

## Физическая химия

УДК 577.1:543.422.27

DOI 10.26456/vtchem2024.3.1

### Исследование процессов самоорганизации в низкоконцентрированных водных растворах L-цистеина и цитрата серебра

М.А. Аверкина<sup>1,2</sup>, Д.В. Вишневецкий<sup>1</sup>, Д.В. Аверкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тверской государственный технический университет», Тверь

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт физико-технических  
и радиотехнических измерений, Менделеево

В работе описан процесс самоорганизации в низкоконцентрированных водных растворах L-цистеина и цитрата серебра в различных молярных соотношениях. Процесс самоорганизации описан с использованием методов рН- и кондуктометрии, вискозиметрии, УФ-спектроскопии и динамического рассеяния света. Установлено, что в системах происходит самоорганизация после их смешения при условиях молярного соотношения по аминокислоте 1 к 1 или 1 к 1,25. Характерным свойством исследуемых систем является длительное время самоорганизации (до 8 суток), обусловленное очень малой растворимостью цитрата серебра в воде (0,02 г на 100 мл воды). В результате проведенного комплексного физико-химического исследования установлено, что среда, в которой происходит самоорганизация, является сильно кислой (рН = 2 и менее) и на электронных спектрах отсутствуют характерные полосы поглощения 390-400 нм, указывающие на наличие плазмонного резонанса в связи -Ag-S(LCys)-Ag-, при наличии интенсивного желтого окраса систем. Согласно данным вискозиметрии, динамическая вязкость исследуемых систем в 1,5-2 раза выше, чем динамическая вязкость дисперсионной среды, что косвенно указывает на наличие пространственной структуры в объеме исследуемого образца, также были получены кинетические кривые зависимости процессов самоорганизации систем. Согласно результатам метода динамического светорассеяния, распределение частиц по размерам в системах мономодальное, средний размер частицы составляет от 10 до 50 нм. Предложен механизм самоорганизации систем.

**Ключевые слова:** L-цистеин, цитрат серебра, низкоконцентрированный водный раствор, самоорганизация, наночастицы серебра.

В настоящее время актуальным является вопрос разработки неплатиновых металлосодержащих лекарственных препаратов на основе наночастиц металлов или их различных нетоксичных комплексов [1]. Металлорганические комплексы хорошо себя зарекомендовали в борьбе с различными онкологическими заболеваниями [1], однако наряду с

противоопухолевыми свойствами, многие из них являются токсичными по отношению к организму в целом. С целью решения этой проблемы, интерес вызывает изучение самоорганизация низкомолекулярных соединений на основе солей серебра и различных аминокислот [2, 3]. Известно, что в результате такой самоорганизации аминокислот с солями меди, серебра и золота возможно формирование гидрогелей или металлоорганических комплексов и стабилизированных наночастиц при низком содержании дисперсной фазы, обладающих цитостатическим и противоопухолевыми свойствами [4].

Известно, что низкоконцентрированные водные системы на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина и ацетата серебра способны образовывать стабильные заряженные агрегаты, состоящие из связанных между собой наночастиц серебра [5-7]. Установлено, что агрегаты в системах на основе L-цистеина, N-ацетил-L-цистеина и ацетата серебра обладают схожим строением, однако различаются между собой величиной и характером заряда. В более подробном исследовании системы на основе ацетата серебра с L-цистеином с применением метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой установлено, что агрегаты состоят из наночастиц размерами 5-7 нм [8]. Установлено, что связывание между наночастицами в агрегаты происходит посредством комплексов вида  $Ag^+/Цис$ , связанных между собой карбоксильными группами в виде линейных цепочек вида  $(-Ag-S(Cys)-Ag-S(Cys)-)_n$  и образующих трехмерную структуру. В работе [9] было проведено исследование влияния карбоксильной группы на дополнительное структурирование систем путем введения щавелевой кислоты в различный момент самоорганизации. Установлено, что введение щавелевой кислоты дополнительно упорядочивает систему и стабилизирует двойной электрический слой частиц. Однако, с точки зрения практического применения в медицине, использование систем на основе ацетата серебра приводит к дополнительной интоксикации при применении их в качестве противоопухолевого агента карциномы молочной железы [10]. Исходя из этого, интерес вызывает поиск такой соли серебра, которая будет содержать ацетатные группы и не являться токсичной.

Целью данной работы являются исследование процессов самоорганизации в низкоконцентрированных водных растворах на основе L-цистеина и цитрата серебра и описание процесса самоорганизации и готовых систем различными физико-химическими методами.

### **Экспериментальная часть**

В работе использованы реактивы: L-цистеин 99 %, цитрат серебра 99,8 % («Acros»). Все растворы готовили на бидистиллированной воде со значением электропроводности не менее 10 МОм·см. Для этого воду,

полученную после дистилляции и деионизации на установке Millipore, дополнительно фильтровали на 0,2  $\mu\text{M}$  фильтрах. Для приготовления цистеин-серебряного раствора (далее – ЦСРцит) использовалась следующая методика: готовился L-цистеина в концентрации 10 мМ каждый. Далее, в пустой сосуд сначала наливали необходимое количество воды, далее добавляли L-цистеин и вносили навеску цитрата серебра в молярном соотношении аминокислота/цитрат-анион, равное 1 к 1 и 1 к 1,25. Полученные растворы оставляли в темном сухом месте до полного созревания. В конечном итоге получали растворы систем с концентрацией 3 мМ по аминокислоте на основе L-цистеина с цитратом серебра. Значение pH полученного раствора равно 2.

Измерение размеров агрегатов в исследуемых растворах проводили методом динамического светорассеяния (ДРС) с использованием анализатора Zetasizer «Nano ZS» (фирма «Malvern») с He-Ne-лазером (633 нм) мощностью 4 мВт. Все измерения осуществлялись при температуре 25°C в конфигурации прямого рассеяния (13°) в U-образных капиллярных кюветах с применением стальных контактных пластин, обеспечивающих лучшее термостатирование образца и исключающих множественное рассеяние с поверхности кюветы и ребер капилляра. Математическая обработка результатов полученных кросс-корреляционных функций флуктуаций интенсивности рассеянного света проводилась в программе Zetasizer Software, где решение полученного уравнения зависимости от коэффициента диффузии производилось методом кумулянтов. Результатом решения являлась функция  $z(D)$ . Гидродинамические радиусы рассеивающих частиц рассчитывались из коэффициентов диффузии по формуле Стокса-Эйнштейна (1):

$$D = \frac{k \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot R}, \quad (1)$$

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

Для вычисления связи электрофоретической подвижности частиц с дзета-потенциалом в вычислительном аппарате анализатора Zetasizer «Nano ZS» (фирма «Malvern») является теория Смолуховского, выраженная уравнением (2):

$$\zeta = \frac{\mu \cdot \eta}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0}, \quad (2)$$

где  $\varepsilon$  – относительная диэлектрическая проницаемость среды;  $\mu$  – электрофоретическая подвижность,  $\varepsilon_0$  – электрическая постоянная,  $\eta$  – динамическая вязкость,  $\zeta$  – дзета-потенциал,

Измерение дзета-потенциала частиц в образцах проведено в U-образных капиллярных кюветах Malvern DTS 1070.

Вязкость образцов измеряли на вибрационном вискозиметре SV-10 (фирма «A&D Company», Япония), в котором вибрация сенсорных пластин осуществлялась с частотой 30 Гц и постоянной амплитудой около 1 мм. Измерение вязкости растворов осуществляли при комнатной температуре. Величину pH растворов измеряли, используя pH-метр «Seven Multi S70» фирмы Mettler Toledo.

Измерение электронных спектров производилось на спектрофотометре СФ-56 (ОКБ «Спектр») в режиме сканирования относительного пропускания T, % в образцах. Шаг дискретизации составлял 1 нм, время измерения 0,2 сек. Ширина щели составляла 1 нм. Измерения проводились в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 мм.

### Результаты и обсуждение

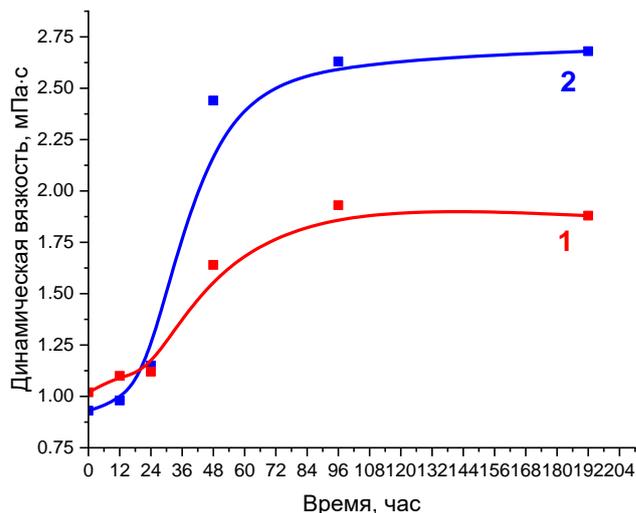


Рис. 1. Кривые динамической вязкости образцов: 1 – ЦСРцит с молярным соотношением

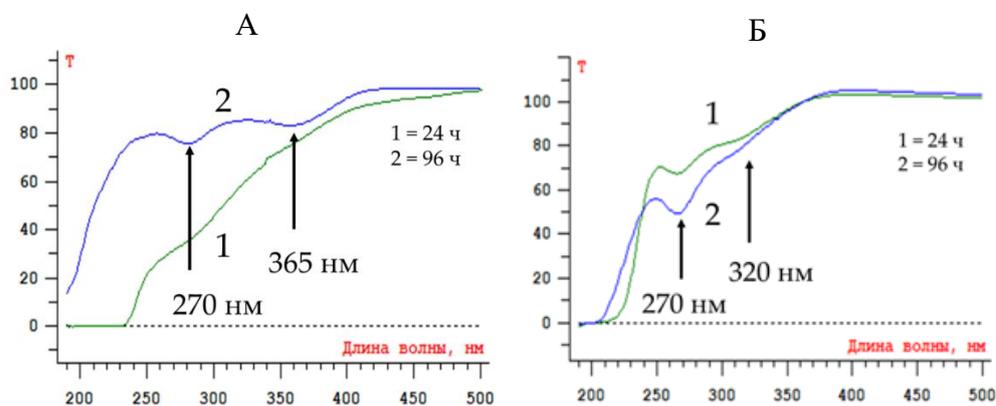
1 к 1 по аминокислоте, 2 – ЦСРцит с молярным соотношением 1 к 1,25 по аминокислоте. Время измерений 15 минут, температура измерений 23 °С.

Первым этапом работы стало подтверждение процесса самоорганизации в исследуемых системах. Для этого были проведены исследования динамической вязкости образцов с момента их смешения до момента стабилизации во времени динамической вязкости и построены кинетические кривые (рис. 1.). Установлено, что время созревания образцов составляет не менее 48 часов для каждого образца,

в это время уже достигаются значения динамической вязкости выше воды в 1,5-2 раза – 1,8 мПа·с для ЦСРцит с соотношением 1 к 1 и 2,6 мПа·с для ЦСРцит с соотношением 1 к 1,25. В свою очередь, вязкость образцов сопоставима с вязкостью цистеин-серебряного раствора, полученного из ацетата серебра (ЦСРацет) [10]. Таким образом, полученные данные подтверждают наличие самоорганизации в системе, а сам вид кинетических кривых говорит о том, что можно предположить влияние плохой растворимости цитрата серебра на скорость протекания реакции. Согласно кривым рисунка 2 можно предположить, что первые 36 часов происходит растворение цитрата серебра путем его реакции с аминокислотой, далее, в промежуток от 48 до 96 часов происходит визуальное усиление интенсивности окаршивания раствора, что может говорить, предположительно, об увеличении числа наночастиц серебра в системе путем самоорганизации полученных на первом этапе комплексов  $Ag^+$ /Цис. Самоорганизация в период от 48 до 96 часов, предположительно, происходит за счет избытка общего числа катионов  $Ag^+$  в системе и большей степени протонированности аминокислоты в ЦСРцит (рН систем 1,8-2,1), чем в ЦСРацет (рН систем 3,8-4). Таким образом, можно предположить, что первым этапом самоорганизации системы является образование комплексов  $Ag^+$ /Цис и реакция соли с аминокислотой, далее образовавшиеся комплексы реагируют между собой, используя катионы серебра как элемент ионных мостиков.

С целью проверки озвученной гипотезы системы и их процесс самоорганизации были исследованы методом УФ-спектроскопии (рис. 2).

Рис. 2.  
Электронные спектры пропускания в УФ-видимом диапазоне систем ЦСРцит: А – ЦСРцит с молярным соотношением 1 к 1 по



аминокислоте, Б – ЦСРцит с молярным соотношением 1 к 1,25 по аминокислоте; 1 – Время самоорганизации 24 часа, 2 – Время самоорганизации 96 часов. Концентрация по аминокислоте 3 мМ.

Согласно полученным электронным спектрам установлено, что обеим системам характерен выраженный пик 270 нм (рис. 2 а и б), при

этом в системе ЦСРцит с молярным соотношением 1 к 1 выраженный пик 270 нм наблюдается только под конец самоорганизации, в то время как в системе с соотношением 1 к 1,25 пик 270 нм наблюдается уже спустя 24 часа с момента начала самоорганизации, далее он сохраняется и уменьшается его интенсивность. Известно, что пик 270 нм можно отнести к активности  $n \rightarrow \pi^*$  переходов в связях  $C=O$  и  $C=O$  в карбонильной и карбоксильной группах [11,12]. Также наличие выраженного пика 320 нм в системе с избытком цитрата серебра можно отнести к большей активности амино-группы аминокислоты L-цистеин, участвующей в реакции [6] за счет протонированности этой группы в реакционной смеси. Пик 365 нм (рис 2а.2.) может указывать на наличие плазмонного резонанса от наночастиц серебра в системе с учетом гипсохромного сдвига [13]. Увеличенное поглощение при длинах волн менее 250 нм, уходящее в процессе самоорганизации, указывает на связь  $-S-Ag$ , которая со временем, предположительно, исчезает с образованием цистина и наночастиц серебра. Таким образом, анализ полученных электронных спектров подтверждает предложенный механизм самоорганизации системы – после образования комплексов  $Ag^+/Цис$  в кислой среде происходит восстановление наночастиц серебра и формирование их двойного электрического слоя преимущественно из цистина и играющих роль связывающих агентов катионов серебра и цитрат-анионов.

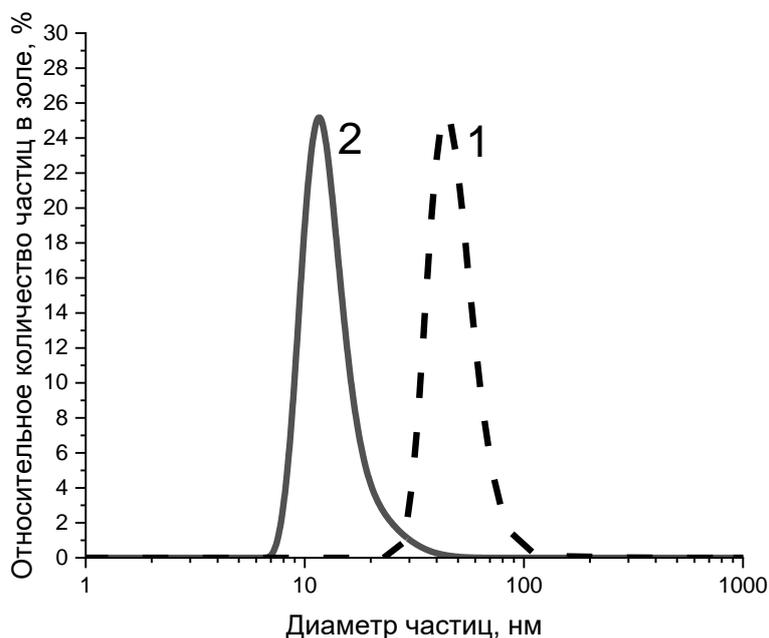


Рис. 3. Распределение частиц по размерам в системах ЦСРцит: 1) 2)

Были произведены исследования методами динамического рассеяния света для определения размеров наночастиц (рис. 3) и их заряда (рис. 4) в исследуемых системах. Установлено, что размер частиц в системах не превышает 100 нм в диаметре. В системе ЦСРцит с соотношением 1 к 1 диаметр частиц составляет порядка 50 нм (рис. 3.1), в системе с соотношением 1 к 1,25 – 10-15 нм (рис 3.2). Дзета-потенциал частиц составляет 80 и 70 мВ соответственно.

Исходя из полученных экспериментальных данных, самоорганизация в системах приводит к образованию наночастиц серебра, первичную роль в их стабилизации играет, вероятно, число цитрат-анионов, при соотношении 1 к 1 заряженные частицы обладают большим в 4-5 раз диаметром, однако разница в заряде незначительна. Большее число цитрата серебра в системе вызывает дополнительную стабилизацию двойного электрического слоя не за счет связывания нескольких наночастиц серебра между собой, как это было ранее обнаружено также в системе ЦСРацет [10], а за счет достраивания адсорбционного слоя цитрат-анионами, в свою очередь, в подвижном слое накапливается достаточное число катионов серебра (3 катиона на 1 анион) для стабилизации наночастиц.

В результате работы получены и исследованы новые гидрозоли наночастиц серебра из водных низкоконцентрированных растворов цитрата серебра и L-цистеина. Установлено, что самоорганизация систем проходит через растворение цитрата серебра путем образования связи Ag-S с молекулой аминокислоты. Дальнейшее растворение цитрата серебра и образование наночастиц происходит, предположительно, через процесс ОВР и образование цистина в адсорбционном слое наночастиц и агрегатов. Предполагается изучение систем методами просвечивающей микроскопии и ИК-спектроскопии с целью более подробного изучения морфологии частиц и их строения.

### **Список литературы**

1. Саркисян З.М., Шкутина И.В., Селеменев В.Ф., Мироненко Н.В., Лысенков А.Е., Полоцкий Ю.С., Александров К.А., Ияд Аллус // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. 2023. № 2. С. 117 – 130.
2. Sana Suhail, Lakshmi S. Nair // Hydrogel-nanoparticle composites for drug delivery // Drug Delivery Nanosystems for Biomedical Applications. Elsevier. 2018. P. 229–254.
3. Zheng, Kaiyuan and Yuan, Xun and Goswami, Nirmal and Zhang, Qingbo and Xie, Jianping // Recent advances in the synthesis{,} characterization{,} and biomedical applications of ultrasmall thiolated silver nanoclusters. RSC Adv. 2014. V. 4. P. 60581-60596.

4. Xing, Yanjun. // Thermoreversible and tunable supramolecular hydrogels based on chitosan and metal cations, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 242, Issue 3, 2023.
5. Dmitry V. Vishnevetskii, Elena M. Semenova, Dmitry V. Averkin, Arif R. Mekhtiev // Behavior and bioactive properties of aqueous L-cysteine–AgNO<sub>3</sub> solution at different pH, *Mendeleev Communications*, Volume 33, Issue 3, 2023, Pages 431-432.
6. D. Vishnevetskii, D. Averkin, A. Efimov, A. Lizunova, O. Shamova, E. Vladimirova, M. Sukhareva and A. R. Mekhtiev // L-cysteine and N-acetyl-L-cysteine mediated synthesis of nanosilver-based sols and hydrogels with antibacterial and antibiofilm properties. *J. Mater. Chem. B*, 2023, V. 11, P. 5794-5804.
7. D. V. Vishnevetskii, A. R. Mekhtiev, T. V. Perevozova, D. V. Averkin, A.I. Ivanova, S. D. Khizhnyak and P. M. Pakhomov // l-Cysteine/AgNO<sub>2</sub> low molecular weight gelators: self-assembly and suppression of MCF-7 breast cancer cells. *Soft Matter*, 2020, V.16, P. 9669-9673.
8. D. V. Averkin, et al 2022 *J. Phys.: Conf. Ser.* 2192 12030.
9. Д.В. Аверкин, Д.В. Вишневецкий, Д.М. Балаханов, П.М. Пахомов, Исследование супрамолекулярных систем на основе низкоконцентрированных растворов L-цистеина и ацетата серебра при добавлении раствора щавелевой кислоты // *Вестник Тверского государственного университета. Серия . Серия «Химия». 2023. № 3 (4539). С. 7–12*
10. Vishnevetskii, Dmitry V. and Mekhtiev, Arif R. and Perevozova, Tatyana V. and Ivanova, Alexandra I. and Averkin, Dmitry V. and Khizhnyak, Svetlana D. and Pakhomov, Pavel M. // l-Cysteine as a reducing/capping/gel-forming agent for the preparation of silver nanoparticle composites with anticancer properties. *Soft Matter*, 2022, V. 18., Issue 15, P. 3031-3040.
11. Saumya Prasad, Imon Mandal, Shubham Singh, Ashim Paul, Bhubaneswar Mandal, Ravindra Venkatramani, Rajaram Swaminathan. // *Chemical Science*. 2017. V. 8. P. 5219 – 5806
12. Eduardo Lopez-Tobar, Belen Hernandez, Mahmoud Ghomi, Santiago Sanchez-Cortes. // *J. Phys. Chem. C* , 2013, V. 117, P.1531-1537.
13. УФ-спектроскопия: методические указания по дисциплине «Аналитическая химия» / сост: О.В. Бурыкина. – Курск : Юго-Зап. гос. ун-т, 2022.- 31 с.

*Об авторах:*

АВЕРКИНА Мария Алексеевна – магистрант 1-го курса кафедры физической химии ФГБОУ ВО «Тверского государственного университета» (170002, г. Тверь, Садовый пер-к, 35), техник 1-й категории лаборатории метрологического обеспечения измерений дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов Всероссийского научно-исследовательского института физико-технических и радиотехнических измерений (141570, пгт. Менделеево, промзона ФГУП «ВНИИФТРИ»). e-mail: averkina@vniiftri.ru

ВИШНЕВЕЦКИЙ Дмитрий Викторович – кандидат химических наук, доцент кафедры физической химии ФГБОУ ВО «Тверского государственного университета» (170002, г. Тверь, Садовый пер-к, 35). e-mail: rickashet@yandex.ru

АВЕРКИН Дмитрий Вадимович – научный сотрудник лаборатории метрологического обеспечения измерений дисперсных параметров аэрозолей, взвесей и порошкообразных материалов Всероссийского научно-исследовательского института физико-технических и радиотехнических измерений (141570, пгт Менделеево, промзона ФГУП «ВНИИФТРИ»). e-mail: averkin@vniiftri.ru

**The investigation of self-organization processes  
in low-concentration aqueous solutions  
of L-cysteine and silver citrate**

**M.A. Averkina<sup>1,2</sup>, D.V. Vishnevetskii<sup>1</sup>, D.V. Averkin<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Tver State University, Tver*

*<sup>2</sup>Federal State Unitary Enterprise Russian Metrological Institute of Technical  
Physics and Radio Engineering, Mendeleevo*

The paper describes the process of self-organization in low-concentration aqueous solutions of L-cysteine and silver citrate in various molar ratios. The process of self-organization is described using the methods of pH and conductometry, viscometry, UV spectroscopy and dynamic light scattering. It has been established that self-organization occurs in the systems after their mixing under conditions of a molar ratio of 1 to 1 or 1 to 1.25 amino acids. A characteristic property of the studied systems is a long self-organization time (up to 8 days), due to the very low solubility of silver citrate in water (0.02 g per 100 ml of water). As a result of a comprehensive physico-chemical study, it was found that the medium in which self-organization occurs is strongly acidic

(pH = 2 or less) and there are no characteristic absorption bands of 390-400 nm on the electronic spectra, indicating the presence of plasmon resonance in the -Ag-S(LCys)-Ag-bond, in the presence of intense the yellow color of the systems. According to viscometry data, the dynamic viscosity of the studied systems is 1.5-2 times higher than the dynamic viscosity of the dispersion medium, which indirectly indicates the presence of a spatial structure in the volume of the sample under study, and kinetic curves of the dependence of the processes of self-organization of the systems were also obtained. According to the results of the dynamic light scattering method, the particle size distribution in the systems is monomodal, the average particle size is from 10 to 50 nm. The mechanism of self-organization of systems is proposed.

**Keywords:** *L-cysteine, silver citrate, low-concentration aqueous solution, self-organization, silver nanoparticles.*

Дата поступления в редакцию: 03.09.2024.

Дата принятия в печать: 10.09.2024.