

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ТВЕРСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Перезозова Татьяна Викторовна

**СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ВОДНЫХ
РАСТВОРОВ L-ЦИСТЕИНА, ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ И СОЛЕЙ
СЕРЕБРА**

Специальность 1.4.4. Физическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени кандидата химических наук

Научный руководитель
доктор химических наук, профессор,
заслуженный работник высшей школы РФ

Пахомов Павел Михайлович

Тверь – 2023

Посвящается памяти моего папы – Первозова Виктора Геннадьевича.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список условных обозначений.....	6
ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ГЕЛИ (СМГ). ПОЛУЧЕНИЕ, СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА, КЛАССИФИКАЦИЯ И МЕТОДЫ ИХ ИССЛЕДОВАНИЯ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)	17
1.1. Основные принципы и особенности супрамолекулярной химии.....	17
1.2. Многообразие супрамолекулярных систем	25
1.3. СМГ среди многообразия гелей.....	29
1.4. Принципы процесса гелеобразования.....	35
1.5. Химическая природа и формирование СМГ на основе низкомолекулярных соединений.....	38
1.6. Методы исследования СМГ	43
1.7. Перспективы и области применения СМГ	50
1.8. Уникальность СМГ на основе водных растворов L-цистеина и солей серебра.....	55
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	59
2.1. Используемые химические вещества и реагенты	59
2.2. Методика получения образцов и объекты исследования.....	60
2.3. Физико-химические методы исследования.....	62
2.3.1. Изучение процессов самоорганизации и гелеобразования методом УФ спектроскопии.....	62
2.3.2. Изучение процессов самоорганизации методом ИК спектроскопии	62
2.3.3. Метод динамического светорассеяния (ДСР), как способ определения размера частиц, дзета-потенциала и проводимости	63
2.3.4. Метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ),	

как способ визуализации структуры ЦСР и СМГ.....	66
2.3.5. Исследование морфологии ЦСР и СМГ методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в совокупности с методом элементного анализа.....	67
2.3.6. Исследование реологических свойств СМГ методом вибрационной вискозиметрии	68
2.3.7. Измерение кислотности ЦСР и СМГ методом рН-метрии.....	69
2.4. Антибактериальные испытания СМГ и водных растворов на основе НАЦ/AgNO ₂	70
2.5. МТТ тест растворов СМГ и водных растворов на основе НАЦ/AgNO ₂	72
ГЛАВА 3. ПРОЦЕССЫ САМООРГАНИЗАЦИИ И ГЕЛЕОБРАЗОВАНИЯ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ НА ОСНОВЕ L-ЦИСТЕИНА И AgNO₂.....	
3.1. Установление концентрационного диапазона гелеобразования в ЦСР.....	74
3.2. Кинетические исследования изменения вязкости ЦСР в процессе гелеобразования	79
3.3. Изучение процессов самоорганизации в ЦСР с помощью метода ИК спектроскопии.....	82
3.4. Исследование механизма самоорганизации и гелеобразования с помощью метода УФ спектроскопии	83
3.5. Изучение строения и свойств ЦСР методом ДСР, определение дзета-потенциала и электропроводности.....	87
3.6. Изменение величины рН в процессе самоорганизации и гелеобразования ЦСР.....	91
3.7. Морфология гидрогелей и характеристика элементного состава	92

3.8. Предполагаемый механизм гелеобразования в водных растворах	
L-цистеина и AgNO_2	96
Выводы к главе 3	98
ГЛАВА 4. ПРОЦЕССЫ САМООРГАНИЗАЦИИ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ L-ЦИСТЕИНА И СОЛЕЙ СЕРЕБРА, А ТАКЖЕ БИОАКТИВНЫЕ СВОЙСТВА РАСТВОРОВ И ГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ НАЦ В СРАВНЕНИИ С L -ЦИСТЕИНОМ	
	99
4.1. Водные растворы на основе N-ацетил-L-цистеина, производных L-цистеина и солей серебра	99
4.1.1. Исследование процессов самоорганизации в водных растворах НАЦ, МПК, ЦА и солей серебра с помощью метода УФ спектроскопии.....	102
4.1.2. Изучение процессов самоорганизации в водных растворах НАЦ, МПК, ЦА и солей серебра с помощью методов ДСР, определение дзета-потенциала	104
4.1.3. Влияние величины рН на процессы самоорганизации водных растворов на основе производных L-цистеина и солей серебра.....	108
4.1.4. Визуализация структуры водных растворов и гидрогелей на основе производных L-цистеина и солей серебра с помощью методов электронной микроскопии.....	110
4.1.5. Механизм самоорганизации в растворах на основе производных L-цистеина и солей серебра	111
4.2. Биоактивные свойства водных растворов L-цистеина и НАЦ с AgNO_2	115
4.2.1 Антибактериальная активность водных растворов на основе L- цистеина, НАЦ и AgNO_2	115

4.2.2. Цитотоксические свойства водных растворов L-цистеина и НАЦ с AgNO ₂	119
Выводы к главе 4.....	123
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	125
ВЫВОДЫ.....	127
Публикации автора по теме диссертации	129
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	136

Список условных обозначений

- ЦСР – цистеин-серебряный раствор;
- СМГ - супрамолекулярный гидрогель;
- НМГ – низкомолекулярный гелеобразователь;
- НЧС – наночастицы серебра;
- ЦИС – L-цистеин;
- НАЦ – N-ацетил-L-цистеин;
- МПК – меркаптопропионовая кислота;
- ЦА – цистеамин;
- УФ – ультрафиолетовый;
- ИК – инфракрасный;
- ДСР – динамическое светорассеяние;
- ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия;
- СЭМ – сканирующая электронная микроскопия;
- ЯМР – ядерный магнитный резонанс.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В 1987 г. французский ученый Ж.-М. Лен получает Нобелевскую премию за разработку основ супрамолекулярной химии. Несколько позже вводится понятие супрамолекулы, то есть молекулярной цепи, связывание мономерных звеньев в которой осуществляется за счет нековалентных взаимодействий. По аналогии с супрамолекулярными полимерами в научный обиход входит термин супрамолекулярные гели (СМГ), которые относятся к физическим гелям, однако в отличие от макромолекулярных гелей в них узлы и сами цепи пространственной сетки построены с помощью слабых взаимодействий.

Молекулярная самосборка (самоорганизация) за счет слабых взаимодействий является одним из самых распространенных процессов в природе. Самосборка с участием малых молекул, например, в водной среде приводят к необычному явлению формирования гелей при низком содержании дисперсной фазы. Особый интерес с точки зрения пограничного расположения проблемы на стыке физической химии, биологии и медицины представляют гели на основе водных растворов серосодержащих аминокислот, ионов и наночастиц металлов (в частности Ag). К настоящему времени накоплен большой экспериментальный материал по самосборке и гелеобразованию в супрамолекулярных системах. Однако число работ, посвященных изучению систем на основе низкомолекулярных соединений с низким содержанием дисперсной фазы, невелико, а суждения о механизме самоорганизации и гелеобразования противоречивы и недостаточно обоснованы. В целом, интерпретация механизма гелеобразования в таких системах до сих пор не получила надежной физико-химической основы.

В начале 2000-х годов на кафедре физической химии Тверского государственного университета удалось открыть новый тиксотропный СМГ на основе низкоконцентрированного водного раствора (~0.01%) простейшей аминокислоты L-цистеина ($\text{HS-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$) и нитрата серебра

(AgNO_3) [1], который обладал высокими антибактериальными свойствами. Данная работа содержит в себе исследование фундаментальных основ процессов самоорганизации и гелеобразования в водных растворах производных L-цистеина (новые простейшие серосодержащие соединения) с участием солей серебра (AgNO_2 , AgNO_3) – это аминокислота N-ацетил-L-цистеин (НАЦ) $\text{HS-CH}_2\text{-CO(OH)-NH-CO-CH}_3$, 3-меркаптопропионовая кислота (МПК) $\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO(OH)}$, цистеамин (ЦА) $\text{H}_2\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$. Сравнительный анализ происходящих процессов в водных растворах разных аминокислот (L-цистеин и НАЦ), МПК и ЦА позволит сопоставить результаты для различных тиолсодержащих соединений и обосновать механизм процессов самоорганизации и гелеобразования. Выбранные в работе низкомолекулярные объекты исследования, в силу своей относительной простоты, являются удобными модельными системами для изучения процессов самоорганизации и гелеобразования. Использование МПК и ЦА в молекулах, которых отсутствуют COOH- или NH- группировки при наличии SH- групп, по сравнению с L-цистеином, позволит лучше понять механизм самоорганизации в водных растворах L-цистеина, НАЦ и солей серебра (цистеин-серебряный раствор – ЦСР). Применение комплекса современных физико-химических методов обеспечит полноту и глубину исследований протекающих процессов самоорганизации, а также строения и морфологии образующихся гидрогелей.

Хорошо известно, что AgNO_2 , по сравнению с AgNO_3 , является восстановителем, поэтому важно сравнить механизм молекулярной самосборки в рассматриваемых растворах с участием этих двух солей серебра.

К преимуществам получения растворов и гидрогелей на основе L-цистеина и его производных следует отнести природное происхождение исходных компонентов, а, следовательно, наличие таких свойств, как биосовместимость и биоразлагаемость.

Кроме того, в прикладном аспекте представляет интерес использование новых растворов и гелей для медицинского применения. Поэтому проведены исследования их антибактериальных и цитотоксических свойств.

Таким образом, получение новых супрамолекулярных гидрогелей на основе простейших серосодержащих аминокислот и солей серебра, а также изучение их строения и физико-химических свойств является актуальной задачей.

Степень разработанности темы диссертации. Анализ литературных данных показывает, что уже достаточно детально исследованы механизмы самоорганизации и гелеобразования в низкоконцентрированных (~0.01%) водных растворах L-цистеина и AgNO_3 . С использованием комплекса физико-химических методов и компьютерного моделирования установлено [1], что при смешивании водных растворов L-цистеина и AgNO_3 идет образование цвиттер-ионов меркаптида серебра (МС). При незначительном избытке AgNO_3 (1.25-1.28) по отношению к цистеину в условиях комнатной температуры и темноты происходит «созревание» раствора в течение 3-6 часов, а на молекулярном уровне формирование супрамолекулярных цепей из цвиттер-ионов МС за счет слабого донорно-акцепторного взаимодействия. Далее при введении в созревший ЦСР небольшого количества (~0.005%) соли-инициатора гелеобразования (например, Na_2SO_4) происходил быстрый переход раствора в состояние тиксотропного геля. ЦСР и СМГ на его основе из-за присутствия в системе L-цистеина и серебра в ионной форме имели хорошие ранозаживляющие и антибактериальные свойства.

Однако, вопрос о новых низкомолекулярных тиолсодержащих гелеобразователях и использовании других солей серебра для приготовления СМГ на основе низко концентрированных водных растворов недостаточно изучен. Кроме того, нет окончательной ясности в вопросе о том, какую роль играют различные функциональные группы молекулы L-цистеина (SH , COOH и NH) в процессах самоорганизации и гелеобразования. В

практическом плане представляет интерес использование новых гелеобразующих растворов в медицине, фармации, косметологии и других областях.

Цель и задачи исследования. Целью работы является изучение процессов самоорганизации и гелеобразования, происходящих в водных растворах на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина, МПК, ЦА и солей серебра с помощью комплекса физико-химических методов.

Для достижения указанной цели решались следующие **задачи**:

1. Установление возможности гелеобразования в водных растворах на основе L-цистеин/ AgNO_2 , N-ацетил-L-цистеин/ AgNO_2 , МПК/ AgNO_3 и ЦА/ AgNO_3 .

2. Определение влияния концентрации исходных компонентов на процессы самоорганизации и гелеобразования в водных растворах на основе L-цистеин/ AgNO_2 .

3. Экспериментальное изучение различий в процессах самоорганизации и гелеобразования в водных растворах на основе L-цистеин/ AgNO_2 , N-ацетил-L-цистеин/ AgNO_2 , МПК/ AgNO_3 , ЦА/ AgNO_3 с помощью комплекса физико-химических методов.

4. Выяснение роли различных функциональных группировок молекулы L-цистеина в процессах самоорганизации и гелеобразования в ЦСР.

5. Исследование антибактериальных и цитотоксических свойств водных растворов на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина и солей серебра.

Научная новизна работы заключается в следующем:

1. Проведены комплексные исследования процессов самоорганизации в новой гелеобразующей системе на основе водных растворах L-цистеина и AgNO_2 .

2. Впервые обнаружено, что формирование пространственной сетки геля в водных растворах L-цистеина и AgNO_2 происходит с участием наночастиц серебра (НЧС). Предложен новый способ получения НЧС в ЦСР и СМГ на основе этих растворов и гелей.

3. Исследовано влияние наличия различных функциональных групп L-цистеина (тиольной, карбоксильной и аминогруппы) в его производных (НАЦ, МПК и ЦА) на возможность гелеобразования в водных растворах этих производных и солей серебра. Показано, что для процесса гелеобразования необходимо наличие всех трех функциональных групп. В то же время процесс самоорганизации с образованием супрамолекулярных цепей из молекул МС может происходить при отсутствии одной из функциональных групп в молекуле производных (карбоксильной или аминогруппы).

4. Предложен механизм гелеобразования в новых водных растворах L-цистеин/ AgNO_2 , заключающийся в формировании молекул МС (в растворе цвиттер-ион), образовании супрамолекулярных цепей из молекул МС в процессе созревания раствора и последующем желировании супрамолекулярного раствора с участием или без НЧС.

5. Определены антибактериальные и цитотоксические свойства водных растворов на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина и солей серебра. Установлено, что растворы на основе L-цистеина и N-ацетил-L-цистеина с солями серебра проявляют высокую бактерицидную активность, а на основе L-цистеина и AgNO_2 хорошие цитотоксические свойства относительно клеток карциномы молочной железы, что может найти в дальнейшем практическое применение.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов. Полученные результаты расширяют теоретические знания о процессах самоорганизации и гелеобразования, происходящих в супрамолекулярных системах. Поиск новых низкомолекулярных гелеобразователей и исследование процессов самоорганизации и

гелеобразования в водных растворах низкомолекулярных серосодержащих аминокислот и их производных позволил продвинуться в понимании этих процессов, а также определить влияние химической природы аминокислоты на способность раствора к гелеобразованию.

Проведенные исследования процессов самоорганизации в водных растворах L-цистеин/AgNO₂ показали, что в этих растворах в условиях темноты происходит не только формирование пространственной сетки СМГ, но и синтез НЧС со стабильным размером от 10 до 50 нм. ЦСР и СМГ при использовании AgNO₂ можно рассматривать, как среду для получения НЧС с перспективой их дальнейшего практического применения в качестве эффективных катализаторов, фоточувствительных элементов и биоактивных агентов.

Полученные в работе результаты открывают новые возможности использования СМГ на основе L-цистеина и AgNO₂ в качестве противораковых и антимикробных препаратов, например, при разработке антисептического гель-спрея широкого спектра действия.

Методология и методы исследования. В экспериментальных исследованиях был применен комплекс современных физико-химических методов, таких как УФ и ИК спектроскопия, просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия (ПЭМ и СЭМ), динамическое светорассеяние (ДСР), вискозиметрия, рН-метрия, рентгеноспектральный электронно-зондовый анализ, антибактериальные испытания и МТТ-тест.

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

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В растворах и гелях на основе L-цистеина, его производных (НАЦ, ЦА и МПК) и солей серебра существенное влияние на процессы самосборки оказывают различные факторы: химическое строение и концентрация исходных компонентов, их молярное соотношение, рН среды, величина заряда на поверхности образующихся частиц в растворе. Изменение этих факторов сказывается на важных конечных характеристиках растворов и гелей: вязкость, стабильность, дисперсность, размер НЧС и биоактивные свойства.

2. Основными стадиями процесса самоорганизации, приводящими к процессу гелеобразования в водных растворах аминокислоты L-цистеин и соли серебра AgNO_2 являются: 1) образование молекул МС (в растворе цвиттер-ион), 2) связывание между собой молекул МС за счет донорно-акцепторного взаимодействия между атомами серы и серебра с образованием супрамолекулярных цепочек и 3) формирование пространственной сетки СМГ без введения соли-инициатора гелеобразования, как результат связывания супрамолекулярных цепочек посредством водородных связей между группами $-\text{OH}$ и $-\text{COOH}$, где гидроксильная группа образована в результате реакции диазотирования. Отсутствие одной из функциональных групп в молекулах производных L-цистеина ЦА или МПК (COOH или NH) обрывает процесс самоорганизации на стадии созревания раствора: гели не образуются.

3. Процесс самоорганизации и гелеобразования в водном растворе L-цистеина и AgNO_2 сопровождается формированием НЧС, которые встраиваются в пространственную сетку геля, образованную супрамолекулярными цепями из молекул МС. С ростом концентрации нитрита серебра НЧС выпадают в осадок.

4. Гидрогели и водные растворы на основе L-цистеин/ AgNO_2 и N-ацетил-L-цистеин/ AgNO_2 обладают высокими бактерицидными свойствами,

при этом гели на основе L-цистеина и AgNO_2 к тому же обладают высокими антираковыми свойствами, что может найти применение в медицине.

Личный вклад автора. Автором работы самостоятельно определены методы решения задач проведенных исследований, выполнены все основные экспериментальные работы, обработка и анализ полученных результатов. Постановка задач исследования и обсуждение результатов работы проведены совместно с научным руководителем. Соавторы совместных публикаций принимали участие в постановке экспериментальных задач, проведении ряда измерений и обсуждении результатов.

Благодарности. При проведении работ использовались ресурсы и оборудование ЦКП Тверского государственного университета, ЦКП УН/О «Электронная микроскопия исследования материалов» МГУ им. М.В. Ломоносова.

Автором выражается искренняя благодарность и глубокое уважение своему научному руководителю, заведующему кафедрой физической химии, д.х.н., проф. П.М. Пахомову за многолетнее наставничество и поддержку при работе над диссертацией. Автор отдельно благодарит заведующую лабораторией спектроскопии ЦКП ТвГУ, к.х.н. Хижняк С.Д. и доцента кафедры физической химии, к.х.н. Вишневецкого Д.В. за ценные советы, рекомендации и помощь при проведении экспериментальных исследований.

Большая благодарность выражается Овчинникову М.М. научному сотруднику ТГМА, за помощь в выборе производных L-цистеина. Благодарность выражается Мехтиеву А.Р. (Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва), Ивановой А.И. (Тверской государственный университет, Тверь) и Червинцу В.М. (Тверской медицинский государственный университет, Тверь) за помощь в проведении исследований на цитотоксичность, исследование морфологии образцов методом СЭМ и бактериологических испытаний образцов соответственно.

Апробация результатов. Исследования по теме диссертационной работы выполнялись при поддержке:

1. Гранта РФФИ (проект № 18-33-00146),
2. Минобрнауки РФ в рамках выполнения государственных работ в сфере научной деятельности (проекты №4.1325.2014/К и №4.5508.2017/БЧ),
3. Германо-российского междисциплинарного научного центра G-RISC (проект № С-2015b-1).

Основные результаты диссертационной работы представлялись и докладывались на всероссийских и международных конференциях: «Реология и физико-химическая механика гетерофазных систем» (МГУ, 2015), Всероссийская научно-техническая конференция молодых учёных «Каргинские чтения» (Тверь, 2015, 2016, 2017, 2018, 2022), VIII International Symposium «Design and Synthesis of Supramolecular Architectures» (Казань 2016), Российская молодежная научная конференция «Проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Екатеринбург, 2015, 2016, 2017, 2018), Международная конференция «Ломоносов» (МГУ, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022), XIX Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2018), Международная научная конференция «Химическая термодинамика и кинетика» (Тверь, 2018), Baltic polymer symposium (Латвия, 2018), XV Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технологии неорганических материалов» молодых научных сотрудников и аспирантов (Москва, ИМЕТ РАН, 2018), International student conference "SCIENCE AND PROGRESS - 2018" (Санкт-Петербург, 2018), XVI Международная конференция «Спектроскопия координационных соединений» (Кубань, 2019), XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 2019), конференция «Супрамолекулярные стратегии в химии, биологии и

медицине: фундаментальные проблемы и перспективы» (Казань, 2020). Список тезисов докладов приведен в конце диссертации.

Основное содержание работы опубликовано в 10 статьях в журналах, 7 из которых, входят в список рецензируемых журналов, рекомендованных ВАК, 3 из них индексируются в базах данных WoS и Scopus. По материалам работы имеется патент РФ на изобретение. Полученные результаты докладывались автором на 14 Всероссийских и Международных конференциях по профилю выполнявшихся исследований. Список публикаций приведен в конце диссертации.

Структура и объём диссертации: Диссертация состоит из введения, четырёх глав, основных результатов и выводов, списка литературы (включающего 199 наименований), а также списка опубликованных по теме диссертации работ. Работа содержит 160 страниц основного текста, включая 46 рисунков и 11 таблиц.

ГЛАВА 1. СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ГЕЛИ (СМГ). ПОЛУЧЕНИЕ, СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА, КЛАССИФИКАЦИЯ И МЕТОДЫ ИХ ИССЛЕДОВАНИЯ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

1.1. Основные принципы и особенности супрамолекулярной химии

Супрамолекулярная химия или так называемая надмолекулярная химия, одна из молодых и бурно развивающихся областей химии. Предметом её изучения является образование, структура и свойства частиц, которые формируются в результате избирательной ассоциации двух и более молекул или различных фрагментов одной и той же молекулы за счёт нековалентных взаимодействий. Для обозначения супрамолекулярных комплексов используются понятия, введенные Жан-Мари Леном – супермолекула (супрамолекула) и супрамолекулярный ансамбль [2-4].

Супермолекулы – это хорошо определённые олигомолекулярные образования, которые возникают за счёт межмолекулярной ассоциации нескольких компонентов. Супрамолекулярным ансамблем называют полимолекулярные образования, возникающие за счёт межмолекулярной ассоциации нескольких компонентов в соответствии с некоторой программой, работающей на основе принципов молекулярного распознавания. Такие полимолекулярные образования возникают в результате спонтанной ассоциации в специфическую фазу – мицеллу, плёнку, гель, кристалл и др.

В супермолекулах удерживание отдельных фрагментов происходит за счёт нековалентных межмолекулярных взаимодействий: водородные связи, Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия, электростатические, дисперсионные и гидрофобные силы, образования металлокомплексов, π -стэкинг, инкапсуляции одной молекулы другими молекулами и др. (табл. 1.1).

Супрамолекулярная химия в целом предполагает какой-либо тип нековалентного связывания или комплексообразования. В таком контексте

обычно рассматривают молекулу «хозяин», связывающую другую молекулу «гость» с образованием комплекса или супермолекулы [6].

Таблица 1.1

Типы межмолекулярных взаимодействий и их энергии связи [5].

Тип нековалентного взаимодействия	Энергия связи, кДж·моль ⁻¹
Ион-ионные взаимодействия	100-350
Ион-дипольные взаимодействия	50-200
Диполь-дипольные взаимодействия	5-50
Водородная связь	4-120
Катион-π-взаимодействия	5-80
π - π -Стэкинг-взаимодействия	0-50
Силы Ван-дер-Ваальса	< 5

Соединения принято классифицировать в зависимости от силы взаимодействия между хозяином и гостем на комплексы и клатраты/кавитаты. В комплексах агрегат хозяин-гость связан преимущественно электростатическими силами, включая взаимодействия ион-диполь, диполь-диполь, водородные связи. Клатраты и кавитаты представляют собой структуры, удерживаемые менее специфическими, часто более слабыми взаимодействиями, например, гидрофобными и Ван-дер-Ваальсовыми.

Для образования устойчивой супрамолекулярной системы (комплексов, агрегатов, кластеров) из молекул необходимо выполнения несколько условий: чтобы между молекулами существовало взаимодействие, а у молекул, участвующих в образовании супрамолекулярной системы, была возможность перемещаться в пространстве. Последнее явление относят к процессу вращательной диффузии. Первое условие определяет структуру и стабильность супрамолекулярной системы, а второе – возможность создать

супрамолекулярную систему и динамику процессов образования такой системы. В отсутствие диффузии супрамолекулярные системы не образуются.

Образование супрамолекулярных систем возможно в газовой фазе, жидкости и на границе раздела фаз твердое тело – газ (жидкость), при наличии поверхностной диффузии. В твердом теле самоорганизация молекул с образованием супрамолекулярных систем возможна только в особых случаях: при наличии в твердом теле свободного объема или при пластической деформации твердого тела, когда молекулы твердого тела могут перемещаться и образовывать супрамолекулярные системы и даже наночастицы. Силы межмолекулярного взаимодействия «связывают» молекулы в супрамолекулярную систему и задают строение системы как целой структурной единицы. Как правило, супрамолекулярные системы являются «нежесткими» структурами, могут иметь много конформационных состояний с низкими барьерами переходов между ними. Изменение стереостроения супрамолекулярной системы может приводить к изменению ее спектроскопических и фотохимических характеристик. Динамическое поведение, а именно конформационные превращения супрамолекулярной системы зависит от температуры и фазового состояния вещества. Строение и свойства супрамолекулярных систем определяются химическим составом молекул и природой межмолекулярного взаимодействия между молекулами СМС.

Большую роль в образовании перечисленных структур играют гидрофобные эффекты и электростатические взаимодействия, так как многие биологические макромолекулы имеют электрические заряды, возникающие вследствие процессов взаимодействия функциональных групп биомолекул с водным окружением. Супермолекулы, которые образуются за счет электростатического связывания противоположно заряженных макромолекул, получили название полиэлектролитных комплексов [7, 8].

Образующиеся за счёт слабых взаимодействий супрамолекулярные структуры, вследствие наличия большого числа связывающих центров, могут быть очень устойчивыми. При определённых условиях: действие катализаторов, изменение рН среды, перепад давления и др., ансамбли способны обратимо диссоциировать, полностью или частично, на индивидуальные компоненты, способные к самостоятельному существованию. Силы притяжения, действующие между любой парой электрически нейтральных атомов или молекул, получили название силы Ван-дер-Ваальса. В простейшем случае они описывается двухчленным потенциалом Леннарда-Джонса, в рамках которого энергии взаимодействия между молекулами зависит от расстояния между ними.

$$U(r) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r}\right)^6 \right], \quad (1.1)$$

где r – расстояние между центрами частиц, ε – глубина потенциальной ямы, σ – расстояние, на котором энергия взаимодействия становится равной нулю. Последние два параметра являются характеристиками атомов соответствующего вещества. Первый член $\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12}$ описывает энергию отталкивания, а второй - притяжения $\left(\frac{\sigma}{r}\right)^6$ [9].

Часто в образовании супрамолекулярных систем принимают участие водородные связи. Водородную связь можно рассматривать, как особый тип связывания, при котором атом водорода, присоединённый к электроотрицательному атому, притягивается к диполю соседней молекулы или функциональной группы. Обычная водородная связь имеет равновесную длину 2.8 Å и энергию 5 ккал/моль [10]. Расстояние между атомами, связанными водородной связью (2.5-3.0 Å), меньше, чем расстояние, характерное для ван-дер-ваальсового взаимодействия, но больше чем длина ковалентных связей. Особенность водородной связи - это её направленность и насыщенность. Это приводит к тому, что молекулы, связанные

водородными связями, формируют супрамолекулярные системы одинакового стеростроения. В супрамолекулярной химии водородные связи определяют общую форму многих белков, распознавание субстратов многочисленными ферментами, определяют структуру двойной спирали ДНК и др.

Ион-дипольное взаимодействие, так же как и Ван-дер-Ваальсово (диполь-дипольное) относится к слабым, нековалентным связям. Оно обусловлено взаимодействием между ионами и полярными группами молекул (либо флуктуациями их электронной плотности). Пример ион-дипольного взаимодействия – связывание иона Na^+ с полярной молекулой воды (рис. 1.1).

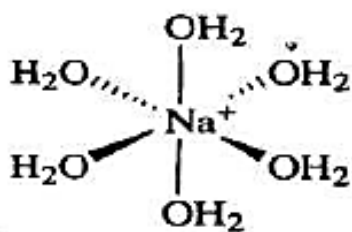


Рис. 1.1. Ион-дипольное связывание катиона Na^+ с молекулами водой.

Связывание этого типа происходит как в твердом состоянии, так и в растворе. В ряде случаев одним из взаимодействий в супрамолекулярной системе является (π - π) взаимодействие, наблюдающееся между ароматическими молекулами и сопряженными двойными связями.

В целом, межмолекулярные взаимодействия на порядок слабее, чем ковалентные связи, как следствие супрамолекулярные ассоциаты менее стабильны термодинамически, более лабильны кинетически и более гибки динамически, чем молекулы. Таким образом, супрамолекулярная химия охватывает и позволяет рассмотреть с единых позиций все виды молекулярных ассоциатов, начиная от димера – наименьшей возможной структурной единицы, и до наиболее крупных – организованных фаз [4].

Самоорганизация в супрамолекулярных системах обусловлена различными видами электростатического взаимодействия макромолекул по принципам комплементарности и обобществленных электромагнитных

оболочек, а также трехмерным взаимодействиям подходящих друг другу молекул по принципу «гость-хозяин». Структурная устойчивость и воспроизводимость супрамолекулярных комплексов обеспечивается тем, что супрамолекулярная система имеет меньшую энергию, чем суммарная энергия отдельно взятых молекул, образующих эту супрамолекулярную систему. Как следствие, приток дополнительной энергии разрушает систему.

Для образования устойчивой супрамолекулярной системы (комплексов, агрегатов, кластеров) из молекул необходимо выполнение двух условий. Необходимо, чтобы между молекулами существовало взаимодействие, и у молекул, участвующих в образовании супрамолекулярной системы, была возможность перемещаться в пространстве. Первое условие определяет структуру и стабильность супрамолекулярной системы, а второе – возможность создания динамики процессов образования такой системы. Силы межмолекулярного взаимодействия «связывают» молекулы в супрамолекулярную систему и задают строение системы как целой структурной единицы [3, 4]. При самосборке энтропия системы уменьшается, $\Delta S < 0$, поэтому для того, чтобы процесс был самопроизвольным, т. е. имел отрицательную энергию Гиббса

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S < 0, \quad (1.2)$$

необходимо, чтобы $\Delta H < 0$ и $|\Delta H| > |T\Delta S|$. Это означает, что самосборка происходит с выделением большого количества теплоты. Главной движущей силой самосборки служит стремление химических систем к понижению энергии Гиббса путем образования новых химических связей, энтальпийный эффект здесь преобладает над энтропийным [11].

Важно отметить, что самоорганизующиеся системы чрезвычайно чувствительны к состоянию окружающей среды, поскольку даже незначительная модификация формы молекулы, обусловленная изменением функционала ее свободной энергии, может приводить к существенному изменению формы надмолекулярных агрегатов, что позволяет аккуратно

управлять структурой материала. Движущей силой самоорганизации является стремление системы к термодинамическому равновесию — а именно равенству химических потенциалов идентичных молекул в различных супрамолекулярных системах. Монотонное уменьшение химического потенциала молекулы с ростом числа агрегации приводит либо к фазовому разделению раствора, либо к замыканию границ частицы на себя [11, 12].

Супрамолекулярные структуры отличают несколько связывающих очагов роста, а также комплементарность или так называемое «молекулярное распознавание» (рис. 1.2).

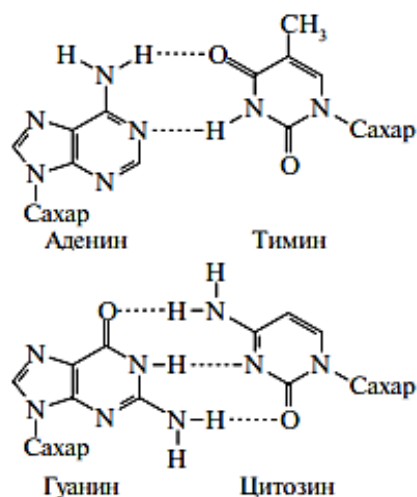


Рис. 1.2. Молекулярное распознавание с помощью водородных связей между комплементарными парами оснований в ДНК [13].

Молекулярное распознавание играет важную роль в биологических системах. В антителах и ферментах избирательность связывания определяется специфическим набором и расположением аминокислотных остатков в активном центре белка, а в ДНК и РНК — последовательностью нуклеотидов. В частности, комплементарность нуклеиновых оснований используется для конструирования наноструктур на основе фрагментов ДНК. Две макромолекулы нуклеиновых кислот закручены в спирали, при этом спирали находятся одна в другой и связаны посредством водородных связей,

которые образуются между пиримидиновыми и пуриновыми остатками. При нагревании ДНК распадается на две независимые нити, понижение температуры ниже критической точки плавления ДНК сопровождается быстрым восстановлением двуспиральной структуры, которая энергетически более выгодна, поскольку не содержит свободных водородных связей.

Супрамолекулярные образования — это достаточно часто встречающиеся объекты. В живых организмах супрамолекулярные структуры играют важнейшую роль в обеспечении его жизнедеятельности. К супермолекулам относятся комплексы тело-антитело, структуры типа рецептор-лиганд, ферментсубстратные комплексы, а межклеточные структуры, мембраны, гелевидные образования, липопротеидные частицы и многие другие являются супрамолекулярными ансамблями. Их уникальная особенность состоит в том, что они возникают самопроизвольно, без образования химической связи.

Ещё в качестве примера процессов самоорганизации молекул может служить образование тубулиновых микрофиламентов и амилоида [14,15]. Структурные единицы (короткоцепочечные пептиды) в трехмерном пространстве собираются таким образом, что атомы с одинаковыми номерами в цепи пептида оказываются строго друг напротив друга — как в кристалле. В результате происходит быстрое наращивание нанотрубки с двух ее концов. Длина трубки зависит либо от количества структурных единиц, либо от пространственного ограничения, либо от жесткости нанотрубки — слишком длинная трубка ломается, а обломки являются точкой роста новых кристаллов.

Таким образом, понятие супрамолекулярная система, включает в себя ансамбли молекул, образованных за счет межмолекулярных взаимодействий. Минимальной по составу супрамолекулярной системой является комплекс из двух молекул (рис. 1.3).

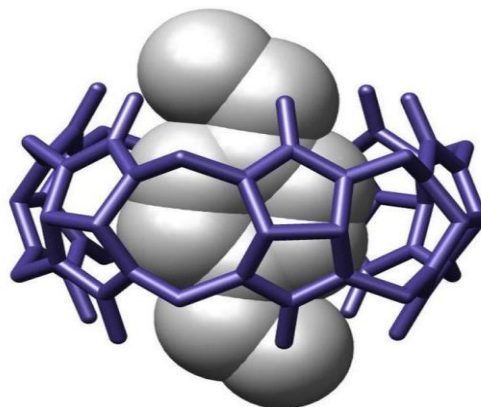


Рис.1.3. Соединение типа «гость-хозяин» р-ксилиламмония, связанного с кукурбитурилом [16].

1.2. Многообразие супрамолекулярных систем

Понятие супрамолекулярная система как ансамбль молекул было впервые введено в 30-х годах в работе [4]. Это понятие объединяет понятия супермолекулы (олигомолекулярные образования) и супрамолекулярные ансамбли (полимолекулярные ассоциаты) [2,3]. Таким образом, понятие супрамолекулярная система, включает в себя все типы ансамблей молекул, образованных за счет межмолекулярных взаимодействий, в том числе комплексы «гость – хозяин», мицеллы, везикулы и т. д. Минимальной по составу супрамолекулярной системой является комплекс из двух молекул.

Необходимость введения термина «Супрамолекулярная химия» возникла при рассмотрении необычной селективности комплексообразования катионов щелочных металлов с краун-эфирами (1978 г.) [4]. Устойчивость комплексов щелочных металлов с краун-лигандами обеспечивается распознаванием геометрически комплементарных частиц, множественностью их взаимодействия при увеличении контактной поверхностной площади реагирования. Металлокомплексы с краун-лигандами уникальный тип координационных соединений, обладающих комплексом чрезвычайно интересных свойств, в том числе имитирующий свойства природных

веществ. В качестве краун-лигандов выступают циклические и гетероциклические полиэферы. Первыми представителями таких соединений являются краун-эферы с числом кислородных атомов не менее трех, которые соединены между собой этановыми мостиками [17-19].

К краун-лигандам относятся также многочисленные аналоги краун-эфиров и их производные - азакраун-эферы, тиакраун-эферы криптанды, сферанды, каликсарены и т.д. (рис. 1.4).

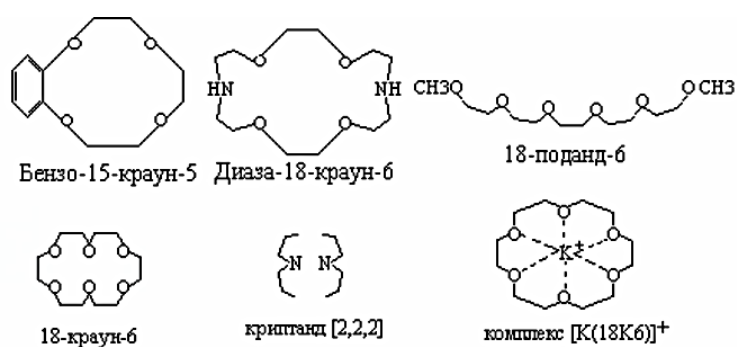


Рис. 1.4. Краун-соединения.

Азакраун-эферы, криптанды, тиакраун-эферы и их производные содержащие, в качестве донорных атомов азот и серу, обладают возможностью селективно включать в полость не только ионы щелочных и щелочноземельных металлов, но и различных переходных и непереходных металлов.

Характерное свойство этих классов соединений – образовывать комплексы за счет неподелённых электронных пар кислорода, азота и серы. Это свойство многократно усилено в краун-эфирах из-за большого числа гетероатомов в цикле, к тому же неподелённые электронные пары ориентированы внутрь цикла. В результате ионы щелочных и щелочноземельных металлов входят внутрь цикла, образуя прочные комплексы. Меняя величину цикла, можно точно настроить краун-эфир на удерживание катиона определенного размера, например, 12-краун-4 наиболее прочно захватывает катион лития, 15-краун-5 соответствует по размеру катиону натрия, а 18-краун-6 катиону калия [19].

Следующими в качестве примера супрамолекулярных систем являются комплексы на основе циклодекстринов (ЦД). ЦД - это циклические олигомеры глюкозы, благодаря наличию гидрофобной полости образуют комплексы гость-хозяин со многими органическими соединениями. Электростатическое и Ван-дер-Ваальсово взаимодействия, а также взаимодействие с переносом заряда и водородное связывание способствуют удержанию молекулы субстрата внутри полости ЦД, тогда как, например, диполь-дипольное взаимодействие зачастую и определяет взаимную ориентацию субстрата и ЦД. Форма молекул ЦД в грубом приближении представляет собой полый усечённый конус. Данная форма стабилизирована водородными связями между ОН-группами, а также α -D-1,4-гликозидными связями. Все ОН-группы в ЦД находятся на внешней поверхности молекулы. Поэтому внутренняя полость ЦД является гидрофобной и способна образовывать в водных растворах комплексы включения с другими молекулами органической и неорганической природы. В комплексах включения кольцо ЦД является «молекулой хозяином», включённое вещество называют «гостем» [20-22].

Комплексообразующие свойства сравнительно нового класса макроциклических соединений – кукурбит[*n*]урилов (рис. 1.5), имеющих гидрофобную электронодонорную полость, интенсивно исследуются в последнее время.

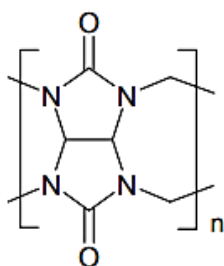


Рис. 1.5. Кукурбит[*n*]урилы,
 $n = 7, 8$.

Особый интерес вызывает способность кукурбит[*n*]урилов образовывать в водной среде прочные комплексы с положительно заряженными органическими молекулами. Кукурбитурил представляет собой макроциклический кавитанд состава $(C_6H_6N_4O_2)_n$, построенный из нескольких ($5 \leq n \leq 10$) гликолурильных фрагментов,

соединенных через метиленовые мостики. Имеет форму полого бочонка, в плоскости дна которого находятся атомы кислорода карбонильных групп. Размеры внутренней полости молекулы кукурбитурила (высота $\sim 6 \text{ \AA}$, внутренний диаметр $\sim 5,5 \text{ \AA}$) позволяют включать небольшие органические молекулы или ионы, а образованные карбонильными группами «порталы» (диаметры порталов составляют $\sim 4 \text{ \AA}$) способны связывать катионы металлов. Определение строения кукурбитурила дало импульс широкому исследованию этого соединения как макроциклического кавитанда [23, 24].

Кукурбитурил имеет высокий отрицательный заряд на донорных атомах кислорода, что повышает стабильность его аддуктов с положительно заряженными ионами. Ещё одним отличием кукурбитурила от других кавитандов, например, каликсаренов, является его структурная «жесткость» — он практически не изменяет свою форму при включении различных молекул-гостей и, следовательно, проявляет более высокую селективность при образовании соединений включения. Кукурбитурил образует стабильные соединения включения с аминами и диаминами, алкил- и бензиламмониевыми ионами, молекулами красителей [25].

Интересным примером самосборки супрамолекулярных систем является селективная сольватация в бинарных растворителях. В бинарных растворителях, состоящих из нейтрального (неполярного) и активного (полярного) компонентов, возникает селективная сольватация, при которой состав сольватной оболочки резко отличается от состава раствора в целом. Особенно сильна селективная сольватация при малых концентрациях полярного компонента [26,27]. В процессе сольватации происходит окружение частицы растворенного вещества молекулами растворителя, сольватной оболочкой, в которой каждая частица растворителя удерживается в окрестности молекулы растворенного вещества за счет нековалентных связей. Можно выделить два класса межмолекулярных взаимодействий, имеющих отношение к сольватации: специфические, такие как при

образовании комплексов или водородных связей, и универсальные, кулоновские по своей физической природе. Бинарный водно-органический растворитель путем варьирования состава позволяет получать совокупность сред, дающих возможность через смену сольватного окружения реагентов прямо влиять на характеристики реакций.

Нековалентно связанные ансамбли из нескольких компонентов формируют ассоциаты большого количества компонентов, которые в свою очередь образуют новые материалы: например, пленку, слой, мембрану, мицеллу, гель, кристалл и др. Из вышеперечисленных материалов особое место занимают СМГ.

1.3. СМГ среди многообразия гелей

Исторически сложилось так, что дать исчерпывающее определение геля было трудно, но определение, данное Дж. Д. Ферри, подходит для нашей цели: «Гели определяются как существенно разбавленная сшитая система, которая не проявляет текучести в стационарном состоянии» [28]. Они содержат компонент меньшинства, образующий сеть, а также основной агент набухания. В случае гидрогеля набухающим агентом является вода. Таким образом, многие биологические структуры и ткани можно считать гидрогелями. Гелеобразующий компонент может иметь различное происхождение и структуру, включая частицы, кристаллиты, полимеры, белки и малые молекулы. Важным требованием для формирования гидрогелей с использованием вышеупомянутых строительных блоков является их способность образовывать физические или химические поперечные связи с образованием сетчатой структуры.

В 1974 г. П. Флори [29] разделил гели на четыре основных типа:

- хорошо упорядоченные пластинчатые структуры, в том числе гелевые мезофазы,

- неупорядоченные ковалентные полимерные сети (например, вулканизированный каучук, фенольные смолы),
- полимерные сетки, образованные посредством физической агрегации (например, желатин),
- частицы, неупорядоченные структуры (например, преципитаты, состоящие из сильно анизотропных частиц или ретикулярных сетей волокон).

К настоящему времени гели принято классифицировать в зависимости от их происхождения, состава, типа сшивки, создающей их трёхмерные сети и среду, которую они охватывают (рис.1.6) [30].

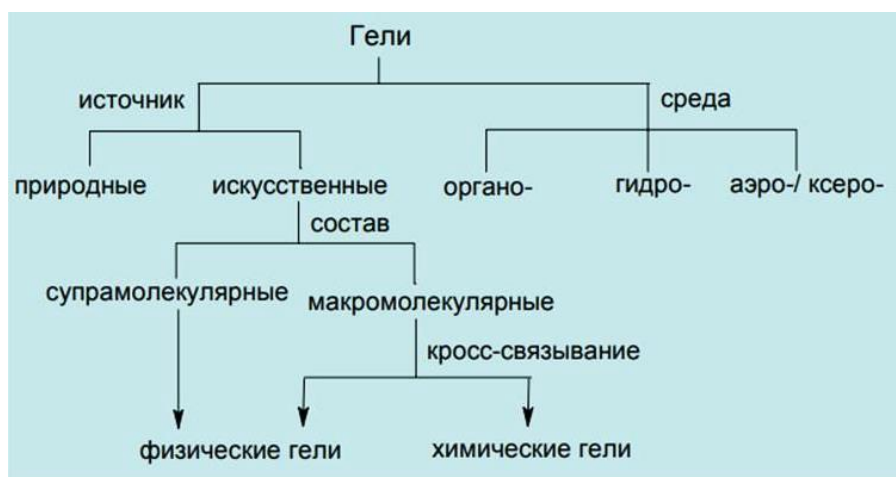


Рис. 1.6. Классификация гелей [30].

Полимерные гели состоят из сети полимерных цепей, которые набухают в воде (гидрогели), масле (липогели), либо в воздухе (аэрогели) [31].

Термин гидрогель описывает трехмерные сетчатые структуры, полученные из класса синтетических и/или природных полимеров, которые могут поглощать и удерживать значительное количество воды. Гидрогель представляет собой сеть гидрофильных полимерных цепей, иногда встречающуюся в виде коллоидного геля, в котором вода является дисперсионной средой. Трехмерное твердое тело возникает из-за того, что гидрофильные полимерные цепи удерживаются вместе поперечными

связями. Из-за присущих поперечных связей структурная целостность сети гидрогеля не растворяется из-за высокой концентрации воды [32].

Гидрогели также обладают степенью гибкости, очень похожей на естественные ткани, из-за значительного содержания воды. В качестве чувствительных «умных материалов» гидрогели могут инкапсулировать химические системы, которые при стимуляции внешними факторами, такими как изменение рН, могут вызывать высвобождение определенных соединений, таких как глюкоза, в окружающую среду, в большинстве случаев путем перехода гель-золь в состояние жидкости. Впервые термин «гидрогель» в литературе появился в 1894 году [33].

Органогель представляет собой некристаллический, нестекловидный термообратимый материал, состоящий из жидкой органической фазы, заключенной в трехмерно сшитую сеть. Жидкостью может быть, например, органический растворитель, минеральное масло или растительное масло. Растворимость и размеры частиц структурообразователя являются важными характеристиками эластичности и прочности органогеля. Часто эти системы основаны на самосборке молекул структурообразователя [34,35].

Ксерогель представляет собой твердое вещество, образованное из геля путем высыхания с беспрепятственной усадкой. Ксерогели обычно сохраняют высокую пористость (15–50 %) и огромную площадь поверхности (150–900 м²/г), а также очень малый размер пор (1–10 нм). Когда удаление растворителя происходит в сверхкритических условиях, сетка не дает усадки и образуется высокопористый материал с низкой плотностью, известный как аэрогель. Термическая обработка ксерогеля при повышенной температуре приводит к вязкому спеканию (усадке ксерогеля из-за небольшого количества вязкого течения), в результате чего получается более плотное и прочное твердое тело, достигаемые плотность и пористость зависят от условий спекания.

Также в отдельную категорию выделяют нанокомпозитные гидрогели [36, 37] или гибридные гидрогели представляют собой сильно гидратированные полимерные сети, физически или ковалентно сшитые друг с другом и/или с наночастицами или наноструктурами [38]. Нанокомпозитные гидрогели могут имитировать свойства, структуру и микроокружение нативной ткани благодаря своей гидратированной и взаимосвязанной пористой структуре. Широкий спектр наночастиц, таких как углеродные, полимерные, керамические и металлические наноматериалы, может быть включен в структуру гидрогеля для получения нанокомпозитов с заданной функциональностью. Нанокомпозитные гидрогели могут обладать превосходными физическими, химическими, электрическими, термическими и биологическими свойствами [34].

По механизму образования гелей сшивки могут быть физическими или химическими. Постоянные/химические гели: их называют «постоянными» или «химическими» гелями, так как они представляют собой ковалентно сшитые сети (заменяющие водородную связь более прочными и стабильными ковалентными связями) [39]. Они достигают состояния равновесного набухания, которое зависит от параметра взаимодействия полимер-вода и плотности сшивки. Химически сшитые гели не могут быть повторно растворены и термически необратимы. Обратимый/физический гель: их называют «обратимыми» или «физическими» гелями, когда сети удерживаются вместе за счет молекулярных зацеплений и/или вторичных сил, включая водородные связи, гидрофобные взаимодействия и др. В физически сшитых гелях растворению препятствуют физические взаимодействия, которые существуют между различными цепями [39]. Физически же сшитые гели отличаются от постоянно ковалентно сшитых полимерных гелей тем, что сшивки могут быть нарушены изменением физических условий или приложением стресса, например, при нагревании или механическом разрушении [40].

Природа этих самоорганизующихся сетевых структур и взаимодействий позволяет формировать СМГ с помощью обратимых механизмов, позволяя им переходить между состояниями геля и раствора. Эти гели имеют обратимые взаимодействия между различными цепями, которые предотвращают растворение. Данное явление происходит из-за электростатического притяжения, водородных связей или гидрофобных взаимодействий [41]. Динамическая и обратимая природа нековалентных взаимодействий, удерживающие сеточную структуру, приводят к присущей супрамолекулярным гелям способности реагировать на внешние раздражители, такие как температура, рН, растворитель, свет и окислительно-восстановительные реакции [42–45].

Кроме того, сшивающие агенты, применяемые для разработки прочных систем гидрогелевых сетей, в основном токсичны (химические гели). Таким образом, любое непрореагировавшее сшивающие агенты должны подвергнуться обработке щёлочью перед окончательным применением. Однако частично прореагировавшие токсичные сшивающие агенты не имеют возможности полностью выщелачиваться. Напротив, физически сшитые гидрогели связанными межмолекулярными связями исключают избежать этой проблемы. Интерес к физически сшитым гидрогель очевиден, так как избегают использования сшивающих агентов, и они полезны для последующей массовой модификации и простоты изготовления [46-53]. Поэтому, подобные системы являются одними из перспективных применений в области медицины и фармацевтики. Однако, главным недостатком физически сшитых гидрогелей, являются их слабые механические свойства.

Как правило, гидрогели могут быть получены либо из синтетических полимеров, либо из природных полимеров. Синтетические полимеры гидрофобны по своей природе и более прочны по сравнению с природными полимерами. Их механическая прочность приводит к медленной скорости

деградации, но, с другой стороны, механическая прочность также обеспечивает долговечность. Эти два противоположных свойства должны быть сбалансированы благодаря оптимальному дизайну. Также его можно применять для приготовления гидрогелей на основе природных полимеры при условии, что эти полимеры имеют подходящие функциональные группы [54].

Гели можно классифицировать по природе происхождения гелеобразователя. К гелеобразователям природного происхождения относят животный белок или полисахариды: желатин, пектины, агар, крахмалы, каррагинаны и др. Большинство гелеобразователей природного происхождения являются макромолекулярными, и они образуют гели за счет физического сшивания, обычно за счёт водородных связей [55].

Гели, полученные из синтетических соединений, могут подразделяться по своему строению на макромолекулярные (полимерные) и молекулярные. Образование гелей из высокомолекулярных соединений могут возникать либо в результате химических сшивок или физических взаимодействий. Когда гели образованы прочными химическими связями, они не могут повторно растворяться, и термически необратимы (например, полиэфир, полиамид, поливиниловый спирт), тогда как гели, образованные за счёт слабых нековалентных взаимодействий обратимы (например, полиакрилат, полиметакрилат) [56]. В целом, гели, полученные из низкомолекулярных соединений, супрамолекулярные в самом строгом смысле, потому что они образуются за счет самоагрегации небольших молекул гелеобразователя – низкомолекулярных гелеобразователей (НМГ). СМГ формируются за счет самоагрегации небольших молекул гелеобразователя с образованием фибриллярные сетей за счет комбинации многочисленных нековалентных взаимодействий. Из-за ориентированного структурирования эта категория мягкого материала называется «умной» системой, которая основана на сочетании супрамолекулярных строительных блоков, позволяющих достичь

определенных свойств, в отличие от ковалентно сшитых полимерных гелей, которые обычно статичны без дополнительной настраиваемости. Другими словами, динамическая природа СМГ, наделяющая их уникальными свойствами, делает их характеристики разнообразными.

Молекулярная самосборка стала интересным инструментом для конструирования структурно и функционально разнообразных мягких материалов в различных масштабах. В отличие от ковалентно-сшитых полимерных гелей молекулярные гели включают низкомолекулярные органические молекулы в качестве основных строительных блоков. Таким образом, подобно другим типам гелей, молекулярные гели также содержат непрерывный жидкий компонент и молекулы гелеобразователя, разделенные микрофазой и различными нековалентными взаимодействиями. В последнее время для создания новых функциональных гелей исследовались галогенные связи и координация металлов [57-62].

Их замечательная способность образовывать сильно запутанные самособирающиеся фибриллярные сети и инкапсулировать большое количество растворителя, что делает их привлекательными кандидатами для потенциальных применений.

1.4. Принципы процесса гелеобразования

Структурообразование в жидких дисперсных системах называют гелеобразованием, т.е. гелеобразование – это переход коллоидной системы из свобододисперсного состояния (золя) в связнодисперсное состояние (гель). При столкновении частиц в процессе броуновского движения или при перемешивании дисперсной среды происходит коагуляция. В результате образуется осадок, содержащий дисперсионную среду и дисперсную фазу. Однако между гелеобразованием и коагуляцией имеется и существенная разница. Коагулируя, частицы соединяются в компактные агрегаты, а коллоидный раствор разделяется на две фазы:

жидкую – дисперсионную среду и твёрдую – дисперсную фазу. При гелеобразовании растворитель полностью остаётся в системе, концентрация дисперсной фазы во всех частях геля не меняется. В образующихся агрегатах частицы связаны межмолекулярными силами непосредственно или через прослойку дисперсной среды.

Дисперсионная среда захватывается сеткой, как губкой, т. е. полностью иммобилизуется, благодаря чему система теряет текучесть и переходит в твердообразное состояние. Следовательно, застуднение обусловливается не слиянием сольватных слоев, находящихся на частицах дисперсной фазы, а образованием сетчатых структур за счет взаимодействия активных участков частиц дисперсной фазы.

Если мы рассмотрим начало процесса гелеобразования из раствора, процесс «сшивания» растворимых цепей индуцирует образование все более и более крупных и разветвленных цепочек. До критической точки эта смесь растущих цепей остаётся растворимой и называется зо́лем. Образуется большая молекула, охватывающая целые системы, и, если сшивка носит ковалентный характер, большая молекула не растворяется ни в каком растворителе, а только набухает или сжимается. Также сшивка цепей между собой может происходить посредством связанных между собой множественных нековалентных взаимодействий (водородными связями, Ван-дер-Ваальсовыми взаимодействиями и т. д.).

Структурообразование в растворах высокомолекулярных соединений происходит потому, что макромолекулы сцепляются активными группами, а их основные линейные цепи и боковые ответвления могут переплетаться, создавая сетчатую структуру.

Сшивание, при котором золь превращается в гель, называют золь-гель переходом или гелеобразованием, а критическая точка, при которой гель впервые появляется, называется точкой гелеобразования. Самые ранние исследования перехода золь-гель были проведены на заре науки о полимерах.

первоначальное количественное описание гелеобразования, основанное на подходах среднего поля, было разработано в 1940-х годах Флори и Стокмайером.

На процесс гелеобразования оказывают влияние концентрация дисперсной фазы, размеры частиц, форма частиц, механическое воздействие и температура.

Концентрация оказывает существенное влияние на процесс гелеобразования. При прочих равных условиях более концентрированные коллоиды и растворы ВМС легче переходят в гели и студни, чем разбавленные. Большая зависимость застудневания от концентрации объясняется тем, что в более концентрированных системах уменьшается расстояние между частицами и макромолекулами, благодаря чему увеличивается число столкновений частиц и облегчается образование структур за счёт сцепления активными центрами. С повышением концентрации возрастает число контактов и скорость их возникновения. При этом в системах, в основе которых лежит самоорганизация низкомолекулярных гелеобразователей, концентрация может играть ключевую роль [52,63].

Процесс гелеобразования также зависит от размера и формы частиц. Чем они меньше при постоянной массовой концентрации дисперсной фазы, тем больше образуется межмолекулярных взаимодействий. Также гелеобразование облегчается, если частицы анизодиаметричные. То есть частицы, имеющие различающиеся размеры по разным направлениям – палочкообразные, игольчатые, нитевидные и т.д. Экспериментально установлено, что чем ярче выражена анизодиаметричность, тем при меньшей концентрации золя легче образуется гель.

При повышении температуры скорость гелеобразования также увеличивается. Однако в результате повышения интенсивности броуновского движения гели могут переходить даже в неструктурированные жидкости.

Механическое воздействие обычно препятствует образованию геля. Однако в некоторых случаях скорость образования геля можно значительно увеличить, если сосуд медленно вращать. Это явление получило название реопсии. Однозначного объяснения этого явления нет, но некоторые ученые считают, что причиной реопсии является возникновение в системе турбулентности, ускоряющей установление контактов между частицами.

1.5. Химическая природа и принципы образования СМГ на основе низкомолекулярных соединений

СМГ получают из соединений с небольшой молекулярной массой (<3000) [64,65]. Они образуются строго за счет межмолекулярных взаимодействий, которые устанавливаются между молекулами в длинные анизотропные структуры, чаще всего в волокна, способные иммобилизовать растворитель за счет поверхностного натяжения и капиллярных сил [34,66]. Гели на основе низкомолекулярных соединений состоят из молекул, которые в процессе самоорганизации объединяются в нано- и микроразмерные структуры. Формирование СМГ - это процесс, который протекает в условиях равновесия стадий растворения и осаждения гелеобразующего компонента в среде растворителя. Выделяют три уровня организации структуры геля: первичный (молекулярный), вторичный (наноуровень, размер частиц 10-1000 нм) и третичный (макроуровень, 1 - 1000 мкм). Именно третичной структурой определяется завершающая стадия процесса - образование геля [66, 67].

Гели на основе НМГ точно следуют концепциям супрамолекулярных химии, и это может быть использовано в широком подходе при приготовлении гелей использование надмолекулярных структурных элементов. Структурирование происходит через функциональные группы, действующие как алгоритмы нековалентной связи, таких как водородная связь, координация металлической связи, катион-анион электростатическая

связь, ион-диполь, ориентация диполей, Ван-дер-Ваальсово и π -взаимодействие, о которых шла речь (табл 1.1.) и приводит к формированию самоорганизующейся сплошной сети внутри жидкости.

Большинство гелеобразователей имеют более одной функциональности в своих молекулярных фрагментах, и что действительно важно, характер взаимодействия, которому способствуют эти структурные элементы, обеспечивающие водородную связь, Ван-дер-Ваальсово взаимодействие, координацию ионов металлов, электростатическое взаимодействие и т. д. На рис. 1.7 показаны некоторые функциональные группы соединений и вещества, используемые в получении СМГ.

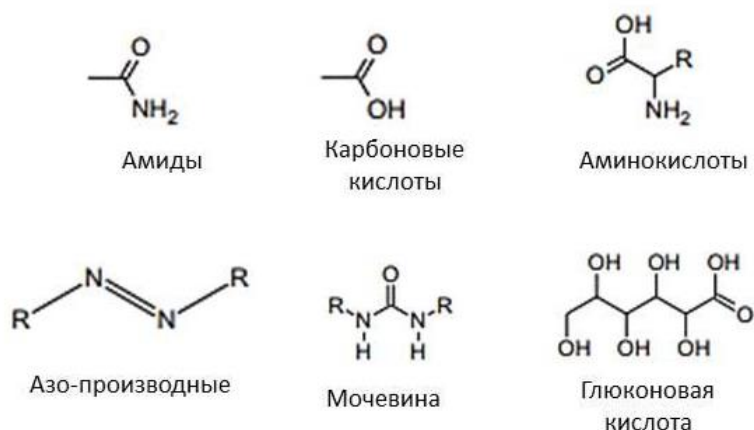


Рис. 1.7. Структурные формулы веществ и функциональные группы, используемые для получения СМГ.

Среди межмолекулярных взаимодействий водородная связь занимает особое место [68,69]. Направленное выравнивание, селективность и сила связывания максимизируют сближение молекул и приносят стабильность в волокна. Этот факт не так удивителен, если подумать о важности водородной связи в организации рибонуклеиновых и дезоксирибонуклеиновых кислот, белков [70,71].

В общем смысле фундаментальная концепция гелеобразования состоит в следующем:

1. Димеризация двух отдельных молекул;

2. Образование олигомера при взаимодействии димеров с другими молекулами за счёт межмолекулярных взаимодействий;

3. Образование полимерных фибрилл примерно одинаковой ширины, как у молекулярных строительных блоков (1-2 нм) за счет удлинения олигомеров;

4. Образование волокон путем связывания фибрилл (шириной около 20-50 нм);

5. Взаимодействие волокон для создания фактически бесконечной взаимосвязанной сети, охватывающей весь образец (наименее хорошо понятный аспект процесса гелеобразования);

6. Имобилизация растворителя сетью волокон в целом эффектами поверхностного натяжения.

Набухание гидрогелей является важным параметром, определяющим их характеристики. Наличие воды на поверхности гидрогелей снижает межфазную свободную энергию в физиологической среде и тем самым улучшают их биологические свойства. В процессе набухания первые молекулы воды гидратируют наиболее полярные, гидрофильные группы, и эта часть воды называется «первично связанной водой». Как завершается гидратация полярных и гидрофильных групп, сеть набухает и активизирует гидрофобные группы, которые начинают взаимодействовать с водой посредством гидрофобного взаимодействия. Вместе первичная и вторичная связанная вода молекул часто называют общей связанной водой [72]. После того, как вода взаимодействует как с гидрофильными, так и с гидрофобными участками, осмотическая движущая сила сетевые цепи позволяют сети поглощать больше воды. Это дополнительное вздутие противостоит наличию ковалентных или физических сшивающих соединений через упругие сила втягивания сети. Наконец, баланс силы втягивания и бесконечного разведения силы устанавливают равновесный уровень набухания [72].

Явление тиксотропии – одно из доказательств того, что структурообразование в таких системах происходит за счет нековалентных сил. В тиксотропных превращениях частицы дисперсной фазы не сливаются друг с другом, не укрупняются, т.е. степень дисперсности остается неизменной, а получаемые золи имеют одинаковую вязкость. Тиксотропные гели образуются преимущественно в системах, частицы дисперсной фазы которых имеют удлиненную или пластинчатую форму. Это и обуславливает получение структур, легко разрушающихся при размешивании и встряхивании.

Формирование СМГ возможно при очень маленьком содержании НМГ по отношению к растворителю, причем концентрация желирующего агента может находиться в диапазоне от 0,1% до 5%. В некоторых случаях содержания дисперсной фазы менее 0,1% достаточно для получения гелей. В таком случае НМГ относят к супержелаторам [50-53, 73-76]. Метастабильный характер этой категории гелей придает этим мягким материалам очень интересное свойство, которое заключается в способности получать нановолокна с различной морфологией и полиморфизмом, в зависимости по типу внешних раздражителей или при изменении препарата состоянии, еще до образования геля.

Изучение механизмов образования СМГ во многом привлекает внимание из-за трудностей исследования и понимания. С этой точки зрения часто очень трудно предсказать, сформируют ли молекулы гель или нет; действительно, гелеобразование было описано как эмпирическая наука [77]. Структурно сходные небольшие молекулы могут проявлять совершенно разную склонность к образованию гелей. Были предприняты попытки преодолеть это с помощью ряда методов [78,79]. Другие методы, которые использовались для решения этой неспособности предсказать гелеобразование, включают использование метода библиотек и вычислительных подходов. Методология библиотечковедения включает в себя

создание большого количества подобных молекул и последующее определение того, какие из них образуют гели [80-82]. Этот метод часто оказывается успешным при поиске гелеобразователей, но он менее эффективен при объяснении того, почему одни молекулы могут образовывать гели, а другие нет. Например, замена одной функциональной группы на другую приведет к изменению стерического объема молекулы, способности к упаковке, возможно, числа доноров или акцепторов водородных связей, абсолютной растворимости в том или ином растворителе и т.д. Следовательно, простые списки гелеобразователей и их эффективность часто не отражают сложность системы. Недавние достижения в вычислительных подходах были успешными в прогнозировании гелеобразователей. Группа учёных успешно предсказала гелеобразователи на основе трипептидов [83], однако в обоих случаях методы снова не объясняют, почему некоторые молекулы образуют гели, а другие нет.

На данный момент простое утверждение о том, что конкретная молекула может образовывать гели, в лучшем случае упрощенно. Это утверждение справедливо для молекулы в определенных растворителях, при определенных концентрациях и температурах, потенциально в присутствии определенных добавок; наиболее критично, если использовался тот же процесс, который авторы описывают в своей работе. Взяв их по порядку, каждая молекула будет образовывать гели в определенном концентрационном диапазоне.

Большое количество нековалентных взаимодействий с одной стороны способствует большой устойчивости супрамолекулярных ансамблей, с другой – слабые межмолекулярные связи обеспечивают обратимость процесса самоорганизации молекул и возможность управления этим равновесием путём изменения внешней среды - (рН среды, температуры, концентрации, природы растворителя и др.). Поскольку эти гель-сетки

включают слабые взаимодействия, они легко превращаются в жидкость (золь) при нагревании и обычно термически обратимы.

1.6. Методы исследования СМГ

С расширением исследований СМГ многие спектроскопические, дифракционные, микроскопические и реологические методы были использованы для лучшего понимания и характеристики свойств материалов этих гидрогелей. В частности, спектроскопические методы используются для характеристики структуры СМГ на атомном и молекулярном уровнях. Методы дифракции основаны на измерении кристалличности и помогают анализировать структуру СМГ, тогда как микроскопия позволяет исследователям исследовать эти гидрогели с высоким разрешением и получить более глубокое понимание морфологии и структуры материалов. Механические характеристики также важны для применения СМГ в различных областях. Этого можно достичь с помощью измерений атомно-силовой микроскопии, когда зонд взаимодействует с поверхностью материала. Кроме того, реологическая характеристика может исследовать жесткость, а также истончение при сдвиге и свойства самовосстановления гидрогелей.

Динамическая природа нековалентных взаимодействий, которые соединяют молекулы гелеобразователя для образования СМГ, представляет большие трудности для их характеристики. Чтобы полностью исследовать эти мягкие материалы, необходимо понимание преимуществ и недостатков каждого метода. В целом говоря, анализ и характеристика СМГ призвана помочь ученым понять, как небольшие молекулы расположены и организованы в матрицах гидрогелей, что в свою очередь приводит к новым подходам конструкции СМГ, так и для разработки различных функциональных молекулярных биоматериалов.

Спектроскопические методы, такие как методы ЯМР, УФ и ИК спектроскопии и спектроскопии комбинационного рассеяния, часто используются при характеристике СМГ. Эти эксперименты позволяют анализировать динамику состояния гель-раствор и процессы связывания, которые важны для характеристики образования и стабильности СМГ.

Спектроскопия ЯМР является эффективным методом исследования, с помощью которого можно получить много информации при правильном применении. Основное использование ЯМР-спектроскопии заключается в определении присутствия определенных видов и функциональных групп в структуре геля. Сравнение нескольких спектров ЯМР после изменения экспериментальных условий позволяет сделать вывод об изменениях в молекулярной структуре. ЯМР, который является методом исследования объектов супрамолекулярной химии, известен как ЯМР в растворенном состоянии и предоставляет информацию о составе раствора. Обычно ядра водорода изучают с помощью спектроскопии ЯМР в растворенном состоянии; однако гелеобразование и сопутствующее снижение подвижности являются ограничениями для этого конкретного метода [84].

Однако существует несколько проблем при изучении аморфных материалов, порошковых образцов, полимеров и мягких материалов. Среди неинвазивных аналитических инструментов методы спектроскопии ЯМР в растворенном состоянии играют доминирующую роль в структурной характеристике органических и неорганических соединений, гибридов, макромолекулярных структур, биомолекул и даже отдельных клеток [85,86].

Важно отметить, что идея использования ядерно-магнитной поляризации для изучения кристаллических твердых тел была реализована вскоре после ее изобретения [87]. Продолжение прогресса в области спектроскопии ЯМР, твердотельной кросс-поляризации и вращения под магическим углом высокого разрешения, сделал метод ЯМР важным инструментом в структурной химии, материаловедении и биологии [88-92].

Спектроскопия ЯМР также предлагает возможности для изучения некристаллических материалов, аморфных твердых тел, жидкокристаллических материалов, гелей и даже живых клеток.

Методы абсорбционной спектроскопии подразумевают облучение образца светом определенной длины волны и измерение оптической плотности для определения типа молекулы в образце, а также ее концентрации с использованием закона Бугера-Ламберта-Бэра [92,93]. Двумя наиболее распространенными методами абсорбционной спектроскопии являются УФ и ИК спектроскопия.

В методе УФ спектроскопии электромагнитное излучение в УФ и видимом диапазонах проходит через образец (раствор) анализируемого вещества, что позволяет провести измерение поглощения. Таким образом, как и в случае с ЯМР, сравнение УФ спектров до и после изменения переменной раствора позволяет выявить изменения в составе или концентрации. Например, отдельно π -сопряженные гелеобразующие агенты поглощают в видимой области, а спектроскопия поглощения самособирающегося производного олигопептида показала, что максимум поглощения не меняется при смене растворителя, но изменяется форма полосы поглощения (уширение, образование плеча). изменение, свидетельствующее об образовании агрегатов [94]. Различия в спектрах поглощения могут быть идентифицированы как свидетельство химических превращений. Таким образом, УФ спектры можно сравнивать в более общем виде по мере изменения химического состава растворов или гидрогелей, чтобы подтвердить структурные изменения соответствующих молекул [92, 95].

Так, гибридные гели характеризуются с использованием различных методов, но УФ-видимая спектроскопия является легко доступным методом для определения характеристик наночастиц благородных металлов, содержащихся в структуре геля [96].

Этот метод широко используется для определения размера и формы металла наночастицы. Рост металлических наночастиц в полимерной сетке или рост полимерной сетки вокруг ядра металлической наночастицы можно изучить с помощью с помощью УФ спектроскопии. Этот метод также может быть использован для исследования прикладного использования гибридных материалов в катализе, фотонике и сенсорике.

Метод ИК спектроскопии позволяет с помощью характеристических полос поглощения, отвечающих определенным колебаниям функциональных групп в молекуле, характеризовать химическое строение растворов и гелей. Например, метод ИК спектроскопии может быть использован для характеристики процесса образования СМГ и может дать представление о сборке «цепочек» на молекулярном уровне, а также позволяет определять нековалентные взаимодействия (водородное связывание), ответственные за гелеобразование. Для характеристики СМГ путем сравнения различий в спектрах поглощения раствора и геля и анализа того, какие полосы поглощения появились или исчезли, становится возможным сделать вывод о движущей силе гелеобразования [97,98].

Спектроскопия комбинационного рассеяния света или рамановская спектроскопия – еще один стандартный метод, который основан на рассеянии фотонов в результате переноса энергии на молекулярном уровне. Комбинационное (или рамановское) рассеяние является неупругим и позволяет получать данные, как и метод ИК спектроскопии, о молекулярной структуре и измерять такие свойства, как кристалличность. В работе [99] группа учёных представила новую разработку в расширении возможностей спектроскопии комбинационного рассеяния для характеристики супрамолекулярных гидрогелей. Из нормированных по концентрации разностных спектров комбинационного рассеяния, измеренных при различных значениях рН, можно было точно определить рК_а соединения. В этом смысле рамановская спектроскопия является полезным инструментом,

который можно применять для определения динамики формирования гидрогеля.

Рамановская спектроскопия с пространственным смещением – технология, значительно повышающая разрешение стандартной рамановской спектроскопии [100]. Применение этого метода позволяет определить наличие определенных металлов, таких как Au и Ag, присутствующих на анализируемой поверхности образца, например, частиц Ag включенных в СМГ на основе фенилаланина [101]. Кроме того, этот метод может использоваться для характеристики слабых межмолекулярных взаимодействий, участвующих в образовании гидрогеля. В частности, изменение интенсивности характеристических полос рассеяния в зависимости от температуры показало, что гидрогель образовался за счет межмолекулярного водородного связывания карбоксильных групп и оксалиламидных групп в молекулах гелеобразователя.

Динамическое светорассеяние (ДСР) — метод, особенно полезный при определении профиля распределения рассеивающих частиц по размерам, структурообразования и взаимодействий мелких частиц в суспензии, полимеров в растворе или супрамолекулярных системах. Этот метод также может быть использован для исследования поведения сложных жидкостей, таких как концентрированные растворы полимеров. Периодические измерения образца могут предоставить информацию о том, как частицы агрегируют с течением времени. Также данный метод часто совмещен с измерением дзета (ζ)-потенциала на поверхности рассеивающих частиц позволяет характеризовать поверхностные свойства СМГ.

Рентгеновская дифракция на кристаллической фазе под большими и малыми углами остается наиболее важным инструментом для оценки природы надмолекулярной структуры в твердом состоянии. Кроме того, в некоторых случаях показано, что самоорганизующиеся фибриллярные сети являются микрокристаллическими, что предполагает определенную степень

кристалличности, подходящую для анализа порошковой рентгеновской дифракции [102]. Во время кристаллизации условия часто отличаются от условий гелеобразования, для порошковой рентгеновской дифракции требуются высушенные гели или аэрогели. Таким образом, информация о гелях в их нативном состоянии ограничена. В растворе и геле анализ малоуглового рассеяния рентгеновских лучей (МУРР) и малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН) использовался для получения информации о самособирающихся сверхструктурах [103,104].

Методы электронной микроскопии (ЭМ) используются для визуализации деталей строения образцов с высоким разрешением (микро и нано уровни), благодаря которой можно увидеть и понять эти морфологические особенности. Хотя методы ЭМ можно использовать для характеристики морфологии многих типов гидрогелей, а также других материалов, они особенно ценны для характеристики СМГ, поскольку позволяют визуализировать отдельные волокна самособирающихся структур. Электронные микроскопы используют пучок быстрых электронов для получения изображений образцов с высоким разрешением, хотя это может привести к разрушению анализируемого вещества. Наиболее распространенными методами электронной микроскопии для характеристики гидрогелей являются просвечивающая (ПЭМ) и сканирующая (СЭМ) электронная микроскопия.

Метод ПЭМ подразумевает электронный луч, проходящий через ультратонкий образец, чтобы определить морфологию материала с чрезвычайно высоким разрешением. При изучении методом ПЭМ гидрогелей становится возможным определить форму и размеры отдельных компонентов, таких как фибриллы или мицеллы, образующие гидрогель, или их распределение в гидрогеле [105-107]. В методе СЭМ технология не требует серьезной подготовки образцов для его исследования, хотя она менее детализирована и обеспечивает только визуализацию поверхности

материалов. Несмотря на их различия, СЭМ часто применяется по тем же причинам, что и ПЭМ, для изучения морфологии СМГ. Изменение состава гидрогеля и сравнение его с исходным путем визуализации является стандартным способом определения микроскопических различий между гидрогелями [108].

Для гидрогелей обрывки доказательств присутствия фибриллярной сетчатой структуры гелей были обнаружены в гидратированном состоянии с помощью криогенной просвечивающей электронной микроскопии (Крио-ПЭМ). Сушка в критической точке с использованием сверхкритического диоксида углерода и лиофилизация жидким пропаном также дают возможность наблюдать структуры, близкие к их естественному состоянию, и условий визуализации, когда образцы претерпевают серьезные изменения или даже повреждаются. Несмотря на то, что широкий спектр гелеобразователей не позволяет получить качественные монокристаллы, тем не менее, в некоторых случаях достигается успешная кристаллизация [109].

Изучение механических характеристик СМГ осуществляется с помощью реологических методов. При установлении золь-гель перехода эти методы являются основными. Характеристика механических свойств методами реологии как на макро-, так и на микроуровне важна для всех гидрогелей, но она особенно актуальна для СМГ из-за их повышенной способности к самовосстановлению, что является результатом процесса самосборки. Реология предоставляет информацию о механических свойствах гидрогеля и его степени текучести, особенно при напряжении сдвига. Последнее особенно полезно при рассмотрении этих материалов для потенциального применения в 3D-печати или биопечати, где биочернила должны проходить через сопло, а затем затвердевать в трёхмерную структуру [110,111]. Реологические свойства истончения при сдвиге и самовосстановления также важны для обработки гидрогелей в тканевой инженерии и доставки лекарств, а также при оценке их потенциала для

минимально инвазивной доставки *in vivo* посредством инъекции [112]. Реологические свойства гидрогеля сильно зависят от механизма и степени сшивки, а также от структуры молекул, и эти свойства можно регулировать, изменяя структуру, молекулярную массу или концентрацию гелеобразователя, а также добавляя другие вещества в гидрогель.

1.7. Перспективы и области применения СМГ

Для фундаментальной науки гели представляют интерес, как системы с различными формами структурной организации. Традиционно гели определяли их ковалентно сшитыми полимерными сетками. СМГ иначе: узлы пространственной сетки и сами цепи построены за счет нековалентных взаимодействиях при самоорганизации в иерархические структуры. Этот класс материалов предлагает множество новых и интересных потенциальных применений. СМГ могут найти своё применение в качестве оптоэлектронных, энергетических, биомедицинских, биологических материалов. Такие гели обычно имеют больше параметров, которые можно регулировать для точной настройки их свойств, чем их несупрамолекулярные аналоги. Большое количество нековалентных взаимодействий с одной стороны способствует большой устойчивости супрамолекулярных ансамблей, с другой - слабые межмолекулярные связи обеспечивают обратимость процесса самоорганизации молекул и возможность управления этим равновесием путём изменения внешних условий: рН среды, температуры, концентрации, природы растворителя и др. Другими словами, динамическая природа СМГ наделяет их уникальными свойствами. Этот класс материалов предлагает множество новых и интересных потенциальных применений.

Например, были предприняты усилия по использованию уникальных свойств СМГ в области электроники для электрических проводников следующего поколения. Традиционные проводящие полимеры обладают меньшей гибкостью и технологичностью по сравнению с непроводящими

полимерами, что ограничивает их потенциальное использование в желаемых областях. Проводники на основе СМГ можно использовать не только для изготовления гибких электродов или датчиков, но также для самовосстанавливающихся цепей, электромеханических датчиков, электроактивных каркасов для инженерии мягких тканей [113-115].

Присущее СМГ свойство проявлять обратимый фазовый гель-золь переход под действием тепла, можно использовать для термосенсорных приложений. Также введение хромофора или молекулярного рецептора в молекулу гелеобразующего агента может сделать СМГ очень чувствительным к действию света или определённых химических веществ. Такие гели перспективны для разработки фото- и химических сенсоров [116-118].

В настоящее время проводятся интенсивные фундаментальные исследования, направленные на разработку методов получения новых фотоактивных материалов для широкого спектра применений в технике, медицине, биологии, энергетике и оптоэлектронике (рис. 1.8).

Изначально для создания флуоресцентных сенсоров использовалось множество различных материалов, таких как органические соединения, металлические кластеры, полупроводниковые материалы и др. По сравнению с другими флуоресцентными сенсорами, супрамолекулярные системы обладают уникальными преимуществами, включая multifunctionality и внешние сигналы (цвет, флуоресценция и состояние геля), которые основаны на динамическом и обратимом характере их нековалентных взаимодействий [120, 121]. Было показано, что различные гели излучают разные спектры света в различных режимах. Длина волны излучаемого света при этом может меняться в присутствии различных ионов.

Большой раздел применения СМГ посвящен энергетике. В этой области солнечные элементы являются особенно привлекательным применением из-за возможности настройки электрических и оптических

свойств СМГ. Поскольку солнечная энергия является легко доступным возобновляемым источником энергии, её преобразование и хранение приобрели большое значение в области энергетики. В последнее время разработано большое количество синтетических молекул, содержащих хромофорную группу, где происходит передача энергии между донором и акцептором хромофора в матрице геля.

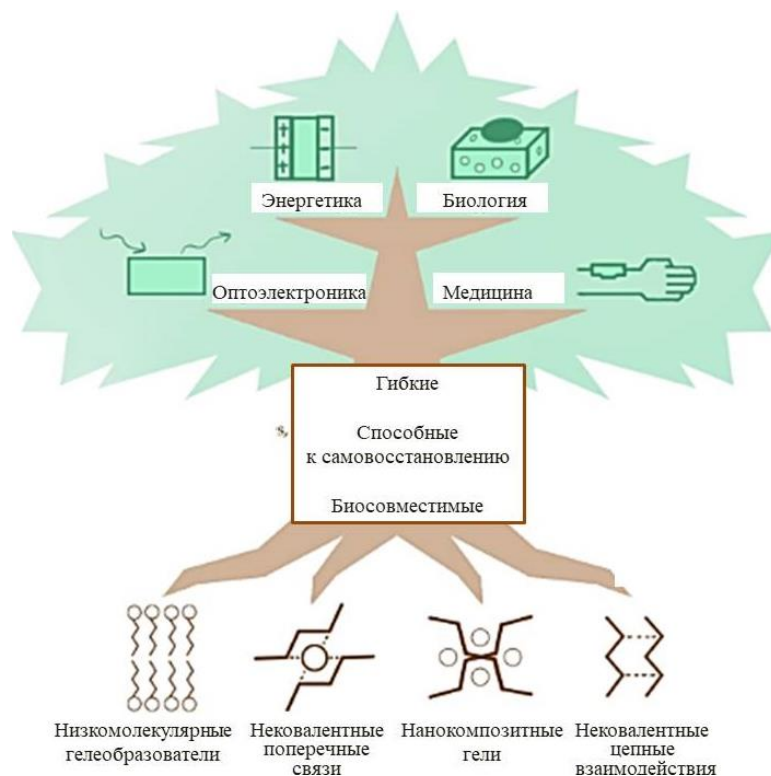


Рис. 1.8. СМГ и их практическое применение [119].

Так, в работе [122] синтезировали умный гель, состоящий из 1,8-нафталимида и производного акридина в ацетонитриле, в котором оба гелеобразователя дают фибриллярную сеть путем самосборки, и гель может действовать как светособирающая система. СМГ также нашли применение в развитии технологии солнечных элементов, сенсibilизированных красителем, выступая в качестве материала для замены жидких электролитов благодаря их проводимости и гибкости без риска утечки жидкости [123].

Разнообразие физико-химических свойств, а также более высокая их проницаемость сделали гидрогели предметом исследования в различных

областях биомедицины [124,125]. В виду отсутствия точек сшивания, гидрофильные линейные цепи растворяются в воде за счет термодинамической совместимости полимерных цепей и воды.

СМГ широко используются в клинической практике и медицине для широкого круга заболеваний, включая тканевую инженерию, регенеративную медицину, диагностику, разделение биомолекул, создание барьерных материалов. Этот биоматериал может удерживать большое количество биологических жидкостей и набухать. В виду отсутствия точек сшивания, гидрофильные линейные цепи растворяются в воде за счет термодинамической совместимости полимерных цепей и воды. В настоящее время гидрогели широко применяются в биомедицинских науках для заживления ран, тканевой инженерии и доставки лекарств [126]. В таких гидрогелях часто используются такие полимеры, как коллаген, гиалуроновая кислота, альгинат, хитозан и др. Дополнительные исследования сосредоточены на разработке биомиметических гидрогелей, которые стремятся имитировать физико-химические и биологические свойства природных материалов для тканевой инженерии при лечении кожных заболеваний [127].

Различные биоактивные молекулы, такие как антибиотики или антиоксиданты, могут быть инкапсулированы в матрицу геля за счет дополнительных нековалентных взаимодействий с образованием умных и высоко функциональных гелей [128]. Количество работ по инкапсулированию антиоксидантов в гели в основном ограничивается полимерными материалами. [129–131]. Инкапсулирование часто приводило к аналогичному поведению антиоксиданта, иногда с сохранением его активности, а иногда с небольшим улучшением. Такие же исследования инкапсулирования антиоксидантов внутри низкомолекулярных гелей пока очень ограничены, что делает эту область исследований очень интересной и привлекательной. В работе [132] сообщается о приготовлении гелевых

наночастиц, подходящих для контролируемой доставки антиоксидантов. Обнаружено, что в зависимости от структуры антиоксиданта, их инкапсуляция в структуру НМГ, может участвовать в формировании надмолекулярных взаимодействий (Н-связей и π - π -стэкинга) с волокнистой структурой. Антиоксиданты являются важными веществами для применения *in vivo* в косметике, а также в фармацевтике и могут быть включены в гели или другие составы, которые будут высвобождаться с течением времени, но они также могут улучшать и сохранять активность и применимость геля.

Возможность рационально создавать специфические, но обратимые, структуры СМГ позволяет создавать материалы для инъекций или распыления, которые можно применять с помощью минимально инвазивного введения. СМГ играют основную роль в области доставки лекарств из-за их большой адаптации с точки зрения состава и приспособляемости. Опять же наличие обратимых взаимодействий в биосовместимом геле обеспечивает то, что они могут быть разработаны с целью реагирования на различные стимулы, такие как изменение рН, ионной силы или действия фермента, разрушают гелеобразную структуру и высвобождают лекарство для конкретной цели [133].

Также СМГ могут служить в качестве матрицы для сборки наночастиц. Самособирающиеся нановолокна, произведенные супрамолекулярными гелями, используется в качестве шаблона для сборки наночастиц, потому что гели могут давать различные типы наноархитектуры, такие как скрученные наноленты, нанотрубки, спиральные наностержни и спиральные нановолокна. В работе [134] синтезировали наноцепь Ag(0) путем фотовосстановления самособирающихся нановолокон. Нанокomпозиты различных металлов в СМГ, таких как металлы Ag, Au и Pd хорошо зарекомендовали себя. Группа авторов в работе [135] сообщает, что гелеобразователи желчных кислот с тиолами могут стабилизировать наночастицы золота и серебра.

Интеллектуальные полимерные микрогели, загруженные наночастицами благородных металлов, привлекли большое внимание благодаря сочетанию многих свойств в одной системе. Такие гели примечательны наличием металлических наночастиц и пространственной сетки, окружающей их, поэтому их называют гибридными микрогелями [136]. Гибридные микрогели, наполненные наночастицами металлов, активно используются в биомедицине [137], оптике [138], электронике [139].

СМГ открывают огромное поле деятельности для исследований в области материаловедения мягких материалов. Подобные системы различных типов начинаются с надмолекулярных строительных блоков и физико-химических свойств их составляющих, что требует совместных усилий специалистов из разных областей химии, физики, техники и др. Возможность контроля над механизмом формирования СМГ позволяет получать и использовать широчайший ряд веществ с легко регулируемыми свойствами. Представленные примеры демонстрируют уникальные преимущества СМГ, включая настраиваемость, технологичность и способность к самовосстановлению, что позволяет использовать новый подход к решению инженерных задач.

1.8. Уникальность СМГ на основе L-цистеина и солей серебра

В последние годы гидрогели на основе природных полимеров привлекают повышенное внимание, поскольку могут быть использованы для биомедицинских целей, например, доставки лекарств, инжиниринга тканей. Природные полимеры, такие как полисахариды (крахмал, целлюлоза, хитин); белки (коллаген, казеин, альбумин, шелк), являются, в основном, гидрофильными, и поэтому подходят для дизайна нетоксичных биодеградируемых гидрогелей. Однако гели в этих случаях образуются на основе больших молекул высокомолекулярных соединений.

Гелеобразование на основе низкомолекулярных низкоконцентрированных соединений - явление более редкое. Среди

гелеобразующих систем, особый интерес представляют такие, в которых структурирование происходит при низком содержании дисперсной фазы. Одной из интереснейших подобных систем является гель на основе аминокислоты цистеина и ионов серебра, открытый сравнительно недавно [1].

В течение ряда лет группой исследователей кафедры физической химии ТвГУ изучается система, полученная на основе природной аминокислоты L-цистеина (2-амино-3-меркаптопропионовой кислоты) и нитрата серебра (AgNO_3). Обнаружено, что их низкоконцентрированные водные растворы при определенной концентрации и молярном соотношении исходных компонентов образуют СМГ. Данная система названа авторами цистеин-серебряным раствором (ЦСР). Было установлено, что процесс гелеобразования значительно инициируется добавлением в ЦСР электролитов с определенными анионами [1] или разбавлением раствора некоторыми водорастворимыми жидкими неэлектролитами, например, спиртами [140]. Используя комплекс современных методов исследования [49-52, 141-147] удалось достичь значительного прогресса в понимании процессов самосборки в ЦСР. Одной из движущих сил гелеобразования является комплексообразование ионов серебра с молекулами L-цистеина. Хорошо известно, что ионы серебра проявляют высокое сродство к серосодержащим лигандам. Хотя в литературе [148-150] имеется много данных об образовании комплексов серебра с различными органическими соединениями, содержащими донорные атомы серы, такими как тиолы, алкилмеркаптаны, пеницилламины и их производные, гелеобразование на основе нитрата серебра при низких концентрациях ещё не изучено. В виду того, что самоорганизация на одной из стадий происходит за счёт слабых межмолекулярных взаимодействий, гидрогель на основе L-цистеина и AgNO_3 следует отнести к супрамолекулярной системе на основе низкомолекулярных гелеобразователей.

Для эффективного использования уникальных свойств различных гидрогелей на основе супрамолекулярных соединений необходимо детальное понимание общих закономерностей, приводящих к формированию особенностей их пространственной структуры. В ходе дальнейших исследований СМГ удалось найти новые системы на основе L-цистеина и других солей серебра, а именно нитрита (AgNO_2) и ацетата (AgOOCCH_3) серебра. Было установлено, что в ЦСР на основе L-цистеина и ацетата (AgOOCCH_3) [53,151] наблюдается формирование гидрогеля при добавлении инициатора (низкомолекулярные анионы), как и для системы на основе AgNO_3 . Уникальность всех вышеперечисленных гидрогелей заключается в том, что гелеобразование наблюдается при крайне низком содержании дисперсной фазы ($\sim 0,01\%$). Следует отметить, что гелеобразование при таких концентрациях исходных компонентов относится к числу парадоксальных и редко наблюдаемых физико-химических процессов. Парадоксальность явления состоит в том, что хаотически движущиеся молекулы растворенных веществ, среднее расстояние между которыми составляет сотни ангстрем, способны спонтанно организовываться в трехмерную пространственную сетку (гель), а не образовывать, например, слабо взаимодействующие комплексы или агрегировать с образованием осадка, что, на первый взгляд, представляется более вероятным. В настоящее время известно очень мало низкомолекулярных гелеобразующих систем на основе аминокислот с низкой концентрацией.

Среди новых открытых СМГ стоит особенно отметить гидрогели на основе AgNO_2 [51,52,152]. Особенностью гидрогелей с использованием AgNO_2 является то, что их образование происходит без добавления электролита, что позволяет синтезировать их в одну стадию. Также отличительной особенностью является факт формирования НЧС в СМГ в ходе химического взаимодействия, в то время как в системах на основе других солей образование НЧС происходит посредством облучения УФ или

дневным светом [153-155]. Таким образом, синтез СМГ на основе L-цистеина и AgNO_2 позволяет получать композицию, которая представляет собой гидрогель, содержащий НЧС.

Исследование гидрогелей на основе L-цистеина и солей серебра представляет собой научный интерес. В силу своей относительной простоты строения гидрогели на основе L-цистеина и солей серебра являются удобными модельными системами для изучения процессов самосборки с целью разработки способов конструирования низкомолекулярных гелеобразователей. При этом в виду того, что исходные компоненты относятся к веществам природного происхождения, данные системы могут служить матрицей для создания новых биоактивных лекарственных соединений широкого спектра действия.

Биосовместимость и способность связывать большой объем воды при очень малом содержании дисперсной фазы ($<0,01\%$) позволяют рассматривать супрамолекулярные растворы и гели, как перспективные материалы для создания новых ранозаживляющих и противоожоговых и косметических средств.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Используемые химические вещества и реагенты

В работе использованы реактивы: L-цистеин «Acros» 99, нитрит серебра 99% (Lancaster), %, нитрат серебра 99% (Lancaster), N-ацетилцистеин $\geq 98\%$ (BioChemica), меркаптопропионовая кислота $\geq 99\%$ (Sigma), цистеамин $>98\%$ (Fluka), гидроокись калия (ч.д.а).

На основе данных реактивов были получены следующие образцы исследования:

- Цистеин-серебряные растворы со следующими молярными соотношениями и их конечными концентрациями (табл. 2.1).

Таблица 2.1.

Молярные соотношения исходных компонентов при приготовлении ЦСР и их конечные концентрации

№ образца	L-цистеин/AgNO ₂	Конечная концентрация при заданной концентрации исходных веществ, мМ			
		1	10	25	50
1	1.00/0.70	0.30/0.21	3.00/2.10	7.50/5.25	15.00/10.50
2	1.00/0.80	0.30/0.24	3.00/2.40	7.50/6.0	15.00/12.00
3	1.00/1.00	0.30/0.30	3.00/3.00	7.50/7.50	15.00/15.00
4	1.00/1.25	0.30/0.375	3.00/3.75	7.50/9.375	15.00/18.75
5	1.00/1.50	0.30/0.45	3.00/4.50	7.50/11.25	15.00/22.50
6	1.00/1.60	0.30/0.48	3.00/4.80	7.50/12.00	15.00/24.00
7	1.00/1.70	0.30/0.51	3.00/5.10	7.50/12.75	15.00/25.50
8	1.00/1.75	0.30/0.525	3.00/5.25	7.50/13.12	15.00/26.25

- Супрамолекулярные гидрогели на основе L-цистеин/ AgNO_2 - образцы №3 и №4 (табл. 2.1) с концентрациями: $C_{\text{Сцис}}/C_{\text{AgNO}_2}=3.00/3.00$; $3.00/3.75$; $7.50/7.50$; $7.50/9.375$; $15.00/15.00$; $15.00/18.75$.
- Водные растворы на основе производных L-цистеина с концентрациями:
 - НАЦ/ AgNO_2 , ($C_{\text{Нац}}/C_{\text{AgNO}_2} = 3.00/3.00$; $3.00/3.75$)
 - МПК/ AgNO_3 , ($C_{\text{МПК}}/C_{\text{AgNO}_3} = 3.00/3.00$; $3.00/3.75$)
 - ЦА/ AgNO_3 , ($C_{\text{Нац}}/C_{\text{AgNO}_3} = 3.00/3.00$; $3.00/3.75$)

2.2. Методика получения образцов и объекты исследования

Для приготовления ЦСР использовались растворы исходных веществ с концентрациями 1, 10, 25, 50 мМ. Приготовление исходного раствора L-цистеина и нитрита серебра: к навеске вещества приливается рассчитанное количество воды, и навеску растворяют при постоянном помешивании и нагревании при 60°C. Раствор хранят в защищенном от света месте. Смешивание водных растворов исходных компонентов (L-цистеин и AgNO_2) осуществляли при различных молярных соотношениях (табл. 2.1).

Методика изучения структурирования в растворах, содержащих L-цистеин и нитрит серебра: в пробирке на 4 мл к водному раствору нитрита серебра добавляли рассчитанное количество воды так, чтобы общий объем системы (после добавления раствора цистеина) составлял 2 мл, затем приливали раствор L-цистеина. Смесь быстро перемешивали встряхиванием, ставили в темное место, и через 18 ч визуально фиксировали происходящие изменения. В опытах использовали только свежеприготовленные растворы L-цистеина.

Визуальная оценка гелей происходила согласно таблице прочности по пятибалльной шкале от 0 до 5 баллов, где 0 – нет геля, 5 – прочный гель, при переворачивании не деформируется (табл. 2.2) [1, 156].

Таблица 2.2.

Пятибалльная оценка прочности гелей

Балл (оценка)	Визуальная характеристика полученного геля
5	Гель прочный – при переворачивании не деформируется
4	Гель образует куполообразный мениск, но не стекает
3	Гель медленно ползёт (стекает) по стенкам
2	Гель непрочный – легко срывается вниз
1	Гель очень слабый
0	Нет геля

Методика приготовления водных растворов для исследования процесса самоорганизации на основе МПК, ЦА и AgNO_3 состояла в следующем.

При изучении раствора ЦА к 0.6 мл водного раствора ЦА с концентрацией 0,01 М приливали 5,0-5,4 мл воды. Затем добавляли (в зависимости от решаемой задачи) 0.1 мл 0.1 Н раствора КОН и 0.6 мл раствора нитрата серебра с концентрацией 0.01 М. Объем раствора доводили водой до 6 мл, смесь перемешивали встряхиванием и помещали в защищенное от света место. Через 20 ч фиксировали наблюдаемый эффект.

При изучении раствора МПК к 0.6 мл водного раствора МПК с концентрацией 0.01 М приливали 5 мл воды, потом приливали 0.6 мл раствора нитрата серебра с концентрацией 0.01 М, и смесь перемешивали. После этого добавлялся 0.1 Н раствора КОН до получения прозрачного раствора. Объем раствора доводили водой до 6 мл, энергично перемешивали и помещали в защищенное от света место. Через 20 ч фиксировали наблюдаемый эффект.

Методика приготовления растворов для исследования методом ДСР. Растворы ЦА/ AgNO_3 и МПК/ AgNO_3 , полученные по выше описанной методике с помощью шприца пропускали через фильтр (из нитроцеллюлозы) с диаметром пор 220 нм.

2.3. Физико-химические методы исследования

2.3.1. Изучение процессов самоорганизации и гелеобразования методом УФ спектроскопии

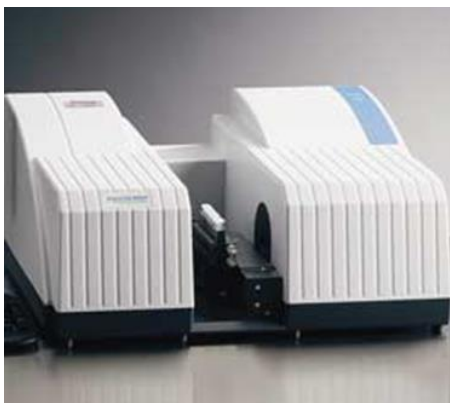


Рис. 2.1. Спектрофотометр «Evolution Array» фирмы «Thermo Scientific».

Ультрафиолетовая спектроскопия (УФ спектроскопия) – метод оптической спектроскопии, который включает в себя исследование, получение и применение спектров испускания, поглощения и отражения в ультрафиолетовой области.

В рамках проводимых экспериментов данный метод использовался для изучения комплексов с переносом заряда, отвечающих полосам поглощения 310 и 395 нм. Также с помощью УФ спектроскопии в СМГ было обнаружено присутствие НЧС, обусловленное плазмонным резонансом свободных электронов на поверхности этих НЧС.

УФ спектры регистрировали на спектрофотометре «Evolution Array» (фирмы «Thermo Scientific», USA) (рис. 2.1) в диапазоне от 200 до 1100 нм. Запись спектров осуществляли при комнатной температуре в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 мм.

2.3.2. Изучение процессов самоорганизации методом ИК спектроскопии

Инфракрасная спектроскопия (ИК спектроскопия) – физико-химический метод, изучающий спектры поглощения и отражения электромагнитного излучения в ИК области. С помощью метода ИК

спектроскопии удалось изучить молекулярные превращения на начальной стадии процесса самоорганизации в ЦСР.



Рис. 2.2. Фурье-ИК спектрометр "Vertex-70" фирмы "Bruker".

Для исследований с помощью данного метода важной частью эксперимента оказалась подготовка образцов. Важным этапом подготовки было превращение ЦСР и гелей твердые безводные порошки. Для этого гели подвергались мгновенному замораживанию жидким азотом, обеспечивающего мгновенную заморозку при температуре ~ -196 °С. После заморозки образец подвергался размораживанию до комнатной температуры. Получившиеся осадки отделялись центрифугированием и высушивались в сушильном шкафу при постоянно температуре, равной 25 °С. Из полученных высушенных порошков готовились таблетки, содержащие KBr по массе 0.72-0.74 г и исследуемый образец, представляющий собой на данном этапе высушенный порошок массой 0.0022-0.0024 г. Тщательное измельчение этой смеси происходило в мраморной ступке до мелкодисперсного состояния. Далее из полученного порошка с помощью пресс-формы формировалась таблетка. После записи ИК спектра, таблетку разрушали, и описанные выше действия проводили повторно для получения достоверных результатов и исключения ошибок. Исследование методом ИК спектроскопии позволило прояснить начальную стадию процесса самоорганизации, а именно формирование молекул МС при сливании растворов L-цистеина и нитрита серебра по исчезновению полосы поглощения 2551 см^{-1} SH-группы в исходном спектре L-цистеина.

Регистрацию ИК спектров образцов проводили с помощью Фурье-ИК спектрометра "Vertex-70" фирмы "Bruker" (рис. 2.2).

2.3.3. Метод динамического светорассеяния (ДСР), как способ определения размера частиц, дзета-потенциала

Динамическое рассеяние света, или фотонная корреляционная спектроскопия, как метод используется для измерения размеров наночастиц в нанометровом диапазоне. Данный метод позволяет определить коэффициент диффузии дисперсных частиц в жидкости путем анализа корреляционной функции флуктуаций интенсивности рассеянного света. Далее, из коэффициента диффузии рассчитывается радиус наночастиц.

Броуновское движение дисперсных частиц или макромолекул в жидкости приводит к флуктуациям локальной концентрации частиц. Результатом этого являются локальные неоднородности показателя преломления и соответственно - флуктуации интенсивности рассеянного света при прохождении лазерного луча через такую среду. Размер частиц (гидродинамический радиус) рассчитывается по формуле Стокса-Эйнштейна, которая связывает размер частиц с их коэффициентом диффузии и вязкостью жидкости

$$D = \frac{k_B T}{3\pi\eta d_r}, \quad (2.1)$$

где D – коэффициент диффузии, k_B – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура, η – вязкость, d_r - гидродинамический диаметр.

Вариант метода ДСР носит название лазерной доплеровской анемометрии (ЛДА). В частности, данная конфигурация используется для измерения электрофоретической подвижности наночастиц, откуда рассчитывается их дзета-потенциал (рис.2.3). Источником света является лазер (1). Луч лазера попадает на делитель, который кроме основного луча формирует опорный луч. Основной луч через аттенюатор (6) попадает в измерительную кювету (2). Рассеянный на угол 17° свет проходит через компенсирующую оптику (7). Детектор (3) посылает электрический сигнал на обработку в цифровой процессор сигнала (4). Полученная информация в

компьютере (5) с помощью программного обеспечения анализатора Zetasizer Nano позволяет определить частотный спектр, из которого вычисляется электрофоретическая активность и, далее, дзета-потенциал.

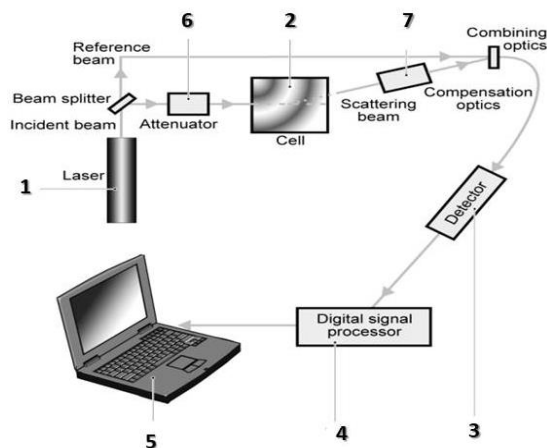


Рис. 2.3. Схема измерения дзета-потенциала анализатора.

Регистрация рассеянного света на угле 173° осуществлена в анализаторе Zetasizer Nano на основе запатентованной технологии детектирования обратного рассеяния света – NIBS (Non-Invasive Back-Scatter), что позволяет проводить измерения размеров частиц в широком диапазоне концентраций.

В ходе измерений программа по отклонению луча, падающего на образец, обрабатывает полученные данные в отношении интенсивности от времени поступления сигнала на детектор. Затем после корреляции программа выдает данные в виде автокорреляционной функции (рис. 2.4).

В зависимости от того, какого размера частицы присутствуют в растворе, такие флуктуации будут возникать на экране в программе. Затем программа проводит автокорреляцию, и результат выводит в виде автокорреляционной функции коэффициента корреляции от времени распада частиц.

Метод ДСР ценен тем, что позволяет изучать живую систему, процессы агрегации, происходящие в системе, и используется во множестве областей производственной, научной и исследовательской деятельности – везде, где необходим контроль характеристик частиц субмикронного и нано диапазона.

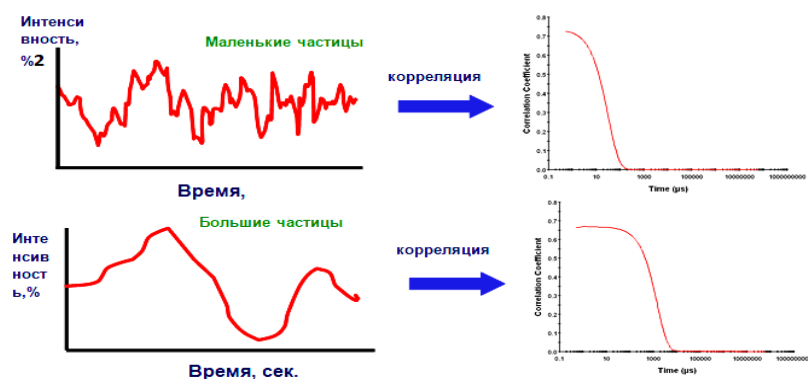


Рис. 2.4. Схема автокорреляции измерений, полученных методом динамического светорассеяния.

Измерение интенсивности динамического и электрофоретического светорассеяния в исследуемых растворах осуществляли методом ДСР с использованием анализатора Zetasizer “Nano ZS” фирмы “Malvern” с He-Ne лазером (633 нм) мощностью 4 мВт (рис. 2.5).

Этот прибор оснащен анализатором молекулярной массы с использованием статического рассеяния света. А также имеется возможность измерения подвижности частиц. Кроме измерения молекулярной массы, метод позволяет измерить второй вириальный коэффициент и параметр взаимодействия макромолекул.

2.3.4. Метод просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), как способ визуализации структуры ЦСР и СМГ

Метод ПЭМ позволил визуализировать и подтвердить сеточную природу полученных СМГ. С его помощью были получены микроснимки различного разрешения.

Структурно-морфологические характеристики образцов анализировали в Центре коллективного пользования «Просвечивающая электронная микроскопия» Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова. Исследования проводили с помощью электронного микроскопа «Leo 912 AB OMEGA» («Carl Zeiss», Германия), что позволило одновременно

получать электронограммы образцов. ЦСР и СМГ в виде капли наносили на стандартную медную сетку с полимерной подложкой из поливинилформалина толщиной около 100 нм и сушили в вакууме, затем проводили съемку.

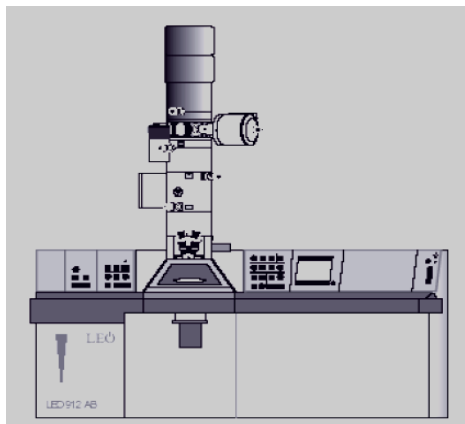


Рис. 2.6. Просвечивающий электронный микроскоп «LEO 912 AB OMEGA».

Основные характеристики микроскопа:

- Ускоряющее напряжение: 60, 80, 100, 120 кВ;
- Область освещения: 1 – 75 мкм;
- Увеличение: от x80 до x500 000;
- Разрешение изображения: 0.2 – 0.34 нм;
- Область измерения энергии неупругого рассеяния: 0–2500 эВ.

2.3.5. Исследование морфологии ЦСР и СМГ методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в совокупности с методом элементного анализа



Рис. 2.7. Сканирующий электронный микроскоп JEOL JSM6610LV.

Важной задачей в рамках исследований являлось определение структуры СМГ посредством её визуализации методом СЭМ. СЭМ – это разновидность электронной микроскопии, в которой для зондирования исследуемой поверхности используется сканирование по ней сфокусированного пучка электронов.

Морфологию и химический состав образцов изучали методом СЭМ с помощью прибора «JEOL JSM6610LV» («JEOL Ltd.», Япония), сопряженного с рентгеновским энергодисперсионным спектрометром (EDS, «Oxford INCA Energy 350», Великобритания) и способного проводить качественный и количественный элементный анализ. Подготовка образцов заключалась в напылении на их поверхность тонкого проводящего слоя платины и сушке в вакууме (10–4 Па).

Характеристики СЭМ:

- пространственное разрешение: 3 нм;
- ускоряющее напряжение: от 0.3 кВ до 30 кВ;
- увеличение: от х5 до х300000.

Важным ограничением методов электронной микроскопии является его статический характер, обусловленный трудностями приготовления образцов, и возможность существенных ошибок в определении структуры.

2.3.6. Исследование реологических свойств СМГ методом вибрационной вискозиметрии

Вибрационный метод вискозиметрии базируется на определении изменений параметров вынужденных колебаний тела правильной геометрической формы, называемого зондом вибрационного вискозиметра, при погружении его в исследуемую среду. Вязкость исследуемой среды определяется по значениям этих параметров. Преимуществом данного метода является техническая доступность метода и относительная простота интерпретации результатов исследования.

Вибрационная вискозиметрия основана на измерении сопротивления колебательному (с постоянной частотой) движению тела в исследуемой среде. Часто определяют скорость затухания колебаний (или интенсивность поглощения энергии колебаний). Этот метод удобен для измерения вязкости

при высоких температурах и других сред, в которых колебания затухают сравнительно медленно.

Данный способ подходит для определения структурно-механических свойств гелей, в том числе СМГ. Способ определения точки гелеобразования методом вибрационной вискозиметрии заключается в том, что гелеобразующий раствор помещают в измерительные сосуды разного диаметра, инициируют процесс гелеобразования и непрерывно регистрируют механическое сопротивление раствора в сосуде, строят полученные реологические зависимости на одном графике и по графику определяют точки гелеобразования и полученные таким образом кривые [157, 158]. Зависимости механического сопротивления от независимой переменной (времени или температуры), строят на одном графике и определяют точку гелеобразования как точку расхождения указанных кривых.



Рис. 2.8. Вибрационный вискозиметр SV-10.

Вязкость ЦСР и СМГ определяли с помощью синусоидального вибровискозиметра SV10 (AND, Япония), основанного на методе камертонной вибрации (рис. 2.8).

2.3.7. Измерение кислотности ЦСР и СМГ методом pH-метрии

Измерение водородного показателя важно для понимания процесса самоорганизации и гелеобразования. Исследование pH среды ЦСР позволило определить, в какой области значений pH происходило формирование СМГ.

Зависимость процессов гелеобразования от pH среды определяли с использованием pH-метра фирмы Mettler Toledo «SevenMulti» (рис.2.9).

Использование данного прибора позволяет точно измерять величину pH в широком диапазоне значений от кислой до щелочной среды.



Рис. 2.9. pH-метр фирмы Mettler Toledo серии «SevenMulti».

Особенности данного прибора:

- возможность модернизации в двухканальную систему;
- хранение в памяти до 1000 результатов в формате GLP
- множество режимов измерений;
- графическое представление калибровочной прямой;

- имеет 9 точек калибровки;
- выбор разрешения 0.001 / 0.01 / 0.1.к.

Измерение происходило при помощи комбинированного pH-электрода.

Характеристики электродов:

- полимерный корпус у электродов Expert;
- стеклянный корпус у электродов Power;
- полимерный или гелевый электролит;
- датчик температуры.

2.4. Антибактериальные испытания растворов и СМГ

Преимуществом водных растворов и гидрогелей на основе L-цистеина и его производных является природное происхождение исходных компонентов, что позволяет рассматривать объекты исследования, как биоактивные агенты с перспективой применения в области медицины. Поэтому одной из важных задач является анализ бактерицидных свойств растворов и СМГ на основе L-цистеина и его производных.

Антибактериальная активность полученных систем определялась методом диффузии в агар на газоне тест культур: *Bacillus subtilis* 6633 -

сенная палочка, сапрофитный микроб, является крупной бактериальной клеткой, которая положительно окрашивается по граммаму, растет и размножается в присутствии кислорода. *Staphylococcus aureus* P209 ATCC 25923 (золотистый стафилококк) - условно-патогенная бактерия, обитающая на различных объектах окружающей среды и в локусах человеческого организма. Микробы колонизируют кожный покров и слизистую оболочку внутренних органов. *E. coli* ATCC 25922 - кишечная палочка является представителем нормального бактериального состава (микрофлоры) человеческого желудочно-кишечного тракта, изменение количества кишечной палочки в сторону увеличения или уменьшения по сравнению с нормой расценивается как дисбактериоз первой степени. *Shigella sonnei* III №1908 - грамотрицательные, факультативно анаэробные, неподвижные, неспороносные бактерии, возбудитель дизентерийного шигеллёза. *Salmonella typhimurium* 5715 является грамотрицательной, палочковидной бактерией со жгутиками, с помощью которых этот микроорганизм передвигается. Названная бактерия - основная причина пищевого отравления (сальмонеллеза) у людей. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 - грамотрицательная подвижная (монотрих) палочковидная бактерия. Обитает в воде и почве, условно патогенна для человека, возбудитель нозокомиальных инфекций у человека. *Candida albicans* ATCC 885-653 - диплоидный грибок (молочница) – форма дрожжеподобных грибов).

Исследуемые образцы помещали микропипеткой объемом 20 мкл на засеянную тестовой культурой микроорганизмов поверхность оптимальной питательной среды и культивировали при 37⁰С в течение суток. Антибактериальную активность материала выражали в мм диаметра задержки роста.

Бактериологические испытания образцов проводились на базе Тверского медицинского государственного университета.

2.5. МТТ тест растворов и СМГ

Клетки рака молочной железы человека MCF-7 и клетки нормального эмбрионального легкого человека WI-38, полученные из Американской коллекции тканей и клеток, культивировали в 96-луночных планшетах при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в питательной среде DMEM с добавлением L-глутамина (2 мМ), антибиотиков (100 ЕД/мл пенициллина и 100 мг/мл стрептомицина) и 10% фетальной бычьей сыворотки (ФБС). Клетки инкубировали в сывороточной среде с тестируемыми соединениями в различных концентрациях в течение 48 ч и 24 ч (72 ч) для клеток MCF-7 и Wi-38 соответственно. В каждую лунку добавляли фосфатно-солевой буфер (ФБС) — (10 мл), содержащий МТТ (5 мг/мл), и клетки инкубировали при 37°C в течение 4 часов. Культуральную среду удаляли, в каждую лунку добавляли 100 мкл ДМСО, встряхивали в течение 20 мин, затем измеряли оптическое поглощение в каждой лунке при 570 нм на приборе Multiskan Spectrum Microplate Reader (Thermo Scientific, США). Показания теста МТТ усредняли по трем независимым определениям. Показания МТТ-теста в отсутствие испытуемых соединений принимали за 100%.

Анализ клеточного цикла MCF-7 методом проточной цитофлуориметрии. Клетки MCF-7 инкубировали в 6-луночных планшетах в течение 24 ч в среде с добавлением 10% ФБС и тестируемых соединений в различных концентрациях, а затем последовательно обрабатывали раствором Версена (2 мл) и 0,25% раствор трипсина; после выдержки при 37°C в течение 1 минуты их суспендировали в 2 мл среды. Клетки центрифугировали при 1500 об/мин в течение 3 мин, промывали PBS (2–3 мл), обрабатывали 70% EtOH (0.5 мл) и хранили при –20 °C. Перед экспериментом клетки промывали ФБС (3 мл) и суспендировали в 1 мл ФБС; затем в 200 мкл РНК-азы А (200 мг мл⁻¹), после инкубации при 37°C в течение 30 мин в 100 мкл йодистого пропидия (1 мг мл⁻¹), после чего клетки

выдерживали при 20°C в течение 10 мин. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре Beckmann MoFLO XDP в режиме FL3.

Испытания проводились на базе научно-исследовательского института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва.

ГЛАВА 3. ПРОЦЕССЫ САМООРГАНИЗАЦИИ И ГЕЛЕОБРАЗОВАНИЯ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ НА ОСНОВЕ L-ЦИСТЕИНА И AgNO_2

В работе нами впервые обнаружено явление гелеобразования в водных растворах на основе аминокислоты L-цистеин и AgNO_2 . Данный процесс реализуется при строгом соблюдении условий: определённые концентрации растворенных компонентов и молярные соотношения исходных веществ. Благодаря многочисленным экспериментам с использованием широкого спектра физико-химических методов, удалось выявить условия и закономерности процесса гелеобразования и исследовать полученные гидрогели, как с научной, так и с практической точки зрения.

3.1. Установление концентрационного диапазона гелеобразования в ЦСР

Установлено, что в результате смешивания водных растворов L-цистеина и AgNO_2 при концентрациях растворенных компонентов 0.01, 0.025 и 0.05 М, а также молярных соотношениях L-цистеин/ AgNO_2 1.00/1.00 и 1.00/1.25, в начальный момент образуется слегка мутный раствор, который при стоянии желирует и приобретает желтоватую окраску. Скорость формирования гелей зависит от концентрации компонентов, их соотношения, температуры и времени стояния. Все образцы гелей устойчивы во времени и проявляют тиксотропные свойства, то есть способность к многократному восстановлению после механического разрушения.

На процесс перехода раствора в состояние геля влияют природа веществ, температура, время процесса, форма частиц, рН среды и др. Важнейшими условиями, влияющими на образование супрамолекулярных гидрогелей на основе водных растворов L-цистеина и AgNO_2 , являются молярное соотношение исходных компонентов в ЦСР и концентрационный режим. Вязкость образуемых гелей, тиксотропные свойства, стабильность, дисперсность напрямую зависят от концентрации содержащихся в ЦСР

веществ. В ходе исследований выяснилось, что концентрация дисперсной фазы оказывает существенное влияние на формирование НЧС и их размеры.

Для нахождения молярных соотношений, при которых возможно гелеобразование была исследована линейка образцов - системы с молярным соотношением L-цистеин/ AgNO_2 от 1.00/0.70 до 1.00/1.75 (табл.2.1). Изучение процесса самоорганизации в низкоконцентрированных водных растворах L-цистеина и AgNO_2 осуществляли в концентрационном диапазоне дисперсной фазы от 0.001 до 0.05 М. Было установлено, что образование устойчивых гидрогелей в растворах с разной концентрацией (0.01, 0.025, 0.05 М) происходит при эквимольном соотношении и соотношении незначительного избытка соли 1.00/1.25. ЦСР на основе L-цистеина и нитрата серебра в отличие от ЦСР, имеющих в составе другие соли серебра [1,50,141-147, 151, 153-155] формируют СМГ без введения электролита.

Визуальная характеристика полученных образцов ЦСР показала, что окраска варьируется от практически бесцветных до насыщенно-жёлтых и коричневых тонов в зависимости от концентрации и молярных соотношений исходных компонентов (рис. 3.1).



Рис. 3.1. Фотографии образцов ЦСР на основе L-цистеина и AgNO_2 сразу после смешивания исходных компонентов при концентрациях 0.01М и разных молярных соотношениях компонентов от 1.00/0.80 до 1.00/1.60.

Эксперимент показал, что повышение содержания AgNO_2 приводит к усилению интенсивности окраски от светло-жёлтых до насыщенно-жёлтых. Это явление, как будет показано ниже, связано с увеличением концентрации и размера образующихся НЧС и поэтому цвет ЦСР становится насыщеннее.

Установлено, что наиболее стабильный и устойчивый результат перехода из ЦСР в состояние геля показали образцы №3 и №4, а именно процесс перехода в гель при молярных соотношениях L-цистеин/AgNO₂ 1.00/1.00 и 1.00/1.25 (рис. 3.2).

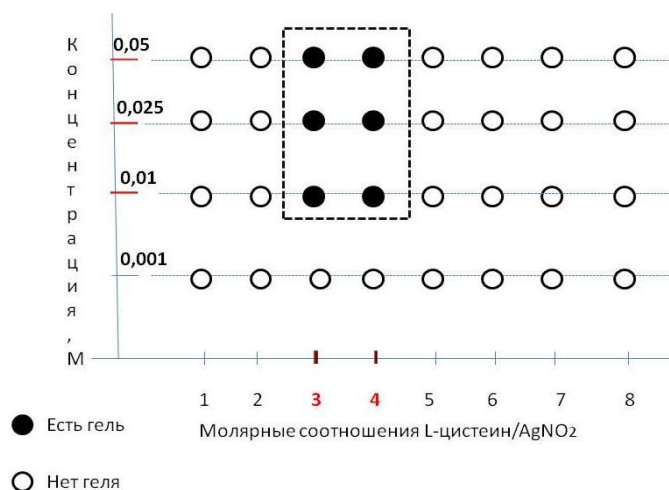


Рис. 3.2. Область гелеобразования ЦСР на основе L-цистеина и AgNO₂ для растворов разных концентрация и при разных молярных соотношениях исходных компонентов (табл. 2.1).

Сразу при смешивании L-цистеина с солью серебра можно наблюдать образование мутных растворов (рис. 3.3а). Через некоторое время (примерно 1 час при 25°C) растворы становятся желтоватыми и прозрачными (рис. 3.3б). Наконец, через 3 часа после начала реакции наблюдаются желто-коричневые прозрачные гидрогели (рис. 3.3в).

При изучении водных растворов разных концентраций был установлен концентрационный диапазон гелеобразования. Установлено, что растворы при концентрации исходных компонентов 0.001 М, независимо от молярного соотношения исходных компонентов, оказались прозрачными, и не способными к образованию гидрогелей и НЧС, что подтверждает визуальная оценка образцов (рис. 3.4а) и последующие исследования методом УФ спектроскопии.

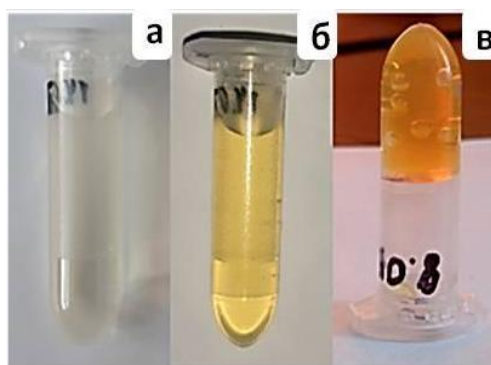


Рис. 3.3. Эволюция водных растворов в процессе самоорганизации для системы на основе L-цистеина и AgNO_2 . Молярное соотношение 1.00/1.00, концентрация исходных компонентов 0.01 М.

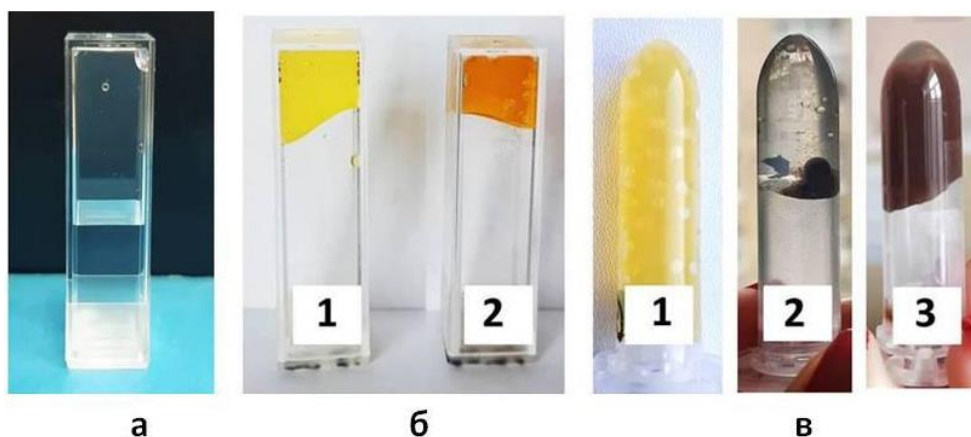


Рис. 3.4. Фотографии растворов и гелей на основе L-цистеина и AgNO_2 при концентрации исходных компонентов 0.001 (а), 0.01 (1) и 0.025 (2) (б) и 0.05 М (в) при молярных соотношениях 1.00/1.25.

При концентрации дисперсной фазы 0.01 М и молярных соотношениях L-цистеин/ AgNO_2 1.00/1.00 и 1.00/1.25 в ЦСР образуются тиксотропные, окрашенные в желтый цвет гидрогели (рис. 3.4б, образец 1). Через 5 ч после смешивания из результирующего раствора формировался гидрогель, текучесть образца резко снижалась. Период полного созревания гидрогелей в среднем составлял 24 часа.

При концентрации же исходных компонентов 0.025 М в ЦСР и молярных соотношениях компонентов 1.00/1.00 и 1.00/1.25 формировались

прочные гидрогели коричневого цвета (рис. 3.4б, образец 2), оцениваемые по шкале прочности в 5 баллов, т.е. при переворачивании пробирки текучесть гелей отсутствовала. Установлено, что при концентрации дисперсной фазы 0.025 М сразу после смешивания исходных компонентов при молярных соотношениях 1.00/1.00 и 1.00/1.25 ЦСР был бесцветным и слегка мутноватым, выпадения осадка при этом не наблюдалось, независимо от молярных соотношений компонентов. В течение первых 20 минут после смешивания мутность раствора исчезала полностью, он становился прозрачным, но приобретал слегка желтоватую окраску.

Через 2 часа наблюдения было отмечено появление мелких пузырьков газа в растворе и усиление окраски раствора до ярко-желтой. Через 3 часа после смешивания из результирующего раствора формировался гидрогель, текучесть образца резко снижалась. Гидрогели в обоих случаях обладали тиксотропными свойствами, поскольку после встряхивания виалы они переходили в состояние раствора, а через 24 часа нахождения раствора в состоянии покоя повторно образовывался гидрогель. При этом следует отметить, что для восстановления геля после механического воздействия на него при концентрации раствора 0.025 М потребовалось большее время нахождения в покое, чем для раствора с концентрацией 0.01 М. Кроме того, вязкость повторно образующихся гелей для концентрации раствора 0.025 М, по сравнению с гелями при концентрации 0.01 М, оказалась ниже (по шкале прочности составляла лишь 3 балла). То есть, тиксотропные свойства напрямую зависят от содержания дисперсной фазы вещества.

Нитрит серебра имеет ограниченную растворимость в воде [159], поэтому конечное значение концентрации исходных компонентов в ЦСР, при котором система оказалась способна к формированию геля, составляло 0.05 М. Для ЦСР с такой концентрацией исходных веществ в растворе, как и для ЦСР с концентрациями 0.01 и 0.025 М, в течение первых 24-х часов происходило формирование прочного гидрогеля жёлтого цвета (рис. 3.4в,

образец 1). После 48 часов нахождения образца в покое, наблюдалось обесцвечивание геля и выпадение осадка тёмно-коричневого цвета (рис 3.3в, образец 2). Вследствие поверхностного натяжения при переворачивании виалы происходило формирование мениска, наличие которого позволяет удерживать НЧС, содержащиеся в осадке. При лёгком встряхивании гель переходил в состояние раствора и осадок равномерно распределялся по объёму образца (рис. 3.4в, образец 3), а через 15 минут нахождения раствора в покое наблюдалось повторное формирование прозрачного бесцветного геля с осадком как в первом случае (рис. 3.4в, образец 2).

Таким образом, можно предположить, что при механическом разрушении пространственной сетки СМГ происходит разрыв межмолекулярных связей между частицами дисперсной фазы, а также разрушение и самих супрамолекулярных цепей. Восстановление же пространственной сетки геля обусловлено возобновлением этих меж и внутримолекулярных контактов благодаря тепловому броуновскому движению частиц. По-видимому, при увеличении концентрации дисперсной фазы количество растворителя (воды), во-первых, оказывается недостаточно для того, чтобы обеспечить броуновское движение частиц в полной мере, а, во-вторых, НЧС из МС выпадает в осадок.

3.2. Кинетические исследования изменения вязкости ЦСР в процессе гелеобразования

При концентрации исходных компонентов 0.01 М и молярных соотношениях компонентов 1.00/1.00 формировались прочные гидрогели жёлтого цвета, оцениваемые по шкале прочности в 4 балла, т.е. при переворачивании пробирки гель может лишь незначительно деформироваться.

Исследование кинетики вязкостных свойств ЦСР позволило определить динамику гелеобразования и зависимость значения вязкости от

молярных соотношений и концентрации исходных веществ. Реологические испытания гелей, проведённые с помощью лепесткового вискозиметра, показали, что вязкость ЦСР монотонно растёт во времени с момента сливания растворов (рис. 3.5а).

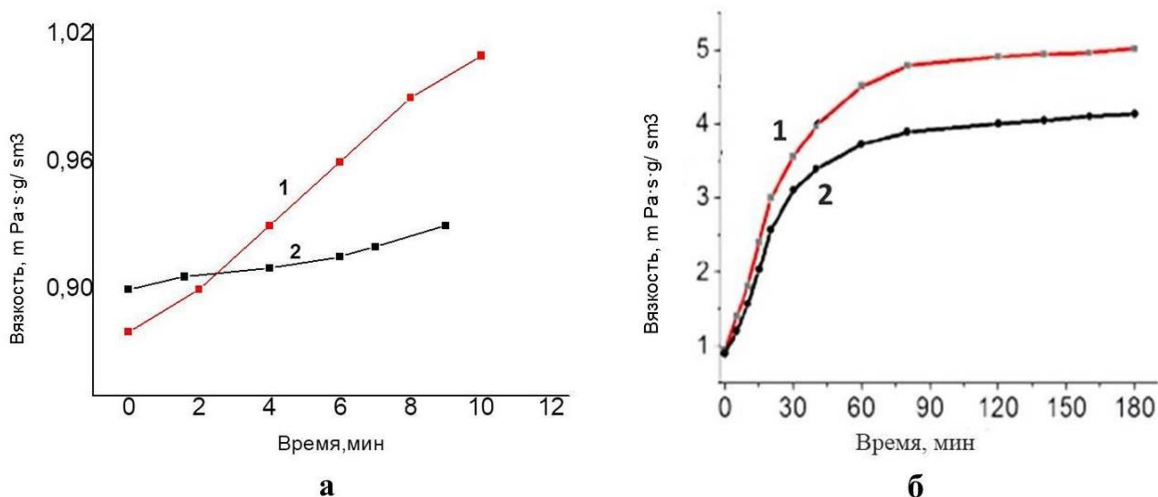


Рис. 3.5. Изменение вязкости систем L-цистеин/AgNO₂ при концентрации 0.01 М с разным соотношением исходных компонентов (1) 1.00/1.00, (2) 1.00/1.25 после сливания растворов (а) и в течение дальнейшего времени наблюдения (б).

При дальнейшем наблюдении в течение 150 минут продолжается постепенный рост значений вязкости, с выходом на постоянное значение (рис. 3.5б). Величина вязкости гидрогеля при молярных соотношениях 1.00/1.00 немногим выше, чем у гидрогеля при соотношениях 1.00/1.25. Показания вязкости, отвечающие гель-состоянию, начинаются в диапазоне значений от 3.5 и выше. При значениях вязкости ниже этой границы образцы находятся в пограничном состоянии или в состоянии раствора. Значения вязкости в начальный момент ЦСР после сливания двух исходных растворов были близки к показателю вязкости воды (рис. 3.5).

В результате механического воздействия гели подвергаются быстрому разрушению, тем самым значения вязкости снижаются практически до исходных значений для ЦСР, а сами гидрогели при этом переходят в

состояние раствора. Находясь в состоянии покоя, растворы снова, через 60-100 мин, образовывали гель, существенно увеличивая вязкость.

При концентрациях раствора 0.025 и 0.05 М формировались прочные гидрогели насыщенного жёлтого цвета, оцениваемые по шкале прочности в 5 баллов, т.е. при переворачивании пробирки текучесть гелей отсутствовала.

Как показали реологические исследования увеличение концентрации исходных веществ, приводит к росту вязкости системы, что согласуется с визуальной оценкой прочности гелей по балльной шкале. При этом гели, формирующиеся при концентрациях 0.025 и 0.05 М, показывали более высокие значения вязкости (рис. 3.6) по сравнению с концентрацией 0.01 М (рис. 3.5б).

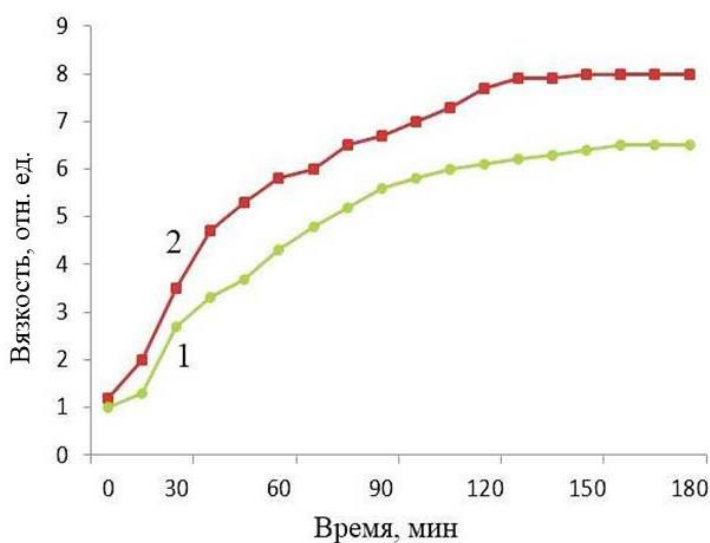


Рис. 3.6. Изменение вязкости систем L-цистеин/AgNO₂ при концентрации 0.025 М (1) и 0.05 М (2) при соотношении исходных компонентов 1.00/1.00 с течением времени.

Однако вязкость повторно образующихся гелей после их разрушения и нахождения в состоянии покоя для концентрации раствора 0.025 М, по сравнению с гелями при концентрации 0.01 М, оказалась ниже по шкале прочности и составляла лишь 3 балла. При этом гели, полученные при концентрации раствора 0.05 М, после второго цикла разрушения оказались

неспособны к переходу в гель-состояние. Основная часть жидкости, включенная в каркас геля, теряет свою подвижность, ввиду большей концентрации дисперсной фазы.

Структурирование ЦСР при концентрации 0.01 М происходит быстрее. Для ЦСР при больших концентрациях скорость гелеобразования снижается, что является одной из причин исчезновения явления тиксотропии для таких гелей.

3.3. Изучение молекулярных превращений на начальной стадии процесса самоорганизации в ЦСР с помощью метода ИК спектроскопии

Для более детального понимания процессов самоорганизации в ЦСР на молекулярном уровне использовался метод ИК спектроскопии. На рис. 3.7 представлены ИК спектры поглощения L-цистеина и высушенного ЦСР.

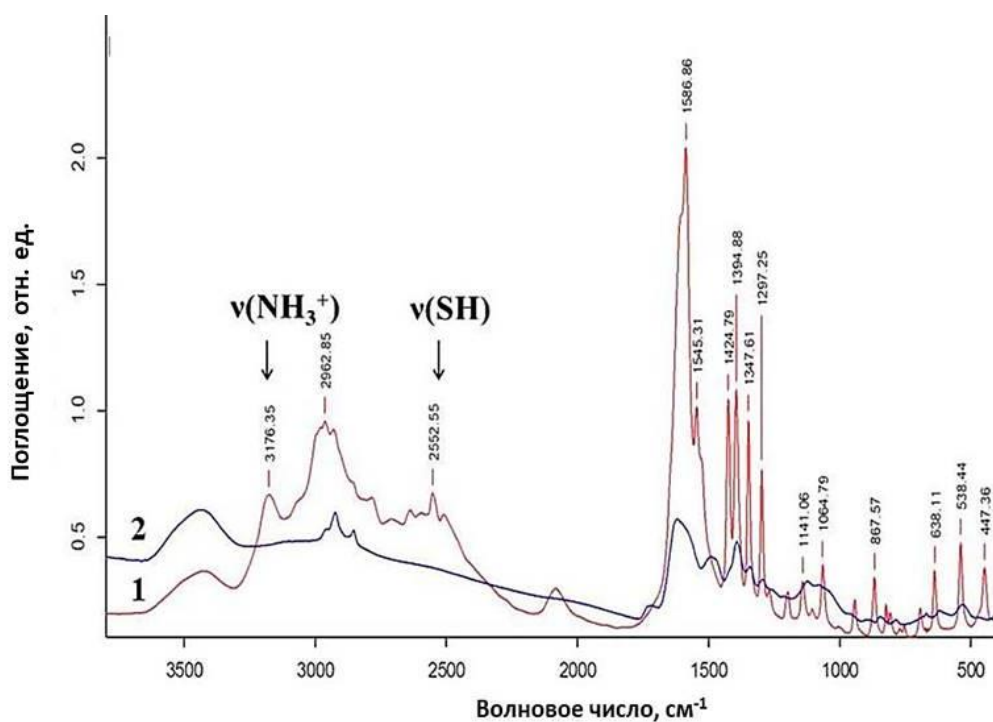
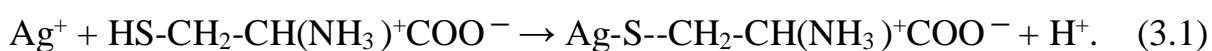


Рис. 3.7. ИК спектры поглощения порошка L-цистеина (1), и высушенного ЦСР (2) в диапазоне 3750– 500 cm^{-1} . Концентрация исходных компонентов 0.01 М, молярные соотношения 1.00/1.00.

ИК спектральные исследования показали, что взаимодействие L-цистеина и AgNO₂ в водном растворе происходит по тиольной группе (SH). Об этом свидетельствует отсутствие в ИК спектрах высушенного ЦСР полосы поглощения валентных колебаний SH-группы с максимумом 2552 см⁻¹. Наблюдаемый экспериментальный факт характеризует образование молекул МС при сливании водных растворов L-цистеина и AgNO₂, что наблюдалось ранее при использовании других солей серебра (нитрата и ацетата серебра) [1, 50, 141-147, 151, 153-155], по формуле:



В водном растворе молекула МС представляет цвиттер-ион. Следует отметить, что МС наблюдался и в СМГ. Наряду с образованием МС также обнаружено подкисление раствора. Кроме исчезновения полосы поглощения, ответственной за валентные колебания $\nu(\text{SH})$, существенные изменения происходили в области валентных и деформационных колебаний OH-, NH-, CH- и SH-группировок молекулы цистеина (рис. 3.7), но отнесение этих полос и интерпретация наблюдаемых изменений требует дальнейших более детальных исследований.

Данные ИК спектроскопии подтверждают предположение, что одним из этапов процесса самоорганизации при смешивании водных растворов L-цистеина и AgNO₂ является образование МС.

3.4. Исследование структурных перестроек в ЦСР и геле с помощью метода УФ спектроскопии

Анализ УФ спектров ЦСР показывает, что, начиная с момента сливания двух водных растворов исходных компонентов происходят существенные изменения (рис. 3.8). Установлено, что трансформация спектров наблюдается в течение нескольких часов. Для ЦСР при молярных соотношениях 1.00/1.00 в первые минуты с начала эксперимента присутствуют полосы поглощения с максимумами 285 и 357 нм (рис. 3.8, спектр 1). Полоса поглощения при 357

нм соответствует электронному переходу $n-\pi^*$ в гидратированном NO_2^- [160]. Известно, что Ag^+ может образовывать с различными тиолами полимерные комплексы структуры типа $\text{Ag-S(R)}\cdots\text{Ag-S(R)}\cdots\text{Ag-S(R)}\cdots$, где $\text{R} = \text{HS-CH}_2\text{-CH(NH}_3^+)\text{COO}^-$ [161-163]. В таких комплексах полоса поглощения при 285 нм отвечает за переход с переносом заряда для связей лиганд-металл-металл.

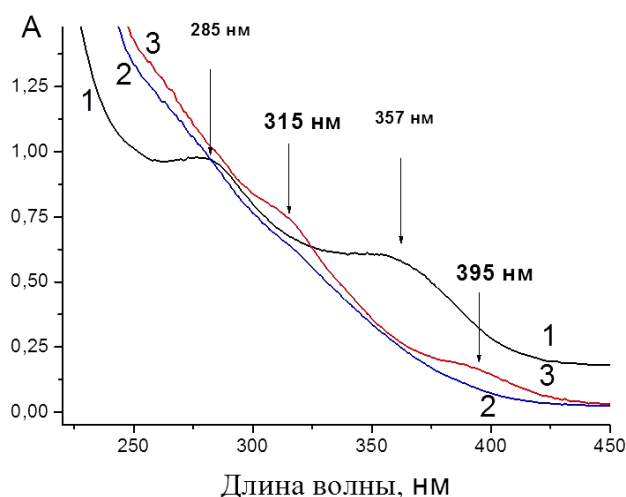


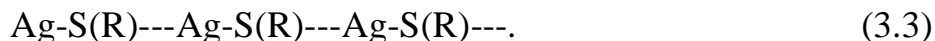
Рис. 3.8. Электронные спектры поглощения водной системы L-цистеин/ AgNO_2 1.0/1.0, во времени: 1 – в начальный момент, 2 – через 20 мин, 3 – через 3 часа.

Через 20 минут после начала эксперимента наблюдалось полное исчезновение полосы поглощения при 357 нм (рис. 3.8, спектр 2). Это можно объяснить тем, что в присутствии первичных аминокислот в кислых средах $\text{NO}_2^-(\text{NO}^+)$ может реагировать с ними по общей схеме (реакция диазотирования)



Наконец, через 3 часа можно увидеть появление новых полос поглощения при 315 и 395 нм (рис. 3.8, спектр 3). Возникновение новых полос поглощения и рост их интенсивности во времени наблюдается для некоторых супрамолекулярных цепочечных структур, образованных чередованием донорно-акцепторных связей между атомами серебра и серы. Например, ранее [50,74,141-147] такой эффект наблюдался при созревании

ЦСР на основе цистеина и нитрата серебра (AgNO_3) при формировании супрамолекулярных цепей из цвиттер-ионов МС типа



Таким образом, появление новых полос поглощения (315 и 395 нм) в УФ спектре ЦСР обусловлено образованием комплексов с переносом заряда в супрамолекулярных цепях из молекул МС [149,162-165].

При изучении ЦСР и гелей методом УФ спектроскопии важным моментом являлось выяснение особенностей структурных перестроек, происходящих в растворе в зависимости от концентрации исходных компонентов. На рис. 3.9а, представлены УФ спектры ЦСР и гидрогелей при соотношении исходных компонентов L-цистеин/ AgNO_2 равном 1.00/1.00 и их различной концентрации: 0.001 (1), 0.01 (2) и 0.025 М (3).

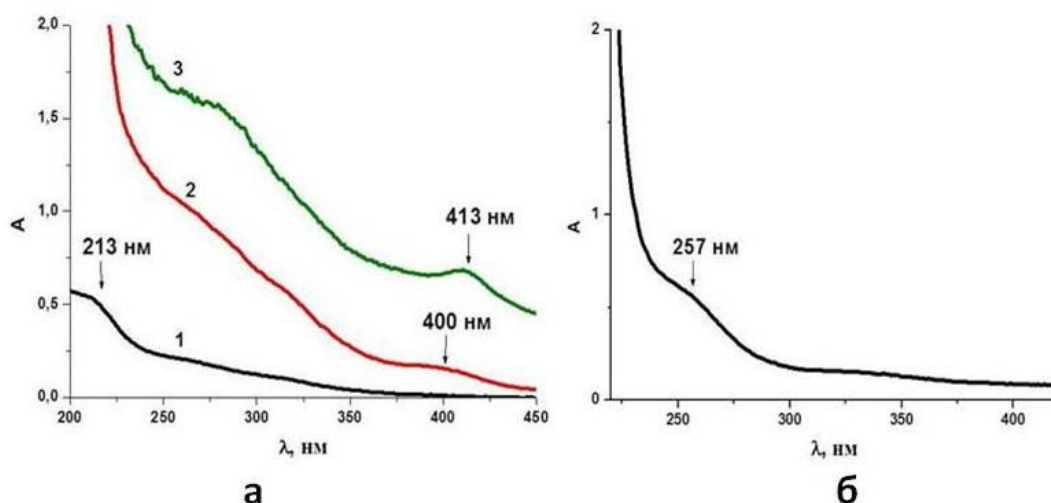


Рис. 3.9. УФ спектры поглощения ЦСР и гелей для образцов с концентрацией исходных компонентов 0.001 М (1), 0.01 М (2) и 0.025 М (3) при молярных соотношениях L-цистеин/ AgNO_2 1.00/1.00 (а) и для бесцветного геля (надосадочная жидкость – рис. 3.3 в, образец 2) 0.05 М (б). Измерения проведены через 1 сутки после приготовления ЦСР.

Из рис. 3.9а (спектры 2 и 3) видно, что при концентрации 0.01 и 0.025 М в УФ спектре геля появляются полосы поглощения на длине волны 400 нм и выше, обусловленные плазмонным резонансом свободных электронов на

поверхности образовавшихся НЧС [166,167]. Отметим, что гель при этом окрашивается в желтый цвет при концентрации 0.01 М и в коричневый цвет при концентрации 0.025 М. В УФ спектре с ростом концентрации нитрита серебра растет интенсивность полосы поглощения плазмонного резонанса и сдвиг полосы в сторону больших длин волн (от 400 до 413 нм), что свидетельствует о росте размера НЧС [168,169]. При концентрации ЦСР 0.001 М раствор бесцветен и НЧС в нем не наблюдаются (рис. 3.9а, спектр 1).

На рис. 3.9б представлен УФ спектр надосадочной бесцветной жидкости (см. рис. 3.4в, образец 2). Легко видеть, что в УФ спектре жидкости отсутствуют полосы поглощения, связанные с НЧС.

В ЦСР с разным молярным соотношением исходных компонентов также обнаружено существенное изменение характера УФ спектров поглощения. Для этого были выбраны растворы одной концентрации (0.01 М) при разных молярных соотношениях исходных компонентов (табл. 2.1). С ростом содержания $AgNO_2$ в растворе наблюдалось увеличение интенсивности полосы поглощения, отвечающей плазмонному резонансу свободных электронов на поверхности НЧС, а также ее сдвиг в сторону больших длин волн от 390 до 420 нм (рис. 3.10).

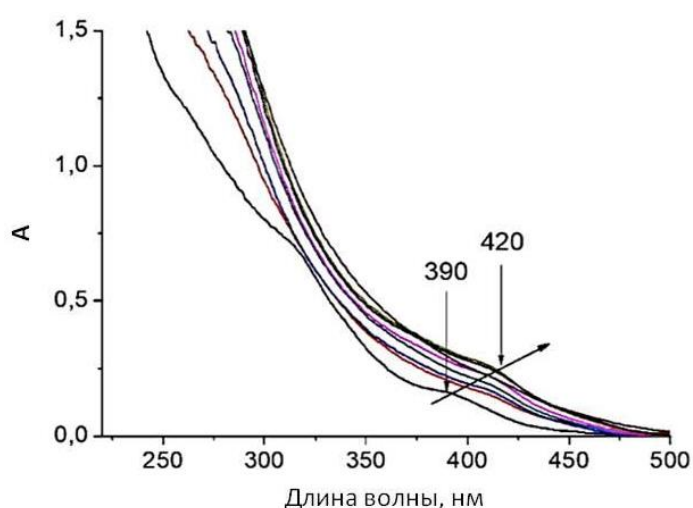


Рис. 3.10. УФ спектры ЦСР на основе L-цистеин/ $AgNO_2$ при различных молярных соотношениях: для систем №1-№8 (табл. 2.1).

Наблюдаемые изменения в УФ спектре свидетельствуют о росте концентрации и размера образующихся НЧС с увеличением концентрации соли серебра в растворе.

Итак, поскольку нитрит серебра является сильным окислителем, процесс гелеобразования в ЦСР происходит без введения соли-инициатора, как это имело место в случае с нитратом серебра [1, 49, 141-147] или ацетатом серебра [52,151]. Наряду с процессом гелеобразования в ЦСР происходит формирование НЧС, а сами супрамолекулярные цепи при этом разрушаются. И чем выше концентрация нитрита серебра в растворе, тем интенсивней протекают эти структурные перестройки. Процесс формирования НЧС в системе сопровождается окрашиванием образца сначала в желтый, а затем коричневый цвет.

3.5. Изучение строения и свойств ЦСР методом ДСР, определение дзета-потенциала и электропроводности

Методом ДСР проводилось изучение распределение рассеивающих частиц по размерам в ЦСР для образцов с молярным соотношением компонентов 1.00/1.00 и их растущей общей концентрацией от 0.01 до 0.05 М (рис. 3.11).

Полученные данные демонстрируют мономодальное распределение частиц по размерам во всех случаях. Средний размер рассеивающих частиц колеблется в диапазоне от 58 до 84 нм. С ростом концентрации дисперсной фазы в растворе наблюдается тенденция к небольшому увеличению размеров частиц в процессе самоорганизации. Результаты эксперимента показали, что формирование частиц происходит достаточно быстро, и их размеры остаются практически неизменными в течение достаточно продолжительного времени наблюдения.

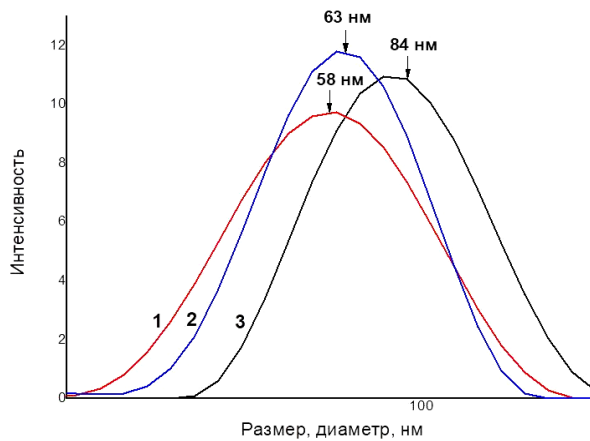


Рис. 3.11. Распределения рассеивающих частиц по размерам для систем с молярным соотношением 1.00/1.00 и концентрацией исходных компонентов 0.01 (1), 0.025 (2) и 0.05M (3) через 85 мин после смешивания.

Исследование ЦСР одной концентрации 0.01 М, но с разным молярным соотношением компонентов, показывает, в этих растворах присутствуют частицы разного размера (рис. 3.12).

Для ЦСР с молярным соотношением компонентов 1.00/1.00 (рис. 3.12а) содержатся частицы со средним размером меньшего диаметра (50 нм), чем в растворе с избытком серебра 1.00/1.25 (рис. 3.12б - 70 нм). Размер частиц в

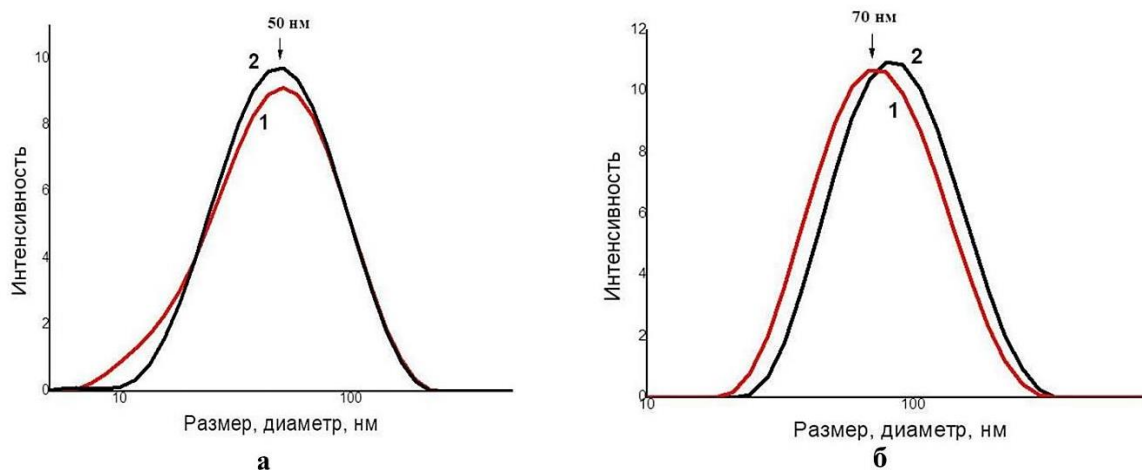


Рис. 3.12. Распределения частиц по размерам в зависимости от времени для ЦСР при соотношениях 1.0/1.0 (а) и 1.00/1.25 (б): 1 – через 3 мин, 2 – через 85 мин.

ЦСР при соотношении компонентов 1.00/1.00 практически не изменялся во времени, а при соотношении 1.00/1.25 размер частиц несколько подрастал, что свидетельствует о протекающих структурных перестройках со временем в растворе, при избытке серебра.

Важную информацию о поведении заряженной системы, каковой является ЦСР, дает измерение ζ -потенциала, электрофоретической подвижности и электропроводности исследуемых ЦСР. Хорошо известно, что ζ -потенциал является мерой стабильности системы. На рис. 3.13 представлены результаты измерения величины ζ -потенциала для ЦСР с различными молярными соотношениями компонентов (табл. 2.1).

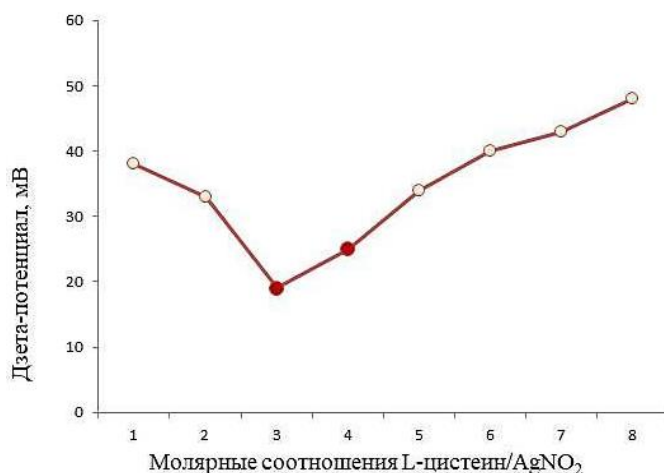


Рис.3.13. Значения ζ -потенциала для образцов №1-№8 (табл. 2.1).

Пределы стабильности системы отвечают значениям ζ -потенциала при 30 мВ [170,171], т.е. образцы №3 и №4 находятся в области стабильных значений ζ -потенциала с точки зрения теории двойного слоя. Гели для образцов №3 и №4 находятся в стабильном состоянии в течение длительного времени, в отличие от растворов при других соотношениях, не способных к гелеобразованию и склонных к выпадению осадка.

Поэтому наиболее детальному изучению были подвержены гелеобразующие ЦСР при соотношениях 1.00/1.00 и 1.00/1.25. Для корректного анализа растворы были разбавлены в несколько раз. Значения ζ -

потенциала, электрофоретической подвижности и электропроводности для гелеобразующих ЦСР представлены в табл. 3.1.

После завершения реакции, протекающей в растворе, значения дзета-потенциала составляют +21 и +24 мВ при соотношении компонентов 1.00/1.00 и 1.00/1.25, соответственно, и не меняются при разбавлении. Для сравнения, дзета-потенциал созревшей системы L-цистеин/AgNO₃ той же концентрации составляет +60 мВ [141-146].

Таблица 3.1.

Электрохимические параметры разбавленных ЦСР на основе L-цис/AgNO₂ и концентрацией исходных компонентов 0.01M при разных молярных соотношения.

Образец	Дзета-потенциал, мВ	Электрофоретическая подвижность, мксм/(В·с)	Электропроводность, мСм/см
L-цис/AgNO ₂ , 1.00/1.00 2-х кратное разбавление	+18,80	0,82	0,088
L-цис/AgNO ₂ , 1.00/1.00 4-х кратное разбавление	+21,10	0,83	0,042
L-цис/AgNO ₂ , 1.00/1.00 8-х кратное разбавление	+21,20	0,85	0,027
L-цис/AgNO ₂ , 1.00/1.25 2-х кратное разбавление	+23,70	1,22	1,055
L-цис/AgNO ₂ , 1.00/1.25 4-х кратное разбавление	+24,20	1,25	0,062
L-цис/AgNO ₂ , 1.00/1.25 8-х кратное разбавление	+24,30	1,27	0,034

Положительное значение системы определяется NH_3^+ -группами. Кроме того, известно, что положительное или отрицательное значение дзета-потенциала стабилизированных НЧС сильно зависит от pH [172]. Отсюда можно предположить, что для системы L-цистеин/ AgNO_2 поверхностный заряд частиц уменьшается за счет реакции диазотирования (3.2). Положительное значение агрегатов, по-видимому, связано с остаточными аминогруппами или катионами серебра в образовавшейся структуре. Электропроводность же системы падает при ее разбавлении из-за уменьшения концентрации заряженных частиц.

Результаты, полученные методом ДСР, свидетельствуют о стабильности и устойчивости частиц в ЦСР на основе L-цистеин/ AgNO_2 во времени.

3.6. Изменение величины pH в процессе самоорганизации и гелеобразования ЦСР

Полученные значения pH образцов ЦСР и гелей согласуются с процессами, протекающими в растворах. Измерения показали, что сразу после смешивания исходных растворов происходит резкое падение величины pH до значений $\text{pH} = 3.30 - 3.45$ (табл. 3.2) в сравнении с $\text{pH} = 5.20$ исходного раствора L-цистеина и $\text{pH} = 5.64$ раствора AgNO_2 .

Таблица 3.2.

Величина pH для систем при концентрации исходных компонентов 0.01 М при разных молярных соотношениях.

Молярное соотношение исходных компонентов (L-цис/ AgNO_2)	1.00/1.00	1.00/1.25
Величина pH свежеприготовленной системы	3.31	3.45
Величина pH системы через 5 дней	2.90	3.11

Это обусловлено большей концентрацией положительно заряженных ионов водорода (H^+) относительно отрицательно заряженных гидроксид-ионов (OH^-), в результате значения рН ЦСР находятся в кислой области.

В процессе созревания ЦСР величина рН продолжает уменьшаться. После окончания процесса гелеобразования (5 дней) величина рН составляет 2.90 и 3.11 для разных соотношений (табл. 3.2), что связано с уменьшением количества OH^- за счет реакции диазотирования. L-цистеин, в котором присутствует алифатическая аминогруппа, диазотируется в растворах при рН >3.00 . Из слабой азотистой кислоты в кислой среде, формируется нитрозоний катион согласно реакции диазотирования аминогруппы L-цистеина (выражение 3.2).

Данная реакция является важной стадией в процессе самоорганизации и дальнейшем формировании гидрогеля. Кроме того, в ходе реакции мы наблюдали незначительное выделение пузырьков. Следует отметить, что в нашем случае побочные реакции NO^+ с SH-группами подавляются за счет его блокировки ионами серебра.

3.7. Морфология гидрогелей и характеристика их элементного состава

Морфология образца существенно зависит от элементного состава вещества, его пространственной организации, способа получения и др. Исследование морфологии ЦСР и гелей дает полезную информацию о их строении, а также позволяет прояснить процессы самоорганизации и гелеобразования, протекающие в ЦСР. Морфологию гелей на основе L-цистеина и $AgNO_2$ при концентрациях исходных компонентов 0.01, 0.025 и 0.05 М характеризовали с помощью методов электронной микроскопии (СЭМ – сканирующая электронная микроскопия и ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия).

Результаты, полученные для рассматриваемых образцов с помощью метода ПЭМ, представлены на рис. 3.14.

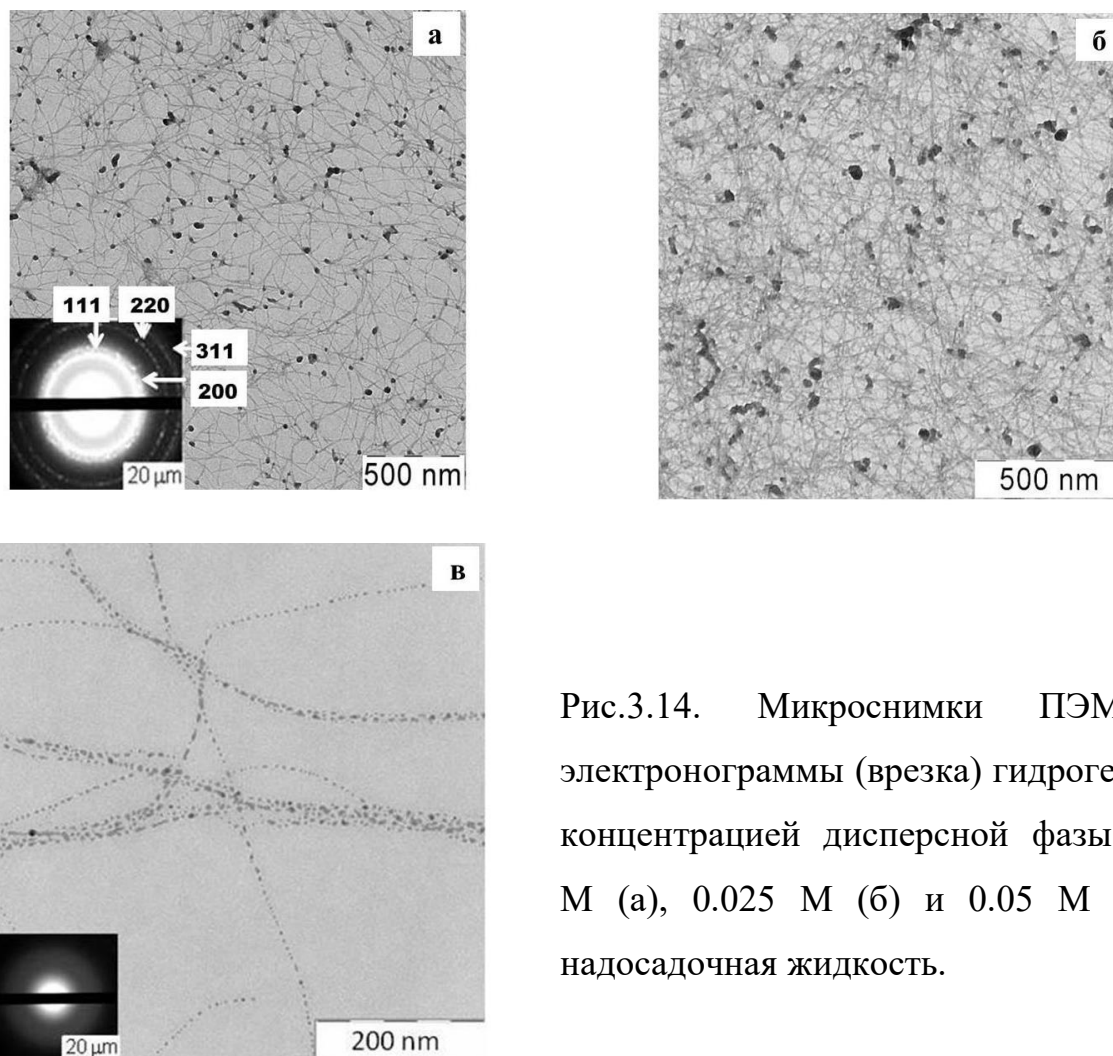


Рис.3.14. Микроснимки ПЭМ и электронограммы (врезка) гидрогелей с концентрацией дисперсной фазы 0.01 М (а), 0.025 М (б) и 0.05 М (в) – надосадочная жидкость.

На этом рисунке представлены микроснимки и электронограммы для образца с дисперсной фазой 0.01 М (рис. 3.14, а), 0.025 М (рис. 3.14б) и для надосадочной жидкости 0.05 М (рис. 3.14в). Для образцов гелей с концентрацией исходных компонентов 0.01 и 0.025 М отчетливо проявляется пространственная сетка (серые волокна) с инкорпорированными в нее сферическими частицами черного цвета диаметром около 20-40 нм, представляющими НЧС (рис. 3.14а). Для образца с большей концентрацией дисперсной фазы (рис.3.14б) густота пространственной гель-сетки выше и размер НЧС также подрос.

На электронограмме гидрогелей (рис. 3.14а врезка) четко проявляется система дифракционных колец, отвечающих отражению от плоскостей (111), (200), (220) и (311), характерных для кристаллических НЧС [74,173]. В то же время для надосадочной жидкости (бесцветный гидрогель – рис. 3.14в) наблюдается редкая пространственная сетка, образованная сферическими кластерами серого цвета. Происхождение серых кластеров может быть связано с формированием супрамолекулярных цепей на основе МС [75], сворачивающихся в клубки за счет энтропийных сил, и/или L-цистеин/Ag⁺ комплексов [50,73, 162,163]. Отсутствие НЧС в данном образце демонстрирует электронограмма (рис. 3.14в), на которой дифракционные кольца, характерные для наночастиц, не наблюдаются. Для надосадочной жидкости (бесцветный гидрогель) характерна редкая пространственная сетка.

Рис. 3.15 демонстрирует микроснимки гелей, полученные методом СЭМ. Для гидрогеля с концентрацией 0.01 М на снимке легко видеть пространственную сетчатую структуру (рис. 3.15а). У гидрогелей с большей концентрацией дисперсной фазы (0.025 М) наблюдается более регулярная и плотная структура (рис. 3.15б), что подтверждается результатами реологических испытаний (большая вязкость: сравните рис. 3.5 и 3.6). Бесцветный гель или надосадочная жидкость образца (рис. 3.4в-2) при концентрации исходных компонентов 0.05 М также имеет сетчатое строение, но сетка существенно разрежена (рис. 3.15г). Морфология коричневого осадка (рис. 3.4в-2), показана на рис. 3.15в. На микроснимке видны лишь отдельные частицы в виде агрегатов различной формы и размера при полном отсутствии сетчатой структуры.

С помощью элементного анализа удалось определить массовую долю того или иного элемента на определяемом участке (рис.3.15в,г). Элементный анализ осуществлялся на основе рентгеновских спектров, выбранных участков. Наиболее интересной для исследования оказалась система с

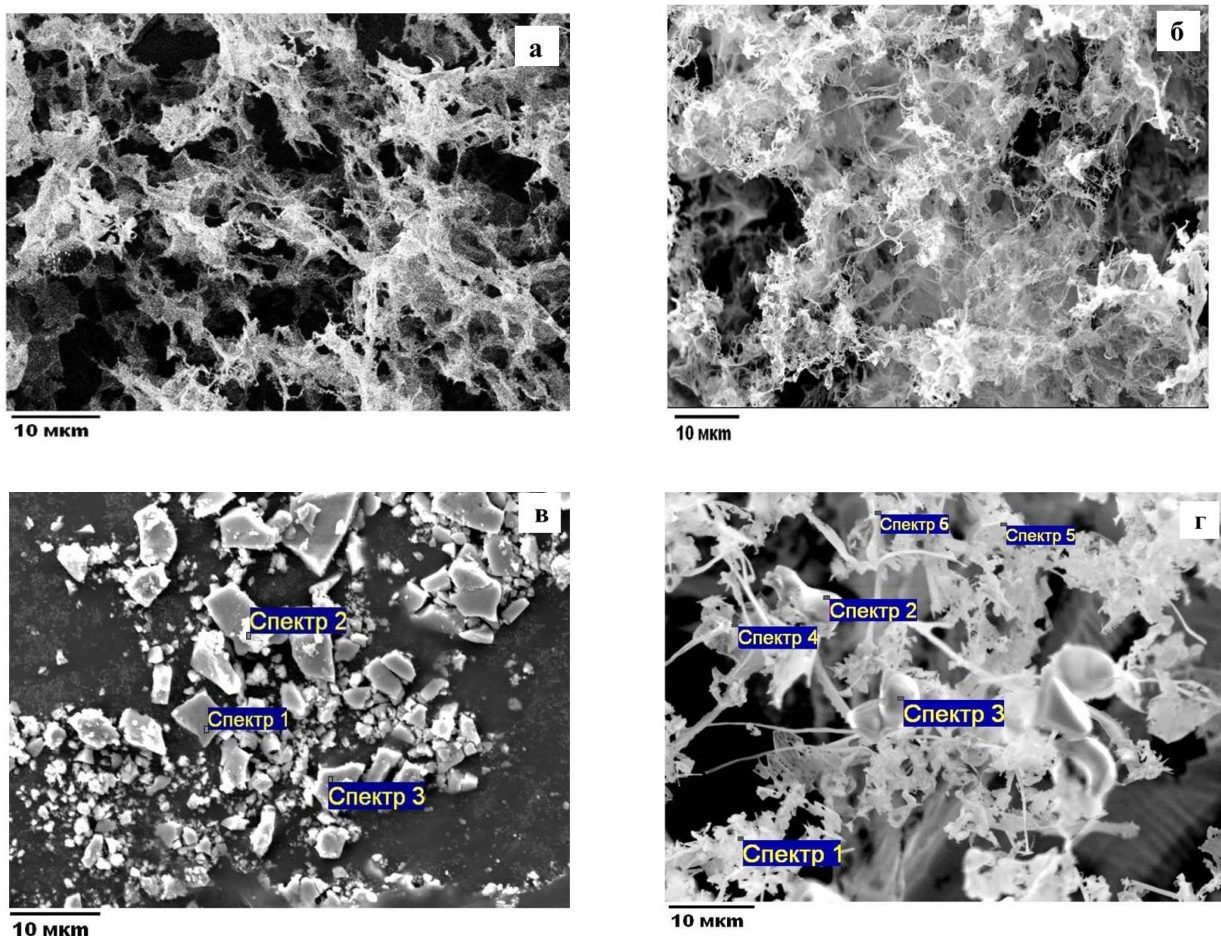


Рис. 3.15. Микроснимки СЭМ геля при концентрации 0.01 М (а), 0.025 М, (б) при соотношениях компонентов 1.00/1.00, а также твёрдого осадка в геле (в) и бесцветного геля (г) (рис.3.4в, образец 2) при концентрации 0.05М.

концентрацией исходных компонентов 0.05 М, при стоянии которой наблюдалось обесцвечивание геля и выпадение коричневого осадка. Результаты элементного анализа для образца с дисперсной фазой 0.05 М показали, что в выпавшем осадке содержится большое количество Ag (табл. 3.3).

В то же время в осадке присутствуют и другие химические элементы. Наночастицы агрегируют между собой за счет водородных связей между амино- и карбоксильными группами аминокислоты, образуя микрочастицы серебра различного размера.

Таблица 3.3.

Результаты элементного анализа образца с дисперсной фазой 0.05 М (рис. 3.4 в) в % по весу.

Спектр	Элементы				
	С	N	O	S	Ag
Осадок					
Спектр 1	10.28	11.43	5.75	8.23	64.31
Спектр 2	17.36	9.05	11.31	7.24	55.04
Спектр 3	16.88	12.32	12.26	6.41	52.12
Жидкость над осадком					
Спектр 1	7.09	0.83	4.42	0.13	1.09
Спектр 2	6.16	3.14	5.33	0.12	3.17
Спектр 3	4.09	3.74	6.24	0.12	18.00
Спектр 4	3.21	1.87	2.46	0.14	0.94
Спектр 5	4.74	1.29	3.54	0.22	1.97
Спектр 6	5.79	3.78	4.86	0.03	3.45

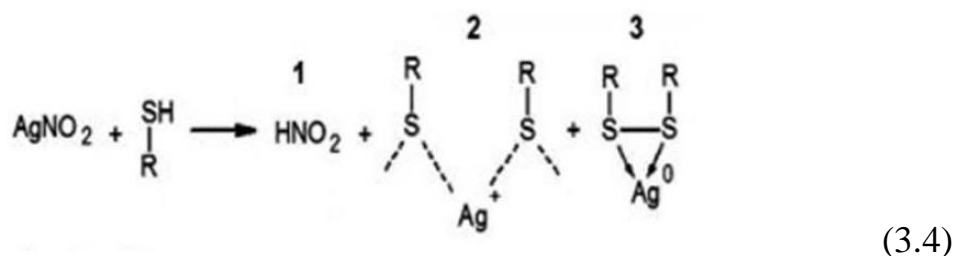
Элементный анализ бесцветного геля показал, что в образцах также содержится Ag и другие элементы, но их существенно меньше, по сравнению с осадком. Построение гель-сетки возможно и при низком содержании серебра в образце, при этом за формирование редкой пространственной сетки геля отвечает сама аминокислота.

3.8. Предполагаемый механизм гелеобразования в водных растворах L-цистеина и AgNO₂

По результатам, полученным с помощью комплекса физико-химических методов, удалось сделать выводы о качественном и

количественном элементном составе полученных гелей и их морфологии, что в свою очередь позволило предложить механизм и описать процессы самоорганизации в ЦСР.

Можно предположить (выражение 3.4), что при смешении водных растворов L-цистеина и AgNO_2 взаимодействие этих двух молекул приводит к образованию цистеин-серебряных комплексов с одной стороны (2) и реакции восстановления ионов серебра до НЧС с другой (3). Азотистая кислота (1) является третьим продуктом этих реакций, что является причиной подкисления среды. Действительно, в начальный момент смешения мы наблюдали некоторое помутнение раствора, что может свидетельствовать об образовании комплексов серебра $[\text{S}(\text{R})]_2\text{Ag}$, где R-фрагмент молекулы цистеина. Через несколько минут раствор становился прозрачным, то есть в течение непродолжительного времени происходило формирование супрамолекулярных цепей: $\text{Ag-S}(\text{R})\text{---Ag-S}(\text{R})\text{---Ag-S}(\text{R})\text{---}$. Известно, что L-цистеин используется как восстановитель [174], в то время как AgNO_2 является сильным окислителем. При этом может происходить образование металлического Ag^0 в ходе окислительно-восстановительной реакции. Кроме того, мы предполагаем, что НЧС также могут образовываться при разрушении супрамолекулярных цепей $\text{---Ag-S}(\text{R})\text{---Ag-S}(\text{R})\text{---Ag-S}(\text{R})\text{---}$.



NO^+ , образованный из HNO_2 , диазотирует группы NH_3^+ МС, в ходе которой образуются группы ---OH . Образование геля инициируется реакцией протонированной карбоксильной группы и гидроксильной группы посредством межмолекулярных водородных связей, что является отличительной чертой ЦСР на основе AgNO_2 . ЦСР на основе других солей

серебра, подразумевают собой добавление электролита для последующего формирования геля [1, 50, 141-147, 151, 153-155].

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что гелеобразование в ЦСР можно представить в виде последовательности трех основных стадий:

(1) образование цистеин-серебряных комплексов L-цистеин- Ag^+ и бинарного комплекса $[\text{S}(\text{R})]_2\text{Ag}$;

(2) образование супрамолекулярных цепей $\text{Ag-S}(\text{R})\text{---Ag-S}(\text{R})\text{---Ag-S}(\text{R})\text{---}$,

(3) формирование пространственной гель-сетки посредством межмолекулярных водородных связей между группами OH и $\text{C}(\text{O})\text{O}^-$.

Выводы к главе 3

Впервые получены СМГ на основе только водных растворов L-цистеина и AgNO_2 , без введения соли-инициатора гелеобразования. Гелеобразование водных растворов L-цистеина и AgNO_2 происходит при строгом соблюдении определённых условий, а именно концентрация исходных растворов и молярные соотношения аминокислоты и соли серебра. Химические процессы, протекающие в ЦСР, способствуют формированию СМГ, при этом содержащего стабильные НЧС. Изучение процесса гелеобразования в широком диапазоне концентраций дисперсной фазы в ЦСР позволило определить граничные условия формирования гидрогелей. Интенсивность окрашивания растворов и гелей связана с ростом концентрации AgNO_2 и наличия НЧС, а выпадение осадка – с их большими размерами. При критической концентрации дисперсной фазы в растворе сформированные НЧС склонны к «выпадению» из матрицы сетки, при этом гель-состояние сохраняется. Изменение концентрации исходных компонентов в ЦСР позволяет контролировать важные конечные характеристики системы: вязкость, стабильность, дисперсность, размеры НЧС и как следствие, синтезировать гели с необходимыми свойствами.

ГЛАВА 4. ПРОЦЕССЫ САМООРГАНИЗАЦИИ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ НА ОСНОВЕ N-АЦЕТИЛ-L-ЦИСТЕИНА, МЕРКАПТОПРОПИОНОВОЙ КИСЛОТЫ, ЦИСТЕАМИНА И СОЛЕЙ СЕРЕБРА

В данной главе затрагивается фундаментальная проблема коллоидной и супрамолекулярной химии, связанная с выявлением общих закономерностей, управляющих процессами самосборки в растворах низкомолекулярных веществ.

4.1. Водные растворы на основе N-ацетил-L-цистеина, производных и солей серебра

Для прояснения механизма гелеобразования в растворах ЦСР использовали ряд производных, отличающихся от L-цистеина набором функциональных групп. На примере растворов N-ацетил-L-цистеина (НАЦ), цистеамина (ЦА) и 3-меркаптопропионовой кислоты (МПК) представляется возможным продвинуться в понимании общих принципов самоорганизации низкомолекулярных веществ и исследовать влияние химической природы аминокислоты (рис. 4.1) на возможность получения СМГ и НЧС.

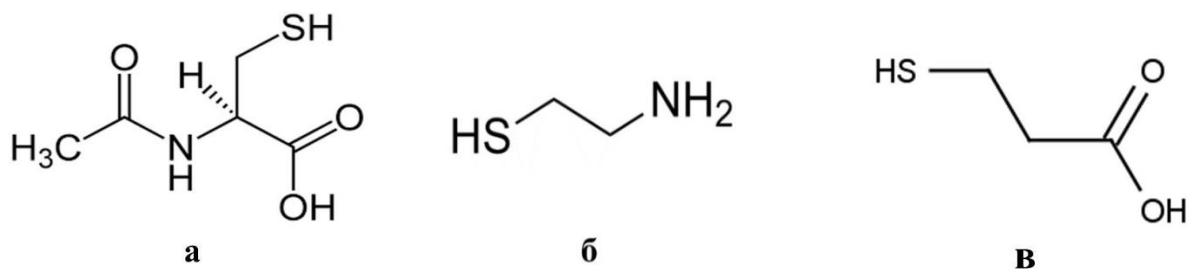


Рис. 4.1. Структурные формулы N-ацетил-L-цистеина (а), ЦА (б) и МПК (в).

Многочисленные исследования процессов самоорганизации в растворах на основе производных L-цистеина, которые были проведены в рамках диссертации и описанные в других работах [74,175] показали, что состав функциональных групп низкомолекулярного вещества влияет на образование наноструктур.

Отличие молекул L-цистеина от N-ацетил-L-цистеина состоит в том, что ацетильная группа, изменяющая кислотно-основные свойства соединения, замещает один из атомов водорода аминогруппы в L-цистеине. Константы ионизации L-цистеина следующие: $pK_{a1} = 1.96$, $pK_{a2} = 8.36$, $pK_{a3} = 10.28$ [176], а соответствующие константы для НАЦ: $pK_{a1} = 1.7$, $pK_{a2} = 3.2$, $pK_{a3} = 9.75$ [177]. Эти значения свидетельствуют о том, что водные растворы НАЦ имеют более низкую величину pH вследствие меньшего сродства к протону замещенной аминогруппы и большей способности карбоксильной группы к ионизации. Поэтому зарядовые состояния функциональных групп этих молекул в водном растворе также различны.

Водные растворы на основе НАЦ/ $AgNO_2$ вне зависимости от концентрации исходных компонентов (0.001, 0.01, 0.025 М) и молярных соотношений бесцветны и прозрачны в течение первых 48 часов (рис. 4.2), после чего приобретают бледно-жёлтую окраску и мутнеют. ЦСР на их основе оказались склонными к незначительной опалесценции со временем стояния, но не способны к переходу в состояние геля [178].



Рис. 4.2. Фотографии образцов ЦСР на основе НАЦ и $AgNO_2$ 0.01М (в) при разных молярных соотношениях компонентов (табл.2.1).

ЦА и МПК отличаются от L-цистеина отсутствием карбоксильной или аминогруппы (рис.4.1). Представляло интерес выяснить, как отсутствие этих групп повлияет на процессы самоорганизации в водном растворе. В частности, цель нашего исследования состояла в том, чтобы установить, могут ли ЦА и МПК в водном растворе с солью серебра образовывать супрамолекулярные цепи на подобии с L-цистеином.

Таблица 4.1.

Значения констант диссоциации L-цистеина и его производных.

Вещество	pK_{SH}	pK_{COOH}	pK_{NH}^{+3}	Источник (ссылка)
L-цистеин	8.30	1.90	10.80	[179,180]
ЦА	8.60	-	10.81	[180]
МПК	10.20	4.32	-	[181]

ЦА представляет собой твердое вещество в условиях окружающей среды и хорошо растворяется в воде. Молекула ЦА содержит тиольные и аминокгруппы, но не содержит карбоксильных групп. Константы диссоциации L-цистеина и его производных приведены в табл. 4.1. ЦА растворяется в воде с образованием щелочных растворов, содержащих положительно заряженный ион $HS-CH_2CH_2NH_3^+$. Известно, [182] что комплексы ЦА-серебро образуются при определенных условиях. Их состав зависит от молярного соотношения компонентов и значения pH. При смешении водных растворов ЦА и $AgNO_3$ катион серебра вытесняет протон и образует химическую связь с атомом серы (выражение 4.1)



МПК содержит тиольные и карбоксильные группы и, в отличие от L-цистеина, не имеет аминокгрупп. При растворении в воде (кислота хорошо смешивается с водой) МПК образует отрицательно заряженный ион $HS-CH_2CH_2C(O)O^-$. При смешении водных растворов МПК и $AgNO_3$ образуется малорастворимый меркаптопропионат серебра $AgS-CH_2CH_2C(O)O^-$, растворяющийся при добавлении щелочи. МПК, как и ЦА, является достаточно эффективным комплексообразователем для иона серебра.

Водные растворы на основе МПК, ЦА и $AgNO_3$ вне зависимости от молярных соотношений и концентрации исходных компонентов не имеют характерного окрашивания, склонны к опалесценции со временем стояния и

процессы самоорганизации, происходящие в водных растворах на их основе, в данном случае не привели к гелеобразованию.

4.1.1. Исследование процессов самоорганизации с помощью метода УФ спектроскопии

Для водного раствора на основе НАЦ/AgNO₂, вне зависимости от концентрации исходных компонентов наблюдается отсутствие полос поглощения, характерных отвечающих комплексам с переносом заряда и плазмонному резонансу свободных электронов на поверхности НЧС. Данный факт подтверждается визуальной оценкой образцов, так как растворы на основе НАЦ/AgNO₂ не имеют характерной желтоватой окраски.

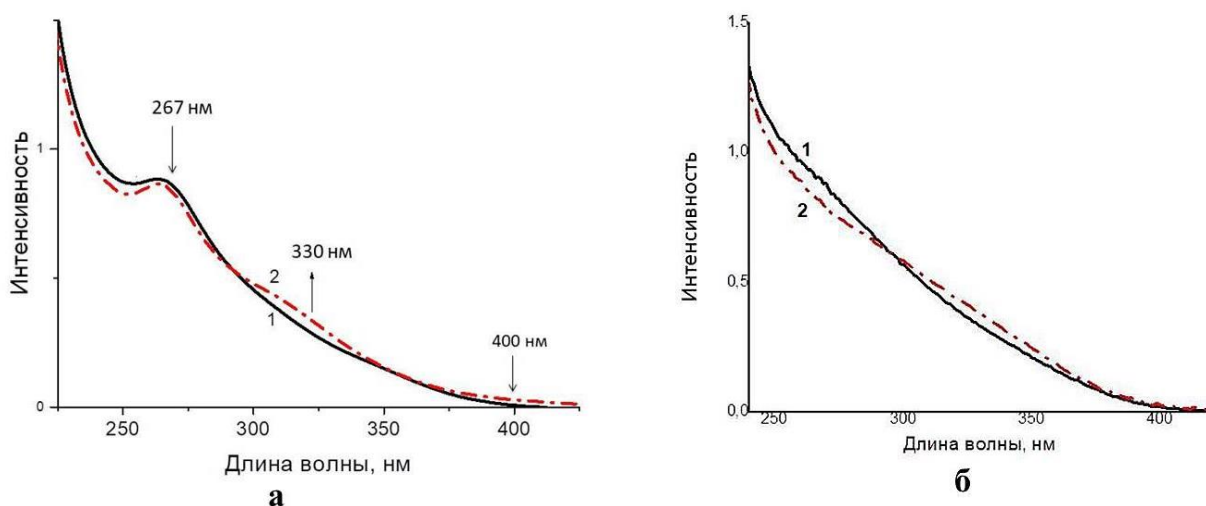


Рис. 4.3. УФ спектры поглощения образцов геля на основе НАЦ/AgNO₃ (а) и НАЦ/AgNO₂ (б) после момента смешивания исходных растворов: 1 – 5 мин, 2 – 5 часов, ($C_{\text{НАЦ}} = 0.0125 \text{ M}$, $C_{\text{AgNO}_3} = 0.00125 \text{ M}$, $C_{\text{AgNO}_2} = 0.0125 \text{ M}$).

Для сравнения приведён спектр системы (рис. 4.3а) на основе НАЦ/AgNO₃, смешивание растворов которых приводит к образованию СМГ [74, 175].

Данные УФ спектроскопии соединений низкомолекулярных тиолов с серебром [149,183] дают основания полагать, что УФ спектр растворов НАЦ/AgNO₃ отражает энергетический спектр коллективной системы электронов связи SH–Ag, заключенных в одномерный потенциальный ящик.

По аналогии с ЦСР на основе L-цис/ AgNO_3 [1, 141-147], учитывая, что молекулы МС могут образовывать супрамолекулярные цепочки $-\text{Ag}-\text{S}-\text{Ag}-\text{S}-$, можно предположить, что подобные агрегаты могут формироваться и в растворе НАЦ/ AgNO_3 . Действительно, в УФ спектре НАЦ/ AgNO_3 наблюдается небольшое увеличение интенсивности полосы поглощения 330 нм во времени (рис. 4.3а). Исследование УФ спектров поглощения гелей на основе водных растворов НАЦ/ AgNO_3 показало, что в спектре наблюдаются две полосы поглощения, одна из которых имеет максимум при $\lambda=330$ нм, а другая, менее выраженная, при $\lambda=400$ нм. Эти полосы можно объяснить наличием комплексов с переносом заряда, образующихся при формировании цепочек из МС (Ag-R , где R – фрагмент молекулы НАЦ).

В УФ спектрах водного раствора ЦА/ AgNO_3 наблюдается поглощение в области 240–300 нм, тогда как поглощение растворов исходных компонентов в этой области спектров очень низкое (рис. 4.4).

Это поглощение может свидетельствовать об образовании супрамолекулярных цепочек серебро-сера по аналогии с ЦСР [1], но электроны цепочки испытывают при этом сильное поляризующее воздействие положительных зарядов протонированных аминогрупп ЦА.

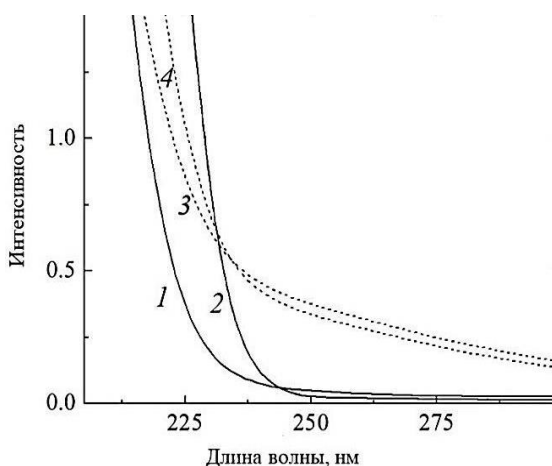


Рис. 4.4. УФ спектры поглощения ЦА (1), AgNO_3 (2) и их смеси при молярных соотношениях 1.00/1.00 (3) и 1.00/1.25; $C_{\text{ЦА}} = C_{\text{AgNO}_3} = 0.01$ М.

УФ спектры поглощения раствора МПК/AgNO₃ при небольшом содержании щелочи (0.15 мл 0.1Н КОН на 6 мл) имеют четыре полосы поглощения с максимумами при 256, 305.7, 379.2 и 423.8 нм (рис. 4.5, спектр 1).

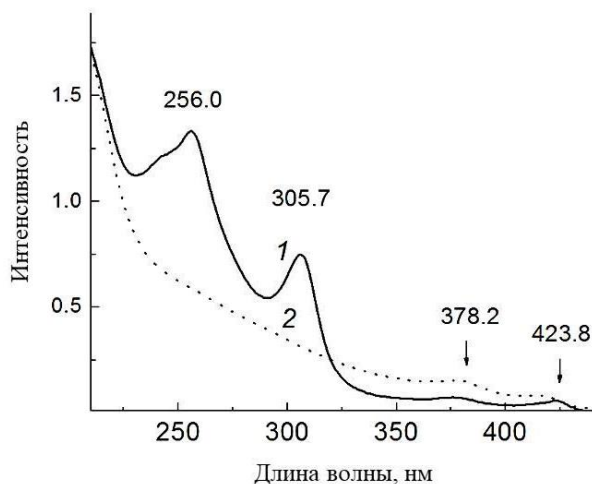


Рис. 4.5. УФ спектры водных растворов на основе МПК/AgNO₃ при содержании щелочи КОН 0.15 мл (спектры 1), 0.20 мл (спектр 2), молярное соотношение компонентов 1.00/1.00, $C_{\text{МПК}} = C_{\text{AgNO}_3} = 0.01 \text{ М}$, $C_{\text{КОН}} = 0.1 \text{ Н}$.

Щелочь добавляли для предотвращения образования осадка. Интенсивность этих полос со временем возрастает. Увеличение содержания щелочи до 0.2 мл приводило к значительному изменению спектра поглощения (рис. 4.5, спектр 2). Спектр 2 не содержит полос поглощения с максимумами при ~256 и 305.7 нм. Это может свидетельствовать о разборке надмолекулярных агрегатов, и в дальнейшем, данные ПЭМ подтверждают эти наблюдения.

4.1.2. Оценка устойчивости систем. Диапазон распределения частиц по размерам, определение дзета-потенциала

В работе проведены кинетические исследования изменения размеров рассеивающих частиц в водном растворе сразу после смешения растворов исходных компонентов методом ДСР. При изучении смешанного раствора на основе НАЦ и AgNO₂ (рис. 4.6) было установлено, что распределении частиц

по размерам мономодально и практически не изменяется в процессе наблюдения.

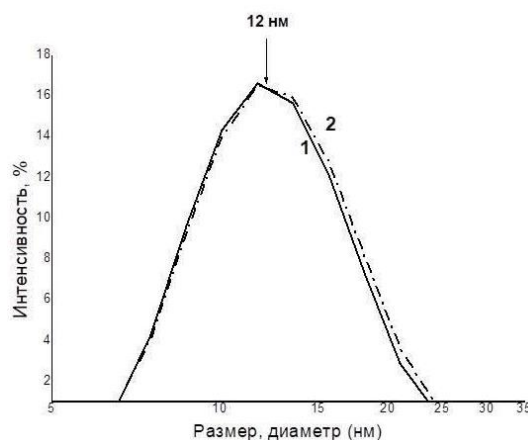


Рис. 4.6. Распределение частиц по размерам для образцов гелей на основе НАЦ/AgNO₂ в зависимости от времени стояния после момента смешивания исходных растворов: 10 (1) и 90 мин (2), C_{НАЦ} = 0.015 мМ, C_{AgNO₃} = 0.015 мМ.

Средний размер рассеивающих частиц составлял 12-15 нм. Отметим также, что средний размер частиц в растворе на основе НАЦ/AgNO₂ меньше в 4-5 раз, чем в растворе L-цистеин/AgNO₂. (рис. 3.11 и 3.12). Это, по-видимому, является следствием различного протекания процесса самоорганизации в двух растворах. Но важным фактом является то, что оба раствора, независимо от аминокислоты, устойчивы во времени. Значения ζ-потенциала для частиц в растворе НАЦ/AgNO₂ оказались в области отрицательных значений (табл. 4.2). При этом в растворах с большим содержанием серебра значения имеют положительные значения. Для молекул и частиц, которые достаточно малы, высокий ζ-потенциал на их поверхности будет означать стабильность, т.е. частицы в растворе не будут агрегировать.

Так, коллоиды с высоким ζ-потенциалом частиц являются электрически стабилизированными, в то время как коллоиды с низким ζ-потенциалом склонны коагулировать или флокулировать. Значение ζ-

потенциала равное 30 мВ (положительное или отрицательное) можно рассматривать как характерное значение, для условного разделения низко и высоко заряженных поверхностей [184,185].

Таблица 4.2.

Значения ζ -потенциала системы НАЦ/AgNO₂ различных концентраций.

Молярные соотношения НАЦ/AgNO ₂	Значения ζ - потенциала, мВ	
Концентрация исходных веществ	<i>0.01 M</i>	<i>0.025M</i>
1.0/1.0	-15.0	-18.0
1.0/1.25	4.5	3.2

Определение значения ζ -потенциала показало, что с точки зрения электрокинетической стабильности растворы НАЦ/AgNO₃ и НАЦ/AgNO₂ нельзя отнести к устойчивым, вследствие образования слабых неустойчивых гелей в первом случае и коагуляции и выпадения осадка со временем стояния образцов во втором.

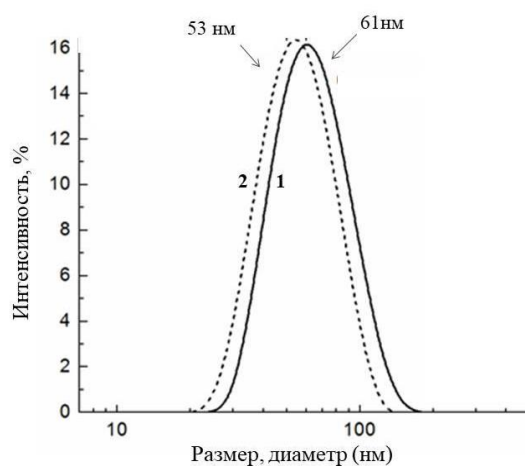


Рис. 4.7. Распределение частиц по размерам в растворе ЦА/AgNO₃ при различных молярных соотношениях компонентов: 1.00/1.00 (1) и 1.00/1.25 (2); C_{ЦА} = 0.01 М.

Достаточно устойчивые структуры со средним гидродинамическим диаметром ~61 нм были обнаружены методом ДСР в водном растворе ЦА/AgNO₃ при соотношении компонентов 1.00/1.00 (рис. 4.7). Увеличение содержания AgNO₃ до соотношения компонентов 1.00/1.25 приводило к незначительному уменьшению размера частиц до ~53 нм.

Исследование водных растворов на основе МПК/AgNO₃ методом ДСР показало, что в этой системе образуются частицы двух разных размеров с гидродинамическим диаметром ~15–17 и 230 нм. Размер частиц зависел от содержания щелочи в растворе. Увеличение содержания КОН приводило к некоторому росту размера частиц (рис 4.8).

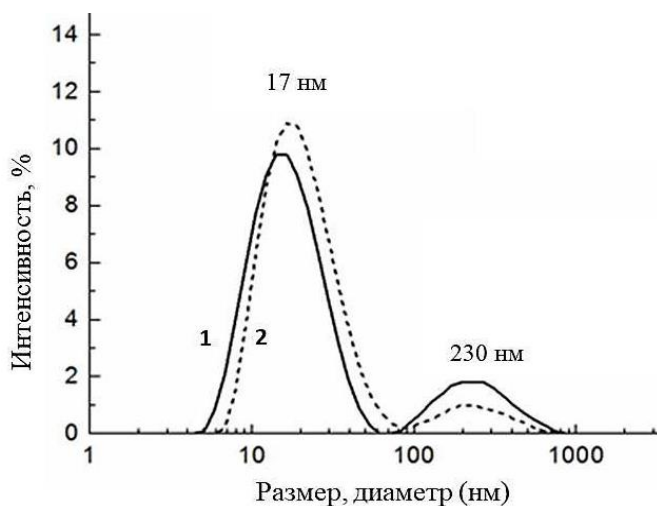


Рис. 4.8. Распределение частиц по размерам в растворах МПК/AgNO₃ через 15 мин после перемешивания; молярное соотношение компонентов 1.00/1.00, $C_{\text{МПК}} = C_{\text{AgNO}_3} = 0.01$ М; содержание 0.1Н КОН: (1) 0.15 мл и (2) 0.20 мл на 6 мл раствора.

Наличие нескольких типов частиц, отличающихся по размерам, свидетельствует о полидисперсности системы, что подтверждается результатами ДСР.

Изучение значений ζ -потенциала растворов на основе ЦА/AgNO₃ показали положительные значения, а именно 25-27 мВ для системы при молярном соотношении 1.00/1.00 и 30-33 мВ при соотношении с избытком

нитрата серебра 1.00/1.25. Полученные данные находят экспериментальное подтверждение и указывают на устойчивость данной системы - растворы остаются стабильными в течение продолжительного времени и не склонны к выпадению осадка. Также необходимо отметить, что результаты хорошо согласуются с измерением размера частиц. В системе присутствует один тип частиц, и разброс распределения их размеров небольшой.

Значения ζ -потенциала частиц для растворов на основе МПК/ AgNO_3 показало отрицательные значения, и как следствие, нестабильность с точки зрения электрического двойного слоя. В среднем значение приближается к показателю -36 мВ.

4.1.3. Влияние величины рН на процессы самоорганизации в водных растворах

Формирование гелей происходит лишь в определенном диапазоне значений рН. ЦСР на основе водных растворов НАЦ и солей серебра соответствовали кислой среде, что подтверждается данными рН-метрии. Как было установлено ранее [74,175], величина рН для водного раствора НАЦ/ AgNO_3 , отвечающего изоэлектрической точке, равна 2.45 (табл. 4.3). В изоэлектрической точке отталкивание элементов сеточных структур минимально, а способность к их ассоциации наиболее выражена [74,175].

Исследование величины рН растворов на основе НАЦ показало, что значения также находятся в области гелеобразования, характерные для гелеобразующих ЦСР на основе L-цис/ AgNO_2 (табл. 2.1) и L-цис/ AgNO_3 [1]. Несмотря на различную химическую природу солей, значения рН среды для растворов на основе НАЦ/соль серебра также соответствуют показателям рН характерным для кислой среды. Результаты показывают то, что водные растворы на основе НАЦ и AgNO_2 соответствуют показателям рН характерным для значений области гелеобразования, но ввиду более слабой гелеобразующей способности НАЦ, по сравнению с L-цистеином, и высокой

окислительной способности AgNO_2 образование гелей из раствора не происходило.

Таблица 4.3.

Значения рН для исходных водных растворов производных цистеина и их растворов с нитритом и нитратом серебра, $C_{\text{нац}} = 0.001 \text{ M}$, $C_{\text{AgNO}_2} = 0.001 \text{ M}$.

<i>Водный раствор/ЦСР</i>	<i>Значения рН</i>
НАЦ	7.0
ЦА	8.15
МПК	4.34
AgNO_2	5.64
НАЦ/ AgNO_2 (1.0/1.0)	2.95
НАЦ/ AgNO_3 (1.0/1.0)	2.45 [175]
ЦА/ AgNO_3	6.2
МПК/ AgNO_3	4.14

Таким образом, на процесс самоорганизации в растворах на основе НАЦ/соль серебра нахождение в соответствующем диапазоне рН является важным, но не единственным условием, сопутствующим процессу самоорганизации, приводящему к образованию СМГ.

Водные растворы ЦА имеют щелочную реакцию, образуя при растворении положительно заряженный ион $\text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_3^+$. В растворах ЦА/ AgNO_3 происходит снижение значения рН, но при этом находится вне области значений, характерных для гелеобразующих растворов. Исходный раствор МПК, как и система на её основе имеет кислую реакцию и значения близки к области рН гелеобразования, но добавление небольшого количества щёлочи (KOH) во избежание опалесценции в процессе получения растворов, сдвигает значение в щелочную область.

4.1.4. Визуализация структуры водных растворов и гидрогелей на основе производных L-цистеина и солей серебра с помощью методов электронной микроскопии

Данные метода СЭМ показывают, что образцы на основе разных аминокислот и разных солей серебра имеют разную морфологическую природу структуры, при соблюдении концентрационного режима и молярных соотношений всех компонентов. С помощью этого метода удалось визуализировать структуру ЦСР на основе НАЦ/AgNO₂ (рис. 4.9).

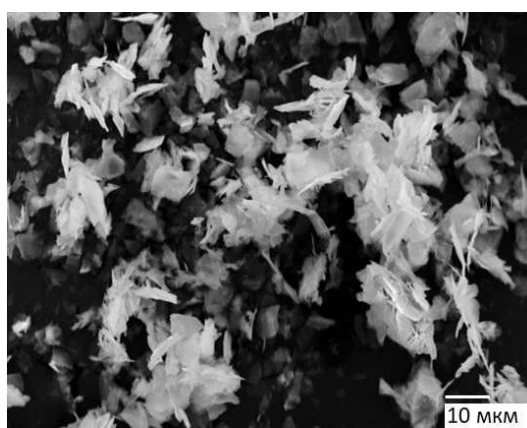


Рис. 4.9. Микроснимок СЭМ для ЦСР на основе НАЦ/AgNO₂, (1.00/1.00), C_{НАЦ} = 0.003 М, C_{AgNO₂} = 0.003 М.

Отсутствие какой-либо пространственной сетки, характерной для гидрогелей на основе L-цис/AgNO₂ и НАЦ/AgNO₃, [74,175] подтверждает тот факт, что система на основе НАЦ/AgNO₂ оказалась не способна к самоорганизации, приводящей к образованию гидрогелей.

Изучение морфологии водного раствора ЦА/AgNO₃ методом ПЭМ показывает (рис. 4.10а), что, действительно, в системе образуются достаточно протяженные линейные цепи, и вероятность образования пространственной сетки при наличии данных прекурсоров присутствует. Отсутствие электроноакцепторной карбоксильной группы в ЦА может объяснить тот факт, почему пространственная сетка не формируется за счет

водородных связей между надмолекулярными мономерами, как это имело место в случае L-цистеина и НАЦ/AgNO₃.

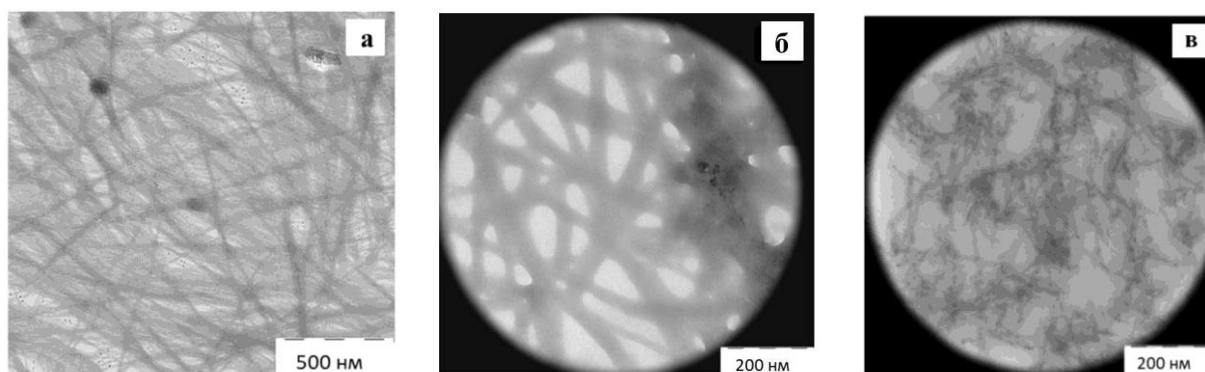


Рис. 4.10. Микроснимки ПЭМ для образца ЦА/AgNO₃ (а) и водных растворов МПК/AgNO₃ содержание 0,1 н. КОН: 0.15 мл (б) и 0.20 мл (в) на 6 мл, молярное соотношение компонентов 1.00/1.00, С_{ЦА} = 0.01 М, С_{МПК} = 0.01 М, С_{AgNO₃} = 0.01 М.

Доказательством наличия супрамолекулярных цепей из молекул МПК/Ag⁺ может служить микроснимок ПЭМ их водного раствора (рис. 4.10б). В отличие от водного раствора на основе ЦА здесь также образуются линейные цепи, но более короткие по длине. По данным ПЭМ (рис. 4.10в), в растворе МПК/AgNO₃ образуются линейные цепочки, но их длина зависит от значения рН. Увеличение содержания щелочи (рост величины рН) изменяет строение цепей, они становятся тоньше и короче. При этом образования пространственной гель-сетки не наблюдалось, что связано с отсутствием в МПК электроположительной аминогруппы.

4.1.5 Механизм самоорганизации в растворах на основе производных L-цистеина и солей серебра

Экспериментальные данные позволяют объяснить процессы самоорганизации, происходящие в растворах на основе НАЦ, ЦА, МПК и солей серебра и предложить.

Несмотря на исследование в расширенном диапазоне концентраций, растворы на основе НАЦ/AgNO₂ в условиях проведения эксперимента оказались не способны к гелеобразованию, в отличие от ЦСР на основе НАЦ/AgNO₃ [74, 175]. Изменение соли серебра на AgNO₂ оказало влияние на процессы самоорганизации в растворах НАЦ. Введение NO₂⁻ группы в водный раствор НАЦ существенно меняет условия гелеобразования. Вероятно, диазотирование группы NH₃⁺ в молекуле НАЦ затруднено и взаимодействия NO⁺ из HNO₂ не происходит, как при гелеобразовании в растворах L-цис/AgNO₂.

Молекулы аминокислот НАЦ и L-цистеин в растворах имеют разные зарядовые соотношения в виду наличия ацетильной группы в НАЦ. Возможно, введение электролита, как в случае с системой на основе L-цис/AgNO₃ [1, 50, 141-147], ослабит электростатические силы отталкивания между агрегатами МС, что сделает самосборку возможной. Вероятно, условия гелеобразования ещё не найдены и необходим дальнейший поиск.

В растворах на основе ЦА/AgNO₃ и МПК/AgNO₃ экспериментальные исследования гелеобразования не выявили. Вязкость этих систем практически постоянна во времени и близка к вязкости воды. Тем не менее, в этих растворах возможно образование супрамолекулярных цепей. Эти молекулы содержат тиольные группы, реагирующие с AgNO₃ с образованием тиолатов серебра, а именно AgS-R(ЦА) и AgS-R(МПК). Действительно, структуру молекул ЦА, МПК, НАЦ и L-цистеина схематически можно представить как AgS-R (здесь R обозначает оставшуюся часть молекулы, содержащую меркаптогруппу), как и в гелеобразующих системах на основе L-цистеина и НАЦ. Однако в этих растворах (ЦА/AgNO₃ и МПК/AgNO₃) гелеобразования не наблюдается. Это можно объяснить тем, что на поверхности агрегатов нет комплементарных групп. Агрегаты AgS-R (ЦА) имеют на своей поверхности только группы NH₃, а AgS-R (МПК) – только

группы $C(O)O^-$. Именно поэтому такие цепочки не способны к гелеобразованию за счет образования Н-связей.

Полученные экспериментальные данные имеют хорошую согласованность с результатами, полученными при исследовании строения кластеров на основе растворов НАЦ/ $AgNO_3$, ЦА/ $AgNO_3$, МПК/ $AgNO_3$ (рис. 4.11) методом компьютерного моделирования, которые описаны в диссертации Малышева М.Д. [186]. Кластеры были приготовлены из 2-22 молекул МС [186]. Установлено, что кластеры стабилизируются в результате формирования тиол-серебряных супрамолекулярных цепочек, а также посредством перекрестного связывания за счет аминных и карбоксильных групп молекул МС.

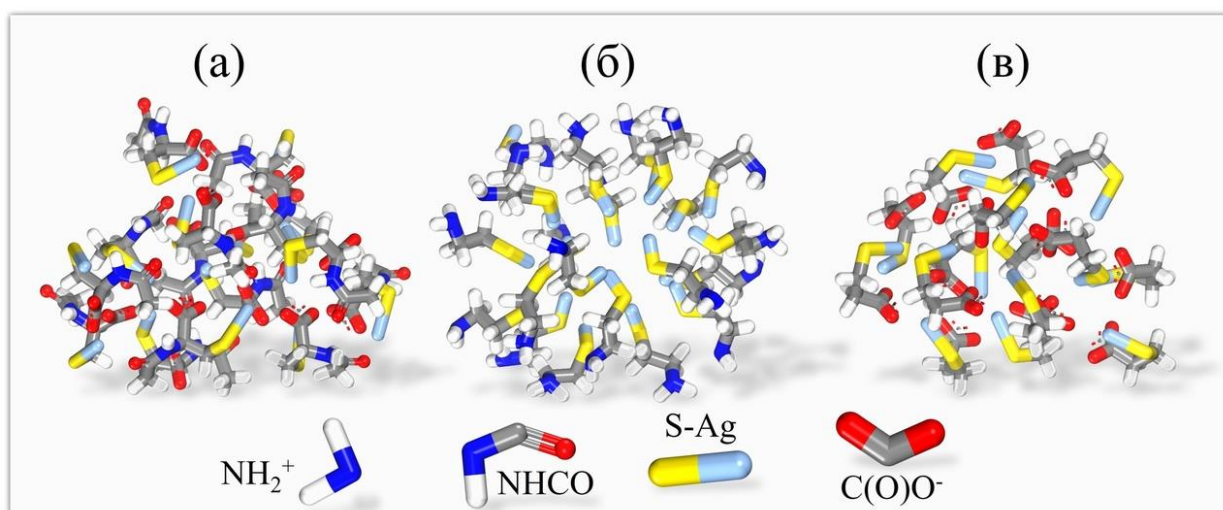


Рис. 4.11. Строение кластеров производных L-цистеина для $N = 22$, где N – число молекул аминокислоты: (а) НАЦ, (б) ЦА, (в) МПК [186].

На поверхности кластеров НАЦ (рис. 4.11а) преимущественно распределены NH_2^+ и $C(O)O^-$ группы, а внутри кластера S-Ag группы. На поверхности кластеров ЦА (рис. 4.14б) локализуются NH_2^+ группы, а кластеров 3-меркаптопропионовой кислоты (рис. 4.11в) $C(O)O^-$ группы. В тоже время внутри кластеров ЦА и МПК, также, как и в случае НАЦ, располагаются S-Ag группы.

В работе была предпринята попытка выяснить, образуется ли гель при смешении ЦА и МПК, так как на поверхности их кластеров сосредоточены разноименные заряды. С этой целью готовили смесь ЦА, МПК и AgNO_3 в водном растворе при мольном соотношении 0.50/0.50/1.00, концентрации ЦА и МПК $5 \cdot 10^{-4}$ мМ и концентрации нитрата серебра $1 \cdot 10^{-3}$ мМ. Для предотвращения выпадения осадка вносили щелочь (0.1 мл 0.1 н КОН на 6 мл раствора). Однако, несмотря на присутствие всех функциональных групп в равных пропорциях, процесс гелеобразования не происходил. Причина этого, по-видимому, заключается в том, что молекулы ЦА и МПК имеют функциональные группы положительного либо отрицательного заряда, соответственно, а для формирования пространственной гель-сетки в растворе необходимо, чтобы супрамономер (цвиттер-ион) имел одновременно комплементарные группы с разным зарядом (в случае L-цистеина и НАЦ).

Итак, резюмируя сказанное, можно заключить, что способность супрамомера к гелеобразованию обусловлена особенностями его химического строения, приводящим к взаимодействию кластеров между собой. При этом кластеры, образующиеся из супрамолекулярных цепей, должны иметь строение “ядро-оболочка”: внутри ядра кластера сосредоточены S-Ag группировки, а на поверхности кластера разноименные по заряду комплементарные группировки (в нашем случае amino и карбоксильные группы). Благодаря этому такие кластеры могут вступать во взаимодействие между собой формировать более сложные супрамолекулярные нити и пространственную сетку геля. Таким образом, можно заключить, что наличие всех трех функциональных групп (-SH, -NH₂ и -C(O)OH у аминокислоты может указывать на ее потенциальную способность к гелеобразованию.

4.2 Биоактивные свойства гидрогелей и ЦСР на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина и AgNO₂

4.2.1 Антибактериальная активность водных растворов на основе L-цистеина, НАЦ и AgNO₂

Преимуществом водных растворов и гидрогелей на основе L-цистеина и его производных является природное происхождение исходных компонентов, что позволяет рассматривать объекты исследования, как биоактивные агенты с перспективой применения в области медицины. Важным является вопрос о бактерицидных свойствах ЦСР и гидрогелей на его основе. Ионная форма серебра проявляет высокие антибактериальные свойства в низкоконтрированных (~0.01%) водных растворах L-цистеина и солей серебра (нитрат (NO₃⁻) и ацетат (CH₃COO⁻) серебра), а также гидрогелях на основе ЦСР. Целью исследования было изучить влияние ЦСР и гелей на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина и нитрита серебра на развитие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. В качестве объектов для исследования были выбраны ЦСР на основе L-цистеина и его производного N-ацетил-L-цистеина (НАЦ) при концентрации исходных веществ 0.01 М и молярных соотношений 1.00/1.00 и 1.00/1.25 (табл. 4.4). Как покажут результаты исследований, в ЦСР с разным содержанием аминокислоты, протекают разные химические процессы, что отражается на физических, биоактивных и других свойствах.

В данной работе были проведены испытания образцов на антибактериальную активность. По окончании инкубации была проведена визуальная оценка результатов серии опытов. Рис. 4.12, на примере бактерии *P.aeruginosa* ATCC 27853, демонстрирует ее зону подавления при воздействии образцов №3 и №4 (табл. 4.4). Исследования показали (табл. 4.5), что чувствительность различных патогенных организмов к L-цис/AgNO₂

и НАЦ/AgNO₂ неодинакова, однако обе системы показали положительный эффект.

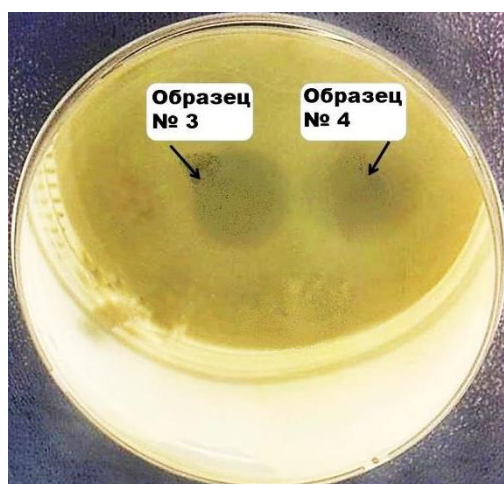


Рис. 4.12. Зоны задержки роста опытных образцов на газоне *P.aeruginosa* ATCC 27853.

Таблица 4.4.

Исследуемые образцы на антибактериальную активность.

Номер образца	Образец геля/ЦСР
№1	L-цис/AgNO ₂ (1.00/1.00)
№2	L-цис /AgNO ₂ (1.00/1.25)
№3	НАЦ /AgNO ₂ (1.00/1.00)
№4	НАЦ /AgNO ₂ (1.00/1.25)
№5	L-цис
№6	НАЦ
№7	AgNO ₂

Водный раствор AgNO₂ оказал наибольшее влияние, подавляя распространение всех тест-культур. Системы на основе НАЦ/AgNO₂ также демонстрируют высокую степень подавления. Немногим уступают в

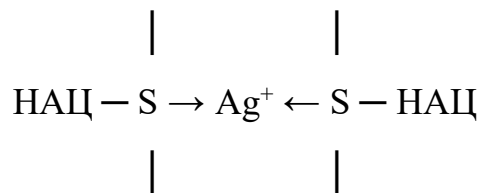
антибактериальной активности системы на основе L-цис/AgNO₂. Водные растворы чистых аминокислот, как и ожидалось, не оказали бактерицидного влияния на ростовые свойства изученных культур микроорганизмов в границах поставленного опыта.

Таблица 4.5.

Антагонистическая активность исследуемых образцов по отношению к тест-культурам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Исследуемые образцы	Зоны подавления роста тест-культур в мм.						
	B.su btilis 6633	S.aureu s ATCC 25923	E.coli ATCC 25922	Sh.so nei III №190 8	Salmon ella typhim urium 5715	P.aerugin osa ATCC 27853	C.albicans ATCC 885- 653
№1	8	7	6	10	7	6	0
№2	8	8	7	10	7	8	0
№3	11	12	11	13	8	12	14
№4	13	15	12	14	10	12	18
№5	0	0	0	0	0	0	0
№6	0	0	0	0	0	0	0
№7	14	15	11	15	19	13	21

Установлено, что строение исходной аминокислоты, а именно её качественный и количественный состав, существенно влияет на процессы самоорганизации, происходящие в водных растворах. В связи с невозможностью формирования НЧС в ЦСР на основе НАЦ/AgNO₂ [178] серебро в этой системе находится, вероятно, преимущественно в ионной форме:



Как следствие, ввиду содержания большего количества ионов серебра, водный раствор чистого AgNO_2 показал похожие результаты. Антимикробные свойства растворов AgNO_2 и AgNO_3 определяются биологической активностью ионов серебра, образующихся при диссоциации соединений серебра в воде [187, 188]. Действие на клетки патогенных микроорганизмов заключается в том, что ионы серебра поглощаются клеточной оболочкой бактерии, в результате чего происходит нарушение её функций, в результате чего клетка гибнет. Ионы серебра способны блокировать сульфгидрильные группы ферментных систем микроорганизмов, что приводит к угнетению роста и их размножению [189-193].

В растворах L-цис/ AgNO_2 значительная часть серебра способна к формированию стабилизированных НЧС [51,73,178]. Вследствие большой удельной площади поверхности НЧС в растворах, они способны убивать высокопрочные патогены при низких концентрациях [194]. Способность наносеребра предотвращать распространение инфекции объясняется высвобождением ионов серебра (Ag^+) в виду частичного окисления НЧС. В виду того, что окисление – это не единовременный процесс, наносеребро можно считать бактерицидным материалом пролонгированного действия. Таким образом, в системах L-цис/ AgNO_2 влияние на патогенные микроорганизмы НЧС и ионы серебра оказывают совместно.

Стоит отметить, что *S.albicans* ATCC 885-653 оказался устойчив к влиянию образцов №1 и №2. Вероятно, это связано с недостаточной концентрацией ионов серебра для подавления данного вида гриба. В то же

время образцы №3 и №4 на основе НАЦ и раствор AgNO_2 показали высокую активность против распространения *S.albicans* ATCC 885-653.

Было установлено, что серебро в ионной форме и в форме НЧС оказывает угнетающее действие на все изученные бактерии при небольших концентрациях. Для изученных форм штаммов бактерий и грибов не наблюдается заметных различий в действии между ионной формой серебра и НЧС. Водные растворы L-цистеина и НАЦ не оказали положительного эффекта в виду отсутствия серебра.

ЦСР и гидрогели на основе L-цис/ AgNO_2 и НАЦ/ AgNO_2 можно считать перспективными системами для их использования в качестве бактерицидных препаратов (растворы, гели, мази спреи и др.) и приготовления бактерицидных материалов. В частности, тиксотропные биоактивные гидрогели на основе L-цис/ AgNO_2 , которые могут применяться как антибактериальные агенты, а также как системы, обладающие противораковой активностью.

4.2.2. Цитотоксические свойства водных растворов L-цистеина и НАЦ с AgNO_2

Хорошо известно, что ионы серебра (например, раствор AgNO_3) очень токсичны для различных линий нормальных клеток, что ограничивает их медицинское применение. В свою очередь наночастицы обладают уникальным набором свойств и занимают значительное место в области биомедицины, такие как антибактериальные агенты, доставка лекарств, фотодинамическая терапия, терапия рака, биосенсоры и др. [195].

Важной частью работы являлось исследование противораковой активности ЦСР и гелей на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеин и AgNO_2 на примере клеток карциномы молочной железы человека линии MCF-7, а также показателя токсичности к нормальным клеткам человека. Данные, полученные с помощью МТТ-теста, представлены на рис. 4.13.

Как видно, гидрогели на основе L-цистеина и AgNO₂ успешно подавляют пролиферацию клеток MCF-7. Гель, полученный при соотношениях 1.00/1.25 (№4), обладает более сильным цитотоксическим действием, чем гель 1.00/1.00 (№3). Образец №4 (18%) стимулирует фибробласты к циклу пролиферации по сравнению с образцом № 3 (2%), что проявляется в блокировании клеточного цикла в фазе G0/G1. Кроме того, гидрогели способствуют пролиферации фибробластов при увеличении концентрации образца (рис.3.19).

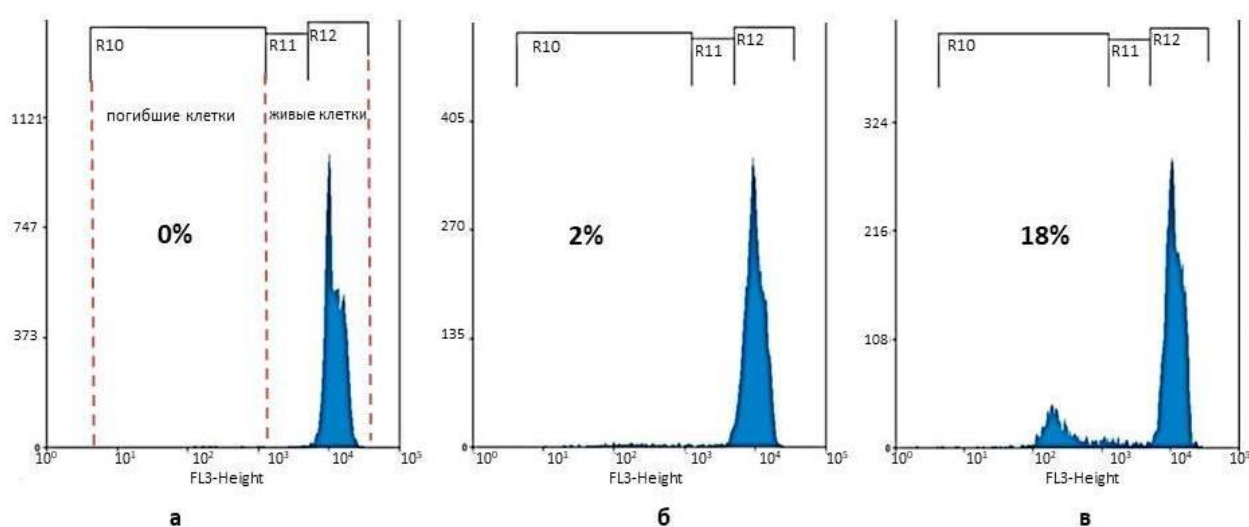


Рис. 4.13. Результаты проточного цитофлуориметрического анализа интактных клеток MCF-7, инкубированных в течение 24 ч с образцом №3 (б) и №4 (в) в среде, содержащей 10% FBS. а – контроль. Концентрация образцов составляет 80 мкМ. Ось X, флуоресценция PI (йодид пропидия); интенсивность флуоресценции в канале ФЛ-3 620/29 нм; ось Y – количество клеток; R10 - G0/G1-фаза, R11 - S-фаза и R9 - G2/M - фаза клеточного деления.

Резкое снижение количества живых клеток четко видно при повышении концентрации образца. В среднем это наблюдается при концентрации образца 80 мМ. Показатель IC₅₀ варьирует от 70–80 мМ. Эти данные дополняются и подтверждаются результатами проточной цитофлуориметрии (рис. 4.14).

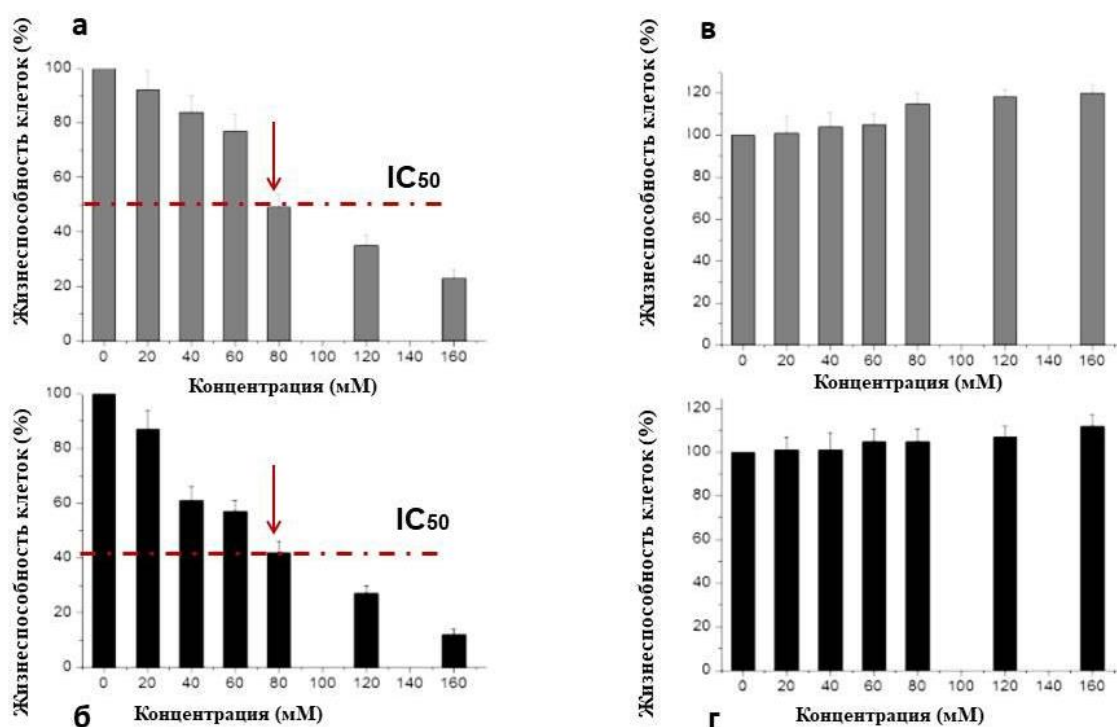


Рис. 4.14. Цитотоксичность гидрогелей L-цистеин/AgNO₂ при молярном соотношении 1.00/1.00 (верхние диаграммы) и 1.00/1.25 (нижние диаграммы) по отношению к клеткам человека MCF-7 (а,б) и Wi-38 (в,г). Инкубация клеток MCF-7 с гидрогелями составляет 48 часов, а Wi-38 - 24 часа.

На основании полученных выше результатов и данных, относящихся к предлагаемой структуре агрегатов, можно заключить, что на процессы взаимодействия исследуемых систем с клетками особое влияние оказывают следующие факторы: величина поверхностного заряда агрегатов, размер ядра НЧС. Чем выше заряд агрегата и меньше размер НЧС, тем сильнее цитотоксический эффект. В работе [196] авторы показали принципиальное влияние размеров НЧС на клеточную линию LoVo и жизнеспособность клеток MCF-7: чем меньше размер частиц, тем сильнее цитотоксичность. Размер НЧС для №3 меньше по сравнению с №4 (рис. 3.15), а цитотоксический эффект выше. Если сравнить величины поверхностного заряда системы №3 и №4 – заряд второй незначительно выше (табл.3.2).

Проапоптотический эффект НЧС обычно связан с продукцией активных форм кислорода и повреждением митохондриальной мембраны [197]. Также ионы серебра влияют на общую цитотоксическую активность, которые высвобождаются в L-цис/ Ag^+ комплексах (рис. 3.16) и структурах -- $\text{S(R)-Ag--S(R)--Ag--}$. Вероятный механизм взаимодействия клеток с системами L-цис/ AgNO_2 можно описать следующим образом: (1) адсорбция агрегата на отрицательно заряженной поверхности клеточной мембраны; (2) проникновение агрегатов через мембрану; (3) Взаимодействие агрегата с внутриклеточными компартментами. При этом положительно заряженные наночастицы интернализуются клетками карциномы в большей степени, чем нейтральные или отрицательно заряженные [198]. Согласно предложенному механизму, однако, мы не можем с уверенностью сказать, на какой стадии (1 или 2, см. выше) происходит разрушение агрегатов и высвобождение НЧС и Ag^+ .

В то же время, гели обладают низким токсическим эффектом по отношению к нормальным клеткам человека, эмбриональным фибробластам линии Wi-38 при высокой концентрации образца (рис. 3.19 в, г). При увеличении времени воздействия образцов на клетки токсичность незначительно возрастает. Это может быть связано с большей токсичностью нитрит-ионов. Согласно литературным данным НЧС, полученные химическими методами, нетоксичны для фибробластов при концентрациях образцов, использованных в данном исследовании [199]. Меньшая токсичность НЧС для нормальных клеток связана с более слабым взаимодействием агрегатов с клеточной мембраной, которая имеет меньшую величину заряда по сравнению с мембраной раковых клеток. Раковые клетки обладают способностью захватывать различные вещества в больших количествах, чем нормальные.

Исследование действия систем на основе водных растворов N-ацетил-L-цистеина и AgNO_2 показало отсутствие подавления пролиферации клеток

МСF-7, в отличие от системы на основе L-цистеина. Это объясняется различными химическими процессами, протекающими в водных растворах, и как результат, отсутствием НЧС, как основной движущей силы при действии на клетки карциномы. Безусловную роль играет химическая природа исходной аминокислоты, изменение структуры которой влияет на процессы самоорганизации, что подробно описано в главе 4.

Водные растворы N-ацетил-L-цистеина/AgNO₂ ожидаемо демонстрируют низкую токсичность относительно нормальных клеток человека, как и гели на основе L-цистеина.

Выводы к главе 4

Исследования по выявлению способности к гелеобразованию растворов на основе производных L-цистеина и солей серебра показали, что только в растворе НАЦ/AgNO₃ может происходить этот процесс. Таким образом, для формирования гидрогеля необходимо, чтобы молекула производной цистеина, помимо тиольной группы, в своем составе имела комплементарные группировки, например, амино- и карбоксильные группы. Существенное влияние на процессы самоорганизации и гелеобразования природа соли серебра: в нашем случае нитрат или нитрит серебра.

Кроме того, процессы самоорганизации, приводящие к гелеобразованию, возможны при строгом соблюдении таких условий, как концентрационный диапазон исходных компонентов, их молярные соотношения, рН среды и др.

Было установлено, что серебро в ионной форме и в форме НЧС оказывает угнетающее действие на все изученные бактерии при низких концентрациях (0.01 М). Для изученных форм штаммов бактерий и грибов не наблюдается заметных различий в действии между ионной формой серебра и НЧС. Водные растворы ЦИС и НАЦ не оказали положительного эффекта в виду отсутствия серебра.

ЦСР и гидрогели на основе ЦИС/ AgNO_2 и НАЦ/ AgNO_2 можно считать перспективными системами для их использования в качестве бактерицидных препаратов (растворы, гели, мази спреи и др.).

Содержание НЧС и Ag^+ обуславливает высокий цитотоксический эффект гидрогеля в отношении патогенных микроорганизмов и клеток карциномы молочной железы человека при одновременном отсутствии токсичности в отношении нормальных эмбриональных клеток легкого человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований был получен СМГ на основе L-цистеина и нитрита серебра (AgNO_2), который формируются без добавления инициатора гелеобразования (например, солей металлов). Комплексные исследования процессов самоорганизации в новой гелеобразующей системе на основе водных растворов L-цистеина и AgNO_2 показали, что формирование пространственной сетки геля в растворе происходит с участием НЧС. Предложен новый способ получения НЧС в ЦСР и СМГ на основе этих растворов и гелей.

Исследовано влияние наличия различных функциональных групп L-цистеина (тиольной, карбоксильной и аминогруппы) в его производных (НАЦ, МПК и ЦА) на возможность гелеобразования в водных растворах этих производных и солей серебра. Показано, что для процесса гелеобразования необходимо наличие всех трех функциональных групп. В то же время процесс самоорганизации с образованием супрамолекулярных цепей из молекул МС может происходить при отсутствии одной из функциональных групп в молекуле производных (карбоксильной или аминогруппы).

Предложен механизм гелеобразования в водных растворах L-цистеин/ AgNO_2 , заключающийся в формировании молекул МС (в растворе цвиттер-ион), образовании супрамолекулярных цепей из молекул МС в процессе созревания раствора и последующем желировании супрамолекулярного раствора с участием или без участия НЧС.

Определены антибактериальные и цитотоксические свойства водных растворов на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина и солей серебра. Установлено, что растворы на основе L-цистеина и N-ацетил-L-цистеина с солями серебра проявляют высокую бактерицидную активность, а на основе L-цистеина и AgNO_2 – хорошие цитотоксические свойства относительно

клеток карциномы молочной железы, что может найти в дальнейшем практическое применение.

ВЫВОДЫ

На основе полученных результатов сделаны следующие выводы:

1. Показано, что гелеобразование в водном растворе на основе L-цистеина и AgNO_2 (ЦСР) происходит при концентрации дисперсной фазы в диапазоне от 10 до 50 мМ и молярном соотношении L-цистеин/ AgNO_2 от 1.0/1.0 до 1.00/1.25 при комнатной температуре ($\sim 20^\circ\text{C}$) и нахождении раствора в покое и тёмном месте в течение 24 час.

2. Экспериментально доказано, что процесс самоорганизации в водных растворах L-цистеин/ AgNO_2 начинается с образования молекул МС, которые в растворе являются цвиттер-ионом. Затем при нахождении растворов в покое и темноте происходит связывание молекул МС между собой за счет нековалентных донорно-акцепторных взаимодействий с образованием супрамолекулярных цепочек (стадия созревания раствора) и одновременно протекает процесс гелеобразования путем связывания супрамолекулярных цепочек в пространственную сетку СМГ.

3. Методами УФ спектроскопии и ПЭМ показано, что в водных растворах на основе L-цистеина и AgNO_2 в условиях темноты, наряду с формированием пространственной сетки геля, образуются НЧС, при этом их содержание увеличивается с повышением концентрации нитрита серебра в растворе, что может привести к разрушению самого геля.

4. Установлено, что для протекания процесса гелеобразования в водном растворе простейшей аминокислоты (L-цистеин) с участием солей серебра необходимым условием является наличие трех функциональных групп (SH , COOH и NH) в химическом составе аминокислоты. На примере производных L-цистеина (МПК и ЦА), в которых отсутствует амино- или карбоксильная группы, показано, что процесс самоорганизации в растворах с образованием супрамолекулярных цепей из молекул МС происходит, но гели при этом не образуются из-за отсутствия водородного связывания.

5. Обнаружено, что водные растворы на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина и AgNO_2 оказывают угнетающее действие на развитие всех изученных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, при этом серебро может находиться как в ионной, так и в металлической форме (НЧС). Кроме того, водный раствор на основе L-цистеина и AgNO_2 , в отличие от раствора НАЦ и AgNO_2 , обладал четко выраженным цитотоксическим действием по отношению к клеткам карциномы молочной железы линии MCF-7 и отсутствие токсичности к нормальным клеткам человека (эмбриональным фибробластам) линии Wi-38.

Публикации автора по теме диссертации:

1. В журналах, рекомендованных ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных:

1. **Перезозова, Т.В.** Гелеобразование в водном растворе L-цистеина и нитрита серебра. / Перезозова Т.В., Овчинников М.М., Арутюнян Л.Р., Арутюнян Р.С., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Вестник ТвГУ. Серия: Химия. — 2016. — №2. — С.135-143.
2. **Vishnevetskii, D.V.** L-Cysteine/AgNO₂ low molecular weight gelators: self-assembly and suppression of MCF-7 breast cancer cells / Vishnevetskii D.V., Mekhtiev A.R., Perevozova T.V., Averkin D.V., Ivanova A.I., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. // Soft Matter. — 2020. — V. 16. P. 9669-9673.
3. **Потапенкова, Т.В (Перезозова Т.В.)** Процессы гелеобразования в водных растворах L-цистеина и нитрита серебра. / Потапенкова, Т.В, Хижняк С.Д., Вишневецкий Д.В., Пахомов П.М. // Вестник Тверского государственного университета. Серия «Химия». — 2020. — № 4. — С. 45–53.
4. **Потапенкова Т.В.** Сравнение процессов самоорганизации в водных растворах L-цистеина и N-ацетил-L-цистеина с нитритом серебра. / Потапенкова Т.В., Вишневецкий Д.В., Иванова А.И., Хижняк С.Д., Пахомов П.М.. // Вестник Тверского государственного университета. Серия «Химия». — 2021. — № 2. — С. 56–68.
5. **Vishnevetskii, D.V.** L-Cysteine as a reducing/capping/gel-forming agent for the preparation of silver nanoparticle composites with anticancer properties / Vishnevetskii D.V., Mekhtiev A.R., Perevozova T.V., Ivanova A.I., Averkin D.V., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. // Soft Matter – 2022. — V. 18. P. 3031 – 3040.
6. **Потапенкова Т.В.,** Червинец В.М., Вишневецкий Д.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. Антибактериальная активность водных растворов на основе L- цистеина, N-ацетилцистеина и нитрита серебра. // Вестник

Тверского государственного университета. Серия «Химия». 2022. № 2. С. 110 – 117.

7. **Потапенкова, Т.В.** Влияние концентрации дисперсной фазы на процессы гелеобразования и формирования наночастиц серебра в водных растворах L- цистеина и нитрита серебра / Потапенкова Т.В., Вишневецкий Д.В., Иванова А.И., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Известия РАН, серия химическая – 2022. – 71. С. 2123 – 2129.

2. В других изданиях:

8. **Овчинников, М.М.** Процессы самоорганизации в водных растворах на основе цистеина, меркаптопропионовой кислоты и нитрата серебра. / Овчинников М.М., **Перезова Т.В.**, Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Физико-химия полимеров: синтез, свойства и применение. — Тверь: ТвГУ. 2014. Т.20. С. 106 – 112.
9. **Овчинников, М.М.** Гелеобразование водных растворов на основании L- цистеина и нитрита серебра. / Овчинников М.М., **Перезова Т.В.**, Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Сборник научных трудов Физико-химия полимеров: синтез, свойства и применение. — Тверь: ТвГУ. — 2014. — С. 113-119.
10. **Андрианова, Я.В.** Процессы самоорганизации в водном растворе L- цистеина и нитрата серебра под действием некоторых электролитов. / Андрианова Я.В., Золотухина С.Ю., **Перезова Т.В.**, Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Физико-химия полимеров: синтез, свойства и применение. — Тверь: ТвГУ. 2014. Т.20. — С. 120-127.

3. Патент на изобретение:

11. 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.

4. Тезисы докладов на научных конференциях:

12. **Перезозова, Т.В.** Изучение агрегации водных растворов на основе цистеина, меркаптопропионовой кислоты и нитрата серебра. / Перезозова Т.В., Крылов П.Н. // Сборник научных публикаций конференции молодых ученых «Каргинские чтения»: тез. докл. – Тверь, 2014. – С. 75.
13. **Перезозова, Т.В.** Гелеобразование водных растворов L-цистеина и нитрита серебра. / Перезозова Т.В. // Сборник научных публикаций конференции молодых ученых «Каргинские чтения»: тез. докл. – Тверь, 2015. – С. 45.
14. **Перезозова, Т.В.** Гелеобразование низкоконцентрированных водных растворов на основе L-цистеина и нитрита серебра. / Перезозова Т.В., Адамян А.Н., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Книга научных публикаций - Уральский государственный университет, Екатеринбург, 2015. – С. 25-26.
15. **Перезозова, Т.В.** Реологические свойства гидрогелей на основе L-цистеина и нитрита серебра. / Перезозова Т.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // IV конференция молодых ученых "Реология и физико-химическая механика гетерофазных систем: книга научных публикаций - МГУ, Москва, 2015. - С.85.
16. **Перезозова, Т.В.** Изучение супрамолекулярного гидрогеля на основе L-цистеина и нитрита серебра. / Перезозова Т.В., Адамян А.Н. // Сборник научных публикаций конференции молодых ученых «Каргинские чтения»: тез. докл. - Тверь, 2016. – С. 74.
17. **Перезозова, Т.В.** Гелеобразование водных растворов на основании L-цистеина и нитрита серебра. / Перезозова Т.В., Овчинников М.М., Арутюнян Л.Р., Арутюнян Р.С., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Журнал научных публикаций - Уральский государственный университет, Екатеринбург, 2016. - С.104-105.

18. **Perevozova, T.V.** Gelation in low concentration aqueous solutions based on L-cysteine and silver nitrite. / Perevozova T.V. Khizhnyak S.D., Ovchinnikov M.M., Pakhomov P.M. // Abstracts of oral presentations - Kazan Federal University, Kazan, 2016. – P.142.
19. **Перевозова, Т.В.** Гелеобразование в водном растворе L-цистеина и нитрита серебра Перевозова Т.В. // Сборник научных публикаций конференции молодых ученых «Каргинские чтения»: тез. докл. – Тверь, 2016. – С. 95.
20. **Перевозова, Т.В.** Исследование реологических свойств супрамолекулярного гидрогеля на основе аминокислоты L-цистеин и нитрита серебра. / Перевозова Т.В., Овчинников М.М., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Реология и физико-химическая механика гетерофазных систем: тез. докл. - МГУ, Москва, 2017. – С.150.
21. **Перевозова, Т.В.** Гелеобразование в низкоконцентрированных водных растворах L-цистеина и нитрита серебра. / Перевозова Т.В. // VIII научная конференция молодых ученых «Инновации в химии: достижения и перспективы»: тез. докл - МГУ, Москва, 2017. - С.866.
22. **Khizhnyak, S.D.**, Peculiarities of supramolecular hydrogels based on sulphur containing amino acid and silver salts. / Khizhnyak S.D., Adamyan A.N., Andrianova Ya.V., **Perevozova T.V.**, Pakhomov P.M. // International Conference Baltic polymer symposium: Theses book – Jurmala, 2018. - P. 32.
23. **Перевозова, Т.В.** Супрамолекулярные гидрогели на основе серосодержащих аминокислот L-цистеин, N-ацетил-L-цистеин и нитрита серебра. / Перевозова Т.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Химия и химическая технология в XXI веке: тез. докл. - Томск, 2018. - С. 219.
24. **Перевозова, Т.В.** Супрамолекулярные гидрогели на основе серосодержащих аминокислот L- цистеина, N-ацетил- L-цистеина и нитрита серебра. / Перевозова Т.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Проблемы теоретической и экспериментальной химии: Тезисы докладов

- XXVIII Российской молодежной научной конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения профессора В.А. Кузнецова - Уральский государственный университет, Екатеринбург, 2018. – С.58.
25. **Перезовова, Т.В.** Биологическая активность гидрогелей на основе L-цистеина, его производных, солей серебра и процессы их самоорганизации. / Перезовова Т.В. // XXV Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» - МГУ, Москва, 2018. - С.750.
26. **Перезовова, Т.В.** Кинетика процессов самоорганизации в низкоконцентрированных водных растворах на основе аминокислоты L-цистеин и нитрита серебра. / Перезовова Т.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // VIII Международная научная конференция «Химическая термодинамика и кинетика»: сборник научных трудов – Тверь, 2018. – С. 283.
27. **Перезовова, Т.В.** Супрамолекулярные гидрогели на основе L-цистеина, его производных, солей серебра и процессы их самоорганизации. / Перезовова Т.В. // XV Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технологии неорганических материалов», сб. труд. – М.: ИМЕТ РАН, 2018. – С. 269.
28. **Perevozova, T.V.** The processes of self-organization in aqueous solutions based on cysteamine, mercapthopropionic acid and silver nitrate. / Perevozova T.V., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. // Science and progress»: Theses book - St. Petersburg, 2018. – P. 56.
29. **Перезовова, Т.В.** Процессы самоорганизации в водных растворах на основе L-цистеина, его производных и солей серебра. / Перезовова Т.В. // XXV Каргинские чтения, Всероссийская молодежная конференция «Физика, химия и новые технологии»: тез. докл. – Тверь, 2019. – С. 24.

30. **Перезовова, Т.В.** Процессы самоорганизации в водных растворах на основе L-цистеина, его производных и солей серебра. / Перезовова Т.В. // Международный молодежный научный форум «Ломоносов-2019»: тез. докл. – МГУ, Москва, 2019. - С. 370.
31. **Перезовова, Т.В.** Процессы самоорганизации в водных растворах на основе L-цистеина, его производных и солей серебра. / Перезовова Т.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М., XVI Международная конференция «Спектроскопия координационных соединений»: тез. докл. – Туапсе, 2019. - С. 284.
32. **Перезовова, Т.В.** Процессы самоорганизации в водных растворах на основе L-цистеина, его производных и солей серебра. / Перезовова Т.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // XXI Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: сборник научных трудов – Санкт-Петербург, 2019. - С. 580.
33. **Перезовова Т.В.** L-цистеин/AgNO₃/ПВС криогели и пленки. / Перезовова Т.В., Вишневецкий Д.В., Адамян А.Н., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Международный молодежный научный форум «Ломоносов-2020»: тез. докл. – МГУ, Москва, 2020. - С. 250.
34. **Perevozova, T.V.** Supramolecular gels based on L-cysteine and AgNO₂ for medical applications. / Perevozova T.V., Vishnevetsky D.V., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. // «Supramolecular strategies in chemistry, biology and medicine: fundamentals and perspectives», II school conference for young scientists (with international participation) - Kazan, 2020. - P. 22.
35. **Потапенкова, Т.В.** Закономерности формирования супрамолекулярного геля, содержащего наночастицы серебра, на основе водных растворов L-цистеин/AgNO₂ и N-ацетил-L-цистеин/AgNO₂. / Потапенкова Т.В., Аверкин Д.В., Вишневецкий Д.В. // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов»: тез. докл. – МГУ, Москва, 2021. - С. 119.

36. **Потапенкова, Т.В.** Концентрационный эффект в системе L-цистеин/AgNO₂/вода. / Потапенкова Т.В., Щербакова Д.В., Вишневецкий Д.В. // XXVIII Каргинские чтения, Всероссийская научно-техническая конференция молодых учёных «Физика, химия и новые технологии», тез. докл. – Тверь, 2022. – С.180.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. **Пахомов, П.М.** Супрамолекулярные гели / П.М. Пахомов, С.Д. Хижняк, М.М. Овчинников, П.В. Комаров – Тверь: Тверской государственный университет, 2011. – 269 с.
2. **Wolf, K.** The state of arrangement of molecules in liquids / Wolf K., Frahm H., Harms H. // *Z. Phys.Chem.* – 1937. – V 36. – P. 237.
3. **Стид, Дж. В.** Супрамолекулярная химия / Стид Дж. В., Этвуд Дж. Л. пер. с англ. Варшавской И.Г. [и др.]; под ред. Цивадзе А.Ю., Арсланова В.В., Гарновского А.Д.. - Москва: Академкнига. – 2007. – 482 с.
4. **Lehn, J.-M.** *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives.* / Lehn J.-M. VCH, Weinheim. – 1995. – 271 p.
5. **Stock, H.T.** N-(2-carboxybenzoyl)-L-phenylalanyl-glycine: a low molecular-mass gelling agent / Stock H.T., Turner N.J., McCagueb R. // *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* – 1995. – I. 12. – P. 2063-2064.
6. **Cram, D.J.** Host-Guest Chemistry: Complexes between organic compounds simulate the substrate selectivity of enzymes / Cram D.J., Cram J.M. // *Science.* – 1974. – V. 183. I. 4127. – P. 803-809.
7. **Изумрудов, В.А.** Растворимые полиэлектролитные комплексы биополимеров / Изумрудов В.А. *Высокомолекулярные соединения. Серия А.* – 2012. – Т. 54, № 7. – С. 1086-1094.
8. **Bediako, J.K.** Saloplastics and the polyelectrolyte complex continuum: Advances, challenges and prospects / Bediako J.K., Mouele E.S.M, Ouardi Y.E., Repo E. // *Chemical Engineering Journal.* – 2023. – V. 462. – 315 p.
9. **Lennard – Jones, J. E.** On the determination of molecular fields. From the equation of state of a gas. / Lennard – Jones J. E. *Roy. Soc.* – 1924.— V.106. – 463 p.
10. **Paul, J. van der Put.** The chemical bond / Paul J. van der Put. *The Inorganic Chemistry of Materials.* – 1998. – P. 31–86.

11. **Solov'ev, V. P.** Supramolecular complexes: Determination of stability constants on the basis of various experimental methods. / V. P. Solov'ev, A. Yu. Tsivadze. // *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. — 2015. — V. 51. I. 1. — P. 1–35.
12. **Щербина, М.А.** Кристаллография. / М. А. Щербина, А. В. Бакиров. — 2012. — Т. 57, № 2 — С. 195-214
13. **Bustamante, C.** Ten years of tension: single-molecule DNA mechanics / Bustamante C., Bryant Z., Smith S. B. // *Nature*. — 2003. — V. 421. I. 6921. — P. 423—427.
14. **Garzoni, M.** Structure and shape effects of molecular glue on supramolecular tubulin assemblies. / Garzoni M., Okuro K., Ishii N., Aida T., Pavan G. M. // *ACS NANO*. — 2014. — V. 8. — P. 904–914.
15. **Safinya, C.R.** Microtubules and tubulin oligomers: Shape transitions and assembly by intrinsically disordered protein tau and cationic biomolecules? / Safinya C.R., Chung P.J., Song C., Li Y., Miller H.P., Chul Choi M.. // *Langmuir*. — 2019, — V. 35. — P. 15970–15978.
16. **Freeman, A.** *Acta Crystallographica* / A. Freeman. *Structural Science*. — 1984. — P. 82-387.
17. **Pedersen, C.J.** Cyclic polyethers and their complexes with metal salts. / Pedersen C.J. *J. Amer. Chem. Soc.* — 1967. — V.89. — P. 7017-7036.
18. **Овчинников, Ю.А.** Мембрано-активные комплексы. / Овчинников Ю.А., Иванов В.Т., Шкроб А.М. М.: Наука. — 1974. — 463 с.
19. **Хираока, М.** Краун-соединения. Свойства и применения. / М. Хираока. Перевод с англ. В. Г. Карцева, И. К. Якущенко; Под ред. Н. М. Эмануэля. - Москва: Мир. — 1986. — 363 с.
20. **Mangolim, C.S.** Curcumin– β -cyclodextrin inclusion complex: Stability, solubility, characterization by FT-IR, FT-Raman, X-ray diffraction and photoacousticspectroscopy, and food application. / Mangolim C.S., Moriwaki

- C., Nogueira A.C., Sato F., Baesso M.L., Neto A.M., Matioli G. // *Food Chemistry*. — 2014. — P. 361–370.
21. **Jin, Z.-Y.** *Cyclodextrin Chemistry: Preparation and Application*. Singapore. / Jin Z.-Y. World Scientific Publishing. — 2013. — 290 p.
22. **Черных, Е.В.** Супрамолекулярные комплексы на основе циклодекстринов / Черных Е.В., Бричкин С.Б. // *Химия высоких энергий*. — 2010. — Т. 44. №2. — С. 115–133.
23. **Behrend, R. I.** Ueber condensationsproducte aus glycoluril und formaldehyd. / Behrend R., Meyer E., Rusche F. // *Justus Liebig's Ann. Chem.* — 1905. — В. 339. — P. 1-37.
24. **Freeman, W.A.** Cucurbituril / Freeman W. A., Mock W. L., Shih N.-Y. // *J. Am. Chem. Soc.* — 1981. — V. 103. — P. 7367-7368.
25. **Lagona, J.** The cucurbit(n)uril family. / Lagona J., Mukhopadhyay P., Chakrabarti S., Isaacs L. // *Angew. Chem. Int. Ed.* — 2005. — V. 44. — P. 4844-4870.
26. **Balk, R.W.** Preferential solvation and hydrophobic hydration of polyols in mixtures of water and N,N-dimethylformamide / Balk R. W., Somsen G. // *J. Phys. Chem.* — 1985. — V. 89. I. 23. — P. 5093–5097.
27. **Райхардт, Х.** Растворители и эффекты среды в органической химии. / Райхардт Х — М.: Мир. —1991. — 763 с.
28. **Ferry, J.D.** Viscoelastic properties of polymers. / Ferry J.D., Myers H.S. // *Journal of the Electrochemical society*. — 1961. — V. 108. — 143С.
29. **Flory, P.J.** Introductory lecture / Flory P.J. *Faraday Discuss. Chem. Soc.* — 1974. — V. 57. — P. 7-18.
30. **Sangeetha, N.M.** Supramolecular gels: Functions and uses / Sangeetha, N.M., Maitra U // *Chem. Soc. Rev.* — 2005. — V. 34. P.821-846.
31. **Slomkowski, S.** Terminology of polymers and polymerization processes in dispersed systems. / Slomkowski S., Alemán J.V., Gilbert R.G/, Hess M/,

- Horie K., Jones R.G., et al. // *Pure & Applied Chemistry*. — 2011. — V.83. — P. 2229–2259.
32. **Warren, D.S.** The Preparation and Simple Analysis of a Clay Nanoparticle Composite Hydrogel. / Warren D.S., Sutherland S.P., Kao J.Y., Weal G.R., Mackay S.M. // *Journal of Chemical Education*. —2017. — V. 94. I. 11. — P. 1772–1779.
33. **Bemmelen, J.M.** Der Hydrogel und das kristallinische Hydrat des Kupferoxydes. / Bemmelen J.M. *Zeitschrift für Chemie und Industrie der Kolloide*. — 1907. —V. 1. I.7. P. 213–214.
34. **Terech, P.** Low Molecular Mass Gelators of Organic Liquids and the Properties of Their Gels. / Terech P., Richard G.W. // *Chem. Rev.* — 1997. — V. 97. I. 8 — P. 3133-3160.
35. **Van, E.J.** Low molecular weight gelators for organic solvents. / Van E.J., Schoonbeek F., De Loos M., Veen E.M., Kellogg R.M., Feringa B.L. *EPRINTS-BOOK-TITLE University of Groningen, Stratingh Institute for Chemistry*. —1999. — P. 233–259.
36. **Gaharwar, A.K.** Nanocomposite hydrogels for biomedical applications. / Gaharwar A.K., Peppas N.A., Khademhosseini A. // *Biotechnology and Bioengineering*. — 2014. — V. 111. I.3. — P. 441–53.
37. **Carrow, J.K.** Bioinspired Polymeric Nanocomposites for Regenerative Medicine. / Carrow J.K., Gaharwar A.K. // *Macromolecular Chemistry and Physics*. — 2014. — V. 216. I. 3. — P. 248–264.
38. **Kutvonen, A.** Influence of nanoparticle size, loading, and shape on the mechanical properties of polymer nanocomposites. / Kutvonen A., Rossi G., Puisto S.R., Rostedt N.K., Ala-Nissila T. // *The Journal of Chemical Physics*. —2012. — V. 137. I. 21. — P. 214901.
39. **Hennink, W.E.** Novel Cross Linking Methods to Design Hydrogels. / Hennink W.E., Nostrum C.F. // *Advanced Drug Delivery Reviews*. — 2002. — V. 54. — P. 13-36.

40. **Rosiak, J.M.** Hydrogels and Their Medical Applications. / Rosiak J.M., Yoshii F. // Nuclear Instrument and Methods in Physics Research. Section B. — 1999. — V. 151. — P. 56-64.
41. **Walter, R.** Gel architectures and their complexity. / Walter R., Brian R.S. // Soft Matter. — 2014. — V. 10. — P. 3695-3702.
42. **Ajayaghosh, A.** Molecular Wire Encapsulated into p Organogels: Efficient Supramolecular Light-Harvesting Antennae with Color-Tunable Emission / Ajayaghosh A., George S.J., Praveen V.K. // Angew. Chem. Int. Ed. — 2003. — V. 46. I. 33. — P. 6260-6265.
43. **Sugiyasu, K.** Visible-light-harvesting organogel composed of cholesterol-based perylene derivatives / Sugiyasu K., Fujita N., Shinkai S. // Angew. Chem. Int. Ed.— 2004. — V. 43. I. 10. — P. 1229-1233.
44. **Nakashima, T.** Light-Harvesting Supramolecular Hydrogels Assembled from Short-Legged Cationic L-Glutamate Derivatives and Anionic Fluorophores / Nakashima T., Kimizuka N. // Adv. Mater. — 2002. — V. 14. I.16. — P. 1113-1116.
45. **Van Bommel, K.J.C.** Organic Templates for the Generation of Inorganic Materials / Van Bommel K.J.C., Friggeri A., Shinkai S. // Angew. Chem. Int. Ed. — 2003. — V. 42. I. 9. — P. 980-999.
46. **Li, S.** Hydrolytic and enzymatic degradations of physically crosslinked hydrogels prepared from PLA/PEO/PLA triblock copolymers. / Li S., Molina I.; Martinez M., Vert M. // Journal of Materials Science-Materials in Medicine. — 2002. — V. 13, I. 1. — P. 81- 86.
47. **Adams, M.** Amphiphilic block copolymers for drug delivery. / Adams M.; Lavasanifar A., Kwon, G. // Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2003. —V. 92. I. 7. — P. 1343-1355.
48. **Kubo, M.** Preparation and polymerization of a water-soluble, nonbonding crosslinking agent for a mechanically crosslinked hydrogel. / Kubo M.,

- Matsuura T., Morimoto H., Uno T., Itoh T. // Journal of Polymer Science. Part A-Polymer Chemistry. — 2005 — V. 43. I. 21. — P. 5032-5040.
49. **Liu, Y.** Physically Crosslinked Composite Hydrogels of PVA with Natural Macromolecules: structure, mechanical properties and endothelial cell compatibility. / Liu Y., Vrana, N., McGuinness G. // Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials. — 2009. — V. 90B. I. 2. P. — 492-502.
50. **Pakhomov, P.M.** Formation of nanostructured hydrogels in L-cysteine and silver nitrate solutions / Pakhomov P.M., Khizhnyak S.D, Ovchinnikov M.M., Spiridonova V.M. / Nanotechnologies in Russia. — 2010. — V.5. I.3. — P. 209-213.
51. **Vishnevetskii, D.V.** L-Cysteine/AgNO₂ low molecular weight gelators: self-assembly and suppression of MCF-7 breast cancer cells / Vishnevetskii D.V., Mekhtiev A.R., Perevozova T.V., Averkin D.V., Ivanova A.I., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. // Soft Matter. — 2020. — V. 16. P. 9669-9673.
52. **Потапенкова, Т.В.** Влияние концентрации дисперсной фазы на процессы гелеобразования и формирования наночастиц серебра в водных растворах L- цистеина и нитрита серебра / Потапенкова Т.В., Вишневецкий Д.В., Иванова А.И., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Известия РАН, серия химическая — 2022. — 71. С. 2123 – 2129.
53. **Адамян, А.Н.** Самоорганизация в низкоконцентрированных растворах L-цистеин-ацетат серебра-D₂O. / Вишневецкий Д.В., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Известия РАН. Серия химическая. 2020. Т.69. №9. С.1799-1803.
54. **Prashant, S.M.** A Review On - Hydrogel_/ Prashant S.M., Shital S. P., Yashpal M.M., Priti P.N. // Am. J. Pharm Tech Res. — 2018. — V. 8. I. 3. — P. 2249-3387.
55. **Mukhopadhyay, S.** A notable group of low molecular mass natural products that form gel are some of the bile acids. / Mukhopadhyay S., Maitra U. // Curr. Sci. — 2004. — V. 87. I. 12. — 1666-1682.

56. **Fengjun, H.** Synthesis of self-crosslinking sodium polyacrylate hydrogel and water-absorbing mechanism. / Fengjun H. *Journal of Materials Science*. —2001. — V. 36, I. 3. — P. 731-738.
57. **Bertolani, A.** Supramolecular amplification of amyloid self-assembly by iodination / Bertolani A., Pirrie L., Stefan L., Houbenov N., Haataja J.S., Catalano L., Terraneo G., Giancane G. etc // *Nat. Commun.* — 2015. — V. 6. № 7574.
58. **Pizzi, A.** Biomimetic engineering of the molecular recognition and self-assembly of peptides and proteins via halogenation / Pizzi A., Pigliacelli C., Gori A., Ikkala O., Demitri N., Terraneo G., Castelletto V., Hamley I. W., Bombellia F. B. Metrangolo P. // *Coordination Chemistry Reviews*. — 2020. — V. 411. №. 213242
59. **Arnedo-Sanchez, L.** Rapid self-healing and anion selectivity in metallosupramolecular gels assisted by fluorine-fluorine interactions / Nonappa S., Bhowmik S., Hietala R., Puttreddy M., Lahtinen L., Rissanen K. // *Dalton Trans.* — 2017. — V. 46. I. 22. — P. 7309–7316.
60. **Tatikonda, R.** Infinite coordination polymer networks: metallogelation of aminopyridine conjugates and in situ silver nanoparticle formation / Tatikonda R., Bulatov E., Ozdemir Z., Haukka M. // *Soft Matter*. —2019. — V.15. I. 3. — P. 442–451.
61. **Tatikonda, R.** Bipyridine based metallogels: an unprecedented difference in photochemical and chemical reduction in the in situ nanoparticle formation / Tatikonda R., Bertula K., Rissanen K., Hietala S., M. Haukka // *Dalton Trans.* — 2017. —V. 46. I. 9. — P. 2793–2802.
62. **Wu, H.** Metallogels: Availability, Applicability, and Advanceability / Wu H., Zheng J., Kjoniksen A.L., Wang W., Zhang Y., Ma J., // *Adv. Materials*. — 2019. — V. 31. I. 12. — 1806204.

63. **Aykent, G.** Simple Tyrosine Derivatives Act as Low Molecular Weight Organogelators. / Aykent G., Cansu Z., Marion A., Özçubukçu S. // Scientific Reports. — 2019. — V. 9. — №. 4893.
64. **Abdallah, D.J.** Organogels and Low Molecular Mass Organic Gelators / Abdallah D.J., Weiss R.G. // Adv. Mater. — 2000. — V. 12. — № 17. — P. 1237-1247.
65. **Sada, K.** Post-polymerization of preorganized assemblies for creating shape-controlled functional materials / Sada K., Takeuchi M., Fujita N., Numataa M., Shinkai S // Chem.Soc.Rev. — 2007. — V. 36. — P. 415-435.
66. **Estroff, L.A.** Water gelation by small organic molecules. / Estroff L.A., Hamilton A.D. // Chem. Rev. — 2004.— V. 104. P. 1201-1218.
67. **Анаников, В.П.** Развитие методологии современного селективного органического синтеза: получение функционализированных молекул с атомарной точностью / Анаников В.П., Хемчян Л.Л., Иванова Ю.В., Бухтияров В.И., Сорокин А.М., Просвирин И.П., Вацадзе С.З., Медведько А.В., Нуриев В.Н. и др. // Успехи химии. — 2014. — Т. 83. — С. 885—985.
68. **Prins, L.J.** Noncovalent synthesis using hydrogen bonding / Prins L.J., Reinhoudt D.N., Timmerman P. // Angewandte Chemie International Edition. — 2001. — V. 40. I. 13. — P. 238-2426.
69. **Yagai, S.** Supramolecular complexes of functional chromophores based on multiple hydrogen-bonding interactions. / Yagai S. Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews. — 2006. — V.7. I. 4. — P. 164-182.
70. **Parthasarathi, R.** Hydrogen bonding without borders: An atoms-in-molecules perspective. / Parthasarathi R., Subramanian V., Sathyamurthy N. // The Journal of Physical Chemistry A. — 2006. — V. 110. I. 10. — P. 334-3351.
71. **Desiraju, G.R.** Hydrogen Bridges in Crystal Engineering: Interactions without Borders. / Desiraju G.R. Chem. Res. — 2002. — V. 35. I. 7. — P. 565–573.

72. **Hoffman, A.S.** Hydrogels for biomedical applications. / Hoffman A.S. *Advanced Drug Delivery Reviews*. — 2002. — V. 54, I. 1. — P. 3-12.
73. **Vishnevetskii, D.V.** L-Cysteine as a reducing/capping/gel-forming agent for the preparation of silver nanoparticle composites with anticancer properties / Vishnevetskii D.V., Mekhtiev A.R., Perevozova T.V., Ivanova A.I., Averkin D.V., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. // *Soft Matter* — 2022. — V. 18. P. 3031 – 3040.
74. **Khizhnyak, S.D.** Mechanism of gelation in low-concentration aqueous solutions of silver nitrate with L-cysteine and its derivatives / Khizhnyak S.D., Komarov P.V., Ovchinnikov M.M., Zherenkova L.V., Pakhomov P.M. // *Soft Matter*. — 2017. — V. 30. I. 30. — P. 5168-5184.
75. **Krishnan, B.P.** Topochemical azide — Alkyne cycloaddition reaction in gels: Size-tunable synthesis of triazole-linked polypeptides. / Krishnan B.P., Sureshan K.M. // *Journal of the American Chemical Society*. — 2017. — V. 139. I. 4. P. 1584-1589.
76. **Luboradzki, R.** Sugar-Integrated “Supergelators” Which Can Form Organogels with 0.03-0.05%. / Luboradzki R., Gronwald O., Ikeda A., Shinkai S. // *Chemistry Letters*. — 2000. — V. 29. I. 10. — P. 1148-1149.
77. **Weiss, R.G.** The past, present, and future of molecular gels. What is the status of the field and where is it going? / Weiss R.G. *J. Am. Chem. Soc.* — 2014. — V. 136. — P. 7519-7530.
78. **Zurcher, D.M.** Tools for identifying gelator scaffolds and solvents. / Zurcher D.M., McNeil A.J. // *Org. Chem.* — 2015. — V. 80. — P. 2473-2478.
79. **Lan, Y.** To gel or not to gel: correlating molecular gelation with solvent parameters. / Lan Y., Corradini M.G., Weiss R.G., Raghavan S.R., Rogers M.A. // *Chem. Soc. Rev.* — 2015.— V. 44. — P. 6035-6058.
80. **Awhida, S.** Probing gelation ability for a library of dipeptide gelators. / Awhida S., Draper E.R., McDonald T.O., Adams D.J. // *J. Colloid Interface Sci.* — 2015. — V. 455. — P. 24-31.

81. **Trivedi, D.R.** Instant gelation of various organic fluids including petrol at room temperature by a new class of supramolecular gelators. / Trivedi D.R., Dastidar P. // *Chem. Mater.* — 2006. — V. 18. — P. 1470-1478.
82. **Carter, K.K.** Improving Hg-triggered gelation via structural modifications / Carter K.K., Rycenga H.B., McNeil A.J. // *Langmuir.* — 2014. — V. 30. — P. 3522-3527.
83. **Frederix, P.W.J.M.** Exploring the sequence space for (tri-)peptide self-assembly to design and discover new hydrogels. / Frederix P.W.J.M. Scott G.G., Kalafatovic D., Pappas C.G., Javid N., Hunt N.T., Ulijn R.V., Tuttle T. // *Nat. Chem.* — 2015. — V. 7. — P. 30-37.
84. **Shapiro, Y.E.** Structure and Dynamics of Hydrogels and Organogels: An NMR Spectroscopy Approach. / Shapiro Y.E. *Prog. Polym. Sci.* — 2011. — V. 36. — P. 1184–1253.
85. **Ardenkjaer-Larsen, J.-H.** Facing and overcoming sensitivity challenges in biomolecular NMR spectroscopy / Ardenkjaer-Larsen J.-H., Boebinger G. S., Comment A., Duckett S., Edison A. S., Engelke F., Griesinger C., Griffin R. G., Hilty C., Maeda H. and etc.// *Angew. Chem., Int. Ed.* — 2015. — V.54. I. 32. — P. 9162–9185.
86. **Freedberg, D.I.** Live cell NMR. / Freedberg D.I., Selenko P. // *Annu. Rev. Biophysics.* —2014. — V. 43. I. 1. — P. 171–192
87. **Эндрю, Э.Р.** Ядерный магнитный резонанс. / Эндрю Э. Р. Перевод с англ. Н. М. Померанцева и Е. Н. Скубур ; Под ред. В. Н. Лазукина. - Москва: Изд-во иностр. лит. — 1957. — 299 с.
88. **Wong, K.C.** NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts and Applications in Chemistry. / Wong K.C. *Journal of chemical education.* — 2014. — V.91. I. 8. — P. 1103 – 1104.
89. **Duer, M.J.** NMR studies of correlations between molecular motions and liquid-crystalline phase transitions in two hydrogen-bonded carboxylic acid-

- pyridyl complexes / Duer M.J., Gladden L.F., Griffin A.C., Jariwala C.P., Stourton C. // *J. Chem. Soc.* — 1996. — V. 92. I. 5. P. 803-810.
90. **Andrew, E.R.** A historical account of NMR in the solid state. / Andrew E.R., Szczesniak E. // *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* — 1995. — V. 28. I. 1. — P. 11–36.
91. **Chary, K.V.R.** NMR in Biological Systems: From Molecules to Human. / Chary K.V.R., Govil G. // Springer. — 2008. — V. 6. P. 524-531.
92. **Su, Y.** Magic angle spinning NMR of proteins: high-frequency dynamic nuclear polarization and ^1H detection. / Y. Su, Andreas L., Griffin R.G. // *Annu. Rev. Biochem.* — 2015. — V. 84. — P. 465–497.
93. **Wang, H.** Reversible Ion-Conducting Switch in a Novel Single-Ion Supramolecular Hydrogel Enabled by Photoresponsive Host–Guest Molecular Recognition./ Wang, H., Zhu C.N., Zeng H., Ji X., Xie T., Yan X., Wu Z.L., Huang F. // *Adv. Mater.* — 2019. — V. 31. I. 12. — 1807328.
94. **Stone, D.A.** Self-Assembling Quinquethiophene–Oligopeptide Hydrogelators. / Stone D.A., Hsu L., Stupp, S.I. // *Soft Matter.* — 2009. — V. 5. I. 10. — P. 1990-1933.
95. **Wang, M.** Photo-Reversible Supramolecular Hydrogels Assembled by α -Cyclodextrin and Azobenzene Substituted Poly (Acrylic Acid) s: Effect of Substitution Degree, Concentration, and Tethered Chain Length: Photo-Reversible Supramolecular Hydrogels. / Wang M., Zhang X., Li L., Wang J., Wang J., Ma J., Yuan Z., Lincoln S.F., Guo X. // *Macromol. Mater. and Eng.* — 2016. — V. 301. I. 2. — P. 191–198.
96. **Robina, B.** Applications of UV/Vis Spectroscopy in Characterization and Catalytic Activity of Noble Metal Nanoparticles Fabricated in Responsive Polymer Microgels: A Review. / Robina B., Zahoor H., Farooqi, Khalida N., Faisal A., Madeeha, Batool, Jianliang X., Ahmad I. // *Critical Review Analytical Chemistry.* — 2018. — V. 48. I. 6. — P. 503-516.

97. **Song, Q.** Self-Assembly of Succinated Paclitaxel into Supramolecular Hydrogel for Local Cancer Chemotherapy. / Song Q., Zhang R., Lei L., Li X. // *J. Biomed. Nanotechnol.* — 2018. — V.14. I. 8. — P. 1471–1476.
98. **Wu, W.** Calcium Ion Coordinated Dexamethasone Supramolecular Hydrogel as Therapeutic Alternative for Control of Non-Infectious Uveitis. / Wu W., Zhang Z., Xiong T., Zhao W., Jiang R., Chen H., Li X. // *Acta Biomater.* — 2017. — V. 61. P. 157–168.
99. **Braun, G.A.** Deuterium-Enhanced Raman Spectroscopy for Histidine pK_a Determination in a PH-Responsive Hydrogel. / Braun G.A., Pogostin B.H, Pucetaite M., Londergan C.H., Akerfeldt K.S. // *Biophys. J.* —2020. — V. 119. I. 9. — P. 1701–1705.
100. **Paul, L.S.** Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. / Paul L.S., Dieringer J.A., Shah N.C., Van Duyne R.P. // *Annual Review of Analytical Chemistry* — 2008. — V.1.— P. 601–626.
101. **Miljanić, S.** Surface-Enhanced Raman Scattering on Molecular Self-Assembly in Nanoparticle-Hydrogel Composite. / Miljanić S., Frkanec L., Biljan T., Meić Z., Žinić M. // *Langmuir.* — 2006. — V. 22. I. 22. — P. 9079–9081.
102. **Nonappa.** Solid state NMR studies of gels derived from low molecular mass gelators. / Nonappa, Kolehmainen E. // *Soft Matter.* — 2016. — V. 12. — P. 6015-6026
103. **Terech, P.** Structural Study of Cholesteryl Anthraquinone-2-carboxylate (CAQ) Physical Organogels by Neutron and X-ray Small Angle Scattering. / Ostuni E., Weiss R.G. // *Phys. Chem.* — 1996. — V. 100. I. 9. — P. 3759–3766.
104. **Sakurai, K.** Synchrotron small angle X-ray scattering from organogels. Part 1. Changes in molecular assemblies of cholesterolgelators during gel–sol transition / Sakurai K., Ono Y., Jung J. H., Okamoto S., Sakurai S., Shinkai S. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* — 2001. — V. 2, I. 1. — P. 108–112.

105. **Parisi, E.** Supramolecular Tripeptide Hydrogel Assembly with 5-Fluorouracil / Parisi E.; Garcia A.; Marson D.; Posocco P.; Marchesan S. // *Gels*. — 2019. — V. 5. I. 1. — P. 5-13.
106. **Qin, Z.** Non-swelling and Tough Supramolecular Hydrogel Based on Strong Micelle Cross-Linkings. / Qin Z., Yu X., Wu H., Li J., Lv H., Yang X. // *Biomacromolecules*. — 2019. — V. 20. I. 9. — P. 3399–3407.
107. **Wang, L.** A Multifunctional Supramolecular Hydrogel: Preparation, Properties and Molecular Assembly. / Wang L., Shi X., Wu Y., Zhang J., Zhu Y., Wang J. // *Soft Matter*. — 2018. — V. 14. — P. 566–573.
108. **Tang, F.** Developing a Self-Healing Supramolecular Nucleoside Hydrogel Based on Guanosine and Isoguanosine. / Tang F., Feng H., Du Y., Xiao Y., Dan H., Zhao H., Chen Q. // *Chem. Asian J.* — 2018. — V. 13. I. 15. — P. 1962–1971.
109. **James, S.L.** Supramolecular gels in crystal engineering. / James S. L., Lloyd G. O., Zhang J., *Cryst. Eng. Comm.* — 2015. — V. 17. I. 42. — P. 7976–7977.
110. **Lorson, T.** A Thermogelling Supramolecular Hydrogel with Sponge-Like Morphology as a Cytocompatible Bioink. / Lorson T., Jaksch S., Lübtow M.M., Jüngst T., Groll J., Lühmann T., Luxenhofer R. // *Biomacromolecules*. — 2017. — V. 18. I. 7. — P. 2161–2171.
111. **Loebel, C.** Shear-Thinning and Self-Healing Hydrogels as Injectable Therapeutics and for 3D-Printing. / Loebel C., Rodell C.B., Chen M.H., Burdick J.A. // *Nat. Protoc.* — 2017. — V. 12. I. 8. — P. 1521–1541.
112. **Zuidema, J.M.** A Protocol for Rheological Characterization of Hydrogels for Tissue Engineering Strategies: A Protocol for Rheological Characterization of Hydrogels. / Zuidema J.M., Rivet C.J., Gilbert R.J., Morrison F.A. // *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* — 2014. — V. 102. I. 5. — P. 1063–1073.
113. **Boland, C.S.** Sensitive electromechanical sensors using viscoelastic graphene-polymer nanocomposites. / Boland C.S., Khan U., Ryan G., Barwich

- S., Charifou R., Harvey A. Backes C., Li Z., Ferreira M.S., Möbius M.E. etc.
// Science. — 2016. — V. 354. P. 1257–1260.
114. **Pépin-Donat B.** Electromechanical polymer gels combining rubber elasticity with electronic conduction. / Pépin-Donat B., Viallat A., Blachot J.F., Lombard C. // Adv. Mater. — 2006. — V.18. I. 11. — P. 1401–1405.
115. **Wu, Q.** A robust, highly stretchable supramolecular polymer conductive hydrogel with self-healability and thermo-processability. / Wu Q., Wei J., Xu B., Liu X., Wang H., Wang W., Wang Q., Liu W. // Sci. Rep. — 2017. — V. 7. I. 1. — № 41566.
116. **Zhang, Y.-M.** Competition of cation- π and exo-wall π - π interactions: a novel approach to achieve ultrasensitive response. / Zhang Y.-M., Zhu W., Qu W.-J., Zhong K.-P., Chen X.-P., Yao H., Wei T.-B. // Chem. Commun. — 2018. — V. 54. I. 36. — P. 4549 — 4552.
117. **Lin, Q.** A novel strategy for the design of smart supramolecular gels: controlling stimuli-response properties through competitive coordination of two different metal ions. / Lin Q., Sun B., Yang Q.-P., Fu Y.-P., Zhu X., Zhang Y.-M. // Chem. Commun. — 2014. — V. 50. — P. 10669 — 10671.
118. **Wei, T.** Supramolecular organogel with aggregation-induced emission for ultrasensitive detection and effective removal of Cu^{2+} and Hg^{2+} from aqueous solution. / Wei T., Zhao Q., Li Z., Dai X., Niu Y., Yao H., Zhang Y., Qu W., Lin Q. // DyesPigments. — 2021. — V. 192.— № 109436.
119. **Christoff-Tempesta T.** Beyond Covalent Crosslinks: Applications of Supramolecular Gels. / Christoff-Tempesta T., Lew A.J., Ortony J.H. // Gels. — 2018. — V. 4. I. 2. P 40.
120. **Chen, Y.-Y.** A novel aie-based supramolecular polymer gel serves as an ultrasensitive detection and efficient separation material for multiple heavy metal ions. / Chen Y.-Y., Gong G.-F., Fan Y.-Q., Zhou Q., Zhang Q.-P., Yao

- H., Zhang Y.-M., Wei T.-B., Lin Q. // *Soft Matter*. — 2019. — V.15. — P. 6878–6884.
121. **Lin, Q.** Rationally introduce multi-competitive binding interactions in supramolecular gels: A simple and efficient approach to develop multi-analyte sensor array. / Lin Q., Lu T.-T., Zhu X., Wei T.-B., Li H., Zhang Y.-M. // *Chem. Sci.*— 2016. — V. 7. — P. 5341–5346.
122. **Felip-Leon, C.** Multimodal Light-Harvesting Soft Hybrid Materials: Assisted Energy Transfer Upon Thermally Reversible Gelation. / Felip-Leon C., Díaz-Oltra S., Galindo F., Miravet J. F. // *Chem. Mater.* — 2017. — V. 121. I.39. — P. 21154-21159.
123. **Shi, Y.** Energy gels: A bio-inspired material platform for advanced energy applications. / Shi Y., Zhang J., Pan L., Shi Y., Yu G. // *Nano Today*. — 2016. — V. 11. I. 6. — P. 738–762.
124. **Yaszemski, M.** Tissue Engineering and Novel Delivery Systems. / Yaszemski M., Trntolo D., Lewandrowski K-U., Hasirci V., Altobelli D., Wise D. CRC Press. — 2003. — 620 p.
125. **Slaughter, B.** Hydrogels in regenerative medicine. / Slaughter B., Khurshid S., Fisher O., Khademhosseini A., Peppas N. // *Advanced Materials*. — 2009 — V. 21. I. 32. — P. 3307-3329.
126. **Drury, J.L.** Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications. / Drury J.L., Mooney D.J. // *Biomaterials*. — 2003. — V. 24. I. 24. — P. 4337-4351
127. **Singh, R.** Natural polymer-based hydrogels as scaffolds for tissue engineering. / Singh R., Patel S., Singh D., *Nanobiomaterials in Soft Tissue Engineering Applications of Nanobiomaterials*, Elsevier. — 2016. — P. 231-260.
128. **Jeong, S.** Development of Antioxidant-Fortified Oleogel and Its Application as a Solid Fat Replacer to Muffin. Foods and Specific Killing of Antibiotic-Resistant Bacteria. / Jeong S., Lee S., Oh I. // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. — 2019. — V. 10. I. 12. — P. 16320–16327.

129. **Hadian M.** Encapsulation of *Rosmarinus officinalis* essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antibacterial activity in beef cutlet against *Salmonella typhimurium* during refrigerated storage. // Hadian M., Rajaei A., Mohsenifar A., Tabatabaei M. // *LWT - Food Science and Technology*. — 2017. — V.84. P. 394–401.
130. **Barreira, J.C.M.** Development of hydrosoluble gels with *Crataegus monogyna* extracts for topical application: Evaluation of antioxidant activity of the final formulations. / Barreira J.C.M., Rodrigues S., Carvalho A.M., Ferreira I.C.F.R. // *Ind. Crops Prod.* — 2009. — V. 42. P. 175–180.
131. **Maqsoudlou, A.** Improving the efficiency of natural antioxidant compounds via different nanocarriers. / Maqsoudlou A., Assadpour E., Mohebodini H., Jafari S.M. // *Adv. Colloid Interface Sci.* — 2020. — V. 278. — № 102122.
132. **Salazar-Bautista, S.C.** Encapsulation and release of hydrophobic molecules from particles of gelled triglyceride with amino acid-based low-molecular weight gelators. / Salazar-Bautista S.C., Chebil A., Pickaert, G., Gaucher C., Jamart-Gregoire B., Durand A., Leonard M. // *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* — 2017. — V.514. P. 11–20.
133. **Choi, S.G.** Thermosensitive and mucoadhesive sol-gel composites of paclitaxel/dimethyl- β -cyclodextrin for buccal delivery. / Choi S.G., Lee S.E., Kang B.S., Ng C.L., Davaa E.J. // *PLoS ONE*. — 2014. — V.9. I. 10. — №109090.
134. **Fei, J.** Noble metal nanochains through helical self-assembly. / Fei J., Cui Y., Wang A., Zhu P., Li J. // *Chem. Commun.* — 2010. — V. 46. I. 13. — P. 2310-2312.
135. **Bhat, S.** Facially amphiphilic thiol capped gold and silver nanoparticles. / Bhat S., Maitra U. // *Chem. Mater.* — 2008. — V. 120. I. 6. — P. 507-513.
136. **Begum, R.** A Review of Responsive Hybrid Microgels Fabricated with Silver Nanoparticles: Synthesis, Classification, Characterization and

- Applications. Begum R., Naseem K., Farooqi Z.H. // *J. Sol-Gel Sci. Technol.* — 2016. — V. 77. P. 497–515.
137. **Wu, W.** Chitosan-based Responsive Hybrid Nanogels for Integration of Optical pH-sensing, Tumor Cell Imaging and Controlled Drug Delivery. / Wu W., Shen J., Banerjee P., Zhou, S. // *Biomaterials.* — 2010. — V.31.I. 32. — P. 8371–8381.
138. **Wu, W.** Optical Detection of Glucose by CdS Quantum Dots Immobilized in Smart Microgels. / Wu W., Zhou T., Shen J., Zhou S. // *Chem. Commun.* — 2009. — V. 7. I. 29. — P. 4390–4392.
139. **Thomas, V.** Review on Polymer, Hydrogel and Microgel Metal Nanocomposites: A Facile Nanotechnological Approach. / Thomas V., Namdeo M., Murali Mohan Y., Bajpai S., Bajpai M. // *J. Macromol. Sci. A.* — 2007. — V. 45.I. 1. — P. 107–119.
140. **Овчинников, М.М.** Влияние неэлектролитов на процесс гелеобразования в водных цистеин-серебряных растворах. / Овчинников М.М., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // *Журн. Структурной химии.* — 2011. — Т. 52, № 6. — С. 1203-1207.
141. **Пахомов, П.М.** Формирование наноструктурированных гидрогелей в растворах L-цистеина и нитрата серебра. / Пахомов П.М., Спиридонова В.М., Абрамчук С.С., Хижняк С.Д., Овчинников М.М. // *Российские нанотехнологии.* — 2010. — Т. 5. С. 36-40.
142. **Pakhomov, P.M.** Study of gelation in aqueous solutions of L-cysteine and silver nitrate. / Pakhomov P.M., Khizhnyak S.D., Lavrienko M.V., Ovchinnikov M.M., Nierling W., Lechner M.D. // *Colloid Journal.* — 2004. — V. 66. I. 1. — P. 65-70.
143. **Komarov, P.V.** Formation of nanoscale supramolecular aggregates in cysteine-silver nitrate solution. / Komarov P.V., Sannikov I.P., Khizhnyak

- S.D., Ovchinnikov M.M., Pakhomov P.M. // *Nanotechnol. Russ.* — 2008. — V. 3. — P. 716–721.
144. **Pakhomov, P.M.** A supramolecular medical hydrogel based on L-cysteine and silver ions. / Pakhomov P.M., Ovchinnikov M.M., Khizhnyak S.D., Roshchina O.A., Komarov P.V. // *Polymer Science. Ser. A.* — 2011. — V. 53. — P. 820–826
145. **Pakhomov, P.M.** Supramolecular hydrogels based on silver mercaptide. self-organization and practical application. / Pakhomov P.M., Khizhnyak S.D., Ovchinnikov M.M., Komarov P.V. // *Macromol. Symp.* — 2012. — V. 316. P. 97–107.
146. **Komarov, P.V.** Self-assembly and gel formation processes in an aqueous solution of L-cysteine and silver nitrate. / Komarov P.V., Mikhailov I.V., Alekseev V.G., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. // *Journal of Structural Chemistry.* — 2012. — V. 53. I. 5. — P. 988–1005.
147. **Baranova, O.A.** Supramolecular hydrogel based on L-cysteine and silver nanoparticles / Baranova O.A., Khizhnyak S.D., Pakhomov P.M. // *J. Struct. Chem.* — 2014. — V. 55. P. 169–174.
148. **Lenz, G.R** Metal chelates of some sulfur-containing amino acids. / Lenz G.R., Martell A.E. // *Biochemistry.* — 1964. — V. 3. I. 6. — P. 745-750.
149. **Andersson, L.O.** Study of some silver-thiol complexes and polymers: stoichiometry and optical effects. / Andersson L.O. *J. Polym. Sci. Part A 1.* — 1972. — V. 10. — P. 1963-1973.
150. **Liu, J.** Controlled Release of Biologically Active Silver from Nanosilver Surfaces. / Liu J., Sonshine D.A., Shervani S., Hurt R.H. // *ACS Nano.* — 2010. — V. 4. I. 11. — P. 6903–6913.
151. **Адамян, А.Н.** Гелеобразование в низкоконцентрированных водных растворах, содержащих L-цистеин и ацетат серебра. / Адамян А.Н., Аверкин Д.В., Хижняк С.Д., Овчинников М.М., Пахомов П.М. // *Вестник*

- Тверского государственного университета, Серия «Химия». — 2016. — № 2. — С. 89-98.
152. **Перезозова, Т.В.** Гелеобразование в водном растворе L-цистеина и нитрита серебра. / Перезозова Т.В., Овчинников М.М., Арутюнян Л.Р., Арутюнян Р.С., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Вестник ТвГУ. Серия: Химия. — 2016. — №2. — С.135-143.
153. **Адамян, А.Н.** Влияние освещения на процесс самоорганизации в цистеин-серебряном растворе. / Адамян А.Н., Иванова А.И., Семенова Е.М., Малышев М.Д., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. — 2021. — Т.43. № 1. — С. 60-68.
154. **Адамян, А.Н.** Влияние дневного света на характер самоорганизации в L-цистеин-серебряном растворе. / Адамян А.Н., Иванова А.И., Малышев М.Д., Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Известия РАН. Серия химическая. — 2022. —Т.71. № 2. — С. 292-297.
155. **Адамян, А.Н.** Процессы самоорганизации в L-цистеин-серебряном растворе под воздействием УФ-излучения / Адамян А.Н., Хижняк С.Д., Барсегян Т.А., Иванова А.И., Малышев М.Д., Пахомов П.М. Процессы самоорганизации в L-цистеин-серебряном растворе под воздействием УФ-излучения. // Известия РАН. Серия химическая. — 2022.— № 10. — С. 2130-2137.
156. **Пахомов, П.М.** Супрамолекулярный гидрогель медицинского назначения на основе L-цистеина и ионов серебра. / Пахомов П.М., Овчинников М.М., Хижняк С.Д., Рощина О.А., Комаров П.В. // Высокомолек. соед. — 2011. — Серия А. Т.53, №.9. — С.1574-1581.
157. **Малкин, А.Я.** Диффузия и вязкость полимеров. Методы измерения. / Малкин А.Я, Чалых А.Е. — М., 1979. — 303 с.
158. **Овчинников, П.Ф.** Реология тиксотропных систем. / Овчинников П.Ф., Крулицкий Н.Н., Михайлов Н.В., Киев, 1972. — 461 с.

159. **Никольский, Б.П.** Справочник химика. / Никольский Б.П., 2-е изд., испр. - М.-Л.: Химия, 1966. — 1072 с.
160. **Oplander, C.** The Role of Photolabile Dermal Nitric Oxide Derivates in Ultraviolet Radiation (UVR)-Induced Cell Death. / Oplander C., Suschek C. V. // *Int. J. Mol. Sci.* — 2013. — V. 14. I. 1. — P. 191–204.
161. **Bell, R.A.** Structural chemistry and geochemistry of silver-sulfur compounds: critical review. / Bell R.A., Kramer J.R. // *Environ Toxicol Chem.* — 1999. — V. 18. — P. 9–22.
162. **Leung, B.O.** Silver (I) Complex Formation with Cysteine, Penicillamine, and Glutathione. / Leung B.O., Jalilehvand F., Mah V., Parvez M., Wu Q. // *Inorg. Chem.* — 2013. — V. 52. I. 8. — P. 4593–4602.
163. **Randazzo, R.** Hierarchical Effect behind the Supramolecular Chirality of Silver (I)–Cysteine Coordination Polymers. Randazzo R., Mauro A.D., D’Urso A., Messina G.C., Compagnini G., Villari V. etc. // *J. Phys. Chem. B.* — 2015. — V. 119. I. 14. — P. 4898–4904.
164. **Casuso, P.** Converting drugs into gelators: supramolecular hydrogels from N-acetyl-L-cysteine and coinage-metal salts. Casuso P., Carrasco P., Loinaz I., Grande H. J. , Odriozola I. // *Org. Biomol. Chem.* — 2010. — V. 8. — P. 5455–5458.
165. **Shen, J.-S.** Aggregated coordination polymers of Ag⁺ with a cysteine derivative ligand containing an AIEgen. / Shen J.-S., Li D.-H., Chang M.-B., Zhou J., Zhang H., Jiang Y.-B. // *Langmuir.* - 2011. — V. 27. P. 481–486.
166. **Willets K.A.** Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy and Sensing. / Willets K.A., P. Van Duyne R. Annu. // *Rev. Phys. Chem.* - 2007. - V. 58. - P. 267–297.
167. **Babu, S.** Rapid synthesis of highly stable silver nanoparticles and its application for colourimetric sensing of cysteine. / Babu S., Claville M.O., Ghebreyessus K. // *Journal of Experimental Nanoscience.* — 2015 - V. 10. I. 16. — P. 1242-1255.

168. **Rusul, K.I.** Surface Plasmon Resonance of Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Applications. / Rusul, K.I., Mubarak T.H., Al-Haddad R.M.S. // *J. Biochem Tech.* - 2019 – V. 10. I.2. P.62-64.
169. **Amendola, V.** A Study of the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanoparticles by the Discrete Dipole Approximation Method: Effect of Shape, Size, Structure, and Assembly. Amendola V., Bakr O.M., Stellacci F. // *Plasmonics.* – 2010 - V. 5, P. 85–97.
170. **Shyam, M.** Nano-carriers for Drug Delivery: Nanoscience and Nanotechnology in Drug Delivery. / Shyam M., Shivendu R., Dasgupta N., Elsevier, 2018. – 682 p.
171. **Gumustas, M.** Multifunctional systems for combined delivery, biosensing and diagnostics. / Gumustas M., Sengel-Turk C., Gumustas A., Ozkan S., Elsevier, 2017. – P.67.
172. **Qiao, Z.** Silver nanoparticles with pH induced surface charge switchable properties for antibacterial and antibiofilm applications. / Qiao Z., Yao Y., Song S., Yin M., Luo J. // *J. Mater. Chem. B*, 2019. V. 7. – P. 830–840.
173. **Khan M.M.** Synthesis of Cysteine Capped Silver Nanoparticles by Electrochemically Active Biofilm and their Antibacterial Activities. / Khan M.M., Kalathil S., Lee J., Cho M.H. // *Bull. Korean Chem. Soc.* – 2012. – V. 33. I. 8. – P. 2592-2596.
174. **Rymovicz, A.U.M.** Screening of reducing agents for anaerobic growth of *Candida albicans* SC531. / Rymovicz A.U.M., Souza R.D, Gursky L.C., Rosa R.T., Trevilatto P.C. etc. // *J. Microb. Meth.* – 2011. – V. 84. I. 3. – P. 461-466.
175. **Khizhnyak, S.D.** Gel formation in low-concentration aqueous solutions containing N-acetyl-L-cysteine and silver nitrate. / Khizhnyak S.D., Ovchinnikov M.M., Pakhomov P.M. // *J. Struct. Chem.* – 2014. – V. 55. P. 175–179.

176. **Butler, J.N.** Ionic Equilibrium - A Mathematical Approach. / Butler J. N. Reading, Mass.: Addison-Wesley, 1964. — 547p.
177. **Inczedy, J.** Analytical Applications of Complex Equilibria. / Inczedy J., Budapest: Akademiai Kiado, 1976. — 415 p.
178. **Потапенкова, Т.В.** Сравнение процессов самоорганизации в водных растворах L-цистеина и N-ацетил-L-цистеина с нитритом серебра. / Потапенкова Т.В., Вишневецкий Д.В., Иванова А.И., Хижняк С.Д., Пахомов П.М., Вестник, Серия "Химия". —2021. — Т.44. №2. — С. 56-68.
179. **Murray, R.K.** Harper's Biochemistry / Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. / The McGraw-Hill Companies, 2012. — 868 p.
180. **Svensson, B.E.** Myeloperoxidase-oxidase oxidation of cysteamine / Svensson B.E., Biochem. J.— 1988. — V. 253. — P. 441-449.
181. **Zhang, H.** The influence of carboxyl groups on the photoluminescence of mercaptocarboxylic acid-stabilized Cd, Te nanoparticles / Zhang H., Zhou Z., Yang B. // J. Phys. Chem. B. — 2003. — V. 107. I. 1. — P. 8-13.
182. **Habibi, D.** Synthesis of Some Novel Silver-Cysteamine Complexes. / Habibi D., Ghaemi E., Nematollahi D. // Molecules, 2000. — V. 5. I. 12. — P. 1194 —1200.
183. **Маррел Д.** Химическая связь. / Маррел Д., Теттл С., Теддер Д.. — М.: Мир, 1980. — 382 с.
184. **Shyam, M.** Nano-carriers for Drug Delivery: Nanoscience and Nanotechnology in Drug Delivery. / Shyam M., Shivendu R., Dasgupta N., Elsevier, 2018. — 682 p.
185. **Gumustas, M.** Multifunctional systems for combined delivery, biosensing and diagnostics. / Gumustas M., Sengel-Turk C., Gumustas A., Ozkan S., Elsevier, 2017. — P.67.

186. **Малышев, М.Д.** Моделирование сетчатых молекулярных систем различной химической природы: дис. канд. физ.-мат. наук: защищена 01.12.2022 / Малышев Максим Дмитриевич. – Тверь, 2022. – 159 с.
187. **Белеванцев, В.И.** Очерк свойств серебра и его соединений. В: Применение препаратов серебра в медицине. / Белеванцев В.И, Бондарчук И.В., Новосибирск, 1994. – 255 с.
188. **Покровский, В.И.** Краткая медицинская энциклопедия. В 2 томах. / Покровский В.И., М.: Медицинская энциклопедия, Крон-пресс, 1994. – с. 303.
189. **Потапенкова Т.В.,** Червинец В.М., Вишневецкий Д.В., Хижняк С.Д, Пахомов П.М. Антибактериальная активность водных растворов на основе L- цистеина, N-ацетилцистеина и нитрита серебра. // Вестник Тверского государственного университета. Серия «Химия». 2022. № 2. С. 110 – 117.
190. **Lansdown, A.B.** Silver in Health Care: Antimicrobial Effects and Safety in Use. / Lansdown A.B., Current Problems in Dermatology. – 2006. – V. 33. – P.17–34.
191. **Wilson, S.** Antimicrobial Silver in Medicinal and Consumer Applications: A Patent Review of the Past Decade (2007–2017). / Wilson S., Barnard R.T., Blaskovich M.A.T. Antibiotics (Basel). – 2018. – V. 7. I. 4. – P. 93-108.
192. **Talapko, J.** Antibacterial Activity of Silver and Its Application in Dentistry, Cardiology and Dermatology. / Talapko J., Matijević T., Juzbašić M., Antolović-Požgain A., Microorganisms. – 2020. – V. 8. I. 9. – P. 1400-1407.
193. **Skiba, M.** Plasma-chemical formation of silver nanoparticles: The silver ions concentration effect on the particle size and their antimicrobial properties. / Skiba M. Pivovarov A., Vorobyova V., Derkach T., Kurmakova I. // Journal of Chemical Technology and Metallurgy. – 2019. – V.54. I. 2. – P. 311-318.
194. **Morones, J.R.** The bactericidal effect of silver nanoparticles. / Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramírez J.T., Yacamán M.J. // Nanotechnology. 2005. – V. 16. I. 10. – P. 2346–2353.

195. **McNamara, K.** Nanoparticles in biomedical applications. / McNamara K., Tofail S.A.M., *Adv. Phys.: X.* — 2016. — V. 2. — P. 54–88.
196. **Mulley, G.** Inactivation of the Antibacterial and Cytotoxic Properties of Silver Ions by Biologically Relevant Compounds. / Mulley G., Jenkins A.T.A., Waterfield N.R. // *Plos One.* — 2014. — V. 9. I. 4. — P. 94409-94418.
197. **Verano-Braga, T.** Insights into the Cellular Response Triggered by Silver Nanoparticles Using Quantitative Proteomics. / Verano-Braga T., Miethling-Graff R., Wojdyla K., Rogowska-Wrzesinska A., Brewer J.R., Erdmann H., Kjeldsen F. // *ACS Nano.* — 2014. — V. 8. I. 3. — P. 2161-2175.
198. **Osaka, T.** Effect of surface charge of magnetite nanoparticles on their internalization into breast cancer and umbilical vein endothelial cells. / Osaka T., Nakanishi T., Shanmugam S., Takahama S., Zhang H. // *Colloids Surf., B.* — 2009. — V. 71. — P. 325–330.
199. **Lee, Y.-H.** Cytotoxicity, oxidative stress, apoptosis and the autophagic effects of silver nanoparticles in mouse embryonic fibroblasts / Lee Y.-H., Cheng F.-Y., Chiu H.-W., Tsai J.-C., Fang C.-Y etc. // *Biomaterials.* — 2014. — V. 35. I. 16. — P. 4706–4715.