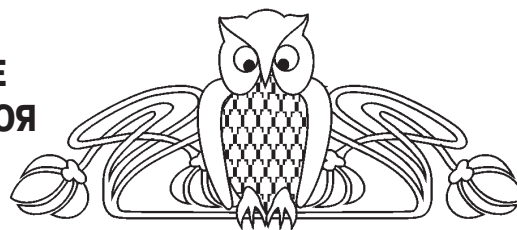




УДК 539.233+544.023.221

## ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СУБФАЗЫ И ВНЕШНИХ УСЛОВИЙ НА ФОРМИРОВАНИЕ И СВОЙСТВА ЛЕНГМЮРОВСКОГО МОНОСЛОЯ

М. М. Кассим, В. А. Горячева,  
А. Ж. Аль-Алвани, Е. Г. Глуховской



Кассим Муханнад Махмуд, аспирант факультета нано- и биомедицинских технологий, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, muhannad.qassim@yahoo.com

Горячева Виктория Алексеевна, магистрант Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, goryacheva\_viktoria@mail.ru

Аль-Алвани Аммар Жабер, аспирант факультета нано- и биомедицинских технологий, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ammarhamlet2013@yahoo.com

Глуховской Евгений Геннадьевич, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры материаловедения, технологии и управления качеством факультета нано- и биомедицинских технологий, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, glukhovskoy@gmail.com

Проведено исследование специфики формирования монослоев арахидиновой кислоты (применяемых в качестве моделей клеточных мембран) по методу Ленгмюра на субфазе, содержащей в своем составе *L*-аскорбиновую и *D*-изоаскорбиновую кислоты с концентрацией  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  М при температуре 25, 37 и 41°C. Экспериментально обнаружено влияние изоформы аскорбиновой кислоты, состава и температуры субфазы на механические свойства монослоев (удельная площадь, сжимаемость, давление коллапса). Отмечено, что при введении в состав субфазы аскорбиновой кислоты наблюдается смещение изотерм сжатия в область больших значений удельной площади монослоя; аналогичный сдвиг происходит и при повышении концентрации и температуры субфазы. Приведены численные значения основных параметров для монослоев изучаемых систем, рассчитанные в жидко-конденсированном и твердо-кристаллическом состояниях. Выдвинуто предположение об адсорбции аскорбиновой кислоты из объема субфазы на поверхности монослоя за счет образования водородных связей. Данное исследование может быть полезно для понимания процессов модификации клеточных мембран под влиянием *L*- и *D*-изоформ аскорбиновой кислоты: изменения подвижности компонентов, входящих в состав мембраны, ее пластичности, жесткости и др.

**Ключевые слова:** *L*-аскорбиновая кислота, *D*-изоаскорбиновая кислота, арахидиновая кислота, монослои Ленгмюра, техника Ленгмюра–Блоджетт, изотермы сжатия, поверхностное натяжение, мембрана.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-4-393-398>

### Введение

Ленгмюровские монослои являются хорошо воспроизводимыми мономолекулярными 2D-структурами, позволяющими не только обнаружить активность отдельных мембранных компонентов, но и количественно оценить степень их активности, изучить взаимодействие между ними, влияние их на структурные, механические и др. свойства мембран живых клеток. В работах [1–3] авторы предложили и апробировали ряд уникальных способов определения степени замещения металлом атома водорода в полярных частях молекул жирных кислот, основанных на анализе изотерм сжатия.

Основу биологических мембран составляет двойной слой молекул – фосфолипидов, гликолипидов и холестерина. В мембранах различного происхождения относительное массовое содержание липидов колеблется от 25 до 75% по отношению к белку. Но даже в случае относительно небольшого содержания молекулы липидов благодаря своему строению способны формировать довольно прочную и стабильную 2D-кристаллическую матрицу, в которую встраиваются все другие молекулы и комплексы.

Структура и фазовые состояния молекул липидов на поверхности воды существенно зависят от степени их сжатия [1]. Последовательность фазовых трансформаций монослоев особенно ярко проявляется на изотермах сжатия и зависит не только от природы ПАВ и внешних условий, но и от специфики взаимодействия молекул монослоя с компонентами водной субфазы – молекулами полимеров, белков, нуклеиновых кислот, молекулярными кластерами, наночастицами и др. [4]. Самые чувствительные параметры, которые легко регистрируются и рассчитываются по изотермам сжатия, – это модуль сжатия, сжимаемость и давление коллапса [5–7], изменение которых позволяет не только подтверждать факты межмолекулярного взаимодействия, но и оценивать его количественно.

Высокая чувствительность таких параметров стала основанием для изучения различия



во взаимодействии различных изоформ аскорбиновой кислоты (АК) с молекулами монослоя.

Физиологическое действие аскорбиновой кислоты *L*-формы, известной также как витамин С, очень обширно. Она выступает как противораковый фактор, способствует процессам регенерации тканей, участвует в формировании коллагена, *L*-карнитина, некоторых нейротрансмиттеров, повышает стрессоустойчивость, иммунитет и прочность стенок капилляров. АК также участвует в метаболизме белков и выполняет важные функции в физиологическом антиоксидантном механизме путем регенерации других антиоксидантов в организме, включая альфа-токоферол (витамин Е) [8–11].

Известны 4 изоформы аскорбиновой кислоты. В промышленности выпускаются только *L*-аскорбиновая кислота (*L*-АК) и ее диастереомер *D*-изоаскорбиновая кислота (*D*-изоАК), структурные формулы которых представлены на рис. 1. Строение молекул обуславливает различия в физико-химических свойствах, реакционной способности и областях применения АК.

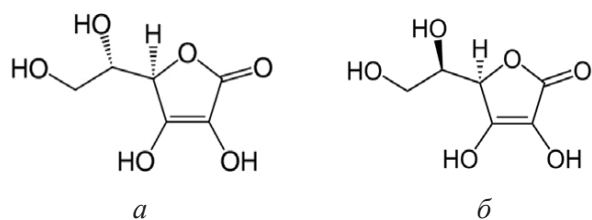


Рис. 1. Структурные формулы изоформ аскорбиновой кислоты: *a* – *L*-АК; *b* – *D*-изоАК

*L*-АК часто применяется как вспомогательное средство при лечении инфекционных болезней, лучевой болезни, нефрита, заболеваний сердца, печени, легких, пищеварительного тракта, а также при отравлении тяжелыми металлами.

*D*-изоАК является синтетическим изомером АК, не проявляет витаминную активность, однако используется в качестве пищевой добавки Е315 во многих продуктах питания.

АК активно переносится в организм через две изоформы натрий-зависимых транспортеров: SVCT1 и SVCT2 (sodium-dependent vitamin C transporter) [12, 13]. Оба транспортера проявляют значительно большее сродство к *L*-АК в сравнении с *D*-изоАК [12, 14]. Эта селективность, вероятно, объясняет более ранние наблюдения значительно меньшего накопления в тканях и более низкой антиоксидантной активности *D*-изоАК у морских свинок [15, 16]. Хотя *D*-изоАК обычно является добавленным

пищевым консервантом [17], совместное содержание в организме обеих изоформ не влияет на биодоступность *L*-АК у людей [18].

Влияние различных форм аскорбиновой кислоты на процессы жизнедеятельности клеток невозможно рассматривать в отрыве от проблем взаимодействия молекул АК с клеточными мембранами. Поскольку такие эксперименты осложнены спецификой работы с живыми клеточными культурами, исследование механизмов взаимодействия часто проводят на физических моделях клеточных мембран – монослоях Ленгмюра.

Целью настоящей работы явились оценка влияния состава субфазы и внешних условий на формирование и свойства ленгмюровского монослоя, определение основных параметров монослоя и анализ межмолекулярного взаимодействия молекул арахидиновой кислоты с молекулами аскорбиновой кислоты различных изоформ.

#### Экспериментальная часть

Для формирования и исследований монослоев Ленгмюра в качестве поверхностно-активного вещества использовали арахидиновую кислоту (АрК) производства «Sigma Aldrich» с содержанием основного компонента 99% по массе. На основе этого ПАВ готовили раствор в хлороформе категории ХЧ, производства АО «Экос-1», с массовой долей основного вещества 99,0–99,4%. Концентрация раствора составляла  $C_{\text{АрК}} = 10^{-3}$  М.

Для приготовления субфазы использовалась деионизованная вода с удельным сопротивлением 18,2 МОм × см, прошедшая многоступенчатую очистку системой водоподготовки Smart2Pure 3 Standard (производство «Thermo Scientific»), и аскорбиновая кислота: *L*-АК производства ЗАО «ФП Мелиген» (с массовой долей основного вещества 99%) и *D*-изоАК производства «Химреактив» (с массовой долей основного вещества 98%). Концентрация растворов составляла  $C_{\text{АК}} = 10^{-2}, 10^{-3}$  М. Для каждого эксперимента использовался свежеприготовленный раствор АК.

Для формирования монослоев и записи изотерм сжатия использовалась ленгмюровская ванна KSV-Nima LB Through Medium KN 2002. После проведения стандартных процедур подготовки ванны к работе, включая выход в необходимый режим термостатирования, очистку рабочей зоны и калибровку датчика поверхностного натяжения, на поверхность водной субфазы вносили по каплям 70 мкл раствора АрК в хлороформе. Эмпирически в предварительных экспериментах было установлено,



что для используемых значений концентрации АрК и геометрии ванны именно такой объем позволяет формировать истинный монослой, когда лежащие на поверхности воды молекулы после испарения растворителя практически не взаимодействуют друг с другом (т.е. монослой находится в 2D-газовой фазе). После внесения раствора на поверхность субфазы выдерживали 5 мин для полного испарения хлороформа и установления равновесного состояния между монослоем и водной субфазой. Затем монослой сжимался подвижными барьерами с постоянной скоростью уменьшения площади – 10 мм/мин.

Эксперимент проводили при температуре 25, 37 и 41°C. Значение поддерживалось постоянным с помощью лабораторного термостата LOIP LT-105a с точностью 1°C.

Для анализа межмолекулярного взаимодействия определялись удельная площадь  $A_0$  ( $\text{\AA}^2$ ), сжимаемость  $K$  ( $[\text{мН/м}]^{-1}$ ) монослоев, а также давление коллапса для твердо-кристаллического (SS) и жидко-конденсированного состояний (L2 или LS), определяемых согласно классификации [5, 19]. Параметр «сжимаемость монослоя» определялся по формуле

$$K = - \frac{1}{A_0} \cdot \left( \frac{dA}{d\pi} \right).$$

### Результаты и их обсуждение

Зависимости поверхностного давления  $\pi$  (мН/м) от площади поверхности, приходящейся на одну молекулу АрК  $A_0$  ( $\text{\AA}^2$ ), для изучаемых систем и основные параметры, рассчитанные в жидко-конденсированном и твердокристаллическом состояниях, представлены на рис. 2 и в таблице.

Для упрощения обсуждения результатов введем следующие сокращенные обозначения субфаз: деионизованная вода без каких-либо добавок – далее «тест-субфаза», субфаза с добавками L-АК или D-изоАК – далее, соответственно, «L-субфаза» или «D-субфаза».

Видно, что в присутствии аскорбиновой кислоты происходит ожидаемый небольшой сдвиг изотерм сжатия в сторону больших значений  $A_0$  относительно «тест-субфазы», что объясняется увеличением заряда полярных частей молекул ПАВ в результате смещения кислотности субфазы и усилением их расталкивания силами кулоновского взаимодействия. Кроме того, за счет образования водородных связей между полярной –COOH группой молекул АрК и –ОН группами АК может происходить дополнительный сдвиг изотерм сжатия в область больших значений удельных площадей при повышении концентрации АК в субфазе.

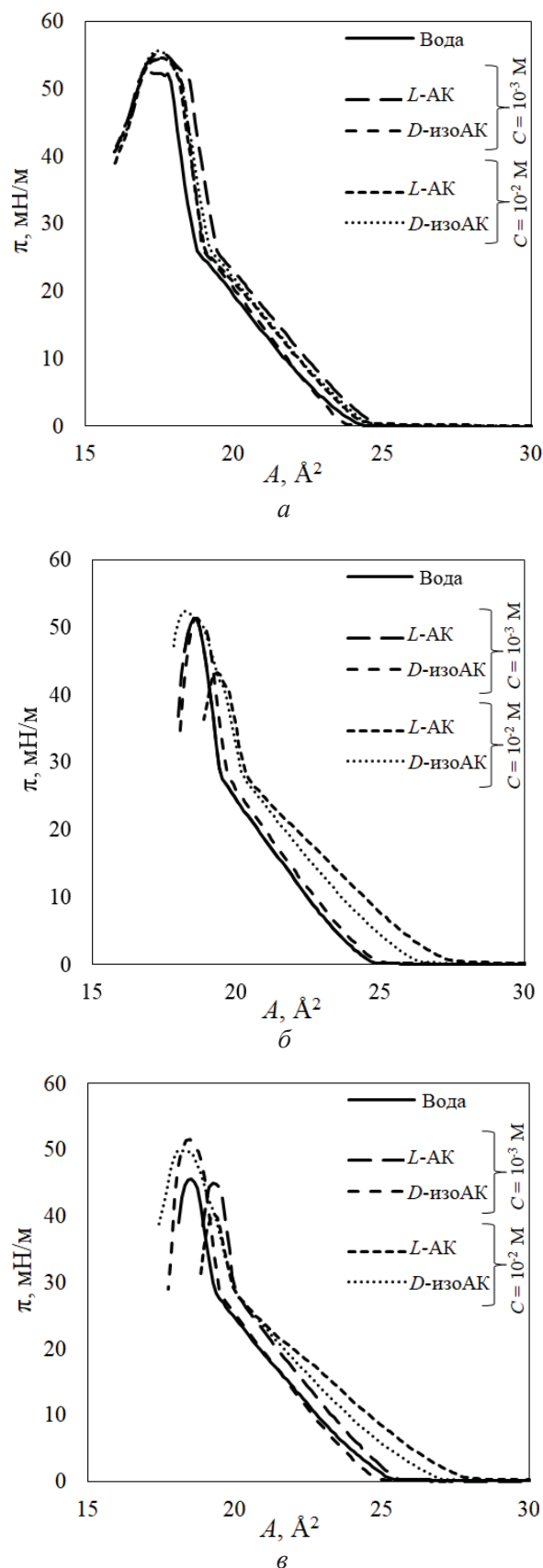


Рис. 2. Изотермы сжатия монослоев АрК на L- и D-субфазе при температуре, °C: а – 25, б – 37, в – 41

Значения удельной площади на молекулу монослоя  $A_0$ , сжимаемости монослоя  $K$  и давления коллапса  $\pi_k$  в LS- и SS-состояниях

Вещество	C, М	T, °C	$\pi_k$ (мН/м)	LS-состояние		SS-состояние	
				$A_0, \text{Å}^2$	$K, (\text{мН/м})^{-1}$	$A_{02}, \text{Å}^2$	$K_2, (\text{мН/м})^{-1}$
D-изоАК	0,001	25	54,32	22,39	-0,37	18,54	-2,03
	0,01		55,66	24,47	-0,30	18,98	-1,33
	0,001	37	51,32	24,18	-0,32	20,40	-2,03
	0,01		52,38	24,60	-0,26	21,58	-1,32
	0,001	41	51,52	24,60	-0,26	20,82	-1,70
	0,01		49,98	25,62	-0,23	21,45	-1,07
L-АК	0,001	25	55,38	22,35	-0,39	18,34	-2,10
	0,01		54,56	22,98	-0,30	18,49	-1,44
	0,001	37	51,40	24,15	-0,29	20,23	-1,92
	0,01		43,30	26,31	-0,23	21,23	-1,11
	0,001	41	44,96	24,00	-0,33	20,33	-1,75
	0,01		40,34	25,75	-0,21	22,01	-0,84
Вода	0	25	52,11	23,43	-0,33	20,09	-2,14
		37	51,42	24,03	-0,37	20,21	-2,10
		41	45,70	24,34	-0,28	20,42	-1,97

Изменение концентрации АК в субфазе также приводит к сдвигу изотерм. Сравнительный анализ изотерм монослоев, сформированных на «L-субфазе» и «D-субфазе», показывает, что для «L-субфазы» концентрационные или температурные вариации дают больший сдвиг изотерм, по сравнению с изотермой для «D-субфазы».

При повышении температуры субфазы наблюдаются следующие закономерности: значения удельных площадей в жидко-конденсированном состоянии увеличиваются, давление коллапса (когда монослой ломается и начинает формироваться многослойная структура) снижается, монослой становится менее прочным и менее жестким (участки изотерм становятся более пологими). Такие изменения свидетельствуют о совершенстве структуры монослоя, о наличии каких-либо дополнительных факторов, влияющих на его структуру и прочность, о связывании молекул монослоя с компонентами субфазы.

Сравнивая величины давлений коллапса, сжимаемости монослоев в различных фазовых состояниях, можно видеть, что совместное действие концентрационного и температурного факторов проявляется более ярко: сдвиг изотерм

монослоев для «L-субфазы» и «D-субфазы» при температуре 37 и 41°C более значительный нежели при температуре 25°C; в этих же условиях ярче проявляется разница межмолекулярного взаимодействия для изомеров L-АК и D-изоАК.

#### Выводы

Таким образом, присутствие в составе водной субфазы разных изоформ АК оказывает разное влияние на формирование монослоев арахиновой кислоты, которое проявляется более или менее сильно в зависимости от концентрации и температурных условий.

Полученная информация может быть полезной для понимания процессов модификации клеточных мембран под влиянием L- и D-изоформы аскорбиновой кислоты: изменения мобильности включенных в мембрану компонентов, ее пластичности – жесткости, деградации – регенерации, упорядоченности – разупорядоченности и др. изменений.

#### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-07-00407).



## Список литературы

1. Абрамзон А. А., Голоудина С. И. Об агрегатном состоянии монослоев ПАВ на поверхности жидкости // Успехи коллоидной химии : сб. ст. Л. : Химия, 1991. С. 262–291.
2. Al-Alwani A. J., Chumakov A. S., Albermani M. S., Shinkarenko O. A., Begletsova N. N., Vostrikova A. M., Gorbachev I. A., Venig S. B., Glukhovskoy E. G. Ligands exchange, studying the stability and optical properties of CdSe/CdS/ZnS quantum dots with liquid crystal // IOP Conf. Series : Journal of Physics. 2017. Vol. 917. Article id. 032026.
3. Янкович А. И. Регулярные мультимолекулярные структуры ПАВ – плёнки Ленгмюра – Блоджетт // Успехи коллоидной химии : сб. ст. Л. : Химия, 1991. С. 262–291.
4. Chumakov A. S., Al-Alwani A. J., Gorbachev I. A., Ermakov A. V., Kletsov A. A., Glukhovskoy E. G., Kazak A. V., Usol'tseva N. V., Shtykov S. N. Temperature and mixing ratio effects in the formation of CdSe/CdS/ZnS quantum dots with 4'-n-octyl-4-p-Cyanobiphenyl thin films // BioNanoScience. 2017. Vol. 7, № 4. P. 666–671.
5. Адамсон А. Физическая химия поверхностей / пер. с англ. М. : Мир, 1979. 568 с.
6. Petty Michael C. Langmuir-Blodgett Films : An Introduction. Cambridge University Press, 1996. 234 p.
7. Kim V. P., Ermakov A. V., Glukhovskoy E. G., Rakhnyanskaya A. A., Gulyaev Yu. V., Cherepenin V. A., Taranov I. V., Kormakova P. A., Potapenkov K. V., Usmanov N. N., Saletsky A. M., Koksharov Yu. A., Khomutov G. B. Planar nanosystems on the basis of complexes formed by amphiphilic polyamine, magnetite nanoparticles, and DNA molecules // Nanotechnologies in Russia. 2014. Vol. 9, № 5–6. P. 280–287.
8. Li Y., Schellhorn H. E. New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C // J. Nutr. 2007. Vol. 137, № 10. P. 2171–2184.
9. Carr A. C., Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans // Amer. J. Clin. Nutr. 1999. Vol. 69. P. 1086–1107.
10. Frei B., England L., Ames B. N. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. Vol. 86, № 16. P. 6377–6381.
11. Jacob R. A., Sotoudeh G. Vitamin C function and status in chronic disease // Nutr. Clin. Care. 2002. Vol. 5, № 2. P. 66–74.
12. Tsukaguchi H., Tokui T., Mackenzie B., Berger U. V., Chen X. Z., Wang Y., Brubaker R. F., Hediger M. A. A family of mammalian Na<sup>+</sup>-dependent L-ascorbic acid transporters // Nature. 1999. Vol. 399, № 6731. P. 70–75.
13. Savini I., Rossi A., Pierro C., Avigliano L., Catani M. V. SVCT1 and SVCT2 : key proteins for vitamin C uptake // Amino Acids. 2008. Vol. 34, № 3. P. 347–355.
14. Rumsey S. C., Welch R. W., Garraffo H. M., Ge P., Lu S. F., Crossman A. T., Kirk K. L., Levine M. Specificity of ascorbate analogs for ascorbate transport. Synthesis and detection of [(125)I]6-deoxy-6-iodo-L-ascorbic acid and characterization of its ascorbate-specific transport properties // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274, № 33. P. 23215–23222.
15. Goldman H. M., Gould B. S., Munro H. N. The antiscorbutic action of L-ascorbic acid and D-isoascorbic acid (erythorbic acid) in the guinea pig // Amer. J. Clin. Nutr. 1981. Vol. 34, № 1. P. 24–33.
16. Hughes R. E., Hurley R. J. The uptake of D-araboascorbic acid (D-isoascorbic acid) by guinea-pig tissues // Br. J. Nutr. 1969. Vol. 23, № 2. P. 211–216.
17. Levine M. Fruits and vegetables : There is no substitute // Amer. J. Clin. Nutr. 1996. Vol. 64. P. 381–382.
18. Sauberlich H. E., Tamura T., Craig C. B., Freeberg L. E., Liu T. Effects of erythorbic acid on vitamin C metabolism in young women // Amer. J. Clin. Nutr. 1996. Vol. 64. P. 336–346.
19. Абрамзон А. А. Поверхностно-активные вещества. Л. : Химия, 1981. 304 с.

### The Influence of the Composition of Subphase and External Conditions on the Formation and Properties of Langmuir Monolayer

M. M. Qassime, V. A. Goryacheva,  
A. J. Al-Alwani, E. G. Glukhovskoy

Muhammad M. Qassime, <https://orcid.org/0000-0002-5972-9061>,  
Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012,  
Russia, muhammad.qassim@yahoo.com

Viktoria A. Goryacheva, <https://orcid.org/0000-0002-8724-1522>,  
Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012,  
Russia, goryacheva\_viktoria@mail.ru

Ammar J. Al-Alwani, <https://orcid.org/0000-0002-5665-464X>,  
Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Rus-  
sia, ammarhamlet2013@yahoo.com

Evgeny G. Glukhovskoy, <https://orcid.org/0000-0002-8282-3638>,  
Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012,  
Russia, glukhovskoy@gmail.com

The specificity of the formation of arachinic acid monolayers (used as models of cell membranes) by the Langmuir method on a subphase containing L-ascorbic and D-isoascorbic acids with a concentration of 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> M at a temperature of 25, 37 and 41°C was studied. The influence of the isoforms of ascorbic acid, the composition and temperature of the subphase on the mechanical properties of monolayers (specific area, compressibility, collapse pressure) was experimentally found. It was marked that the introduction of ascorbic acid into the subphase leads to the displacement of compressibility isotherms to the region of large values of the specific area of the monolayer; a similar shift occurs with an increase of the concentration and temperature of the subphase. Numerical values of the main parameters of the



monolayers for studied systems calculated in liquid-condensed and solid-crystalline states are presented. It is suggested that the adsorption of ascorbic acid on the subphase on the surface of the monolayer is due to the formation of hydrogen bonds. This study may be useful for understanding the processes of cell membrane modification under the influence of *L*- and *D*-isoforms of ascorbic acid: changes in the mobility of the components included in the membrane, its plasticity, stiffness, etc.

**Key words:** *L*-ascorbic acid, erythorbic acid, arachidic acid, Langmuir monolayer, Langmuir–Blodgett technique, compression isotherm, surface tension, membrane.

**Acknowledgements:** *This work was supported by the Russian Foundation for Basic Researches (project no. 17-07-00407).*

---

**Образец для цитирования:**

Кассим М. М., Горячева В. А., Аль-Алвани А. Ж., Глуховской Е. Г. Влияние состава субфазы и внешних условий на формирование и свойства ленгмюровского монослоя // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 4. С. 393–398. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-4-393-398>

**Cite this article as:**

Qassime M. M., Goryacheva V. A., Al-Alwani A. J., Glukhovskoy E. G. The Influence of the Composition of Subphase and External Conditions on the Formation and Properties of Langmuir Monolayer. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 4, pp. 393–398 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-4-393-398>

---