

И.А. МИЛЕВИЧ, С.А. ВОРОБЬЕВА, А.И. ЛЕСНИКОВИЧ\*

## ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОЗОЛЕЙ ЗОЛОТА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ФОЛАТОМ НАТРИЯ

Simple single-step method of the gold hydrosols preparation by interaction of tetrachloroauric acid and sodium borohydride in the presence of sodium folate has been developed. The morphology of gold nanoparticles and optical properties of prepared hydrosols were characterized by UV-visible spectroscopy, IR-spectroscopy and transmission electron microscopy. The optimal ratio of the reagents required to prepare stable gold hydrosols stabilized by sodium folate have been found. It was shown that dispersed phase of the hydrosols contain gold nanoparticles with average diameters between 3,7 and 25,0 nm, that form nanochains.

Разработка методов получения функционализированных наночастиц золота, которые могут использоваться для терапии онкологических заболеваний, – одно из активно развивающихся направлений препартивной химии [1, 2]. Наибольший интерес с точки зрения практического применения в онкологии представляют биоконъюгаты золота с аминокислотами. Так, активный захват фолиевой кислоты опухолевыми клетками обеспечивает накопление в них наночастиц золота [3–5], что создает предпосылки для эффективного проведения локальной гипертермии злокачественных новообразований.

В настоящее время в литературе описаны методы получения и результаты исследования биоконъюгатов золота с такими аминокислотами, как фенилаланин [6], триптофан [7], гистидин [8, 9], лизин [10], фолиевая [3] и глутаминовая [8] кислоты. В отличие от сферических наночастиц золота, функционализированных фенилаланином, триптофаном, гистидином, лизином, при восстановлении золотохлористоводородной кислоты борогидридом натрия в присутствии глутаминовой кислоты наночастицы золота образуют наноцепочки, длина которых зависит от концентрации стабилизатора в реакционной смеси [8]. Авторы работы [3] получали гидрозоль золота, используя фолиевую кислоту в качестве и восстановителя, и стабилизатора. Недостатком этого способа является то, что реакция протекает в течение длительного времени (16 ч) при нагревании.

Целью данной работы явилось получение гидрозолей золота восстановлением золотохлористоводородной кислоты борогидридом натрия в присутствии фолата натрия и исследование их свойств. Особое внимание уделялось получению седиментационно устойчивых гидрозолей золота, стабилизованных фолатом натрия.

### Методика эксперимента

В работе использовали золотохлористоводородную кислоту  $\text{HAuCl}_4$ , фолиевую кислоту  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$  (Aldrich), борогидрид натрия  $\text{NaBH}_4$ . Растворы указанных соединений готовили на бидистилированной воде.

Гидрозоли золота получали восстановлением золотохлористоводородной кислоты борогидридом натрия в присутствии фолата натрия. Для этого охлажденный до  $0\text{--}2^\circ\text{C}$  водный раствор золотохлористоводородной кислоты (ЗХВК) при интенсивном перемешивании приливали к охлажденному до той же температуры водному раствору, содержащему борогидрид натрия и фолат натрия. Перемешивание продолжали в течение 15 мин. Полученные гидрозоли золота хранили при комнатной температуре в защищенном от света месте.

Мольные соотношения золотохлористоводородной кислоты, борогидрида натрия и фолата натрия приведены в таблице. Расчетные концентрации золота в полученных гидрозолях изменялись от  $5 \cdot 10^{-4}$  до  $1 \cdot 10^{-3}$  М.

### Влияние соотношения реагентов на оптические характеристики органозолей и размер наночастиц золота, стабилизованных фолатом натрия

| Образец | Соотношение реагентов $\text{HAuCl}_4:\text{NaBH}_4$ : фолат Na | Расчетная концентрация золота в коллоиде, М | Положение максимума поглощения, нм | Средний диаметр частиц, нм |
|---------|---|---|------------------------------------|----------------------------|
| 1       | 4:8:0,25  | $1 \cdot 10^{-3}$                           | 275, 546                           | 5,1                        |
| 2       | 4:8:0,5   | $1 \cdot 10^{-3}$                           | 543                                | 25,0                       |
| 3       | 4:8:1   | $1 \cdot 10^{-3}$                           | 278, 545                           | –                          |
| 4       | 4:8:2   | $1 \cdot 10^{-3}$                           | 278, 545                           | –                          |
| 5       | 4:8:0,5   | $5 \cdot 10^{-4}$                           | 278, 556                           | 10,2                       |
| 6       | 4:8:1   | $5 \cdot 10^{-4}$                           | 278, 532                           | 4,6                        |
| 7       | 4:16:1  | $0,75 \cdot 10^{-3}$                        | 273, 558                           | 3,7                        |

Гидрозоли золота исследовали методами трансмиссионной электронной микроскопии, UV- и ИК-Фурье-спектроскопии. Оптические спектры поглощения записывали на двухлучевом спектрофото-

\* Авторы статьи – сотрудники НИИФХП БГУ.

метре «UV-VIS SPECORD M-40». Длина оптического пути составляла 1 см. ИК-Фурье-спектры регистрировали на спектрометре «Thermo Nicolet AVATOR FTIR-330». Образцы готовили следующим образом: после многократного нанесения капель исследуемых растворов на металлическую подложку ее выдерживали в эксикаторе над силикагелем.

Электронно-микроскопические исследования проводили на электронном микроскопе УЭМ-100ЛМ. Подготовка образцов заключалась в нанесении гидрозоля золота на медные сетки, покрытые коллоидной пленкой, с последующим высушиванием на воздухе.

### Результаты и их обсуждение

После слияния растворов реагентов независимо от их соотношения практически мгновенно образуются гидрозоли золота темно-синего цвета.

При содержании золота  $1 \cdot 10^{-3}$  М седиментационно-устойчивые гидрозоли образуются при исходных соотношениях в реакционной смеси  $\text{HAuCl}_4:\text{NaBH}_4:$ фолат натрия, равных 4:8:0,25 и 4:8:0,5 (см. таблицу, обр. 1, 2). При увеличении относительного содержания фолата натрия (обр. 3, 4) образуются неустойчивые гидрозоли, которые практически мгновенно выпадают в осадок, надосадочный раствор обесцвечивается. При этом, несмотря на обесцвечивание надосадочного раствора, его оптические спектры характеризуются поглощением в области 545 нм, свидетельствующим о присутствии в образце наноразмерного золота.

В оптических спектрах полученных гидрозолов максимумы поглощения наблюдаются при 276 и 545 нм (рис. 1, таблица). Поглощение в области 545 нм соответствует наноразмерному золоту, стабилизированному фолатом натрия [11]. Для отнесения максимума при 276 нм записывали оптические спектры растворов исходных реагентов. На рис. 2 представлен оптический спектр фолата натрия с интенсивным максимумом поглощения в области 282 нм, который сдвигается в коротковолновую область до 276 нм в процессе восстановления. Анализ собственных и имеющихся в литературе данных [7] позволяет предположить, что данное смещение происходит вследствие координации молекулы фолата натрия к поверхности наночастицы золота в процессе реакции восстановления. Следует также отметить, что отсутствие максимума поглощения, характерного для золотохлористоводородной кислоты в области 294 нм, в оптических спектрах коллоидных растворов золота, стабилизованных фолатом натрия (см. рис. 1), свидетельствует о полном восстановлении золо-

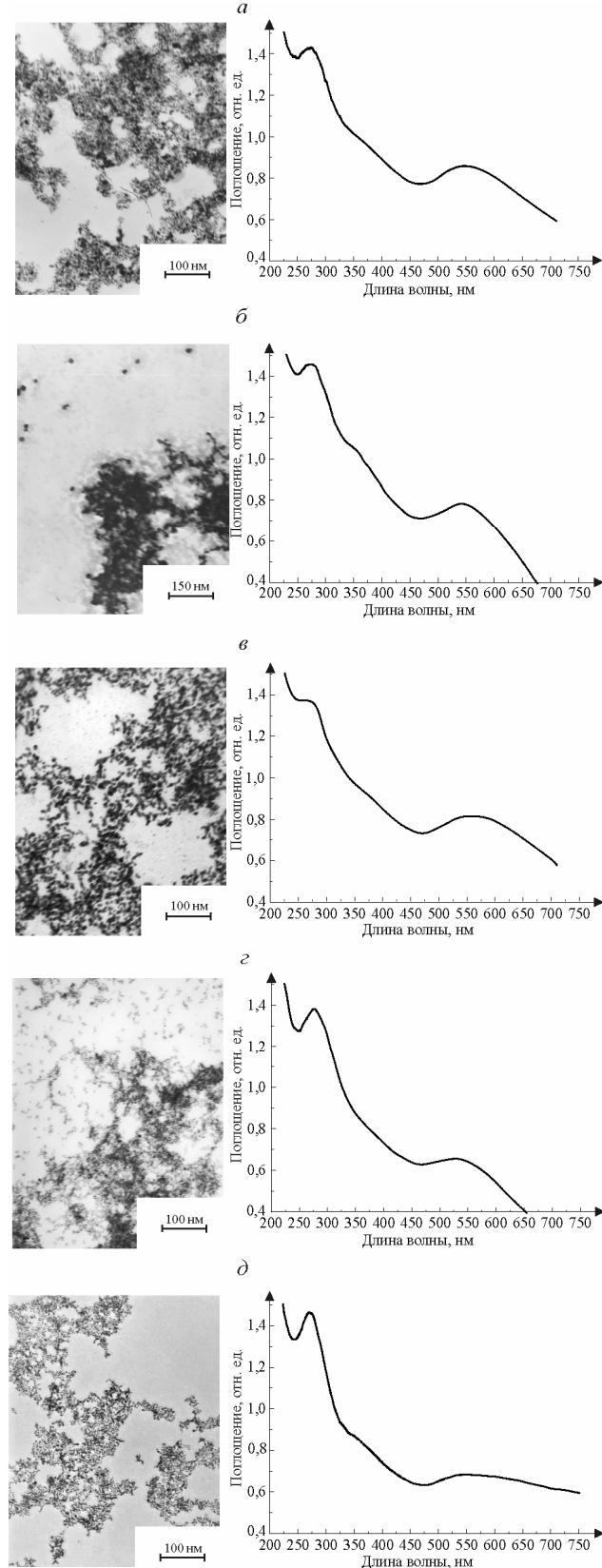


Рис. 1. Микрофотографии частиц дисперсной фазы и спектры поглощения образцов гидрозолей золота, стабилизованных фолатом натрия: а – 1, б – 2, в – 5, г – 6, д – 7

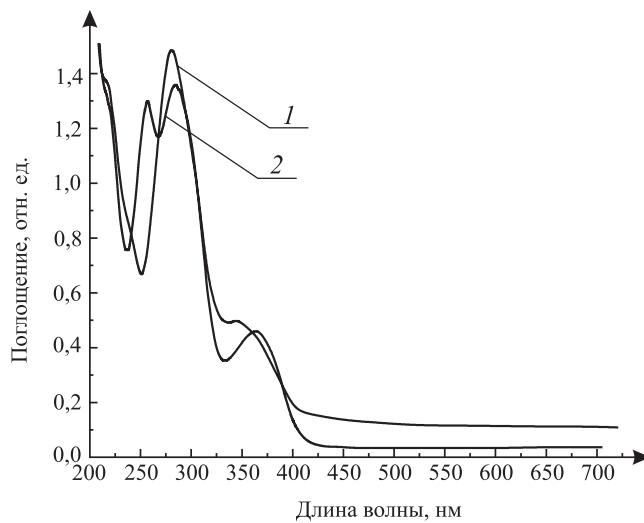


Рис. 2. Спектры поглощения растворов фолиевой кислоты (1) и смеси борогидрида натрия с фолатом натрия (2)

тиц меньшего диаметра, что подтверждается электронно-микроскопическими данными [8]. В течение 16 сут положение и интенсивность плазмонного резонанса золота не изменились.

Сравнение оптических спектров образцов 6 и 7, полученных при различном относительном содержании восстановителя в реакционной смеси, свидетельствует о том, что двукратное увеличение содержания восстановителя приводит к получению более концентрированных и седиментационно более устойчивых гидрозолей золота.

Следует также отметить, что при двукратном увеличении количества стабилизатора в реакционной смеси при получении гидрозолей с содержанием золота  $1 \cdot 10^{-3}$  М и  $5 \cdot 10^{-4}$  М наблюдается уменьшение интенсивности максимумов поглощения золота (рис. 1 а, б и 1 в, г), что может быть вызвано изменением состава окружения наночастиц золота. Аналогичные результаты были получены авторами работы [8].

Согласно электронно-микроскопическим данным, представленным на рис. 1, дисперсная фаза полученных гидрозолей образована цепочечными структурами, состоящими из сферических наночастиц. Размер первичных наночастиц изменяется от 3,7 до 25,0 нм (см. таблицу). При этом наименьший размер и дисперсию имеют частицы золота, стабилизированные фолатом натрия, при исходных соотношениях  $\text{HAuCl}_4:\text{NaBH}_4$ :фолат натрия, равных 4:8:0,25, 4:8:1 и 4:16:1 (обр. 1, 6, 7).

Сравнение ИК-Фурье-спектров фолиевой кислоты и гидрозоля золота (рис. 3) свидетельствует об увеличении интенсивности полос поглощения, ответственных за деформационные колебания  $-\text{NH}$  ( $1605 \text{ см}^{-1}$ ) и  $-\text{OH}$  ( $1410 \text{ см}^{-1}$ ) групп и валентные колебания водорода  $-\text{OH}$ ,  $-\text{NH}$  групп ( $3382 \text{ см}^{-1}$ ) в ИК-спектре золота, стабилизированного фолатом натрия, по сравнению с интенсивностью данных полос в ИК-спектре раствора фолиевой кислоты. Данное наблюдение позволяет предположить, что, как и в случае получения наночастиц золота, стабилизированных глутаминовой [8] и фолиевой [3] кислотами, фолат натрия взаимодействует с поверхностью золотых наночастиц, образуя координационные комплексы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при синтезе гидрозолей с содержанием золота  $1 \cdot 10^{-3}$  М и  $5 \cdot 10^{-4}$  М оптимальное соотношение золотохлористоводородной кислоты, восстановителя и фолата натрия составляет 4:8:0,25, 4:8:0,5 и 4:8:0,5, 4:8:1 соответственно.

В этих случаях образуются наночастицы с наименьшим размером и дисперсией, полученные гидрозоли сохраняют седиментационную устойчивость в течение длительного времени. Очевидно, при указанных соотношениях реагентов скорость нуклеации частиц превышает скорость их роста.

По-видимому, скорость нуклеации превышает скорость роста наночастиц и при получении образца 7, который характеризуется минимальным среди полученных гидрозолей размером частиц дисперской фазы и, как следствие, наибольшей седиментационной устойчивостью. Сравнение условий получения образцов 6 и 7 свидетельствует о том, что увеличение относительного содержания борогидрида натрия в реакционной смеси является фактором, способствующим получению седиментационно-устойчивых гидрозолей, в которых не наблюдалось признаков агрегации в течение всего времени хранения образцов (51 сут).

Таким образом, в результате проведенного исследования разработан простой одностадийный способ получения гидрозолей золота, стабилизованных фолатом натрия, которые потенциально могут использоваться для терапии онкологических заболеваний. Изучение влияния соотношения реагентов на седиментационные и размерные характеристики гидрозолей золота позволило определить оптимальные соотношения исходных реагентов  $\text{HAuCl}_4:\text{NaBH}_4$ :фолат натрия, при которых образуются седиментационно-устойчивые гидрозоли. В соответствии с полученными данными фактором, способствующим образованию более дисперсных частиц золота, является содержание восстановителя и стабилизирующей добавки фолата натрия. Анализ результатов ИК-спектроскопического исследования и сопоставление их с данными литературы позволили предположить, что стабилизация золота фолатом натрия достигается в результате образования связи золота с  $\text{NH}_2$ -группой фолата натрия.

1. Bhattacharya R., Patra C., Earl A. et al. // Nanomedicine: NBM. 2007. Vol. 3. P. 224.
2. Shakeri-Zadeh A., Ghasemifard M., Mansoori A. // Physica E. 2010. Vol. 42. P. 1272.
3. Li G., Li D., Zhang L. et al. // Chem. Eur. J. 2009. Vol. 15. P. 9868.
4. Zhang Z., Jia J., Lai Y. et al. // Bioorg. Med. Chem. 2010. Vol. 18. P. 5528.
5. Zhang J., Rana S., Strivastava R. et al. // Acta Biomater. 2008. Vol. 4. P. 40.
6. Nayak N.C., Shin K. // J. Nanosci. Nanotechnol. 2006. Vol. 6. P. 3512.
7. Selvakannan P.R., Mandal S., Phadtare S. // J. Colloid Interface Sci. 2004. Vol. 269. P. 97.
8. Polavarapu L., Xu Q. // Nanotechnology. 2008. Vol. 19. P. 075601.
9. Lim J.K., Kim Y., Lee S.Y. et al. // Spectrochim. Acta A. 2008. Vol. 69. P. 286.
10. Ghorbani A.A., Manoucher V., Iran A. et al. // J. Disper. Sci. Technol. 2008. Vol. 29. P. 1062.
11. Tsai S.W., Liaw J.W., Hsu F.Y. et al. // Sensors. 2008. Vol. 8. P. 6660.

Поступила в редакцию 07.09.10.

**Ирина Анатольевна Милевич** – младший научный сотрудник.

**Светлана Александровна Воробьева** – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник.

**Анатолий Иванович Лесникович** – академик НАН Беларуси, профессор, доктор химических наук, главный научный сотрудник.