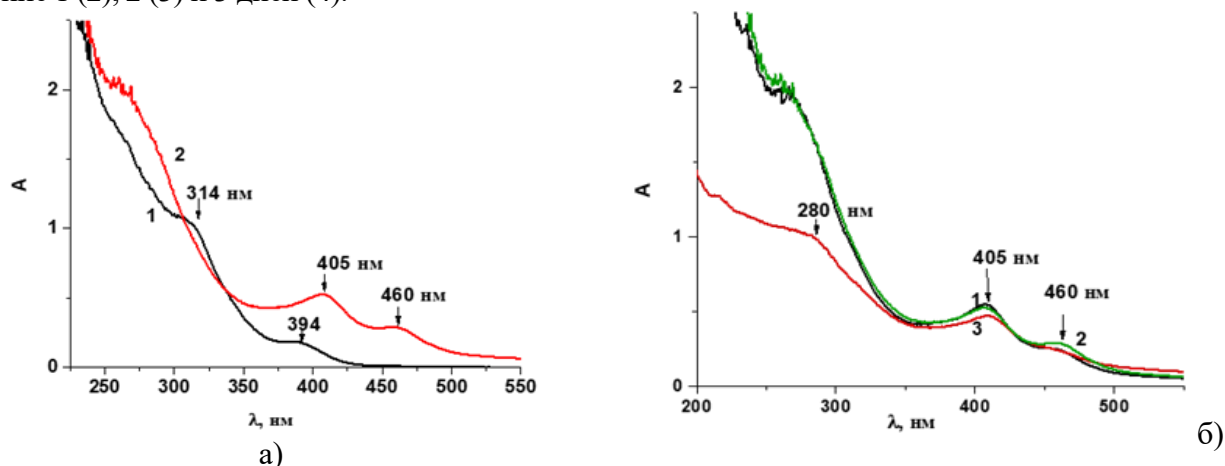
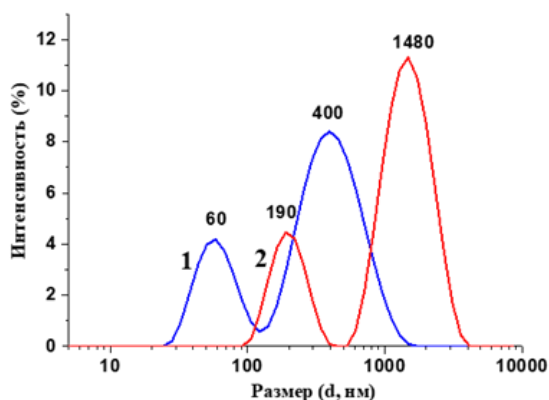


Рис. 8. а) Электронные спектры ЦСР до (1) и после 3-дневного воздействия светом (2); б) ЦСР (1) и гидрогели с  $\text{NaCl}$  (2) и  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (3), подвергнутые освещению в течение 3 дней ( $C_{\text{CH}_3\text{COOH}} = 3,75$  мМ,  $C_{\text{L-цистеин}} = 3,0$  мМ,  $C_{\text{NaCl}} = C_{\text{Na}_2\text{SO}_4} = 0,95$  мМ).

При освещении ЦСР в течение 3 дней (рис. 8а, спектр 2) в спектре появляются новые полосы при 405 и 460 нм. Эти полосы обусловлены плазмонным резонансом электронов на поверхности образующихся НЧС различного размера. Появление полосы

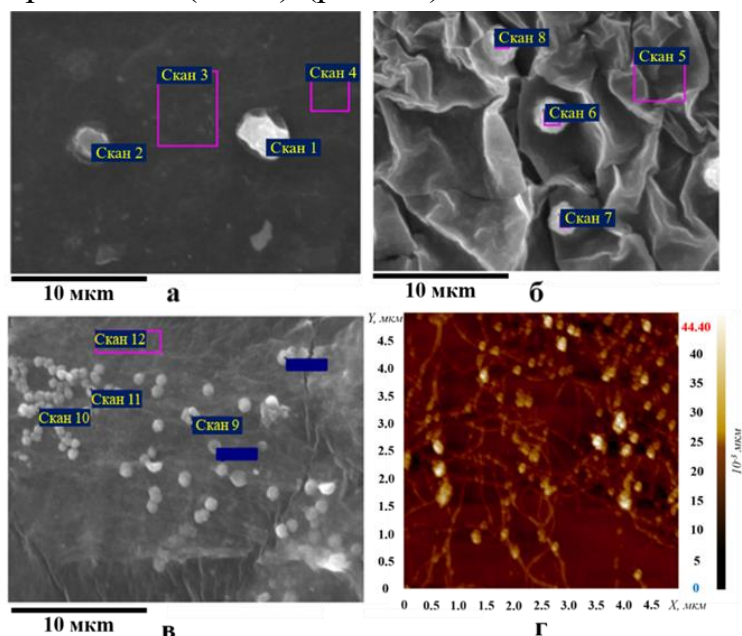
поглощения при 280 нм, скорее всего, отвечает деструктурированным супрамолекулярным цепочкам из МС. Следует отметить, что более длительное освещение раствора не приводило к изменениям в спектре. Добавление в подвергнутый освещению ЦСР соли-инициатора (хлорида и сульфата натрия) вызывало процесс гелеобразования, но практически не изменяло электронный спектр (рис. 8б). При этом НЧС, образовавшиеся в ЦСР, встраивались в пространственную сетку геля так, что это не приводило к изменению электронного спектра.



**Рис. 9.** Распределения рассеивающих частиц по размерам в ЦСР после 3-дневной выдержки в темноте (1) и на свету (2), полученные методом ДСР.

действием света и перехода ионной формы серебра в металлическую форму.

Образование крупных рассеивающих частиц (1 – 400 и 2 – 1480 нм на рис. 9), наблюдаемых методом ДСР, подтверждают микроснимки, полученные с помощью методов сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и атомно-силовой микроскопии (АСМ) (рис. 10). Метод СЭМ демонстрирует различия в строении ЦСР



**Рис. 10.** Микроснимки ЦСР (а), гидрогеля с NaCl (б) и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (в) подвергнутых освещению в течение 3 дней, полученные методом СЭМ и микроснимок гидрогеля на основе Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (г), освещаемого в течение 3 дней, полученный методом АСМ ( $C_{\text{H3COOH}} = 3,75 \text{ мМ}$ ,  $C_{\text{L-цистеин}} = 3,0 \text{ мМ}$ ,  $C_{\text{NaCl}} = C_{\text{Na2SO4}} = 0,95 \text{ мМ}$ ).

Размер кластеров и НЧС в ЦСР, созревшем в темноте и при дневном свете, характеризовали методом ДСР (рис. 9). В спектре ДСР для ЦСР, созревшем в темноте (спектр 1), можно выделить два сорта рассеивающих частиц со средним размером 60 и 400 нм, для ЦСР, подвергнутого освещению (спектр 2), два сорта частиц со средними размерами 190 и 1480 нм. Для ЦСР, созревшего в темноте, рассеивающими частицами, скорее всего, являются кластеры из супрамолекулярных цепочек МС, а во втором случае – НЧС, образовавшиеся за счет разрушения супрамолекулярных цепочек под

действием света и перехода ионной формы серебра в металлическую форму. (рис. 10а) и гидрогелей с NaCl (рис. 10б) и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (рис. 10в). Оказалось, что в образце ЦСР+Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> даже после вакуумной сушки сохраняются фрагменты пространственной сетки, тогда как для гидрогеля с NaCl пространственная сетка не наблюдается, а НЧС в обоих случаях слипаются друг с другом, образуя микрочастицы. Отсутствие пространственной сетки, по-видимому, обусловлено разрушением супрамолекулярных цепочек за счет образования комплексов с хлорид-ионом.

Микроснимки образцов ЦСР (рис. 10а) и гидрогелей (рис. 10б-г), подвергнутых освещению и полученных методом СЭМ, указывают на наличие в них рассеивающих частиц большого

размера (1–2 мкм). Также следует отметить, что крупные микрочастицы состоят из более мелких сферических частиц.

Элементный анализ для образцов на рис. 10 четко указывает на количественные отличия разных зон сканирования микроснимка (табл. 2). Скан 1, который захватывает НЧС в ЦСП (рис. 10а), показывает наибольшее содержание серебра, по сравнению со сканом 4, где нет НЧС. Скан 5 для гидрогеля на основе NaCl – скан зоны, не содержащей НЧС (рис. 10б), демонстрирует наименьшее содержание серебра, а скан 6 для НЧС, наоборот показывает наивысшее содержание серебра. Элементный анализ гидрогеля на основе Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (рис. 10в) показывает аналогичные результаты.

Таблица 2.

Результаты элементного анализа образцов ЦСП и гидрогелей с NaCl и Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, подвергнутых освещению в течение 3 дней

Скан	C	N	O	Na	Cl	S	Ag	Итого
ЦСП								
Скан 1	55.87	13.62	24.80			1.43	<b>4.27</b>	100.00
Скан 2	61.04	12.41	22.21			1.10	<b>2.99</b>	100.00
Скан 3	78.32	5.35	13.50			0.54	<b>2.28</b>	100.00
Скан 4	83.08	2.01	13.33			0.40	<b>1.19</b>	100.00
ЦСП+NaCl								
Скан 5	80.70	4.51	10.16	0.11	0.06	0.72	<b>3.69</b>	100.00
Скан 6	34.59	11.77	5.33	0.93	2.94	6.52	<b>37.91</b>	100.00
Скан 7	38.53	6.94	6.43	1.39	3.07	6.77	<b>36.87</b>	100.00
Скан 8	39.29	8.16	7.46	0.76	2.98	6.88	<b>34.47</b>	100.00
ЦСП+Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>								
Скан 9	61.02	6.52	17.52	1.11		2.77	<b>10.50</b>	100.00
Скан 10	67.39	6.77	14.23	0.71		2.37	<b>7.97</b>	100.00
Скан 11	61.54	9.83	15.21	1.29		2.80	<b>8.81</b>	100.00
Скан 12	75.50	5.29	15.91	0.48		0.80	<b>2.02</b>	100.00

Так для сканов 9-11, захватывающих НЧС, наблюдается содержание серебра в 4-5 раз больше, чем для скана 12 в отсутствие НЧС. Кроме того, анализ данных табл. 2 показывает, что НЧС помимо серебра содержат и другие атомы, входящие в молекулу МС, например, сканы 6 и 7 на рис. 10б. А это означает, что мелкие металлические НЧС покрыты «коронной» из молекул L-цистеина.

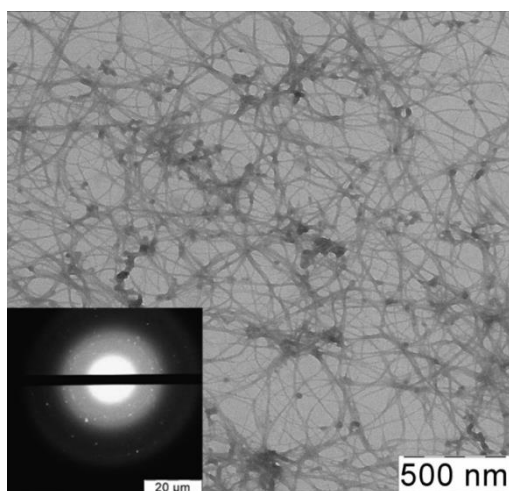


Рис. 11. ПЭМ изображение и электронограмма геля с сульфатом натрия ( $C_{\text{CH}_3\text{COOH}} = 3,75$  мМ,  $C_{\text{L-цистеин}} = 3,0$  мМ,  $C_{\text{NaCl}} = C_{\text{Na}_2\text{SO}_4} = 0,95$  мМ).

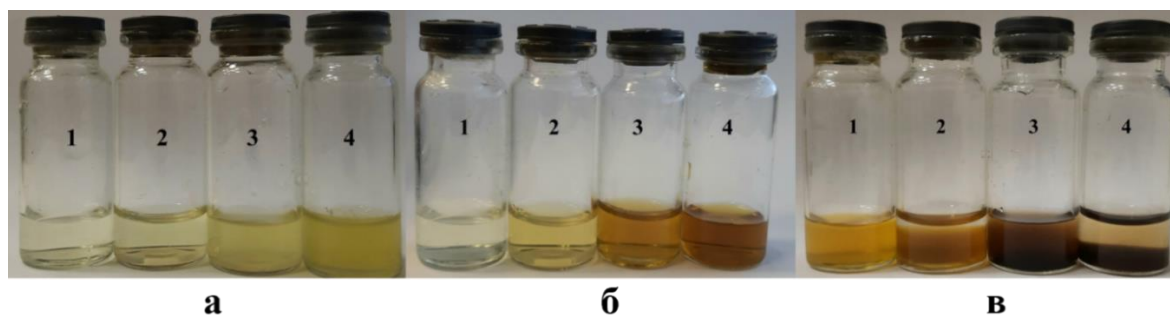
Данные, полученные методом ПЭМ, подтверждают наличие в образцах геля НЧС. На электронно-микроскопическом изображении геля с Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (рис.11) наблюдаются цепочки, которые образуют пространственную сетку гидрогеля, также видны НЧС, образованные на цепочках. Анализ электронограммы геля показал, что на ней наблюдалась система дифракционных колец и рефлексы, которые свидетельствуют о формировании НЧС.

Таким образом, установлено, что под действием освещения процесс самоорганизации в ЦСП происходит с образованием НЧС, покрытых молекулами МС и обрывками из супрамолекулярных цепочек. При этом наблюдается образование НЧС разного размера,

покрытых молекулами МС за счет разрушенных супрамолекулярных цепочек. Примечательно, что ЦСР, созревший на свету в течение 3 дней, также способен к гелеобразованию.

#### 4.2. Изменение строения, свойств и характера самоорганизации в ЦСР и СМГ под воздействием УФ излучения

Особый интерес представляет вопрос о том, как реагирует на УФ излучение ЦСР, полученный с использованием различных солей серебра (нитрата, ацетата и нитрита серебра). Влияние УФ излучения на окраску ЦСР с этими солями демонстрирует рис. 12. Было обнаружено, что при одних и тех же условиях облучения сильнее всего окраску изменяет ЦСР с нитритом серебра (рис. 12в), а менее всего с нитратом серебра (рис. 12а), и промежуточное положение занимает ЦСР с ацетатом серебра (рис. 12б).



**Рис. 12.** Фотографии образцов ЦСР на основе нитрата (а), ацетата (б) и нитрита серебра (в) в зависимости от длительности УФ облучения: 1 – до облучения, 2 – 1, 3 – 3 и 4 – 5 часов после облучения.

Кроме того, следует отметить, что ЦСР с нитритом серебра не только более фоточувствителен, но и в нем наблюдается сегрегация (сначала помутнение, а затем расслоение и выпадение темного осадка при длительном облучении).



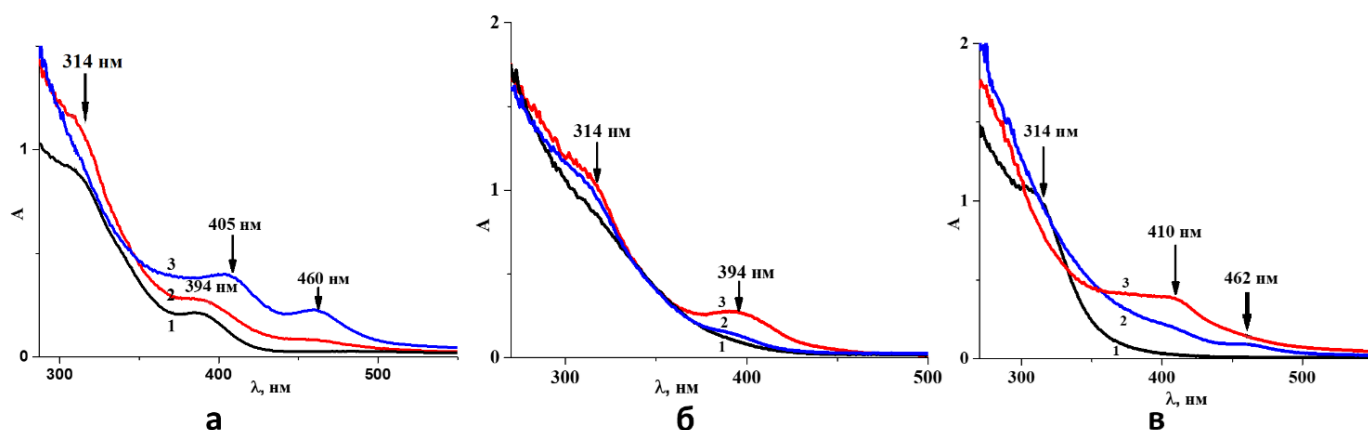
**Рис. 13.** Фотографии гидрогеля на основе ЦСР с ацетатом серебра в зависимости от времени УФ облучения: 1 – до облучения, 2 – 15 и 3 – 30 мин.

Не менее интересным оказалось влияние УФ облучения на фоточувствительность гидрогелей, полученных на основе ЦСР. Рис.13, в качестве примера, демонстрирует влияние длительности облучения на поведение и изменение окраски гидрогеля на основе ЦСР с ацетатом серебра. Легко видеть, что уже при незначительном времени облучения (15 мин) гель окрашивается в желтоватый цвет и разрушается, стекая вниз по стенкам виалы. При облучении 30 мин образец приобретает коричневый цвет, а сам гидрогель практически полностью разрушается, превращаясь в раствор, и стекает на дно виалы. Для других солей серебра (нитрата и нитрита) наблюдалась аналогичная картина, с той лишь разницей, что для нитрата серебра процесс окрашивания и деструкции геля протекал медленней, чем для ацетата серебра, а для нитрита серебра, наоборот, существенно быстрее.

На рис. 14 представлены электронные спектры ЦСР с ацетатом серебра, подвергнутые УФ облучению в течение различного времени. Анализ электронных спектров показал, что, как и в случае дневного освещения, происходит практически полное исчезновение полос поглощения 314 и 394 нм, ответственных за супрамолекулярные цепочки из молекул меркаптида серебра, и появление новых полос поглощения 405 и 460 нм, которые обусловлены плазмонным резонансом свободных электронов на поверхности образующихся НЧС различного размера. Отметим, что при

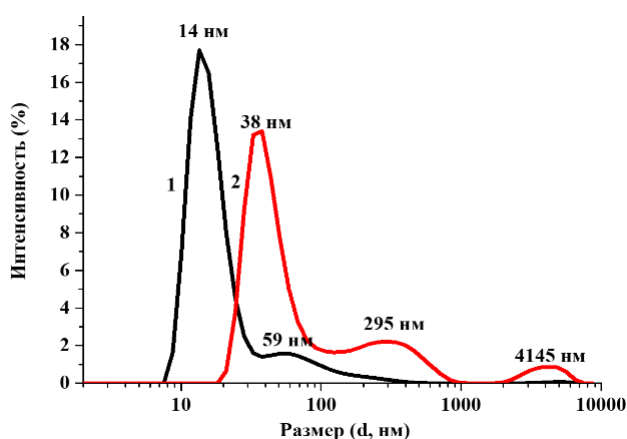


более длительном УФ облучении раствора происходит его помутнение, а затем выпадает осадок.



**Рис. 14.** Электронные спектры ЦСР с ацетатом серебра (а) до (1) и после УФ облучения в течение 1 (2) и 3 часов (3); ЦСР с нитратом серебра (б) до (1) и после УФ облучения в течение 30 минут (2) и 2 часов (3); ЦСР с нитритом серебра (в) до (1) и после УФ облучения в течение 30 минут (2) и 2 часов (3)

Размер НЧС и кластеров из наночастиц в ЦСР характеризовали методом динамического светорассеяния (ДСР) (рис. 15). Для распределения рассеивающих частиц по размерам, полученного в случае ЦСР, подвергнутого облучению в течение 1 часа (спектр 1), можно выделить два типа частиц со средним размером 25 и 60 нм. Рассеивающими частицами в этом случае, скорее всего, являются два сорта НЧС малого и большего размера, которые также проявляются в виде полос поглощения на длинах волн 394 и слабой полосы 460 нм в электронном спектре. При более длительном УФ



**Рис.15.** Распределения рассеивающих частиц по размерам в ЦСР на основе ацетата серебра после УФ облучения в течение одного (1) и трех (2) часов, полученные методом ДРС.

облучении ЦСР на кривой распределения рассеивающих частиц по размерам (рис. 15, спектр 2) наблюдаются уже три типа частиц со средним размером 40, 300 и 4000 нм. Под действием УФ облучения, также, как и при освещении дневным светом, в ЦСР происходит разрушение супрамолекулярных цепочек и переход ионной формы серебра  $Ag^+$  в металлическую  $Ag^0$  с образованием НЧС. При этом малые частицы — это НЧС, покрытые молекулами меркаптида серебра, а также обрывками супрамолекулярных цепочек. Крупные частицы представляют собой объединенные за счет водородных связей частицы первого типа. Эти связи образуются между amino и карбоксильными группами меркаптида серебра, находящегося в «короне»  $NH_{Ag}$ . В свою очередь, крупные частицы третьего типа ( $\sim 4$  мкм) или микрочастицы серебра (МЧС) являются результатом объединения частиц первого и второго типа, опять же за счет водородного связывания. Появление в растворе МЧС сначала вызывает его помутнение за счет упругого рассеяния света на этих частицах, а затем их выпадение в осадок при достижении необходимой массы, что и демонстрирует рис. 15. Образование крупных рассеивающих частиц размером 300 и 4000 нм было независимо подтверждено и методом СЭМ.

Элементный состав образцов, установленный методом рентгеноспектрального электронно-зондового анализа, четко указывал на то, что НЧС покрыты короной из

молекул МС. Следует отметить, что наибольшая концентрация Ag для всех участков сканирования наблюдается в случае ЦСР с нитритом серебра.

На основе полученных данных предложена модель процесса самосборки и образования МЧС из более мелких НЧС, покрытых «коронай» из фрагментов супрамолекулярных цепочек на основе МС, в ЦСР под действием УФ облучения (рис. 16). При этом атомы серебра в молекуле меркаптида участвуют в формировании НЧ<sub>Ag</sub>, а через amino- и карбоксильные группы меркаптида происходит водородное связывание НЧ<sub>Ag</sub> между собой.

### 4.3. Процессы самоорганизации в ЦСР на основе L-цистеина и нитрата серебра при введении ПВС и КМЦ

Оказалось, что супрамолекулярные цепочки в ЦСР и СМГ очень чувствительны к механическим воздействиям и из них нельзя получить пленки. Поэтому жидкие бактерицидные средства (растворы, мази, спреи и др.) из ЦСР и СМГ можно получать, а для создания прочных пленочных материалов было предложено вводить в растворы и гели высокомолекулярные соединения. В качестве водорастворимых полимеров были выбраны поливиниловый спирт (ПВС) и карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ), поскольку они хорошо растворяются в воде и имеют свойства образовывать при высоких концентрациях пленки. Другим интересным соединением являлся бактерицидный олигомер полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГ). Первоочередной задачей являлось выяснение совместимости ЦСР с этими соединениями и возможность получения пленок из смешанного раствора ЦСР с полимерами. При этом ПВС является биосовместимым полимером и широко используется в медицинской практике, а КМЦ относится к полисахаридам, которые в большинстве случаев являются биосовместимыми и биоразлагаемыми полимерами.

#### 4.3.1. Процессы самоорганизации в ЦСР при введении ПВС

Установлено, что при смешении созревшего водного раствора ЦСР с водными растворами ПВС разных концентраций образуются гомогенные прозрачные растворы. После добавления к полученным растворам электролита Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> через 30 мин происходит структурирование раствора ЦСР, смешанного с полимером, и образование прозрачного гидрогеля.

На рис. 17, приведена зависимость вязкости растворов и гидрогелей ЦСР—ПВС от концентрации полимера. Введение ПВС в раствор ЦСР оказывает слабое влияние на вязкость конечных растворов (см. рис. 17 а). Тогда как для гидрогелевых композиций при введении полимера наблюдается практически линейный рост вязкости от концентрации (см. рис. 17 б). Отметим, что вязкость раствора ЦСР+ПВС (4 мас.% ПВС) в два раза выше вязкости гидрогеля ЦСР+Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> без ПВС. Данный факт может быть связан с низкими механическими показателями образующейся гель-сетки гидрогеля без введения ПВС, а также ее малой стабильностью. Для ПВС (ММ = 100 кДа) концентрация кроссовера составляет 1%. При этой концентрации макромолекулярные клубки начинают зацепляться друг за друга, образуя слабую физическую флуктуационную пространственную сетку. Действительно, вязкость гидрогеля без ПВС совпадает с

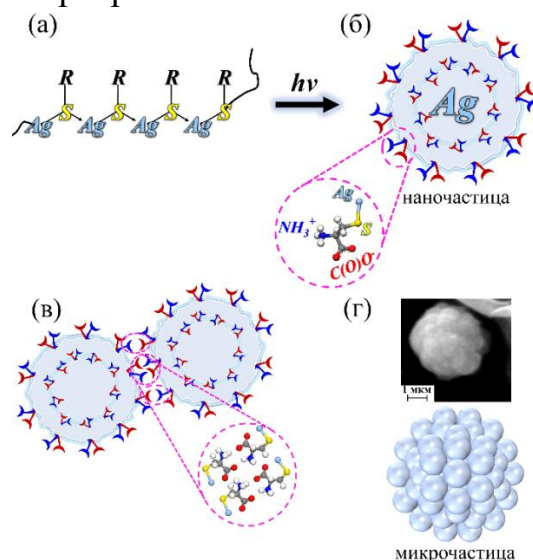
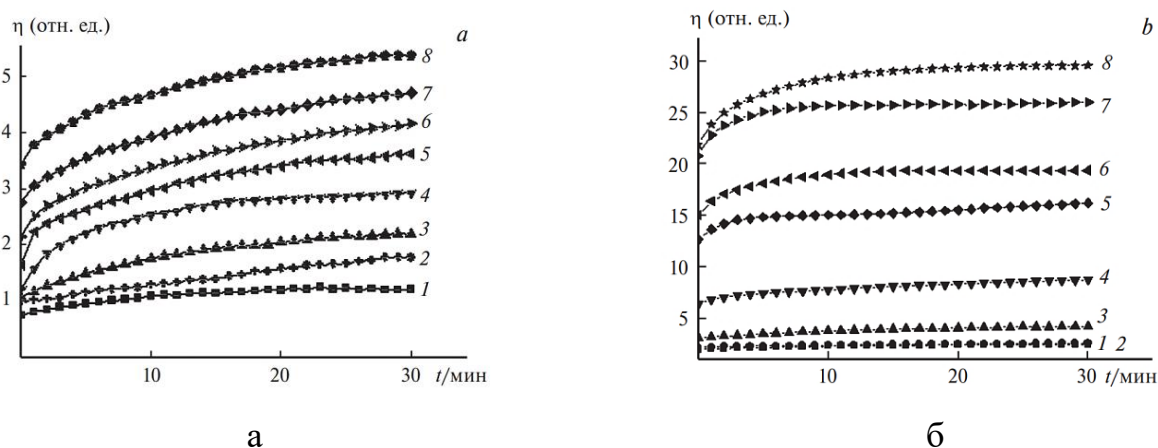
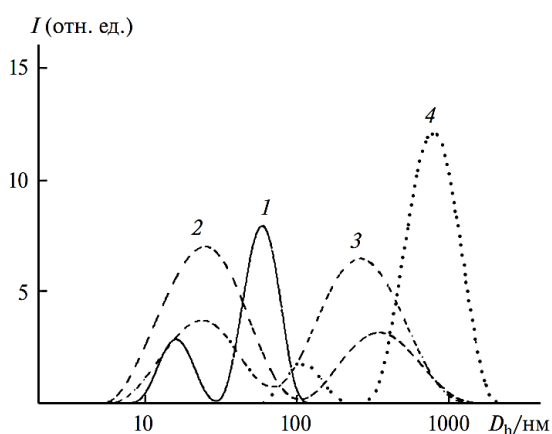


Рис. 16. Механизм самоорганизации в ЦСР с участием НЧ<sub>Ag</sub> под действием УФ облучения и дневного освещения.

вязкостью раствора ЦСР+ПВС с концентрацией полимера 1.5 мас.%. При этом следует учесть, что вязкость чистого ПВС (4 мас.%) в два раза ниже вязкости раствора ЦСР+ПВС с той же концентрацией полимера. Следовательно, можно полагать, что макромолекулы полимера взаимодействуют с надмолекулярными структурами ЦСР, упрочняя формирующуюся структуру, как в растворе, так и в гидрогеле.



**Рис. 17.** Кинетические кривые зависимости вязкости растворов (а) и гидрогелей (б) ЦСР—ПВС от времени при концентрации ПВС 0 (1), 0.1 (2), 0.5 (3), 1.5 (4), 2.5 (5), 3.0 (6), 3.5 (7) и 4.0 мас.% (8).



**Рис.18.** Кривые распределения частиц по размерам в растворах ЦСР (1), ЦСР—ПВС (2), а также гидрогелях на основе ЦСР (3) и ЦСР—ПВС (4) (концентрация ЦСР — 0.01 мас.%, ПВС — 2.5 мас.%, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> — 0.0001 мас.%).

полимера. Из анализа полученных результатов следует, что структурные единицы, которые мы наблюдаем в растворе, представляют собой агрегаты, образующиеся за счет взаимодействия молекул ЦСР и ПВС. При переходе к гидрогелю размеры агрегатов значительно укрупняются за счет дополнительного связывания частиц анионами низкомолекулярного электролита. Увеличение концентрации полимера ведет к росту агрегатов, то есть повышается локальная концентрация поглощающих центров, поэтому мы и наблюдаем возрастание интенсивности основных пиков в УФ спектрах.

Рассматривая систему ЦСР-ПВС можно предположить следующий механизм самоорганизации, протекающий в системах с ПВС. На первой стадии для обеих систем (раствор и гидрогель) происходит образование агрегатов при взаимодействии ЦСР и полимера. Эти агрегаты являются отдельными единицами, из которых на второй стадии

На рис. 18 для исследуемых систем представлены кривые распределения частиц по размерам, полученные методом динамического рассеяния света (ДРС). Кривые имеют бимодальный характер. Размеры единичных макромолекул ПВС совпадают с размерами отдельных супрамолекулярных структур ЦСР (15 нм). Увеличение концентрации полимера приводит к росту обоих пиков исходных супрамолекулярных структур как для раствора ЦСР—ПВС, так и для соответствующего гидрогеля.

При этом, например, для гидрогеля с концентрацией ПВС 2.5 мас.% размеры агрегатов обеих мод в 2—4 раза больше, чем для раствора с такой же концентрацией

происходит образование пространственных сеток. Агрегаты являются связанными молекулами ЦСР и полимера, при этом молекулы ЦСР вытянуты, а полимера, наоборот, сжаты. В растворе формирование флуктуационной сетки, вероятно, обусловлено возможностью образования водородных связей между гидроксильными группами макромолекул ПВС, но поскольку они связаны с молекулами ЦСР, то и сетка последних достраивается по мере сближения агрегатов. Сетка же гидрогеля образуется из более крупных фрагментов, и в ее формировании участвуют как гидроксильные группы полимера, так и низкомолекулярный электролит. Таким образом, большая плотность и толщина нитей сетки геля по сравнению с раствором связана, во-первых, с более крупными единицами, которые ее образуют, а во-вторых, с большим количеством сшивок. Полученные результаты представляют интерес, как в теоретическом, так и в прикладном аспекте. С теоретической точки зрения, образование пространственной сетки в растворе ЦСР—ПВС является необычным фактом самоорганизации вследствие того, что концентрации как ЦСР, так и полимера достаточно низкие. С практической точки зрения, образование регулярной пористой сетки гидрогеля из компонентов, обладающих биологически активными свойствами, открывает возможности конструирования новых материалов, которые могут быть использованы в медицине.

#### **4.3.2. Процессы самоорганизации в ЦСР при введении КМЦ**

В случае с КМЦ в результате проведенных исследований установлено, что водные растворы L-цистеина, нитрата серебра и КМЦ хорошо совмещаются. ЦСР и водный раствор КМЦ (1.0 и 2.0 %) образуют однородный оптически прозрачный раствор спустя 30 мин после смешивания. Введение КМЦ в ЦСР вызывает гелеобразование системы, а добавление в раствор электролита приводит к еще большему упрочнению геля. Из полученных образцов получают прочные пленки. Гели с КМЦ, но без электролита, сохраняли прочность в 4 балла в течение первых 2 дней, а далее со временем прочность снижалась до 2 баллов. Введение электролита в систему (ЦСР-КМЦ) увеличивало прочность полученного гидрогеля. Гель с содержанием в растворе 2.0 % КМЦ имел прочность в 5 баллов и дольше оставался прочным (4 балла через неделю). Значение прочности такой системы было выше, чем значение прочности гидрогеля без сульфата натрия.

#### **4.4. Процессы самоорганизации в ЦСР при введении ПГ**

Поскольку ПГ используется в качестве бактерицидного средства, то его взаимодействие с ЦСР представляло особый интерес. Оказалось, что в растворе ЦСР с ПГ происходит гелеобразование в отсутствие электролита. Наиболее устойчивые во времени и прочные гидрогели были получены добавлением 0.5% ПГ в ЦСР. При концентрации ПГ в ЦСР 0.012% и ниже гелеобразование не наблюдалось.

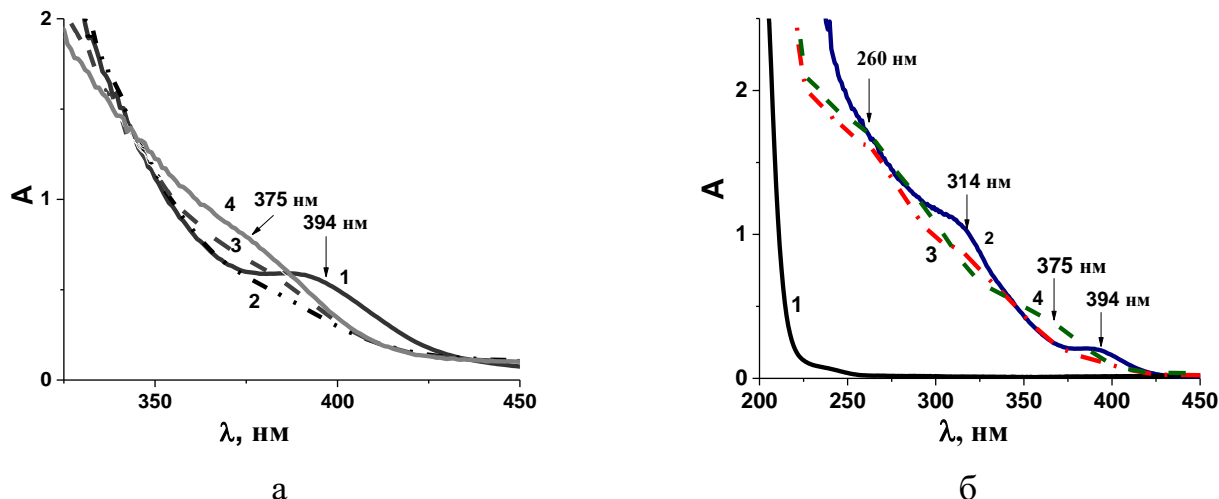
В результате реологических испытаний установлено, что оптимальной концентрацией ПГ для формирования гидрогеля является 0.5 - 1.0%.

Рассмотрение электронных спектров растворов показало, что существенные изменения в спектрах наблюдаются уже при добавлении в ЦСР небольшой концентрации ПГМГ-ГХ (рис. 19). Так, при введении в ЦСР 0.1% (0.0375 мл) ПГМГ-ГХ полосы поглощения 314 и 394 нм (рис. 19а, спектр 2 и 3) исчезают, а уже при 0.1% появляются новые полосы поглощения ~260 и 375 нм (рис. 19а, спектр 4). При этом в самом растворе ПГМГ-ГХ (рис. 19а, спектр 1) полосы поглощения отсутствуют. Кинетические исследования изменения характера полос поглощения в растворе ЦСР + ПГМГ-ГХ сразу после смешивания показали (рис. 19б), что уже через 10 мин после смешивания происходит исчезновение полос поглощения 314 и 394 нм и появление новых полос 260 и 375 нм.

Аналогичный эффект дает инициирование процесса гелеобразования путем добавления в ЦСР хлорида натрия. Вероятно, введение ПГМГ-ГХ, также, как и NaCl, в ЦСР ведет к существенному изменению электронной структуры супрамолекулярных цепей из

молекул меркаптида серебра, отвечающих за формирование пространственной сетки геля, в следствие присутствия в этих растворах хлорид-иона.

Помимо структурных исследований гидрогелей, важной задачей являлось исследование их антибактериальных свойств. В результате проведенных исследований установлено, что наиболее высокими антимикробными свойствами по отношению ко всем штаммам бактерий и грибов обладают водные растворы солей серебра, однако эти растворы проявляют и высокую токсичность по отношению к живым клеткам.



**Рис. 19.** а) Изменение УФ спектров растворов и гелей в зависимости от времени после приготовления: 1 - ЦСР+ПГ сразу после смешивания, 2 - через 5 мин, 3 - через 10 мин ( $C_{ПГ} = 0.1\%$ ,  $V_{ПГ} = 0.05$  мл на 1 мл ЦСР) и б) в зависимости от концентрации ПГ (образцы исследованы через 3 дня после приготовления): 1 - исходный раствор ПГ, 2 – ЦСР+ПГ ( $C_{ПГ} = 0.1\%$ ,  $V_{ПГ} = 0.025$  мл на 1 мл ЦСР), 3 - ЦСР+ПГ ( $C_{ПГ} = 0.1\%$ ,  $V_{ПГ} = 0.0375$  мл на 1 мл ЦСР), 4 - ЦСР+ПГ ( $C_{ПГ} = 0.1\%$ ,  $V_{ПГ} = 0.05$  мл на 1 мл ЦСР).

Наоборот, водный раствор L-цистеина не обладает антимикробными свойствами. Неплохими антимикробными свойствами обладают растворы и гели, содержащие серебро в ионной форме, за исключением штаммов *S.aureus* ATCC 25923 и *Sh.sonnei* III №1908, против которых не имеет антимикробной активности раствор ЦСР. Гидрогель на основе ЦСР+ $Na_2SO_4$  не обладает антимикробными свойствами только по отношению к *S.aureus* ATCC 25923, а гидрогель ЦСР+NaCl не активен против двух штаммов - *S.aureus* ATCC 25923 и *Sh.sonnei* III №1908. Водный раствор ПГМГ-ГХ также имеет неплохие антимикробные свойства за исключением четырех штаммов (*E.coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* 5715, *Sh.sonnei* III №1908, *P.aeruginosa* ATCC 27853). В то время как гидрогель на основе ЦСР + ПГМГ-ГХ имеет противомикробные и противогрибковые свойства по отношению ко всем штаммам бактерий.

Итак, путем смешения водных растворов ЦСР и ПГ образуется гидрогель в одну стадию (без введения соли-инициатора) и достигается антимикробный эффект по отношению к более широкому спектру исследуемых штаммов бактерий и грибов.

Получить пленки из растворов ЦСР+ПГ не удалось, так как ПГ имел недостаточно высокую молекулярную массу.

### Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований был получен новый СМГ на основе L-цистеина и ацетата серебра, установлено, что гелеобразование в водных растворах на основе L-цистеина и ацетата серебра, инициированное сульфатами или хлоридами металлов имеет существенные различия, что подтверждается результатами УФ и ИК спектроскопии, метода динамического светорассеяния, просвечивающей и сканирующей микроскопии и другими физико-химическими методами исследования, используемыми в

ходе выполнения экспериментальной части настоящей работы. Образцы гелей с разными анионами являются тиксотропными и отличаются временем формирования, прочностью, стабильностью во времени. В работе установлены условия формирования СМГ: концентрационные, временные и температурные.

Впервые рассмотрено влияние дневного света и УФ излучения на процессы самоорганизации и гелеобразования в ЦСР. Установлено формирование НЧС в ЦСР и СМГ под действием излучения, что может иметь прикладное значение в медицине и фотоэлектронике. Предложена модель формирования НЧС в ЦСР и СМГ при облучении.

Впервые в настоящей работе исследована совместимость ЦСР и СМГ с водорастворимыми полимерами. Установлены условия получения более прочных СМГ, рассмотрена возможность получения пленок из СМГ в присутствии водорастворимых полимеров.

Исследования образцов ЦСР и СМГ позволило получить образцы, имеющие хорошие антибактериальные свойства против различных грамположительных и грамотрицательных бактерий и антираковые свойства.

#### **На основе полученных результатов сделаны следующие выводы:**

1. Образование СМГ в результате процессов самоорганизации в низкоконцентрированном ( $\sim 0.01\%$ ) водном растворе L-цистеина и ацетата серебра происходит в узком концентрационном диапазоне дисперсной фазы при незначительном ( $\sim 1.3$ ) превышении содержания соли над содержанием цистеина и при добавлении в созревший ЦСР малого количества соли металла (инициатор гелеобразования) – около  $0.005\%$ .

2. Процесс самоорганизации в ЦСР на основе L-цистеина и ацетата серебра, включающий гелеобразование созревшего раствора, состоит из трех этапов: на первом этапе при смешивании водных растворов L-цистеина и ацетата серебра происходит быстрое образование молекул меркаптида серебра; второй этап (этап созревания раствора в течение 3 и более часов) – образование супрамолекулярных цепочек за счет донорно-акцепторного взаимодействия между молекулами МС; третий этап – этап формирования пространственной сетки СМГ из супрамолекулярных цепочек МС за счет образования водородных связей и солевых мостиков между супрамолекулами при введении в ЦСР солей-инициаторов.

3. ЦСР хорошо совместим с водорастворимыми полимерами (ПВС и КМЦ) и бактерицидным олигомером ПГ, поэтому смешанные растворы ЦСР с указанными полимерами могут быть использованы для получения пленочных материалов, а с олигомером ПГ для создания новых антибактериальных и противогрибковых средств, что расширяет области практического использования рассматриваемых систем. Установлено, что в случае ПВС, при концентрации полимера в растворе менее  $0.1\%$  возможно получение супрамолекулярного тиксотропного геля, а при концентрациях полимера более  $0.5\%$  образуются устойчивые физические гели макромолекулярной природы и появляется возможность получения пленочного материала.

4. Обнаружена высокая чувствительность ЦСР и СМГ на основе различных солей серебра (ацетат, нитрат и нитрит серебра) к воздействию дневного света и УФ излучения. В результате комплексного использования различных физико-химических методов выяснена причина высокой фоточувствительности серебряных растворов и гидрогелей и рассмотрены процессы самоорганизации, происходящие при их облучении. Предложен механизм изменения окраски ЦСР и СМГ при облучении, заключающийся в «развале» супрамолекулярных цепей из молекул МС с образованием НЧС различного размера. При этом металлическое ядро НЧС покрыто короной из молекул МС. Малые НЧС связываются друг с другом за счет водородного связывания между amino- и карбоксильными группами молекул МС, находящихся в короне, с образованием микрочастиц серебра (до  $4 \text{ мкм}$ ).

5. СМГ на основе водных растворов L-цистеина и ацетата серебра и сам ЦСР обладают высокими антибактериальными и цитостатическими свойствами и могут быть использованы в медицине, косметологии и фармацевтической промышленности.

**Основные результаты диссертации изложены в следующих публикациях в журналах, индексируемых в Web of Science/Scopus и/или входящих в список ВАК:**

1. **Адамян А.Н.**, Аверкин Д.В., Хижняк С.Д., Овчинников М.М., Пахомов П.М. Гелеобразование в низкоконцентрированных водных растворах, содержащих L-цистеин и ацетат серебра. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2016. № 2. С. 89-98.
2. Малышев М.Д., Бабуркин П.О., Адамян А.Н., Пахомов П.М., Комаров П.В. Моделирование процесса созревания цистеин-серебряного раствора. // Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов. 2018. № 10. С. 453-459.
3. **Адамян А.Н.**, Аверкин Д.В., Мехтиев А.Р., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Процессы самоорганизации в водном растворе L-цистеина и ацетата серебра под воздействием сульфата натрия. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2018. № 2 С. 64-77.
4. **Адамян А.Н.**, Аверкин Д.В., Мехтиев А.Р., 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.
5. М.Д. Малышев, П.О. Бабуркин, **А.Н. Адамян**, С.Д. Хижняк, П.М. Пахомов, П.В. Комаров. Молекулярно-динамическое моделирование процесса созревания цистеин-серебряного раствора. // Журнал структурной химии. 2019. Т.60. №8. С.1396-1403.
6. Вишневецкий Д.В., **Адамян А.Н.**, Лагусева В.С., Иванова А.И., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Процессы самоорганизации в водном растворе поливинилового спирта, L-цистеина и нитрата серебра. // Высокомолекулярные соединения. 2019. Т.61А. №1. С.82-90.
7. **А.Н. Адамян**, Д.В. Вишневецкий, С.Д. Хижняк, П.М. Пахомов. Сравнение процесса самоорганизации в растворах L-цистеина и солей серебра на основе H<sub>2</sub>O и D<sub>2</sub>O. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2019. Т.36. №2. С. 62-70.
8. Д. В. Вишневецкий, **А. Н. Адамян**, А. И. Иванова, С. Д. Хижняк, П. М. Пахомов. Влияние поливинилового спирта на реологию и морфологию L-цистеин/AgNO<sub>3</sub> супрамолекулярной системы. // Известия РАН. Серия химическая. 2020. Т. 69. №8, С. 1443-1448.
9. **А.Н. Адамян**, Д.В. Вишневецкий, Иванова А.И., С.Д. Хижняк, П.М. Пахомов. Самоорганизация в низкоконцентрированных растворах L-цистеин-ацетат серебра-D<sub>2</sub>O. // Известия РАН. Серия химическая. 2020. Т.69. №9. С.1799-1803.
10. **А.Н. Адамян**, А.К. Кучурова, А.И. Иванова, М.А. Малышев, В.А. Герасин, В.М. Червинец, С.Д. Хижняк, П.М. Пахомов Антибактериальные препараты на основе L-цистеина, ацетата серебра и полигексаметиленгуанидин гидрохлорида для пропитки химических волокон и текстильных материалов // Химические волокна. 2021. №5. С.11-15.
11. **Адамян А.Н.**, Кучурова А.К., Иванова А.И., Малышев М.Д., Герасин В.А., Червинец В.М., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Влияние полигуанидина на процесс самоорганизации в цистеин-серебряном растворе. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2021. Т.43. № 1. С. 69-79.
12. Новоженин Д.Ю., **Адамян А.Н.**, Прокофьева С.Д., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Влияние карбоксиметилцеллюлозы на процесс самоорганизации в цистеин-

серебряном растворе. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2021. Т.43. № 1С. 80-86.

13. **Адамян А.Н.**, Иванова А.И., Семенова Е.М., Малышев М.Д., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Влияние освещения на процесс самоорганизации в цистеин-серебряном растворе. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. 2021. Т.43. № 1. С. 60-68.
14. **Адамян А.Н.**, Иванова А.И., Малышев М.Д., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Влияние дневного света на характер самоорганизации в L-цистеин-серебряном растворе. // Известия РАН. Серия химическая. 2022. Т.71. № 2. С. 292-297.
15. **А. Н. Адамян**, С. Д. Хижняк, Т. А. Барсегян, А. И. Иванова, М. Д. Малышев, П. М. Пахомов. Процессы самоорганизации в L-цистеин-серебряном растворе под воздействием УФ-излучения. // Известия РАН. Серия химическая. 2022. № 10. С. 2130-2137.

#### **Патенты**

1. Хижняк С.Д., Овчинников М.М., **Адамян А.Н.**, Пахомов П.М., Межеумов И.Н. Способ получения супрамолекулярного гидрогеля. Патент РФ № 2641111 от 16.01.2018 (приоритет 16.11.2016).
2. Вишневецкий Д.В., Потапенкова Т.В., Аверкин Д.В., **Адамян А.Н.**, Межеумов И.Н., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Способ получения супрамолекулярного геля, содержащего наночастицы серебра. Патент РФ №2761210 приоритет от 26.02.2021, зарегистрирован 06.12.2021.

Подписано в печать 03.07.2023. Формат 60 × 84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.

Усл. печ. л. 1,4. Тираж 100 экз. Заказ № 170.

Издательство Тверского государственного университета

Адрес: 170100, г. Тверь, Студенческий пер. 12, корпус Б.

Тел.: (4822) 35-60-63.