

Перезозова Татьяна Викторовна

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

Специальность 1.4.4. Физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата химических наук

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

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

Официальные оппоненты: **Сашина Елена Сергеевна,**
доктор химических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет промышленных
технологий и дизайна»,
заведующая кафедрой химических технологий
имени профессора А.А. Хархарова

Лысенко Евгений Александрович,
доктор химических наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»,
доцент кафедры высокомолекулярных соединений

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Тверской государственный технический
университет»

Защита состоится 29 февраля 2024 года в 12:30 на заседании диссертационного совета 24.2.411.02 при ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет» по адресу: 170002, г. Тверь, Садовый переулок, 35, ауд. 226.

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

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Е.В. Барабанова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 образованы с помощью слабых взаимодействий.

Молекулярная самосборка (процессы самоорганизации) за счет слабых взаимодействий является одним из самых распространенных процессов в природе. Самосборка с участием малых молекул, например, в водной среде приводит 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 низко концентрированного водного раствора (~0.01%) простейшей аминокислоты L-цистеина ($\text{HS-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$) и нитрата серебра (AgNO_3), 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, 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 происходил быстрый переход раствора в состояние тиксотропного геля. ЦСР и гидрогель 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 растворов 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 меркаптида серебра (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

AgNO₂ 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.

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.

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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** обоснована актуальность диссертационного исследования, сформулированы цель и задачи исследования, отмечены научная новизна и практическая значимость полученных результатов.

В **первой главе «Супрамолекулярные гели (СМГ). Получение, строение, свойства, классификация и методы их исследования» (литературный обзор)** приведены литературные данные о СМГ, как одного из интереснейших объектов супрамолекулярной химии. Дается определение СМГ. Рассмотрены общие закономерности и принципы образования СМГ и особенности их строения. Приведена классификация гелей. Представлены методы исследования, используемые для изучения строения и свойств СМГ. Наиболее подробно освещается вопрос формирования СМГ на основе низкомолекулярных соединений. Сообщается о способах получения и свойствах СМГ на основе водных растворов L-цистеина и некоторых солей серебра. Рассматривается вопрос получения новых СМГ на основе L-цистеина, его производных и нитрита серебра, изучаемых в рамках данной работы. Отмечается важность исследования подобных СМГ с точки зрения фундаментального и прикладного аспекта проблемы.

Во второй главе «Объекты и методы исследования» представлены объекты исследования, способы их получения, рассмотрены физико-химические методы исследований с указанием конкретного используемого оборудования.

Объектами исследования служили водные растворы и гели на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина, меркаптопропионовой кислоты, цистеина и солей серебра: нитрита серебра (AgNO_2) и нитрата серебра (AgNO_3) с концентрацией дисперсной фазы от 1.0 до 50.0 мМ и различными молярными соотношениями (L-цистеин, его производные)/(соль серебра) в диапазоне от 1.0/0.8 до 1.0/1.6.

Для выполнения поставленных задач использовали комплекс физико-химических методов анализа. Изучение кинетики процессов самоорганизации, гелеобразования и образования НЧС в растворах и гелях осуществляли методом УФ спектроскопии на спектрометре «Evolution Array». Идентификацию химических изменений, происходящих в образцах на молекулярном уровне, проводили с помощью метода ИК спектроскопии на Фурье-ИК-спектрометре «VERTEX 70». С помощью метода ДСР на анализаторе Zetasizer ZS определяли в растворах распределение рассеивающих частиц по размерам, а также величину дзета-потенциала (ζ) на рассеивающих частицах в растворе. Зависимость процессов гелеобразования от рН среды определяли с использованием рН-метра фирмы Mettler Toledo «SevenMulti». Вязкостные свойства растворов и гелей оценивали на вибрационном лепестковом вискозиметре «SV-10». Исследования морфологии образцов осуществляли с использованием методов сканирующей и просвечивающей микроскопии на электронных микроскопах «JEOL JSM-6610LV» и «Leo 912 AB OMEGA», соответственно. Элементный анализ образцов проводили на рентгеновском энергодисперсионном спектрометре (EDS) Oxford INCA Energy 350.

Антибактериальная активность образцов определялась методом диффузии в агар на газоне тест культур: *Bacillus subtilis* 6633, *Staphylococcus aureus* P209 ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *Shigella sonnei* III №1908, *Salmonella typhimurium* 5715, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и других.

С помощью МТТ теста определяли влияние прекурсоров на метаболическую активность клеток карциномы молочной железы линии MCF-7.

В третьей главе «Процессы самоорганизации и гелеобразования в водных растворах на основе L-цистеина и AgNO_2 » проведены комплексные физико-химические исследования процессов самоорганизации, гелеобразования и формирования НЧС в водных растворах на основе L-цистеина/ AgNO_2 .

3.1. Установление концентрационного диапазона гелеобразования в ЦСР. С целью определения концентрации дисперсной фазы в ЦСР, при которой происходит процесс гелеобразования, были исследованы образцы растворов с молярным соотношением L-цистеин/ AgNO_2 от 1.0/0.7 до 1.0/1.75 при концентрациях дисперсной фазы 1, 25 и 50 мМ. Было обнаружено, что прочные гидрогели желтого и коричневого цвета разной степени насыщенности наблюдаются в ЦСР при концентрации растворенных компонентов в диапазоне от 10 до 50 мМ и молярных соотношениях L-цистеин/ AgNO_2 от 1.0/1.0 до 1.00/1.25 в течение первых 24 часов.

Установлено, что растворы с концентрацией исходных компонентов 1 мМ, независимо от молярного соотношения исходных компонентов, являются бесцветными и прозрачными, не способными к переходу в гелеобразное состояние. Конечное значение концентрации исходных компонентов в ЦСР, при котором система оказалась способна к формированию геля, составляло 50 мМ. Для ЦСР с такой концентрацией дисперсной фазы зафиксировано явление, не характерное для образцов меньших концентраций. Практически сразу при смешивании двух растворов получался прозрачный раствор (рис. 1а).

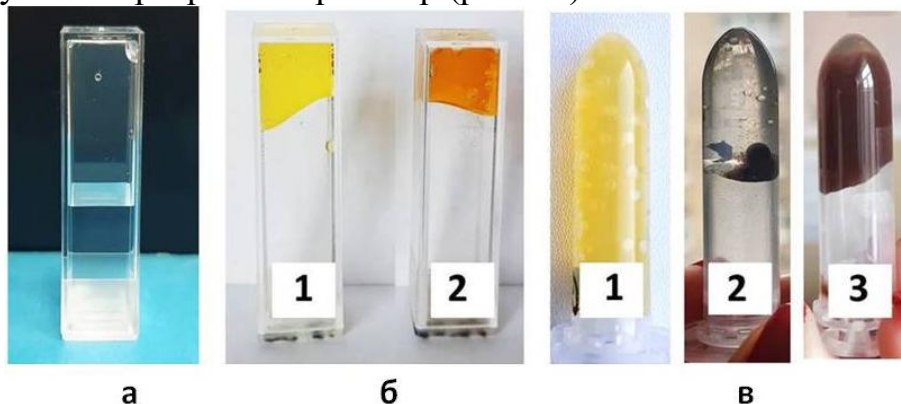


Рис. 1. Фотографии ЦСР и гелей на основе L-цистеина и AgNO_2 сразу после смешивания исходных компонентов (а) и через 48 часов (б, в). Молярные соотношения компонентов 1.00/1.00 (б) и 1.00/1.25 (в), а концентрация исходных компонентов 1 (а), 10 (б) и 50 мМ (в). $T = 25^\circ\text{C}$.

При соотношении компонентов 1.00/1.25 через 48 час гель становился сначала желтым, а затем прозрачным с осадком темно-коричневого цвета (рис. 1в – 1 и 2). При лёгком встряхивании геля осадок равномерно распределялся по объему раствора, при этом мениск удерживал раствор (рис. 1в – 3), а через 15 мин нахождения раствора в покое наблюдалось повторное формирование прозрачного бесцветного геля с темно-коричневым осадком (рис. 1в - 2). Увеличение концентрации AgNO_2 в растворе приводило к усилению интенсивности окрашивания ЦСР и формирующихся гелей.

Как оказалось, в дальнейшем окрашивание ЦСР и гелей связано с образованием в них НЧС. При этом нитрит серебра одновременно играл роль инициатора процесса гелеобразования и восстановителя металлического серебра. Растворы и гели с ростом концентрации нитрита серебра окрашивались в более интенсивный коричневый цвет.

Гидрогели на основе ЦСР при использовании AgNO_2 формировались, в отличие от ЦСР с AgNO_3 [1], без добавления инициатора гелеобразования (соли различных металлов). При смешивании двух водных растворов L-цистеина и AgNO_2 можно наблюдать сначала помутнение раствора (рис. 2а), а примерно через 1 час при температуре 25°C раствор становился прозрачным и приобретал желтую окраску (рис. 2б). Наконец, через 3 часа после смешивания исходных растворов образовывались гидрогели коричневого цвета, проявляющие тиксотропные свойства (рис. 2в).

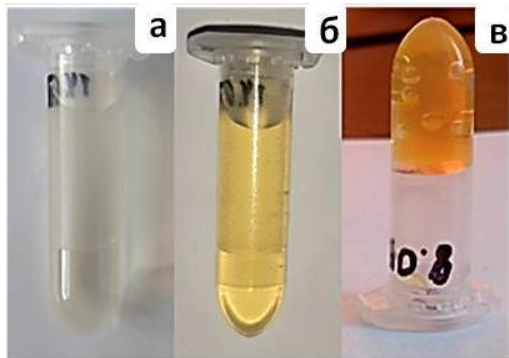


Рис. 2. Изменение ЦСР на основе L-цистеина и AgNO_2 во времени: а – сразу после смешивания, б – через 1 час и в – через 3 часа. Молярное соотношение 1.00/1.00 и концентрация исходных компонентов 10 мМ. $T = 25^\circ\text{C}$.

балла [1], т.е. при переворачивании пробирки гель может незначительно деформироваться, но при этом текучесть гелей отсутствовала.

При концентрациях 25 и 50 мМ формировались прочные гидрогели насыщенного жёлтого цвета, оцениваемые по шкале прочности в 5 баллов, т.е. при переворачивании пробирки текучесть гелей отсутствовала.

Реологические испытания образцов показали, что вязкость ЦСР монотонно растёт во времени с момента смешивания растворов (рис. 3а).

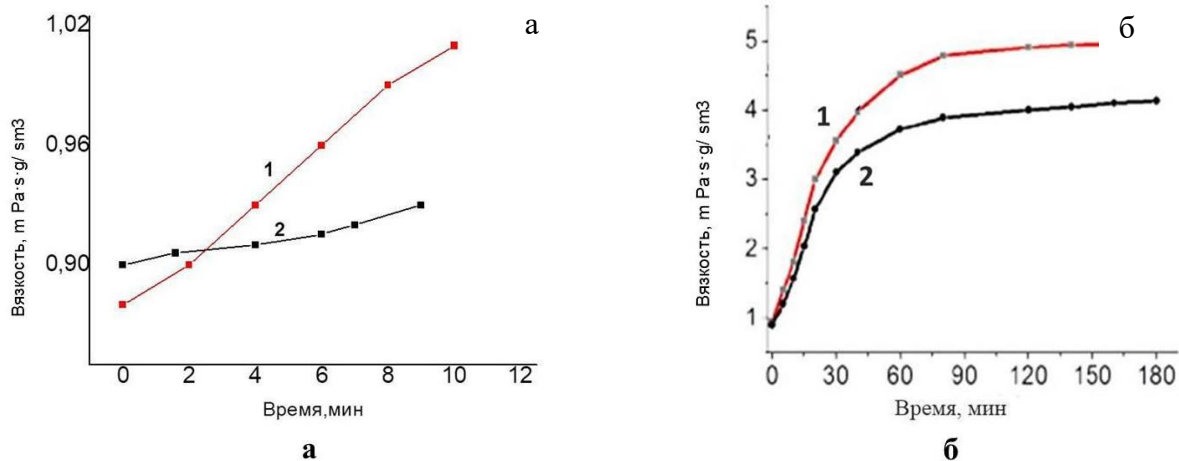


Рис. 3. Изменение вязкости ЦСР на основе L-цистеина и AgNO_2 при соотношении компонент 1.0/1.0 (1) и 1.00/1.25 (2) сразу после смешивания растворов (а) и в течение дальнейшего времени наблюдения (б)

Примерно через 1 час вязкость выходила на насыщение и формировался гель (рис. 3б). Через неделю нахождения образцов в покое значения вязкости несколько подросли, однако при механическом воздействии на гель (встряхивание пробирки)

он быстро разрушался, а его вязкость снижалась до исходного значения ЦСР. При этом, находясь в состоянии покоя, ЦСР снова становился гелем.

3.3. Изучение процессов самоорганизации в ЦСР с помощью метода ИК спектроскопии. Для изучения механизма самоорганизации в ЦСР на основе L-цистеина и AgNO_2 в работе проведены комплексные экспериментальные исследования с помощью прямых физико-химических методов.

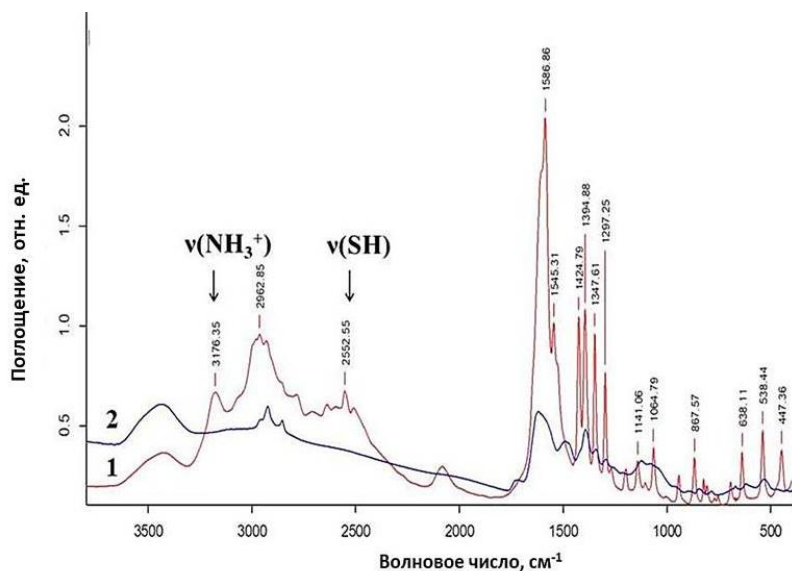


Рис. 4. Фурье ИК-спектры поглощения порошка L-цистеина (1) и ЦСР (2) при соотношении компонент 1.0/1.0 и концентрацией 10 мМ.

AgNO_2 в растворе, также, как и в случае с нитратом серебра [1], происходит по тиольной SH-группе с образованием МС (рис. 4). Об этом свидетельствует отсутствие в ИК спектрах ЦСР полосы поглощения валентных колебаний SH-группы с максимумом $\sim 2551 \text{ см}^{-1}$. В водном растворе молекула МС представляет цвиттер-ион. Эти молекулы способны в растворе к дальнейшему связыванию между собой за счет донорно-акцепторного взаимодействия.

3.4. Исследование механизма самоорганизации и гелеобразования с помощью метода УФ спектроскопии. Метод УФ спектроскопии позволяет наблюдать изменения в электронной структуре атомно-молекулярной системы ЦСР, реализуемые в процессе самоорганизации и гелеобразования. Исследование процессов самоорганизации и гелеобразования проводилось для растворов при различных молярных соотношениях и концентрациях L-цистеина и AgNO_2 . Как видно из рис. 5 в УФ спектре происходят существенные перестройки. Через примерно 1 час нахождения ЦСР в покое и темноте в УФ спектре формируются две полосы поглощения с максимумами на длинах волн 315 и 395 нм (рис. 5, спектр 3). Эти полосы относят к комплексам с переносом заряда, ответственным за формирование супрамолекулярных цепочечных структур типа $-\text{Ag-S}---\text{Ag-S}---\text{Ag-S}$ в результате донорно-акцепторного взаимодействий между молекулами МС.

Метод ИК спектроскопии был использован для изучения начальной стадии процесса самоорганизации при смешивании водных растворов L-цистеина и AgNO_2 . Рис. 4 демонстрирует изменения, происходящие при переходе от L-цистеина к ЦСР. Следует отметить, что образцы ЦСР перед записью спектра подвергались процедуре вымораживания в жидком азоте. ИК спектральные исследования образцов ЦСР показали, что взаимодействие L-цистеина и

Время от начала смешивания двух исходных водных растворов L-цистеина и AgNO_2 до окончательного формирования полос поглощения 315 и 395 нм называется временем созревания ЦСР. При этом ЦСР становился прозрачным и приобретал желтоватую окраску (рис. 2б).

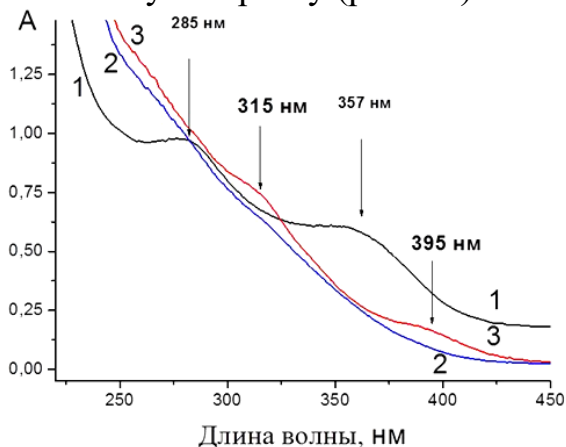


Рис. 5. Изменение УФ спектров поглощения ЦСР при соотношении компонент 1.0/1.0 во времени: 1 – в начальный момент, 2 – через 20 мин, 3 – через 1 час.

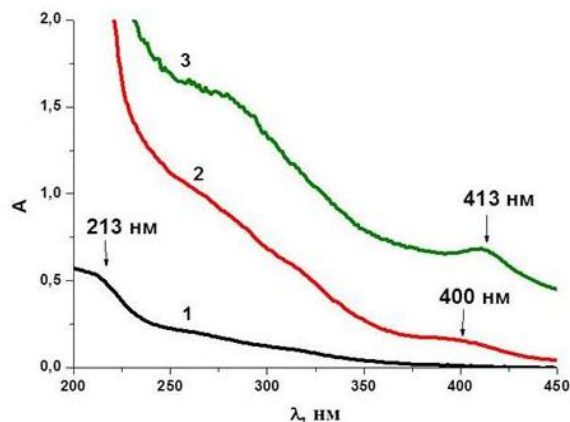


Рис. 6. УФ спектры поглощения ЦСР для образцов с концентрацией исходных компонент 1.0 (1), 10 (2) и 25 мМ (3) при молярных соотношениях L-цистеин/ AgNO_2 1.0/1.0. Измерения проведены через день после приготовления раствора.

При выдерживании ЦСР в условиях темноты и покоя в течение 1 суток УФ спектр также сильно изменялся (рис. 6). Для образцов ЦСР с концентрацией исходных компонент 1.0 и 10 мМ полосы поглощения 315 и 395 нм слабо выражены (рис. 6, спектры 1 и 2), а для образца с концентрацией 25 мМ (рис. 6, спектр 3) эти полосы практически не наблюдаются. Такое поведение полос поглощения может свидетельствовать о распаде супрамолекулярных цепочечных структур. При этом в УФ спектре одновременно появляется полоса поглощения на длине волны 400 нм и выше, обусловленная плазмонным резонансом свободных электронов на поверхности образовавшихся НЧС. При концентрации ЦСР 1 мМ раствор бесцветен и НЧС в нем не наблюдаются (рис. 6, спектр 1). При концентрации 25 мМ в УФ спектре (рис. 6, спектр 3) отчетливо проявляется полоса поглощения при 413 нм, отвечающая НЧС

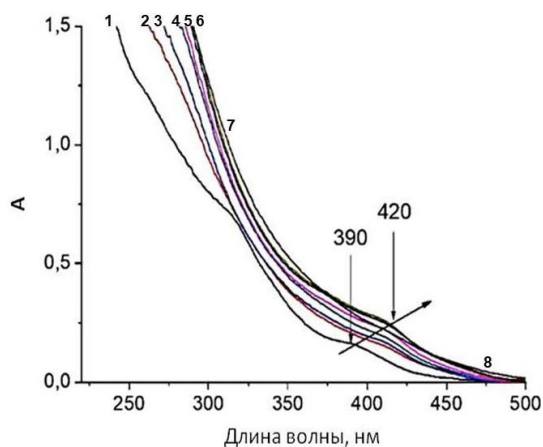


Рис. 7. УФ спектры ЦСР на основе L-цистеин/ AgNO_2 при различных молярных соотношениях: 1.0/0.8 (1), 1.0/1.0 (2), 1.00/1.15 (3), 1.0/1.2 (4), 1.00/1.25 (5), 1.0/1.3 (6), 1.0/1.5 (7), 1.00/1.75 (8).

большого размера, по сравнению с раствором при концентрации 10 мМ (рис. 6, спектр 2). В УФ спектре надосадочной бесцветной жидкости (рис. 1в) при

концентрации 50 мМ отсутствовали полосы поглощения, связанные с НЧС.

Изменение характера УФ спектров в ЦСР с разным молярным соотношением исходных компонентов демонстрирует рис. 7. Интенсивность полосы поглощения, связанная с НЧС, увеличивается и смещается с 390 до 420 нм при росте концентрации соли серебра. Сдвиг полосы поглощения в сторону больших длин волн свидетельствует о росте размеров НЧС.

Таким образом, с ростом концентрации нитрита серебра в ЦСР происходит рост концентрации НЧС и их размеров за счет распада супрамолекулярных цепочек и восстановления ионной формы серебра в металлическую. Именно с этим явлением связано изменение окраски ЦСР и СМГ.

3.5. Изучение строения и свойств ЦСР методами ДСР, определения дзета-потенциала и электропроводности. Метод ДСР позволил определить размер образующихся частиц в растворах (рис. 8).

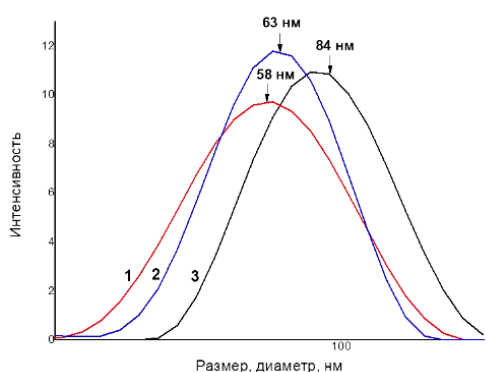


Рис. 8. Распределение рассеивающих частиц по размерам для ЦСР с молярным соотношением 1.0/1.0 и концентрацией исходных компонентов 10 (1), 25 (2) и 50 мМ (3) через 1.5 час после смешивания исходных растворов

размеру НЧС встраиваются в супрамолекулярные цепочки из молекул МС и 2 - при разрушении супрамолекулярных цепей образующиеся НЧС покрываются молекулами МС и обрывками супрамолекул. Измерение поверхностного заряда рассеивающих частиц показало, что общий заряд частиц положителен, ζ -потенциал в среднем равен 30 мВ. Положительное значение заряда частиц, по-видимому, обусловлено остаточными аминогруппами и ионами серебра в образовавшейся структуре частиц. Электропроводность ЦСР падала при разбавлении системы из-за уменьшения концентрации заряженных частиц.

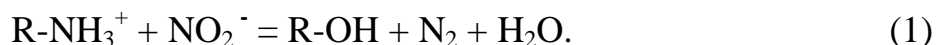
3.6. Изменение величины рН в процессе самоорганизации и гелеобразования ЦСР. Измерение величины рН для ЦСР на основе L-цистеин/ AgNO_2 показало, что с момента смешивания исходных растворов происходит ее существенное изменение в кислую область в сравнении с рН=5.5 для исходного раствора L-цистеина (табл. 1). Резкое снижение значения рН наблюдается в начальный момент смешивания

компонентов раствора и незначительное снижение при последующем длительном (5 дней) нахождении раствора в покое. Увеличение содержания нитрита серебра в растворе вело к незначительному росту значения рН.

Таблица 1. Величина рН для ЦСР с разным соотношением компонентов и их общей концентрацией 10 мМ.

Молярное соотношение исходных компонентов (L-цистеин/AgNO ₂)	1.0/1.0	1.00/1.25
Величина рН свежеприготовленного ЦСР	3.31	3.45
Величина рН ЦСР через 5 дней	2.90	3.11

Результаты, полученные с помощью метода рН-метрии, показывают, что первичная аминокислота, в которой присутствует амино-группа, диазотируется в водном растворе при рН >3.3. Из слабой азотистой кислоты в кислой среде, формируется катион нитрозония (NO⁺) согласно реакции диазотирования аминокислоты L-цистеина



Данная реакция является важной стадией в процессе самоорганизации и дальнейшем формировании гидрогеля.

3.7. Морфология гидрогелей и характеристика их элементного состава

С помощью методов электронной микроскопии в работе получены данные о морфологии ЦСР и гелей на основе L-цистеина и AgNO₂ при различных концентрациях исходных компонентов.

На рис. 9 представлены микроснимки гидрогеля, полученные с помощью метода СЭМ.

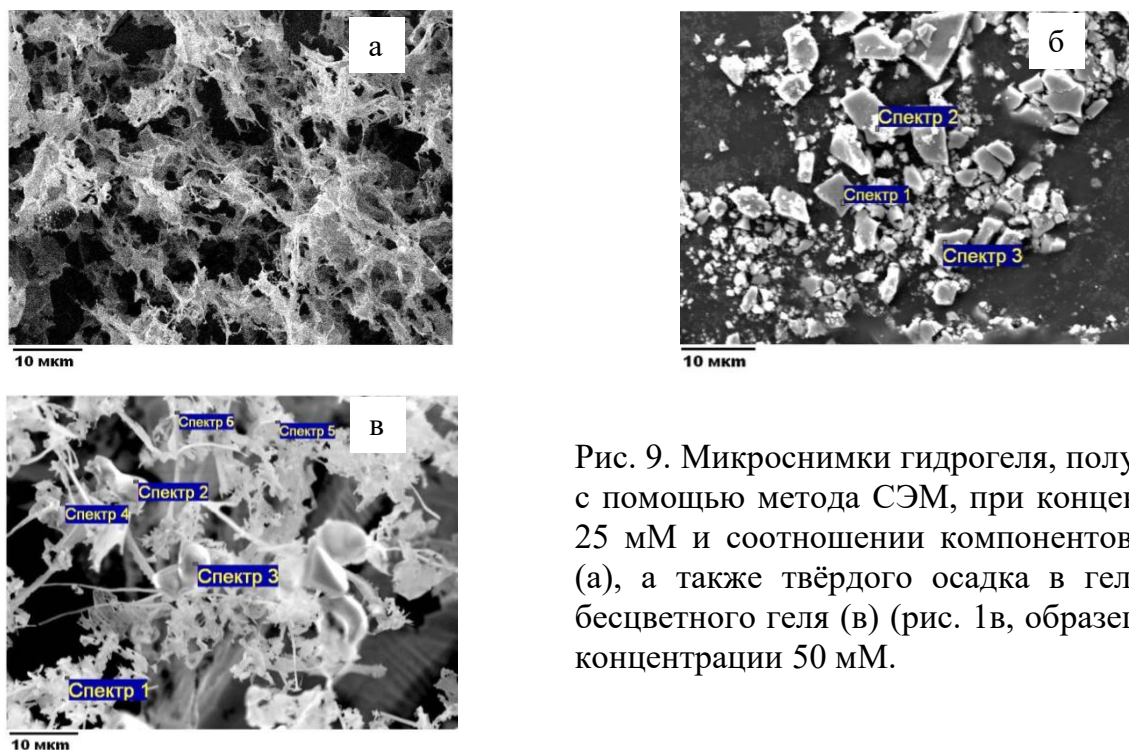


Рис. 9. Микроснимки гидрогеля, полученные с помощью метода СЭМ, при концентрации 25 мМ и соотношении компонентов 1.0/1.0 (а), а также твёрдого осадка в геле (б) и бесцветного геля (в) (рис. 1в, образец 2) при концентрации 50 мМ.

Микроснимки СЭМ демонстрируют структуру, характерную для пространственной сетки гидрогелей (рис. 9а). Гидрогелям с большей концентрацией дисперсной фазы (25 и 50 мМ) был присущ более регулярный характер пространственной сетки и высокая плотность, что делает их более прочными.

Бесцветный гель или надосадочная жидкость образца при концентрации исходных компонентов 50 мМ также имеет сеточное строение (рис. 9в). Морфологию коричневого осадка демонстрирует рис. 9б. На микроснимке видны агрегаты различной формы и размера при полном отсутствии сеточной структуры. На рис. 10 представлены микроснимки гидрогелей, полученные с помощью метода ПЭМ, и электронограммы для образца с дисперсной фазой 25 мМ (рис. 10а) и для надосадочной жидкости 50 мМ (рис. 10б).

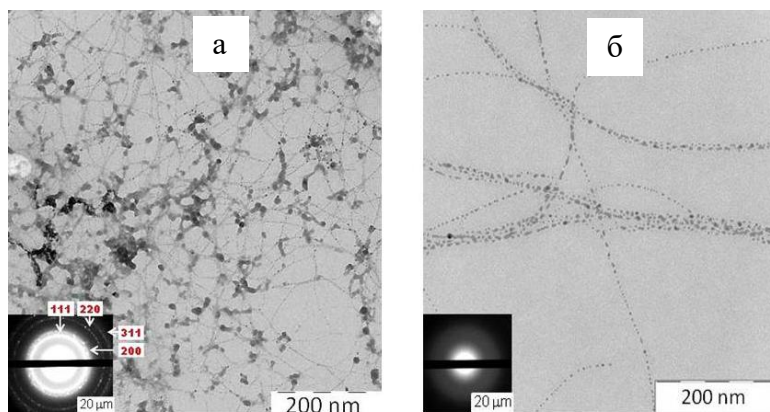
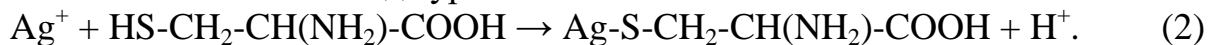


Рис. 10. Микроснимки, полученные с помощью метода ПЭМ, и электронограммы (врезки) гидрогелей с концентрацией дисперсной фазы 25 (а) и 50 мМ – надосадочная жидкость (б).

Для образцов гелей на рис. 10а отчетливо проявляется пространственная сетка с инкорпорированными в нее сферическими частицами черного цвета, представляющими НЧС. Наличие НЧС отчетливо подтверждает электронограмма, на которой проявляются дифракционные кольца с рефlekсами. Для надосадочной жидкости (бесцветный гидрогель) наблюдается редкая пространственная сетка (рис. 10б). Малое содержание НЧС в данном образце демонстрирует электронограмма, на которой дифракционные кольца, характерные для наночастиц, отсутствуют и имеет место диффузное рассеяние. Элементный анализ образцов осуществлялся на основе рентгеновских спектров с выбранных участков на СЭМ-изображениях (рис. 9). Результаты элементного анализа для образца с дисперсной фазой 50 мМ показали, что в выпавшем осадке (рис. 9б) содержится большое количество Ag, но также незначительное количество С, N, S и O. В геле (рис. 9в) также содержится Ag и указанные элементы, но, по сравнению с осадком, серебра в геле меньше, а остальных элементов (С, N, S и O), наоборот, больше.

3.8. Предполагаемый механизм гелеобразования в водных растворах L-цистеина и AgNO_2 . Используя весь комплекс полученных данных, можно предложить следующий механизм процессов самоорганизации и гелеобразования при смешивании водных растворов L-цистеина и нитрита серебра. На первой стадии

при смешивании водных растворов происходит образование молекул МС. Эта реакция может быть записана в виде уравнения



Далее цвиттер-ионы МС, связываются между собой за счет донорно-акцепторного взаимодействия между атомами серы и серебра, образуя супрамолекулярные цепочки типа



где R – фрагмент молекулы L-цистеина.

Кроме того, другим способом формирования супрамолекулярных структур могут служить L-цистеин/Ag⁺ комплексы. Дело в том, что AgNO₂ является восстановителем. В результате в ЦСР из комплексов L-цистеин/Ag⁺, входящих в состав супрамолекулярных цепочек, вследствие окислительно-восстановительной реакции, образуются стабилизированные аминокислотой НЧС. Одновременно с этим, из слабой азотистой кислоты в кислой среде, формируется катион нитрозония (1), что определяет протекание реакции диазотирования аминогруппы L-цистеина. Как следствие, на процесс гелеобразования оказывают влияние межмолекулярное взаимодействие за счёт водородных связей между группами –ОН и –СООН. Одновременное протекание этих химических процессов приводит к формированию пространственной сетки СМГ, содержащий НЧС.

Четвертая глава «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» посвящена исследованию процессов самоорганизации и гелеобразования в водных растворах НАЦ, ЦА и МПК и солей серебра (AgNO₂ и AgNO₃) с помощью различных физико-химических методов, а также изучению бактерицидных и противораковых свойств новых растворов и гелей.

4.1. Водные растворы на основе N-ацетил-L-цистеина, производных L-цистеина и солей серебра. Визуальные наблюдения процессов самоорганизации и гелеобразования в водных растворах на основе НАЦ/AgNO₂ показали, что растворы вне зависимости от концентрации исходных компонентов (1, 10 и 25 мМ) и различных молярных соотношений, бесцветны и прозрачны в первые 24 часа, затем слегка желтеют. Эти растворы оказались склонными к незначительной опалесценции со временем стояния, но не способны к переходу в состояние геля. В то же время на основе водных растворов НАЦ/AgNO₃ удалось получить бесцветные слабые гели.

Водные растворы на основе производных L-цистеина (МПК, ЦА) и AgNO₃ вне зависимости от молярных соотношений и концентрации исходных компонентов вообще не имели характерного окрашивания, склонны к опалесценции со временем стояния и не способны к переходу в состояние геля.

4.1.1. *Исследование процессов самоорганизации в водных растворах НАЦ, МПК, ЦА и солей серебра с помощью метода УФ спектроскопии.* Исследование УФ спектров поглощения гелей на основе водных растворов НАЦ/AgNO₃ (рис. 11а) 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).

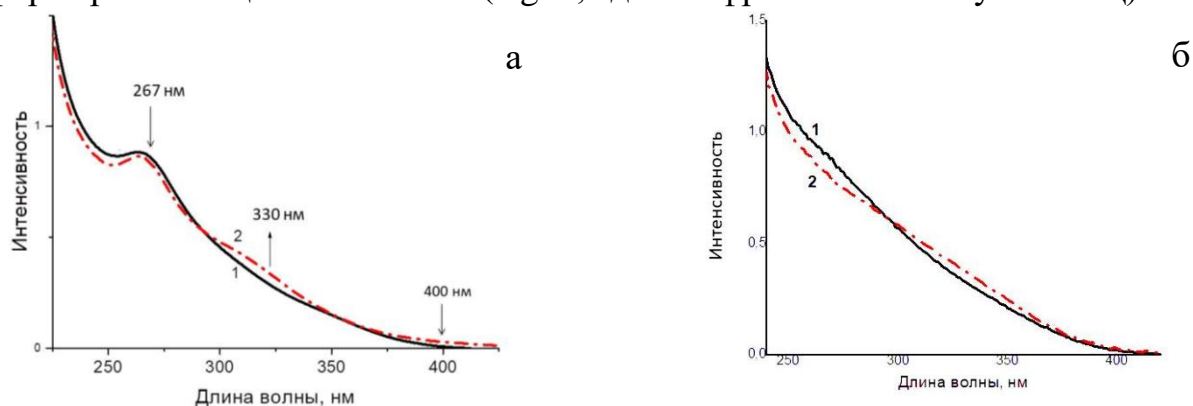


Рис. 11. УФ спектры поглощения гидрогеля на основе водного раствора НАЦ/AgNO₃ (а) и водного раствора НАЦ/AgNO₂ (б) через 5 мин (1) и 5 час (2) после момента смешивания исходных растворов. $C_{\text{НАЦ}} = 1.25$ мМ, $C_{\text{AgNO}_3} = 1.25$ мМ, $C_{\text{AgNO}_2} = 1.25$ мМ.

Исследование водного раствора на основе НАЦ/AgNO₂ (рис. 11б) показало, что, вне зависимости от концентрации исходных компонентов, наблюдается отсутствие полос поглощения, отвечающих комплексам с переносом заряда и плазмонному резонансу свободных электронов на поверхности НЧС. Данные УФ спектроскопии согласуются результатами визуальных наблюдений образцов.

Метод УФ спектроскопии наглядно демонстрирует зависимость наблюдаемых полос поглощения от процессов самоорганизации и гелеобразования, происходящих в водных растворах на основе разных аминокислот и солей серебра.

УФ спектры поглощения водных растворов на основе ЦА/AgNO₃ и МПК/AgNO₃ существенно отличаются от спектров растворов аминокислот НАЦ и L-цистеина с нитратом серебра (рис. 12).

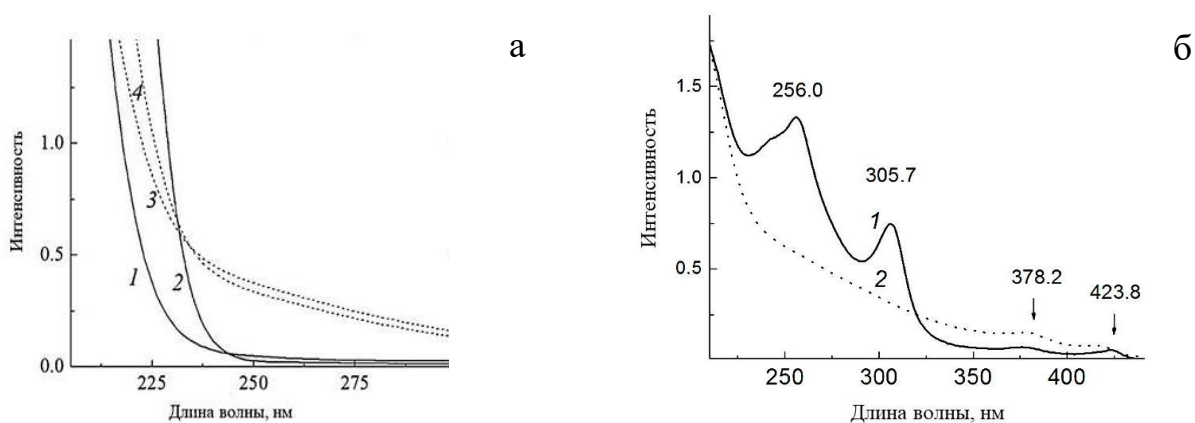


Рис. 12. УФ спектры поглощения водных растворов ЦА (1), AgNO₃ (2) и их смеси ЦА/AgNO₃ при молярных соотношениях 1.0/1.0 (3) и 1.00/1.25 (4) (а) и водных растворов на основе МПК/AgNO₃ при содержании щелочи KOH 0.15 мл (1), 0.20 мл (2), молярное соотношение компонентов 1.0/1.0 (б). $C_{\text{МПК}} = C_{\text{AgNO}_3} = 1.0$ мМ, $C_{\text{KOH}} = 0.1$ мМ; $C_{\text{ЦА}} = C_{\text{AgNO}_3} = 1.0$ мМ.

В виду отсутствия карбоксильных или аминогрупп в молекулах производных ЦА и МПК, по сравнению с молекулой L-цистеина, процессы самоорганизации происходят несколько иначе. В УФ спектре поглощения водных растворов ЦА/AgNO₃ (рис. 12а) наблюдается поглощение в области от 240 до 300 нм, которое практически отсутствует в спектрах исходных компонентов. Это поглощение может свидетельствовать об образовании супрамолекулярных цепочек из молекул МС, но электроны цепочки испытывают при этом сильное поляризующее воздействие положительных зарядов протонированных аминогрупп ЦА.

УФ спектр водного раствора МПК/AgNO₃ интересен тем, что в нем наблюдается несколько полос поглощения (рис. 12б), причем на их проявление существенное влияние оказывает содержание щелочи КОН. Наличие этих полос также может свидетельствовать о формировании в растворе супрамолекулярных цепочек из молекул МС.

4.1.2. Изучение процессов самоорганизации в водных растворах НАЦ, МПК, ЦА и солей серебра с помощью методов ДСР, определение дзета-потенциала.

Установлено, что для растворов на основе НАЦ/AgNO₂ при концентрации исходных компонентов 10 мМ размеры образующихся частиц оказались значительно меньше, чем в системе на основе L-цис/AgNO₂ при той же концентрации. Молекулы двух аминокислот НАЦ и L-цистеина в растворах имеют разные зарядовые соотношения. Поэтому реакционные свойства L-цистеина и N-ацетил-L-цистеина при их взаимодействии с катионами серебра также различаются. Исследования подтвердили, что систему на основе НАЦ/AgNO₂ нельзя отнести к устойчивым, вследствие коагуляции и выпадения осадка со временем стояния образца.

С помощью метода ДСР установлено, что в водных растворах на основе МПК и AgNO₃ образуются достаточно устойчивые во времени частицы, при этом содержится несколько типов частиц, отличающихся размером. Для растворов на основе ЦА/AgNO₃ размер рассеивающих частиц был нестабилен.

4.1.3. Влияние величины рН на процессы самоорганизации водных растворов на основе производных L-цистеина и солей серебра. Результаты, полученные с помощью метода рН-метрии, доказывают то, что водные растворы на основе НАЦ и AgNO₂ соответствуют показателям рН характерным для кислой среды. Такие значения рН относятся к области гелеобразования, но ввиду более слабой гелеобразующей способности НАЦ, по сравнению с L-цистеином, и высокой окислительной способности AgNO₂ не происходило образование гелей из раствора.

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

Водные растворы НАЦ/AgNO₃, в отличие от растворов НАЦ/AgNO₂, оказались способны к образованию гелей. Этот факт наглядно демонстрирует рис. 13, на котором представлена микрофотография гидрогеля НАЦ/AgNO₃. Из рисунка видно,

что в геле присутствует пространственная сетка. Вид электронограммы (врезка на рис. 13) указывает на отсутствие НЧС в образце.

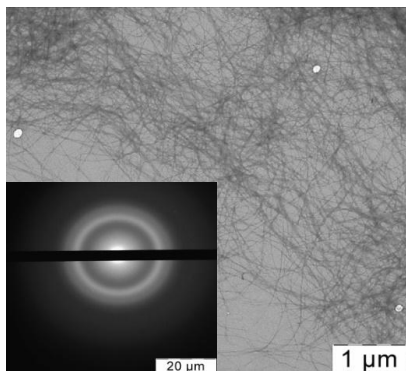


Рис. 13. Микрофотография и электронограмма (врезка) образца геля на основе водного раствора НАЦ/AgNO₃ при молярном соотношении 1.0/1.0, C_{НАЦ} = 1.25 мМ, C_{AgNO₃} = 1.25 мМ.

В случае раствора НАЦ/AgNO₂ гелеобразование не происходило. Для растворов ЦА/AgNO₃ и МПК/AgNO₃ обнаружены достаточно протяженные линейные цепи, не имеющие пространственной сетки (рис. 14).

Можно предположить, что в этих растворах происходит образование супрамолекулярных цепей типа (---Ag-S(R)---Ag-S(R)---)_n, где R – фрагмент молекулы ЦА или МПК, но пространственная сетка геля из этих цепочек не формируется из-за отсутствия в молекулах производных карбоксильной или amino-групп. Для растворов на основе производных с AgNO₂ эксперимент не проводили.

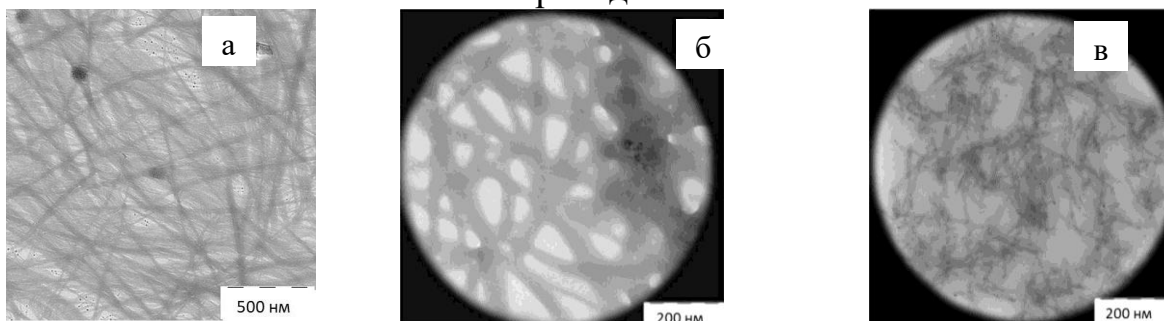


Рис. 14. Микрофотографии образца ЦА/AgNO₃ (а) и водных растворов МПК/AgNO₃ содержание 0.1 н. КОН: 0.15 мл (б) и 0.20 мл (в) на 6 мл, молярное соотношение компонентов 1.0/1.0, C_{ЦА} = 1.0 мМ, C_{МПК} = 1.0 мМ, C_{AgNO₃} = 1.0 мМ

4.1.5. Механизм процессов самоорганизации в водных растворах на основе производных L-цистеина и солей серебра. Исследование процессов самоорганизации и гелеобразования в водных растворах производных L-цистеина и солей серебра с помощью различных физико-химических методов показало полное соответствие полученных данных. Поэтому можно заключить, что процесс самоорганизации в водных растворах производных начинается с быстрой реакции образования МС путем замещения атома водорода на атом серебра в тиольной группировке и далее происходит «созревание» раствора с образованием супрамолекулярных цепей из молекул МС ---Ag-S(R)---Ag-S(R)---Ag-S(R)---, где R обозначает фрагменты молекулы НАЦ, ЦА и МПК. Необходимым условием, для образования пространственной сетки геля из супрамолекулярных цепей является наличие в молекуле производной L-цистеина всех трех функциональных групп. Кроме того, использование AgNO₂, который проявляет свойства восстановителя, также может

препятствовать формированию сетки геля в водных растворах производных L-цистеина.

4.2. Биоактивные свойства водных растворов L-цистеина и НАЦ с AgNO_2

4.2.1. *Антибактериальная активность водных растворов L-цистеина и НАЦ с AgNO_2 .* Антибактериальная активность растворов определялась методом диффузии в агар на газоне различных тест-культур в мм диаметра задержки роста. Водный раствор AgNO_2 оказал наибольшее влияние, подавляя распространение всех тест-культур. Системы на основе НАЦ/ AgNO_2 также демонстрируют высокую степень подавления микробов. Немногоим уступают в антибактериальной активности системы на основе L-цис/ AgNO_2 . Водные растворы чистых аминокислот, как и ожидалась, не оказали бактерицидного влияния на ростовые свойства изученных культур микроорганизмов.

4.2.2. *Цитотоксические свойства водных растворов L-цистеина и НАЦ с AgNO_2 .* Результаты цитотоксических исследований воздействия водных растворов L-цистеина с AgNO_2 на клетки карциномы молочной железы линии MCF-7 демонстрирует рис. 15.

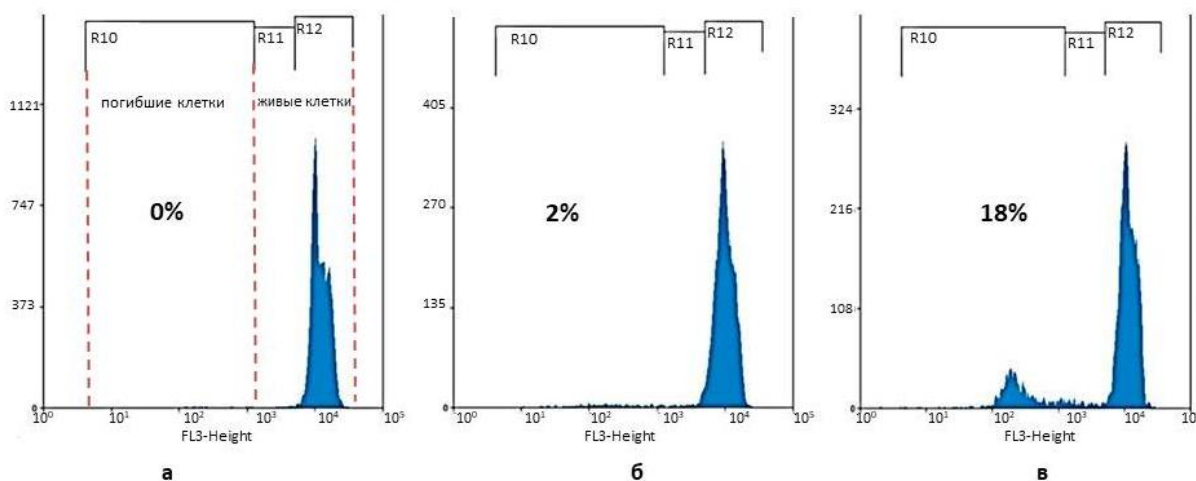


Рис. 15. Результаты проточного цитофлуориметрического анализа интактных клеток MCF-7, инкубированных в течение 24 ч с водным раствором L-цис/ AgNO_2 при соотношении 1.00/1.00 (б) и 1.00/1.25 (в) в среде, содержащей 10% FBS. а – контроль. Концентрация образцов составляет 80 мкМ. Ось X, флуоресценция PI (йодид пропидия); интенсивность флуоресценции в канале ФЛ-3 620/29 нм; ось Y – количество клеток; R10 - G0/G1-фаза, R11 - S-фаза и R12 - G2/M - фаза клеточного деления.

Видно, что растворы приводят к существенной гибели раковых клеток и в то же время проявили отсутствие токсического воздействия на нормальные клетки человека (эмбриональные фибробласты линии Wi-38). Более того, клетки под влиянием водных растворов L-цис/ AgNO_2 активно делились и росли.

Для сравнения были проведены аналогичные исследования для водных растворов на основе НАЦ/ AgNO_2 . Данные растворы оказались не способны к

подавлению метаболической активности раковых клеток и продемонстрировали отсутствие подобного цитотоксического эффекта.

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.

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 отсутствием токсичности к нормальным клеткам человека (эмбриональным фибробластам) линии Wi-38.

Публикации автора по теме диссертации в журналах, входящих в список ВАК и индексируемых в международных базах данных :

1. **Перезовова, Т.В.** Гелеобразование в водном растворе L-цистеина и нитрита серебра. Перезовова 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/ AgNO_2 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 (Перезовова 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. Т. 71. С. 2123 – 2129.

Другие публикации по теме диссертации:

8. Овчинников, М.М. Процессы самоорганизации в водных растворах на основе цистеина, меркаптопропионовой кислоты и нитрата серебра. Овчинников М.М., **Перевозова Т.В.**, Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Сб. 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., **Перевозова Т.В.**, Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Сб. Физико-химия полимеров: синтез, свойства и применение. Тверь: ТвГУ. 2014. Т. 20. 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., **Перевозова Т.В.**, Хижняк С.Д., Пахомов П.М. // Сб. Физико-химия полимеров: синтез, свойства и применение. Тверь: ТвГУ. 2014. Т. 20. С. 120-127.

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.

Подписано в печать 28.12.2023. Формат 60 × 84 ¹/₁₆.

Усл. печ. л. 1,4. Тираж 100 экз. Заказ № 302.

Издательство Тверского государственного университета

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

Тел.: (4822) 35-60-63.