

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА  
ШЕВЧЕНКА  
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри нанофізики конденсованих середовищ

проф. д.ф.-м.н. Валерій Антонович Скришевський

Протокол № \_\_\_\_\_ засідання кафедри

від “ \_\_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ р.

**Синтез термочутливого полімеру pNIPAM при створенні систем  
доставки ліків з використанням наноструктур золота**

Випускна кваліфікаційна робота магістра

студентки спеціальності

105 Прикладна фізика та наноматеріали

ОП «Нанофізика та наносенсорика»

**Хутько Марії Михайлівни**

Науковий керівник від кафедри

Завідувач кафедрою теоретичних

основ високих технологій, професор

д.ф.-м.н. **Лозовський Валерій Зіновійович**

Робота виконана у відділі функціональних

перетворювачів для сенсорної техніки

Інституту фізики напівпровідників

ім. В.Є.Лашкарьова НАН України

під керівництвом д.ф.-м.н. **В.І. Чегеля**

Оцінка захисту роботи

---

Київ – 2022 р.

## АНОТАЦІЯ

**Хутько М. М.** Синтез термочутливого полімеру рNIPAM при створенні систем доставки ліків з використанням наноструктур золота. – Випускна кваліфікаційна робота магістра за спеціальністю 105 Прикладна фізика та наноматеріали ОП «Нанофізика та наносенсорика».

У роботі досліджено процеси синтезу полі-N-ізопропілакриламід (рNIPAM) методом RAFT полімеризації на поверхні нанооболонки золота та при синтезі зародкових наночастинок срібла на першому етапі створення нанооболонки золота. Порівняно спектри екстинкції розчинів до та після додавання мономеру й ініфертера, а також їх залежність від різних концентрацій компонентів та часу опромінення ультрафіолетом.

Встановлено, що зі збільшенням концентрацій компонентів, зокрема ініфертера, та часом опромінення ультрафіолетом ефективність полімеризації зростає.

З'ясовано, що отримання полімерного шару на поверхні наночастинок золота та срібла з цитратним покриттям в більшості випадків призводить до повної або часткової агрегації цих наночастинок при використанні ініфертера.

Виявлено, що створення термочутливого полімерного шару одночасно з синтезом зародкових наночастинок срібла без додавання типового відновника – боргідриду натрію, призводить до відновлення іонів срібла та утворення наночастинок з полімерним покриттям.

**Ключові слова:** золоті нанооболонки; рNIPAM; ініфертер; RAFT полімеризація; термочутливі полімери; керовані системи доставки ліків.

## ABSTRACT

**Khutko M.M.** Synthesis of thermoresponsive polymer pNIPAM when creating a drug delivery system using gold nanostructures. – Master's degree in 105 Applied physics and nanomaterials, EP "Nanophysics and nanosensorics".

In this study are investigated the processes of synthesis of poly-N-isopropylacrylamide (pNIPAM) by RAFT polymerization on the surface of gold nanoshells and while synthesis of silver nanoparticle seeds at the first stage of creation of gold nanoshells. The extinction spectra of the solutions before and after the addition of monomer and iniferter, and also the dependence on different concentrations of components and ultraviolet irradiation time were compared.

It was found that the polymerization efficiency increases with increasing concentrations of components, in particular the iniferter, and the time of ultraviolet irradiation.

It has been found that receiving a polymer layer on the surface of citrate-coated gold and silver nanoparticles in most cases leads to complete or partial aggregation of these nanoparticles when using an iniferter.

It was found that the creation of a thermoresponsive polymer layer simultaneously with the synthesis of seed silver nanoparticle seeds without the addition of a typical reducing agent - sodium borohydride, leads to the reduction of silver ions and the formation of nanoparticles with a polymer coating.

**Key words:** gold nanoshells; pNIPAM; iniferter; RAFT polymerization; thermoresponsive polymers; controlled drug delivery systems.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

NIPAM – N-ізопропілакриламід

RAFT – ланцюгова зворотньо-направлена радикальна полімеризація

Ініфертер – RAFT-агент – 3-меркаптопропіл диетилкарбамодиціат

LSPR – локалізований поверхневий плазмонний резонанс

LCST – нижча критична температура розчину

UCST – верхня критична температура розчину

pH<sub>e</sub> – extracellular pH – позаклітинний pH

pH<sub>i</sub> – intracellular pH – внутрішньоклітинний pH

## Зміст

Вступ.....	6
1. Огляд літератури .....	8
1.1. Властивості наноструктур золота .....	8
1.2. Синтез нанооболонок золота .....	9
1.3. Термочутливі полімери для біомедичного застосування .....	11
1.3.1. Рівень рН клітин пухлин та його використання для лікування раку з використанням наноносіїв ліків.....	11
1.3.2. Доставка ліків .....	14
1.3.3. Розумні термочутливі полімери.....	15
1.3.4. Кополімери.....	18
1.4. Методи полімеризації NIPAM .....	22
1.4.1. RAFT полімеризація .....	22
1.4.2. Інші методи полімеризації NIPAM.....	26
2. Методика .....	30
2.1. Синтез нанооболонок золота .....	30
2.2. Синтез термочутливого полімеру.....	31
2.3. Спектрофотометричні вимірювання .....	33
3. Результати .....	33
3.1. Досліди з NIPAM та ініфертером у дистильованій воді.....	33
3.1.1. Дослідження спектрів мономера та ініфертера .....	33
3.1.2. Полімеризація під ультрафіолетом.....	35
3.2. Полімеризація з використанням нанооболонок золота .....	38
Висновки.....	43
3.3. Полімеризація з використанням наночастинок срібла .....	44
Загальні висновки.....	47
Список використаної літератури.....	48

## Вступ

Рак нині дуже поширене захворювання й небезпечне тим, що його складно лікувати, особливо якщо пухлина знаходиться глибоко всередині тканини організму. Інша проблема полягає в тому, що класична хіміотерапія шкідливо впливає на весь організм, що унеможлиблює її часте застосування.

Одним із методів боротьби з раком є використання антрациклінів, які при пероральному прийомі неактивні, і тому повинні бути введені внутрішньовенно. Але існує ще один недолік їх використання – це кардіотоксичні побічні ефекти, які можуть бути незворотними і призвести до серцевої недостатності, в той час коли при стійкості до ліків може посилитися кодування гена Р-глікопротеїну, що призводить до збільшення витоку препарату з клітини пухлини. Також багато антрациклінів не можна використовувати разом з променевою терапією через посилення їх токсичної дії [\[1\]](#).

Завдяки своїм унікальним фізико-хімічним властивостям наночастинки золота застосовуються різними способами в галузі лікування раку, включно з діагностикою хвороб, доставкою ліків та фототермічною і фотодинамічною терапією. Корисні властивості наночастинок визначаються їх розмірами, морфологією та складовими елементами, а для контролю цих факторів застосовуються різні синтетичні методи та постсинтетичні техніки [\[2\]](#).

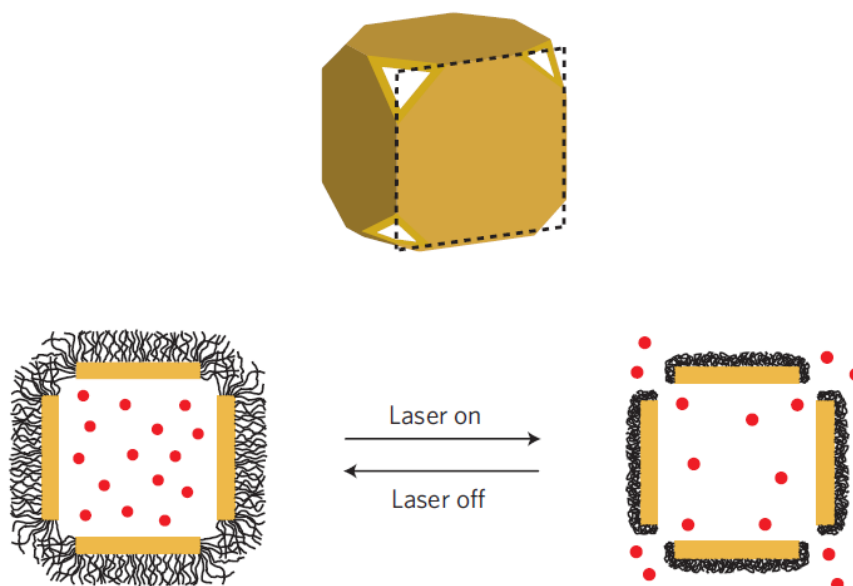


Схема 1 [3].

За основу взята ідея Явуза і Ченга [3], зображена на схемі 1, де наноклітки золота, утворені гальванічним заміщенням срібла з нанокубів, вкриті термочутливим полімером pNIPAM (полі-N-ізопропілакриламід), в які завантажена лікувальна речовина. На наночастинку діють інфрачервоним світлом, яке може глибоко проникати в тканини організму, і золото, поглинаючи це світло, швидко розігрівається. Важливо контролювати інтенсивність випромінювання та час, щоб не перевищить  $42^{\circ}\text{C}$  і запобігти деструкції білка і водночас не менше  $32^{\circ}\text{C}$ , тобто не нижче LCST (нижчої критичної температури розчину), щоб pNIPAM зміг змінити свою структуру з гідрофільної на гідрофобну. Це дозволить порам відкритись і вивільнити ліки назовні.

На відміну від попередньої ідеї в даній роботі досліджувався процес безпосередньої полімеризації N-ізопропілакриламідру на поверхні золотих наноболонок з утворенням термочутливого полімеру для розробки системи керованої доставки ліків, зображеної на схемі 2.

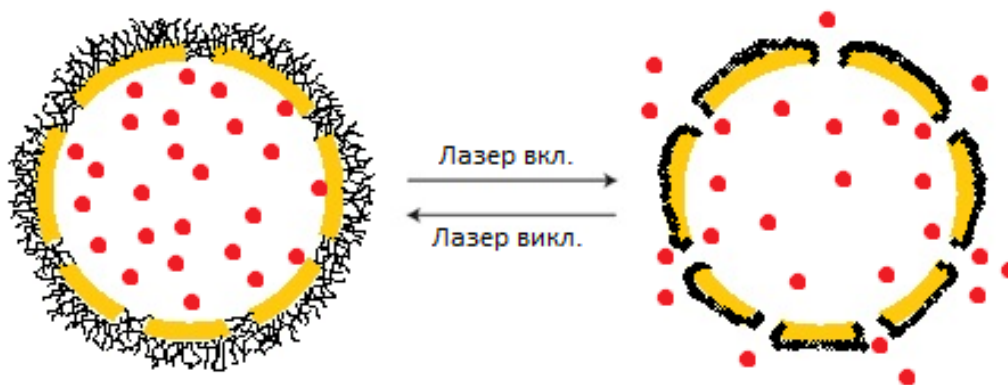


Схема 2.

## 1. Огляд літератури

### 1.1. Властивості наноструктур золота

Перший колоїдний розчин золя золота з розміром частинок 20 нм був отриманий ще Майклом Фарадеєм в 1857 році і виявився дуже стійким настільки, що його й досі демонструють у Британському музеї [4].

Важливими властивостями для використання золота в різних сферах є його відносна хімічна інертність, висока електропровідність, видимий та інфрачервоний спектри поглинання світла з інтенсивним нагріванням, що часто використовується в поверхневому плазмонному резонансі.

Для наночастинок також додатково характерні такі властивості:

- малі розміри та різноманітність форм;
- велика питома поверхня;
- висока адсорбційна активність;
- збільшення хімічного потенціалу речовини.

Суцільні наночастинки нагріваються вже у видимій області світла приблизно від 300 до 650 нм, поглинають світло в області 510-580 нм, що дає червоне забарвлення розчину. Але вже агреговані наночастинки поглинають світло в області 630-690 нм, що дає синій колір розчину.

Нанооболонки і наноклітки нагріваються в ближній інфрачервоній області світла приблизно від 800 нм, поглинають світло в області від 700 до 900 нм, що дає їм вже синьо-фіолетове забарвлення розчину (рис.1.1).



Рис. 1.1. Синтезовані колоїдні розчини наноструктур золота: зліва направо – суцільні наночастинки золота, нанооболонки золота та наноклітки золота [5].

Через те, що наночастинки металів мають високу здатність до акумуляції, тобто накопичення в організмі, вони можуть мати значний негативний вплив на функції окремих органів. Зокрема, ембріотоксичні властивості наночастинок золота сильніше проявляються у частинок розміром 0,8 нм, ніж у частинок 1,5 нм, тоді як тератогенний ефект, тобто аномалії в період ембріонального розвитку, проявляється незалежно від розміру наночастинок. Вплив токсичного ефекту в лабораторних умовах, зокрема на функціональну активність макрофагів, напряду залежить від типу і способу модифікації поверхні наночастинок золота. Досліджено також, що наночастинки золота розміром 20, 30 і 45 нм за умови одноразового внутрішньовенного введення щурам не пошкоджували ДНК в клітинах кісткового мозку, нирок, печінки, кишківника, проте у клітинах селезінки наночастинки розміром 20 нм пошкоджували ДНК [4].

### **1.2. Синтез нанооболонки золота**

Синтез нанооболонки золота зазвичай включає в себе три етапи: синтез зародкових наночастинок срібла, збільшення їх розміру за рахунок

росту та реакцію гальванічного заміщення срібла золотом (Рис.1.2.1). Детальний протокол синтезу кожної стадії буде розглянутий в розділі [2.1](#).

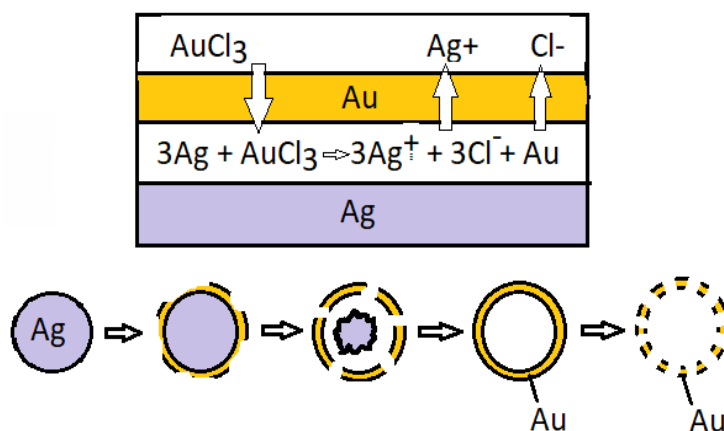
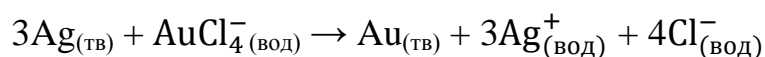


Рис.1.2.1. Схема пролонгованої реакції гальванічного заміщення Au/Ag [6].

Порожнисті нанооболонки золота зазвичай готують гальванічним заміщенням шаблонів срібла тетрахлоауратом (III) водню ( $\text{HAuCl}_4$ ). Срібло ( $\text{Ag}^+/\text{Ag}$  0.8В, відносно стандартного водневого електроду (СВЕ)) має нижчий окисно-відновний потенціал, ніж золото ( $\text{AuCl}_4^-/\text{Au}$  1.5В, відносно СВЕ), що призводить до нанесення металевого золота на шаблон і розчинення срібла за наступною стехіометрією:



Утворення шару золота на срібному шаблоні призводить до росту наночастинок; розподіл за розміром шаблонів срібла збільшується від середнього розміру 18 нм до 23 нм після реакції гальванічного заміщення, що передбачає товщину стінки в 2–3 нм (Рис.1.2.2).. Окислені атоми Ag розчиняються в розчині у вигляді вільних іонів  $\text{Ag}^+$ , які утворюють пори зсередини шаблону. По мірі протікання реакції колір розчину змінюється від жовтого до синього, що відповідає зміщенню LSPR (локалізованого поверхневого плазмонного резонансу) червоного кольору від 420 до 730 нм. Під час цього процесу окислення та відновлення металеві срібло та золото змішуються, утворюючи золото-срібний сплав у стінках

порожнистих золотих наноболок. Після завершення реакції зразки охолоджують та осаджують хлорид срібла, а супернатант, що містить золоті наноболонки, розміщують в холодильнику при 4°C для зберігання до подальшого використання [7].

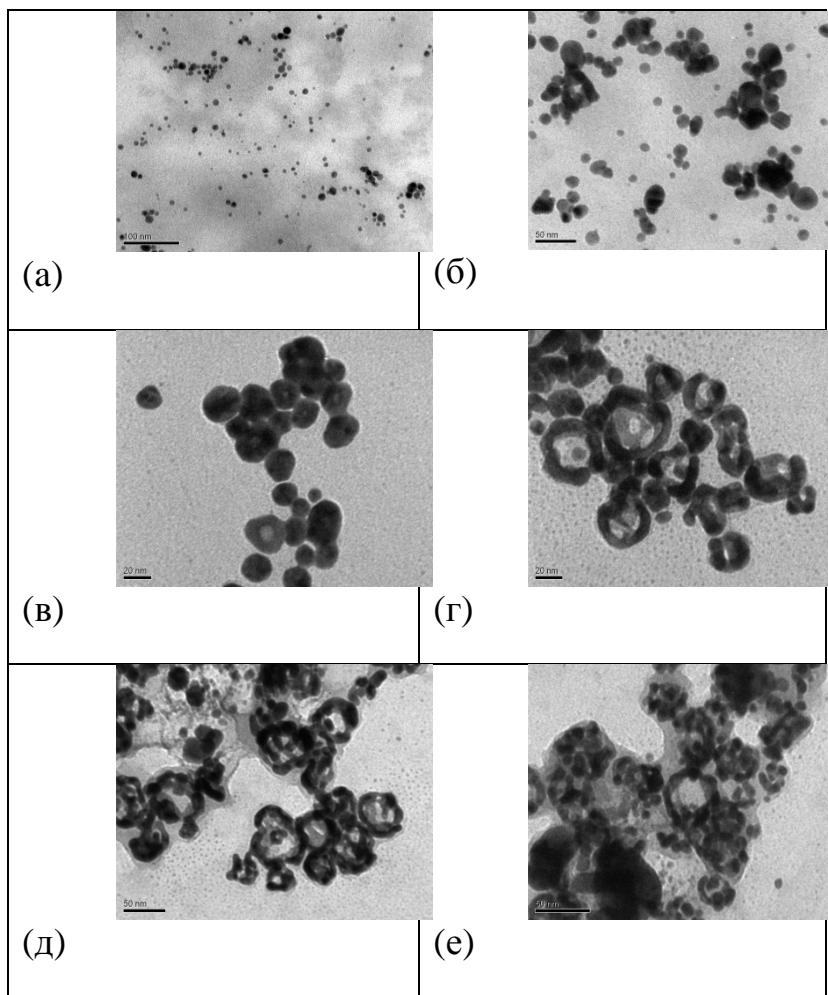


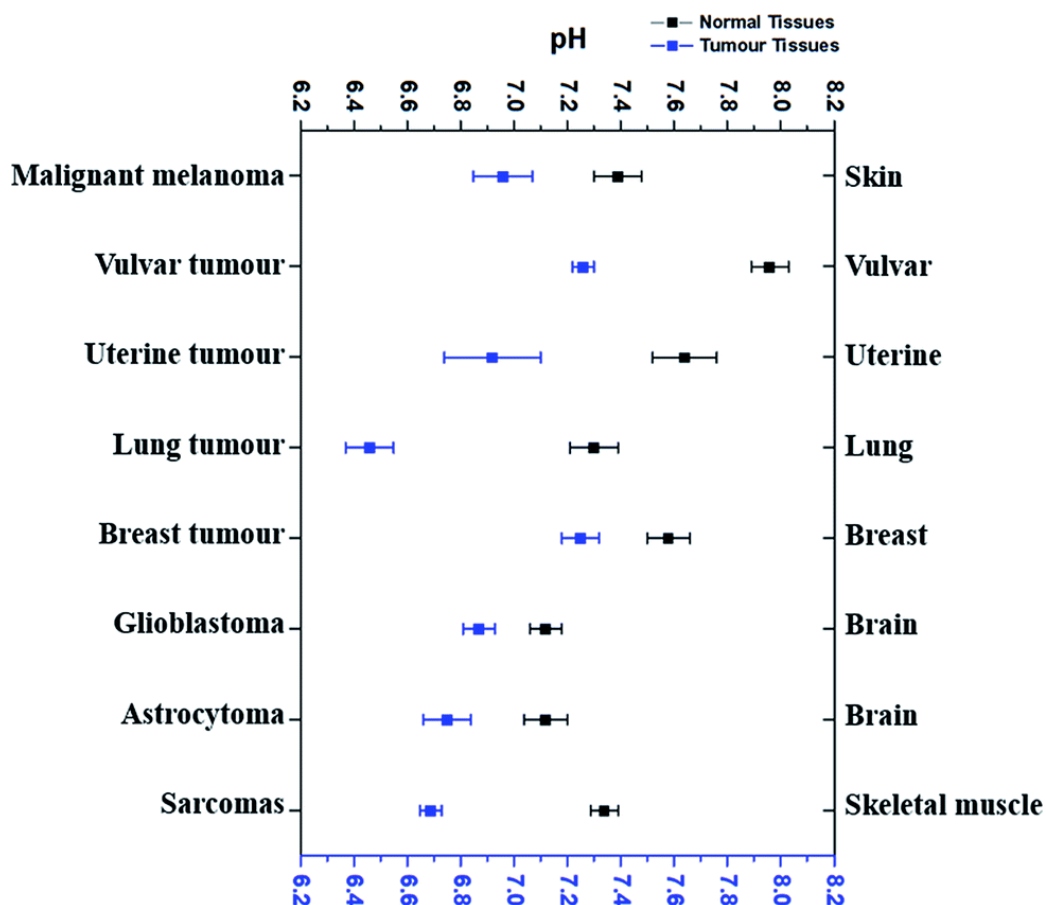
Рис. 1.2.2. ТЕМ-фотографії підготовлених (а) зародків та (б) вирощених наночастинок Ag та (в-е) наноструктур із чотирьох стадій реакції [6].

### 1.3. Термочутливі полімери для біомедичного застосування

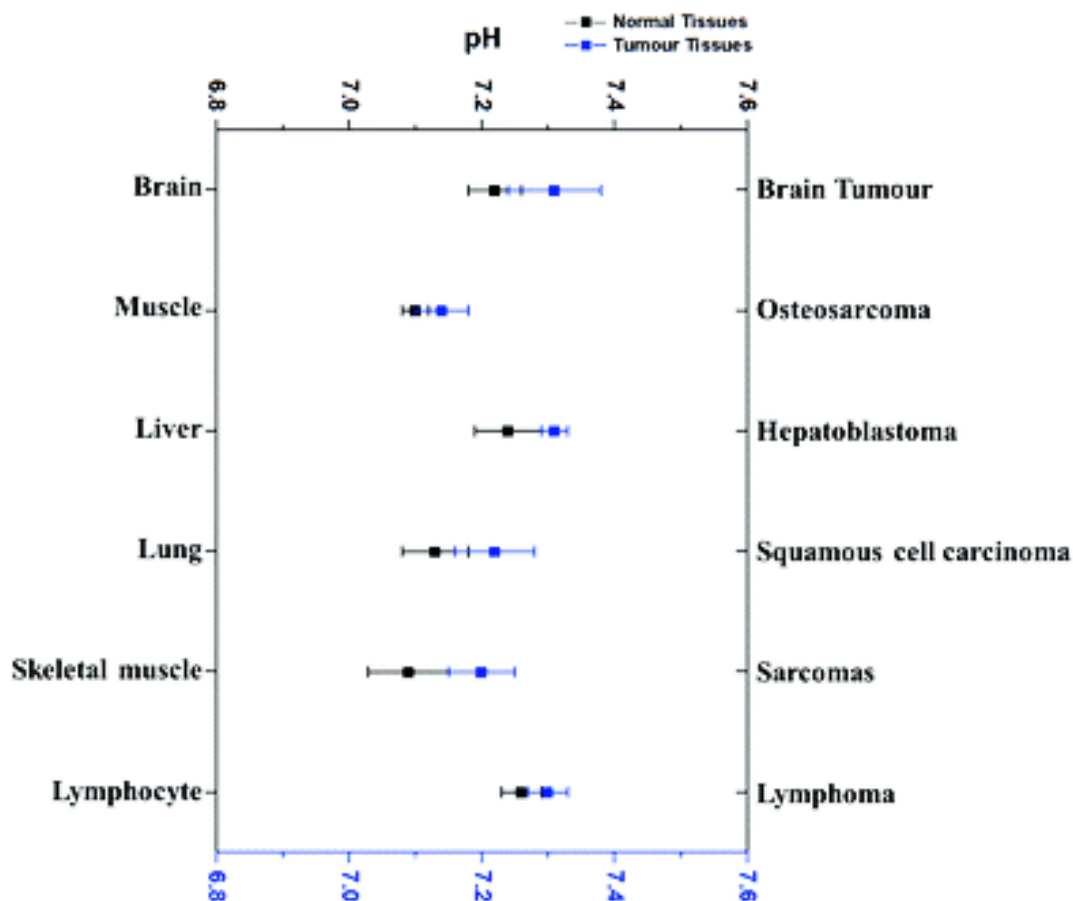
#### 1.3.1. Рівень рН клітин пухлин та його використання для лікування раку з використанням наноносіїв ліків

Відомо, що  $pH_e$  (позаклітинний рН) ракових клітин більш кислий, ніж у нормальних клітин. Як правило, значення  $pH_e$  нормальних тканин (тканини мозку, підшкірної клітковини тощо) знаходяться в межах 7,2–7,5.

Проте  $pH_e$  клітин пухлин слабокислий і знаходиться в діапазоні 6,4–7,0 (Рис. 1.1.3) [8]. Варбург та ін. [9], вперше повідомили про аномальний анаеробний гліколіз в пухлинних клітинах: вони виміряли вміст глюкози і молочної кислоти в пухлинних венах і виявили більше молочної кислоти і менше глюкози в пухлинній тканині, порівняно з нормальною тканиною, через процес ферментації зі сторони пухлини, що може впливати на її  $pH_e$  і  $pH_i$  (внутрішньоклітинний  $pH$ ). Пізніше було виявлено, що  $pH_i$  в ракових клітинах слаболужний або майже нейтральний, подібний до нормальних клітин [37,38]. Більша позаклітинна кислотність і більша внутрішньоклітинна лужність означає менше співвідношення  $pH_e/pH_i$ .



a



б

Рис. 1.1.3. Порівняння середніх значень  $pH_e$  (а) і  $pH_i$  (б) різних пухлин із нормальними тканинами. Сині точки позначають середній  $pH$  деяких ракових тканин, тоді як чорні точки – середній  $pH$  відповідних нормальних тканин [8].

Одним з майбутніх підходів до маніпулювання співвідношенням  $pH_e/pH_i$  для лікування раку є використання функціональних систем доставки наночастинок для ефективного транспортування відомих інгібіторів. У порівнянні з низькомолекулярними інгібіторами, наночастинок можуть мати більше переваг, наприклад, накопичуватися навколо пухлинних тканин завдяки ефекту підвищення проникності та утримування (ефект EPR) [10]. Звичайно, наночастинок з інгібіторами можуть бути додатково функціоналізовані цільовими лігандами, що може посилити накопичення в тканинах пухлини та маніпулювати співвідношенням  $pH_e/pH_i$ .

Інший потенційний спосіб прямого маніпулювання рН може бути досягнутий шляхом цільової доставки лужних наночастинок до тканин пухлини завдяки ефекту EPR. Таким чином, накопичені лужні наночастинок нейтралізують позаклітинні кислоти і ефективно підвищують рН<sub>e</sub>. Крім того, деякі лужні наночастинок можуть бути модифіковані як носії для доставки протипухлинних препаратів для ефективнішого лікування раку [11,12].

### 1.3.2. Доставка ліків

Доставка ліків – це метод введення лікарського засобу для досягнення терапевтичного ефекту у людей або тварин. Ключовими факторами є доставка препарату в потрібну область, час і дозування лікарського засобу [13]. Проте існує багато перешкод для успішної доставки ліків, наприклад:

- низька розчинність лікарських речовин;
- екологічна або ферментативна деградація;
- швидке виведення з організму;
- неспецифічна токсичність;
- нездатність долати біологічні бар'єри [14].

Для подолання цих перешкод, носії для доставки ліків найчастіше використовуються на основі полімерів [15].

Тим не менш, навіть при використанні носія для доставки препарату важко отримати бажану контрольовану швидкість вивільнення. Зокрема, доставка ліків часто є проблематичною через те, що концентрація вивільненого препарату в цільовій ділянці або занадто низька, або занадто висока, тобто не потрапила в терапевтичне вікно, і не доставлена протягом бажаної кількості часу. Таким чином, бажане контрольоване вивільнення препарату, яке часто характерне для кінетичної швидкості нульового порядку важко досяжна. У зв'язку з цим і використовують «розумні» полімерні носії для доставити ліків, що дозволяє доставку препарату за

потрібного часу і концентрації за рахунок вивільнення препарату у відповідь на зовнішній подразник. Наприклад, полімерні ланцюги носія можуть розширюватися в результаті підвищення температури, таким чином дозволяючи препарату дифундувати і вивільнятися від носія [16].

### **1.3.3. Розумні термочутливі полімери**

Термін «розумні полімери» відноситься до розчинних прикріплених до поверхні або зшитих полімерних систем, які демонструють відносно великі та різкі фізичні чи хімічні зміни у відповідь на невеликі фізичні або хімічні подразники. Вони можуть реагувати на подразники, такі як рН, температура, іонна сила, розчинники, реагенти, електричні чи магнітні поля, світлове опромінення та/або хімічні й біологічні подразники. У відповідь на це розумні полімери можуть змінювати фазу, форму, оптичні властивості, механіку, електричні поля, поверхневу енергію, швидкість реакції чи проникнення, розпізнавання [17,18].

Термочутливі полімери – одні з підвидів розумних полімерів, які проявляють фізичні зміни у відповідь на подразник, зокрема змінюють свою розчинність у воді у відповідь на зміну певної температури. На рисунку 1.3.3.1 схематично показано такі водні полімерні системи в розчині, на поверхнях або у вигляді гідрогелів.

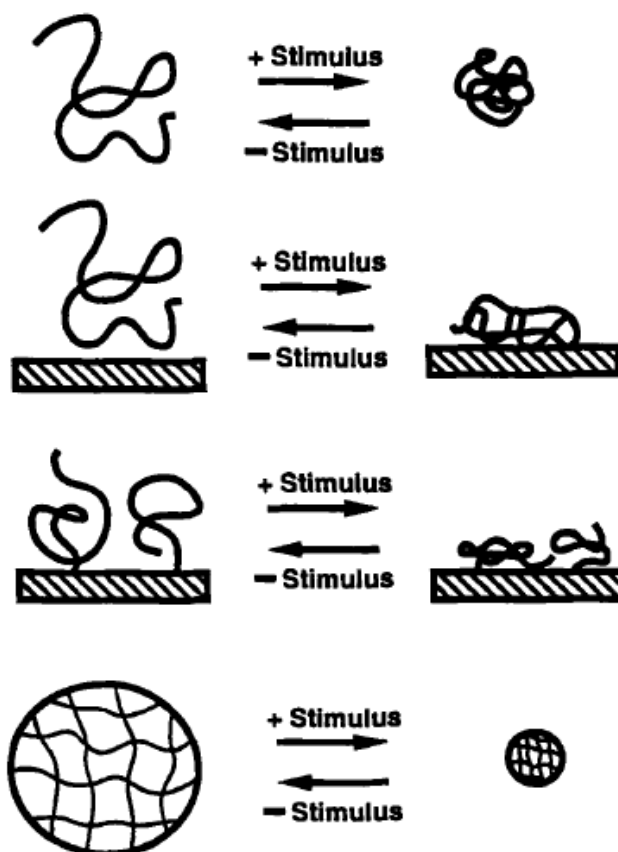


Рис. 1.3.3.1. Схематичні приклади систем розумного полімеру в розчині, на поверхнях і у вигляді гідрогелів [17].

Існує два основних типи термочувливих полімерів в залежності від їх поведінки в розчині: з нижчою критичною температурою розчину (LCST) та верхньою критичною температурою розчину (UCST). LCST і UCST — критичні температури, нижче та вище яких відповідно полімер повністю зміщується з розчинником, як показано на рис. 1.3.3.2. Таким чином, наприклад, розчин полімеру нижче LCST — прозорий гомогенний розчин, тоді як розчин полімеру вище LCST виглядає каламутним, через що LCST також ще називають точкою помутніння. Така поведінка спричинена гідрофобним ефектом, тобто розривом водневих зв'язків при підвищенні температури через зростання ентропії системи за рахунок неупорядкованості молекул води і зменшення енергії Гіббса, що відображено у формулі  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ , де  $G$  — енергія Гіббса,  $H$  — ентальпія,  $T$  — температура,  $S$  — ентропія. Для UCST більш вагомий

ентальпійний рушійний ефект, при якому енергія Гіббса збільшується при підвищенні температури і спостерігається протилежна поведінка полімеру [13]. З цієї причини UCST залежить від молекулярної маси і структури полімеру навіть сильніше, ніж LCST [19-21].

Прикладами полімерів з LCST у воді є полі-(N-ізопропілакриламід) (pNIPAM), 2-(диметиламіно) етилметакрилат (pDMAEMA), гідроксипропілцелюлоза, полі-(вінілкапролактан), полі-2-ізопропіл-2-оксазолін, полівінілметиловий ефір, в яких спільна властивість, що кожен з них має баланс гідрофільних і гідрофобних груп у складі своїх молекул [17]. Серед таких полімерів для біомедичного застосування зручними є полі(N,N-діетилакриламід) (PDEAAm) з LCST в діапазоні від 25 до 32°C, полі(N-вінілкапролактан) (PVCL) з LCST від 25 до 35 °C, полі[2-(диметиламіно)етилметакрилат] (PDMAEMA з LCST близько 50 °C, полі(етиленгліколь) (PEG), який також називають полі(етиленоксидом) (PEO), LCST якого становить близько 85 °C. Але серед них виділяється полі-(N-ізопропілакриламід) (pNIPAM) з LCST 32°C, яка найбільш наближена до температури людського тіла - 37°C [13].

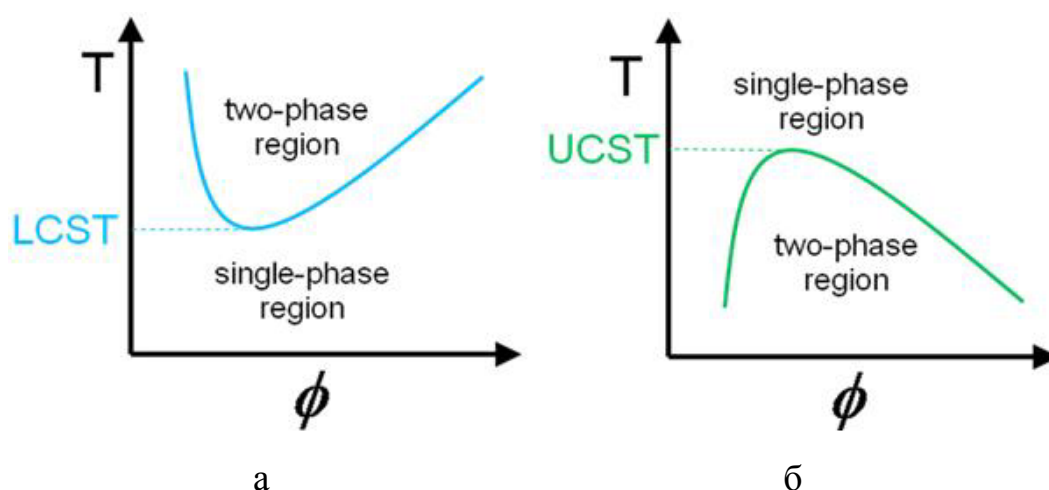
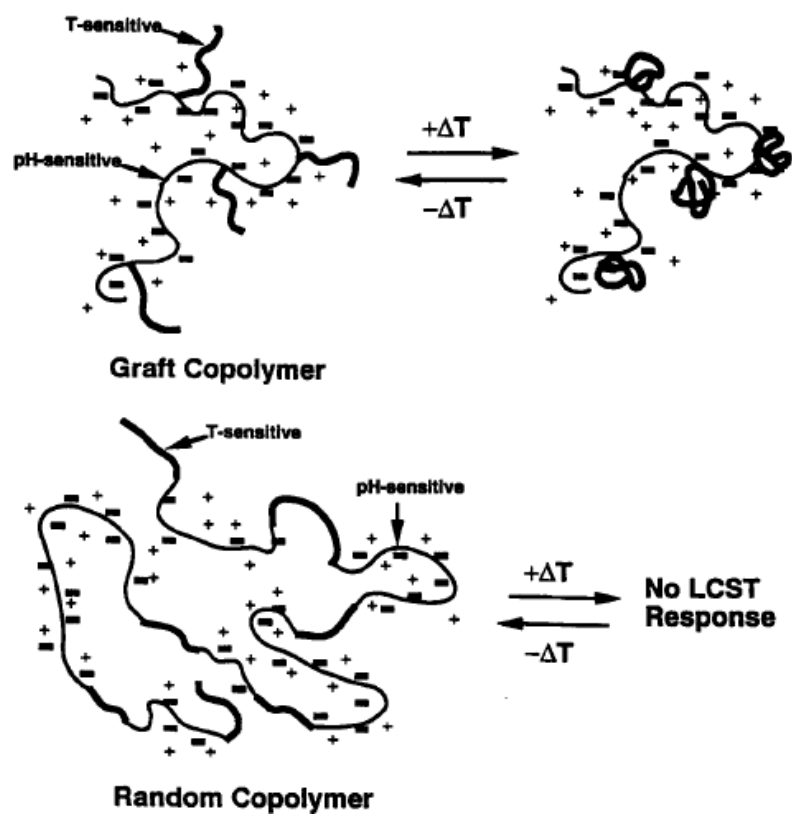


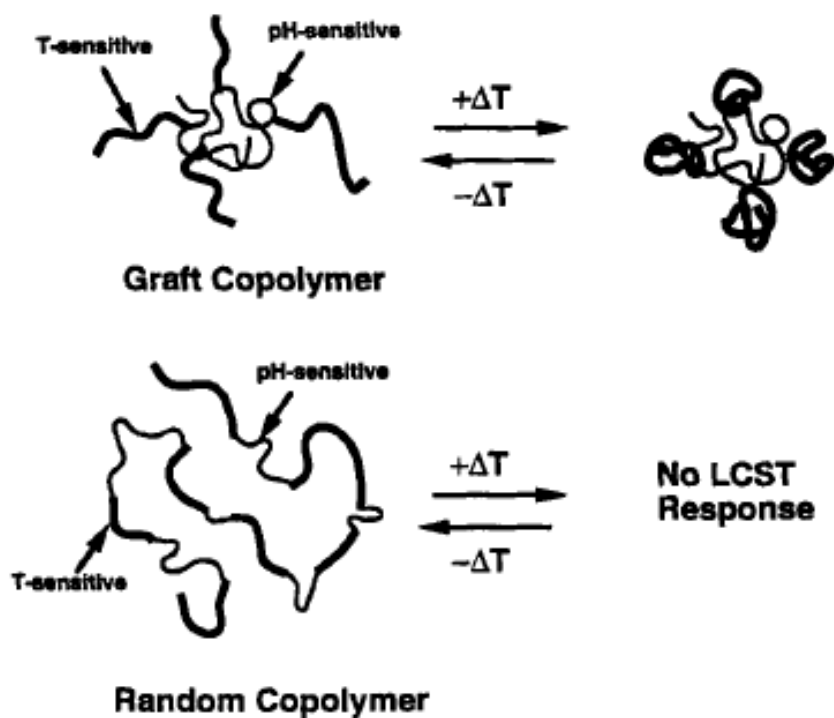
Рис. 1.3.3.2. Залежність температури від об'ємної частки полімеру,  $\phi$ . Схематична ілюстрація фазової діаграми для розчину полімеру з нижньою критичною температурою розчину (LCST) (а) та верхньою критичною температурою розчину (UCST) (б) [13].

### 1.3.4. Кополімери

Якщо поєднати температурну чутливість з чутливістю до рН в одному і тому ж розумному полімері, то LCST кополімеру буде особливо чутлива до рН завдяки сильному гідрофільний характеру іонізованого стану рН-чутливого компонента. У випадковому вініловому кополімері, що містить як термочутливі, так і рН-чутливі мономері, всього-на-всього невелика молярна частка рН-чутливого мономера може бути достатньою, щоб повністю усунути явище LCST переважаючого термочутливого компонента, якщо рН стає більше за рК рН-чутливого компонента [22]. На відміну від випадкових кополімерів, у зчеплених та блочних кожні з чутливих властивостей зберігаються в широкому діапазоні умов з моменту, коли окремих, блочний або зчеплений сегменти починають поводитися незалежно один від одного (Рис. 1.3.4.1). Якщо є водневий зв'язок між термочутливою та рН-чутливою групами при рН менше, ніж рК, то LCST може бути зміщена до нижчих температур. У таблиці 1.3.4.1 представлені деякі типові дані для гомополімерів, випадкових та зчеплених кополімерів в розчині на основі мономерів NIPAAm та AAc з різним відсотковим молярним складом [23]. Було також виявлено подібну поведінку блочних кополімерів та гідрогелів на основі цих зчеплених кополімерів в розчині [17].



a



б

Рис. 1.3.4.1. Порівняння термо-індукованих відповідей для випадкових зчеплених кополімерів (~50 мас.%/50 мас.%) вище (а) та нижче (б) рК рН-чутливого компонента [22,23].

Табл. 1.3.4.1. Порівняння LCST випадкових та зчеплених кополімерів з N-ізопропілакриламідом (NIPAAm) та акриловою кислотою (AAc). Зразки AN приготувані кополімеризацією макромономера NIPAAm з AAc, а зразки G приготувані шляхом сполучення олігоNIPAAm з rAAc реакцією аміно-кінцевої групи олігоNIPAAm з карбоксильною групою rAAc [23].

Type of copolymer	Wt% NIPAAm	wt% AAc	LCST (°C) pH 4.0	LCST (°C) pH 7.4
Random				
R-1	100	0	31	33
R-2	93	7	32	64
R-3	88	12	35	>95
R-4	79	21	38	>95
R-5	67	33	61	>95
R-6	57	43	>95	>95
R-7	46	54	>95	>95
Graft <sup>a</sup>				
AN-1	45	55	22	32
AN-2	28	72	22	32
G-20	19	81	16	32
G-25	24	76	16	32
G-30	29	71	16	32
G-50	49	51	16	32

Група Явуза і Ченга [3] також помітила подібну закономірність, яку раніше була також описана в огляді Гоффмана [24]. Якщо до NIPAAm при створенні кополімеру додати невелику кількість акриламідом (AAm), то LCST може підвищитись, при чому чим більша доля AAm, тим вища LCST. Ця залежність експериментально визначена і представлена на рис. 1.3.4.2 та зведена у таблицю 1.3.4.2: для чистого NIPAAm LCST 32°C, для інших NIPAAm:AAm як 95:5 - 35°C, 90:10 - 39°C, 87.5:12.5 - 41°C, 75:25% - 49°C. Звідси видно, що оптимальний вибір LCST для біомедичного застосування – це 39-40°C, що відповідає мольному співвідношенню AAm в кополімері 10-12%.

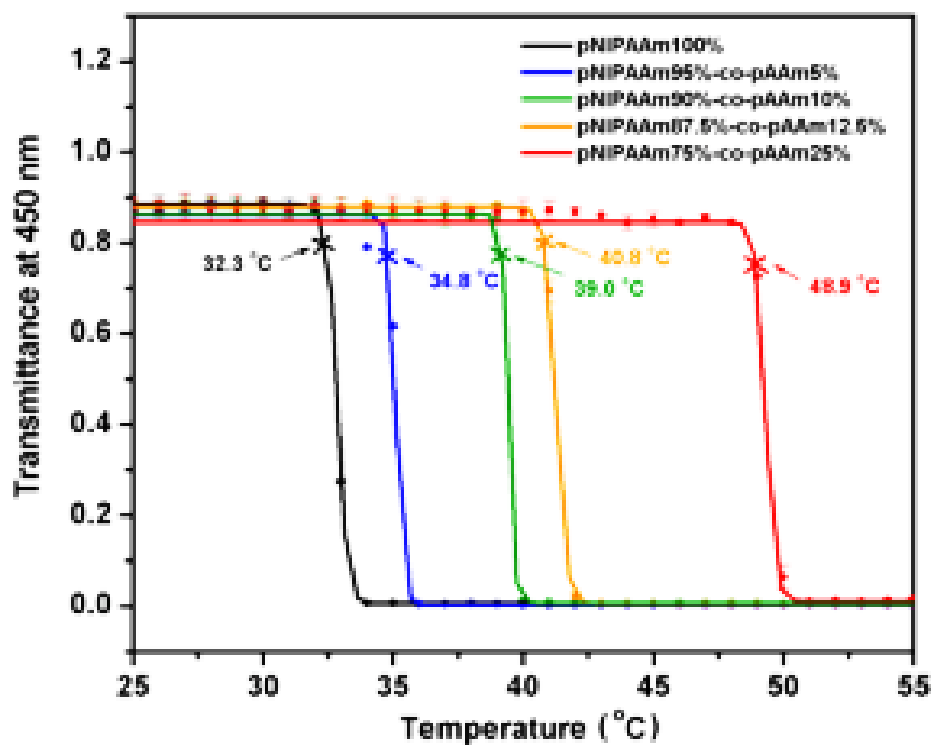


Рис. 1.3.4.2. Спектрофотометричне визначення LCST при нагріванні розчину на  $1^\circ/\text{хв}$ . Температура з 90% пропусканням світла (при 450нм) чистого полімеру була визначена як LCST [3].

Табл. 1.3.4.2. Мольне співвідношення NIPAAm/AAm і їх відповідні LCST, молекулярна маса полімеру та індекс полідисперсності [3].

NIPAAm/AAm (molar ratio)	LCST <sup>a</sup> (°C)	$M_n$ ( $\times 10^4$ )	$M_w$ ( $\times 10^4$ )	Polydispersity index (PDI= $M_w/M_n$ )
100 : 0	32.3	6.87	12.4	1.80
95 : 5	34.8	6.77	11.9	1.76
90 : 10	39.0	6.93	12.1	1.75
87.5 : 12.5	40.8	7.24	12.8	1.77
75 : 25	48.9	7.89	14.1	1.79

## 1.4. Методи полімеризації NIPAM

### 1.4.1. RAFT полімеризація

Визначення за IUPAC:

Reversible-addition-fragmentation chain-transfer polymerization (RAFT polymerization, RAFT) – Ланцюгова зворотно-направлена радикальна полімеризація, в якій активація та дезактивація ланцюга включають зворотній (двонаправлений) процес утворення ланцюга, який відбувається за допомогою двоступеневого механізму додавання-фрагментації (Рис. 1.4.1.1.).

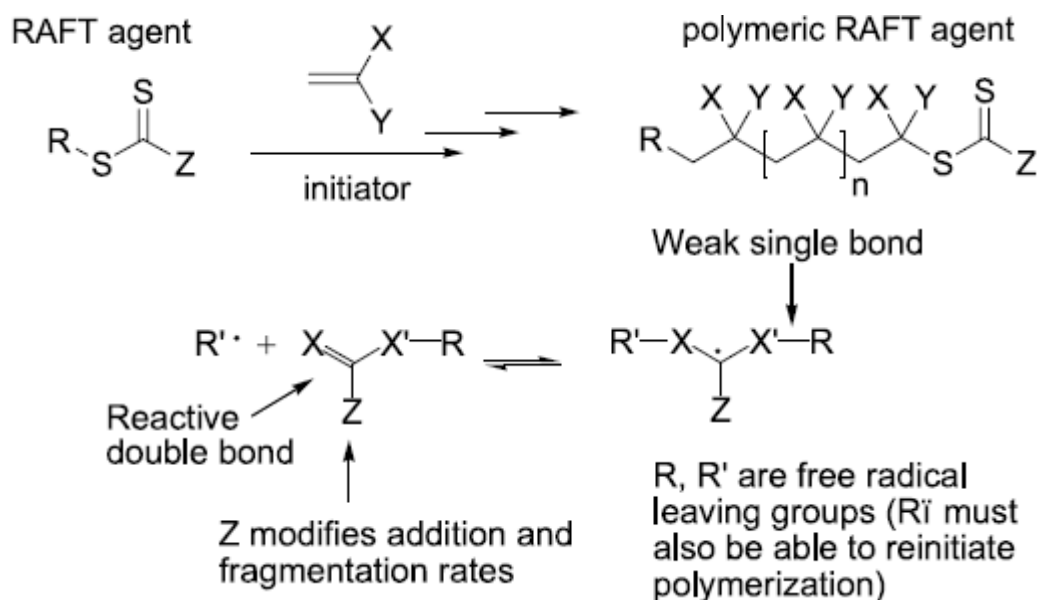


Рис. 1.4.1.1. Загальна схема RAFT полімеризації ) [25].

Зазвичай система RAFT полімеризації складається з:

- джерела радикалів (наприклад, термохімічного ініціатора або взаємодії високоенергетичного випромінювання з деяким реагентом);
- мономера;
- RAFT агента;
- розчинника (не обов'язковий, якщо мономер сам по собі рідкий)

Температура та ініціатор вибираються такими, що зростання ланцюга відбувається з відповідною швидкістю, тому як радикальні ініціатори широко використовуються азобісізобутиронітрил (AIBN) та 4,4'-азобіс (4-ціановалер'янова кислота) (ACVA).

Полімеризацію RAFT можна здійснити шляхом додавання вибраної кількості відповідного RAFT агента до звичайної полімеризації вільними радикалами. Зазвичай можуть використовуватися ті ж мономери, ініціатори, розчинники та температури. Приклади RAFT агентів включають певні дітіоефіри, тритіокарбонати, ксантати (дитіокарбонати) та дитіокарбамати, при чому RAFT з ксантатами також відомий як MADIX (macromolecular design by interchange of xanthate) [26].

RAFT полімеризація відома своєю сумісністю з широким спектром мономерів порівняно з іншими контрольованими радикальними полімеризаціями. Ці мономери включають (мет) акрилати, (мет) акриламіді, акрилонітрил, стерол та їх похідні, бутадієн, вінілацетат та N-вінілпіролідон. Цей спосіб полімеризації також підходить для використання в широкому діапазоні параметрів реакції, таких як температура або рівень домішок, порівняно з іншими видами контрольованих радикальних полімеризацій.

Механізм обміну між сплячим й активним групами RAFT агента включає ряд пов'язаних рівноваг, як показано на рис. 1.4.1.2 [27]. Відповідно до цього механізму можуть додатися різні побічні реакції, такі як сполучення з радикалами аддукта.

Групу Z та R RAFT агента слід вибрати відповідно до ряду міркувань. Група Z в першу чергу впливає на стабільність зв'язку  $S = C$  і стійкість радикалу аддукту (полімер-S-C • (Z) -S-полімер), що, у свою чергу, впливає на положення та швидкість елементарних реакцій у пре- та основній рівновазі. Група R повинна бути здатна стабілізувати радикал таким чином, щоб права частина передрівноваги мала перевагу, але й бути

достатньо нестабільною, щоб вона могла переініціювати зростання нового полімерного ланцюга. Отже, RAFT агент має бути розроблений з урахуванням мономеру і температури, оскільки обидва ці параметри також сильно впливають на кінетику та термодинаміку рівноваг RAFT полімеризації.

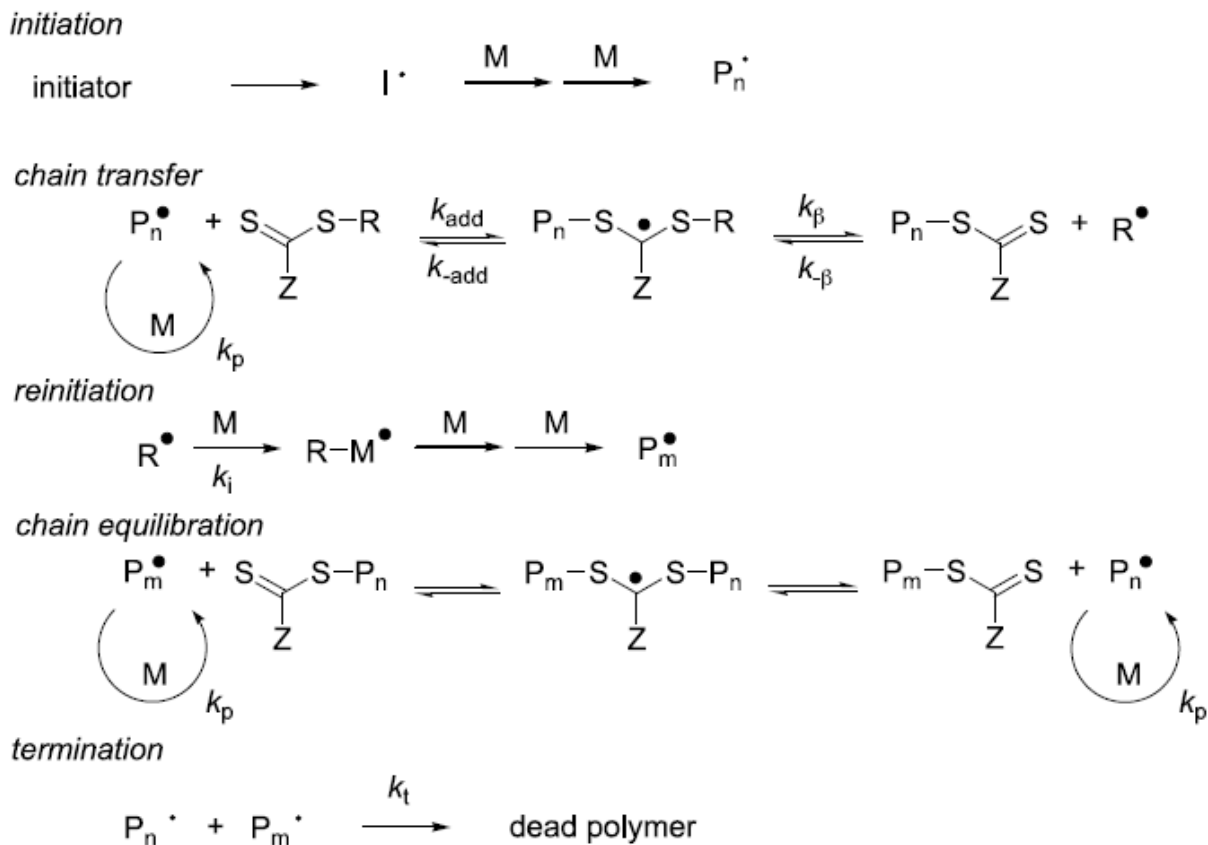


Рис. 1.4.1.2. Механізм RAFT полімеризації [25].

Одним з прикладів може бути метод, описаний групою Аквіла та ін. [28]: pNIPAM з однією кінцевою групою у вигляді карбонової кислоти (-COOH) готували методом RAFT полімеризації з DMP (2-додецилсульфонілтіокарбонілсульфоніл-2-метил пропіонова кислота) як RAFT агентом (Рис. 1.4.1.3.). У завчасно розігрітій трьохгорлій колбі перекристалізований NIPAM (5,0 г), DMP (182 мг,  $5 \times 10^{-4}$  моль) та АСРА (ініціатор) (9,24 мг,  $2,5 \times 10^{-5}$  моль) розчиняли у 20 мл ДМФ. Далі цей розчин дегазували трьома циклами заморожування-відтаювання-очищення, а потім колбу перенесли на водяну баню при 25°C. Через 4

год неочищений продукт реакції осаджували в діетиловому ефірі. Таку процедуру повторювали двічі. Утворену речовину далі гідролізували розчином NaOH в метанолі (1,0 М, 28%) з утворенням HS-PNIPAM-COOH. Потім  $0,9 \cdot 10^{-4}$  моль полімеру і 10 мг  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  розчиняли в 20 мл деіонізованої води з подальшим повільним додаванням 0,5 мл свіжо приготовленого водного розчину (0,45 М)  $\text{NaBH}_4$  ( $\text{NaBH}_4/\text{Au} = 15:1$ ) при інтенсивному перемішуванні протягом 12 год. Колоїдний розчин  $\text{HOOC-PNIPAM-S-Au}$  діалізували через воду протягом трьох днів для видалення вільних ланцюгів PNIPAM і надлишку солі золота. Золоті наночастинки збирали фільтруванням через мембрану з діаметром пор 0,45 мкм. Колоїдний розчин наночастинок золота мав темно-синій колір.

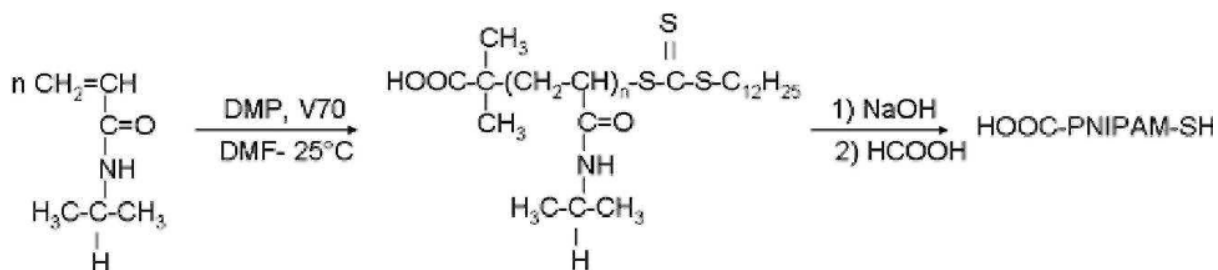


Рис. 1.4.1.3.. Синтез  $\alpha$ -карбоксилу,  $\omega$ -тіолу pNIPAM методом RAFT полімеризації та подальший гідроліз отриманого полімеру [28].

Іншим прикладом RAFT полімеризації може бути синтез блок-кополімеру поліметилметакрилату з полістиролом. Полістирольний блок спочатку приготували з бензилдитіоацетатом (2 год) як RAFT агентом. У п'ятигорлу реакційну посудину, оснащену конденсатором, термopарою і механічною мішалкою, додали воду (50 г) і додецилсульфат натрію (3,1 г 10% водного розчину). Розчин нагрівали при  $80^\circ\text{C}$  протягом 40 хв з продуванням азотом для інертної атмосфери. Потім у стирол (2,3 г) додали 4,4'-азобіс(4-ціанопентанову кислоту) (88 мг) і бензилдитіоацетат (104 мг, 2 год). Далі стирол (11,3 г, 0,2 мл/хв) та ініціатор (531 мг у 100 г води, 0,089 мл/хв) додавали шприцевим насосом, після чого температура реакції підвищили до  $90^\circ\text{C}$ , а після додавання метилметакрилату (14 г, 0,316

мл/хв) та ініціатора (265 мг у воді 100 г, 0,312 мл/хв) суміш тримали при 90°C протягом ще 60 хв (Рис. 1.4.1.4.) [29].

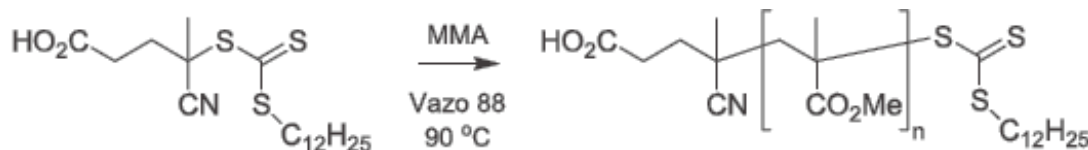


Рис. 1.4.1.4. Синтез блок-кополімеру поліметилметакрилату з полістиролом методом RAFT полімеризації [25].

### 1.4.2. Інші методи полімеризації NIPAM

1. В першому методі, запропонованому групою Ліз-Марцана та ін. [30], водний розчин, що містить наночастинки золота (1 мМ, у перерахунку на золото), додецилсульфат натрію (SDS) (концентрація між 0,25 та 1 мМ) і 1 мМ NaOH продували азотом (15 хв), далі додаванням N-ізопропілакриламід (1 ммоль) та N, N-метиленбісакриламід (0,1 ммоль). Через ще 15 хвилин продувки азотом полімеризацію ініціювали додаванням 2,2-азобіс (2-метилпропіонамідин) дигідрохлориду (BIS, 150 мл, 0,1 М). Через 7–10 хв червонуватий розчин ставав каламутним і реакційну суміш тримали при 70°C протягом 3 год. Кінцевій білій суміші потім дали охолонути до кімнати температура при перемішуванні. Щоб видалити невеликі олігомери, непрореаговані мономери, а також мікротелі без золота, суміш розводили водою (15 мл), центрифугували (30 хв при 4000 об / хв) і повторно розводили у воді.

2. Другий спосіб полімеризації NIPAM, запропонований групою Фу [31], полягає в додаванні калію персульфату (KPS) як ініціатору до суміші мономерів. Під дією тривалого механічного розмішування при 150-200 об/хв реакцію продовжували протягом 4 год при 70°C. За класичний протоколом для приготування магнітних мікросфер, покритих pNIPAM потрібно змішати: 2 г дрібнодисперсних магнітних наночастинок (2 мас. %), 2 г водного NIPAM (2 мас. %), 3 г водного MVA (0,2 мас. %), 2,5 г

водного KPS (0,2 мас. %) і 40 г двічі дистильованої води. Отримані наносфери кілька разів треба промити двічі дистильованою водою.

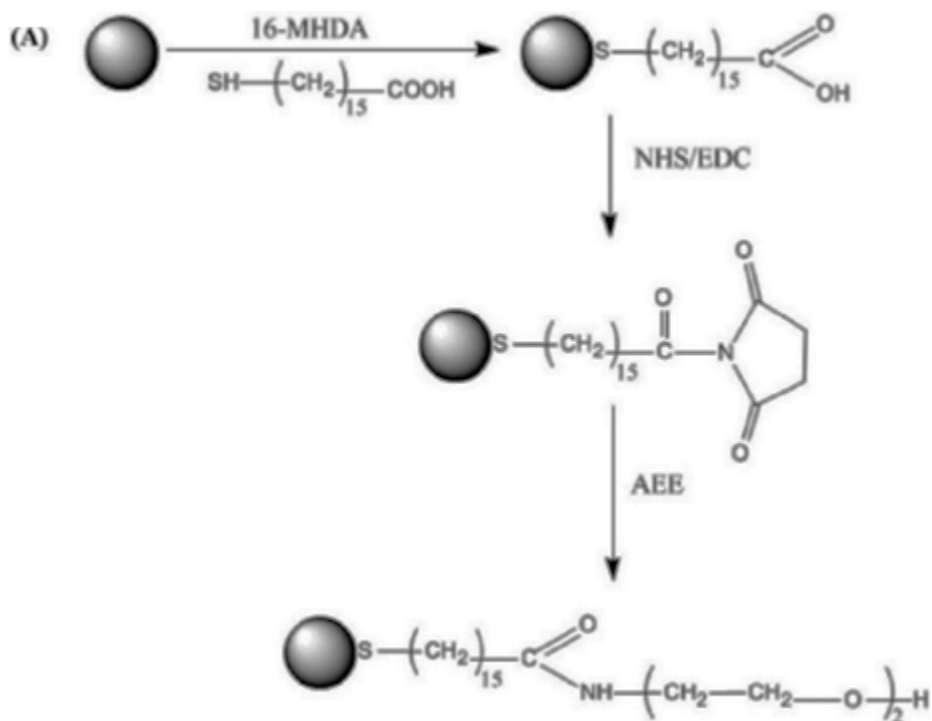
3. За методом Сайна і Ліона [32], золоті наночастинки розмішували з  $\text{NH}_2$ - pNIPAm протягом ночі для їх адсорбції на поверхні наночастинок відфільтрований мембрану з діаметром пор 0,2 мкм водний розчин відповідної кількості мономеру NIPAm, зшивача N, N-метиленбіс (акриламід) (MBA) і 65 мкл 0,1 М водного розчину ПАР, додецилсульфату натрію (SDS), додали до реакційної колби. Через 1 год реакція була ініційований введенням 130 мкл 0,1 М розчину персульфату амонію (APS) і реакційну суміш (загальний об'єм 10 мл) тримали при 70°C протягом 4 год. Комономери акрилової кислоти (AAc) або 4-акриламідо-флуоресцеїн (AFA) додавали безпосередньо перед реакцією ініціації для синтезу pNIPAm-co-AAc або флуоресцентного pNIPAm-co-AFA наногелів. Ці наногелі потім струшували із золотими наночастинами протягом доби для їх адсорбції на поверхні наночастинок. Утворені наногелі із золотою серцевиною мали розмір 100-200 нм.

4. Новий підхід до полімеризації NIPAM запропонували Якубі та Парса [33]. Спочатку 0,2 г карбонових нанотрубок, 0,5 г NIPAAm і 0,03 г N,N'-метиленбіс (акриламід) (MBA) змішували в 120 мл деіонізованої води /DMF (50:50% об/об). Цю суміш поміщали в ультразвукову ванну для диспергування, а потім перемішували в атмосфері азоту протягом ночі при 70°C. Нарешті, в суміш додали 0,02 г KPS як ініціатор полімеризації і проводили реакцію при 70°C при інтенсивному перемішуванні протягом ночі. Кінцевий зразок тричі промивали водою деіонізованою водою. Приготовлений нанокомпозит карбонова нанотрубка-pNIPAM отримували після висушування у вакуумній печі при 65°C.

5. Ще один метод контрольованої полімеризації, вартий уваги – це поверхнево-ініційована радикальна полімеризація з переносом атома (SI-ATRP). Наприклад, група Чакрабарті [34] прикріпила PNIPAM до золотих

наночастинок за допомогою цього метода полімеризації у водному розчині за кімнатної температури, використовуючи 2-бромпропіонілбромід (2-brp) як ініціатор.

На першому етапі представленої полімеризації 2-(2-аміноетокси)етанол (АЕЕ) з'єднали з функціоналізованими карбоксилатами наночастинок золота, використовуючи N-(3-диметиламінопропіл)-N'-етилкарбодіімід гідрохлорид/N-гідроксисукцинімід (EDC/NHS), в результаті чого кінцева група стала гідроксильною (Рис. 1.4.2. А). На другому етапі наночастинок золота з гідроксильним кінцем вступили в реакцію з ініціатором 2-brp у присутності тетрагідрофурану/триетиламіну (ТГФ/ТЕА) (Рис. 1.4.2.Б). Нарешті, до модифікованих ініціатором наночастинок додали N-ізопропілакриламід (NIPAM) і полімеризували в присутності каталітичного комплексу ( $\text{CuI}/\text{Cu}^{\text{II}}\text{Br}_2/2,2'$ -біпіридил (bpy)) для утворення наночастинок, зчеплених з PNIPAM (Рис. 1.4.2.В) [35].



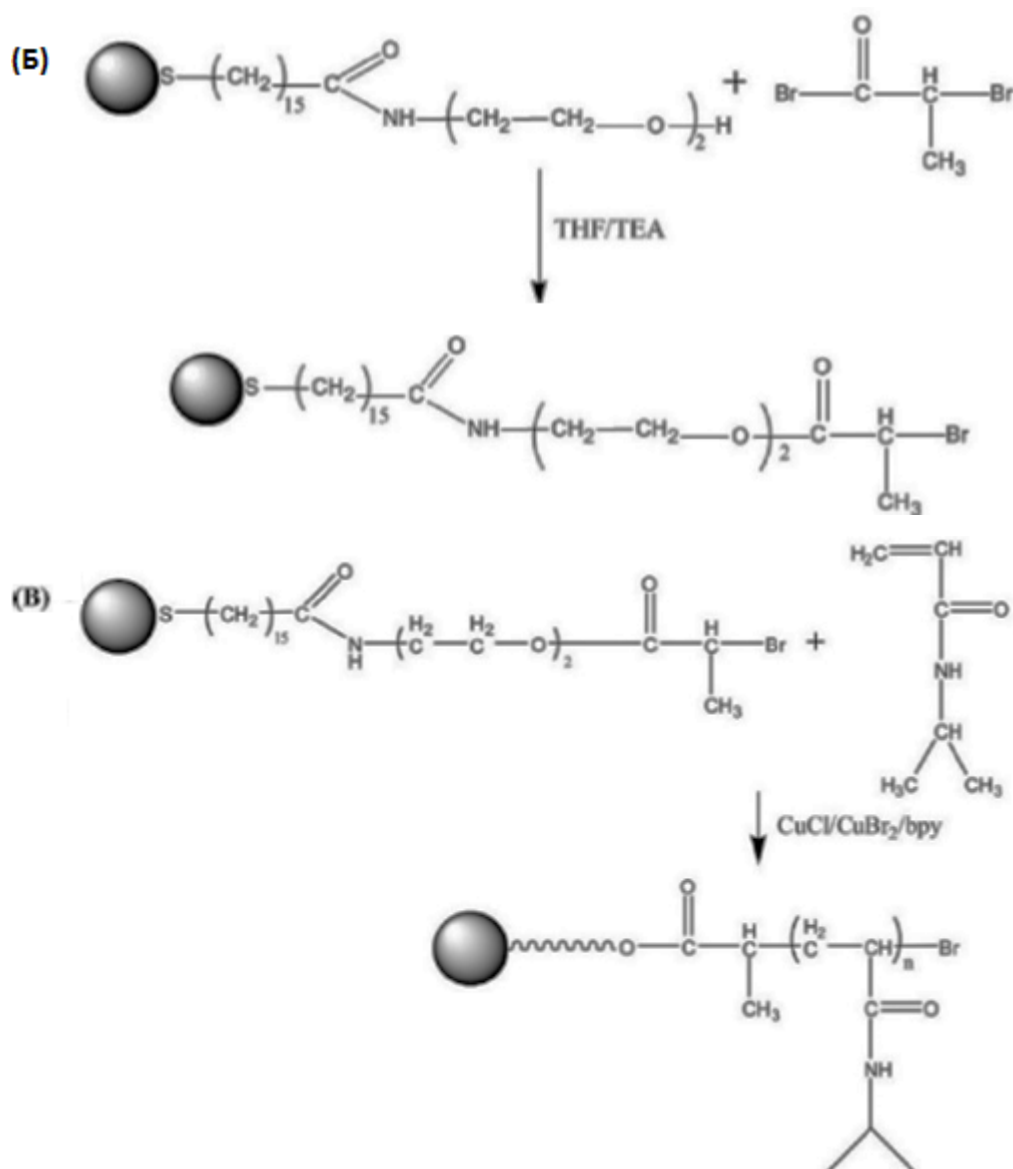


Рис. 1.4.2. Схематична ілюстрація модифікації поверхні наночастинок золота. (А) - Приєднання АЕЕ до функціоналізованих наночастинок золота, що призводить до утворення гідроксильної групи на кінці. (Б) - Приготування ініціатора на основі наночастинок золота. (В) - Полімеризація NIPAM на золотих наночастинках за допомогою SI-ATRP)

[35].

## 2. Методика

### 2.1. Синтез наноболонок золота

Для синтезу наноболонок золота використовується метод Прево [36], в основі якого лежить реакція гальванічного заміщення срібла золотом з використанням як шаблонів твердих наночастинок срібла в колоїдному розчині. Підхід складається з трьох стадій: синтез зародкових наночастинок срібла, збільшення їх розміру за рахунок росту та реакція гальванічного заміщення срібла золотом. На першій стадії зародкові наночастинки срібла утворювались відновленням 0,2 мМ водного розчину нітрату срібла (100 мл) при додаванні 100 мМ розчину боргідриду натрію (2 мл) в присутності 0,5 мМ цитрату натрію як стабілізатора. Реакція відбувалася протягом щонайменше 2-х годин при постійній температурі 60°C і перемішуванні за допомогою магнітної мішалки. Отриманий розчин набував жовтого кольору, що вказувало на утворення дрібних срібних наночастинок, які є переважно сферичними.

Після охолодження розчину зародкових наночастинок срібла до кімнатної температури починалася друга стадія синтезу - ріст зародкових наночастинок срібла. Для цього до приготовленого на першій стадії розчину, який постійно перемішували, додавався 200 мМ водний розчин гідроксиламіну гідрохлориду (2 мл). Через 5 хв необхідний об'єм 0,1 М водного розчину нітрату срібла додавався для отримання кінцевої концентрації срібла в розчині, що дорівнює 0,5 мМ. Таким чином, під дією м'якого відновника гідроксиламіну гідрохлориду відбулося корегування розміру срібних наночастинок. А більша кінцева концентрація срібла в розчині дає можливість отримати наночастинки срібла з більшим діаметром із зародкових наночастинок срібла з мінімальним утворенням нових наночастинок. Суміш перемішувалась магнітною мішалкою не менше 2-х годин. В результаті розчин поступово набував насиченого жовтого кольору.

На третій фазі синтезу отриманий колоїдний розчин наночастинок срібла піддавався реакції гальванічного заміщення срібла золотом. Для цього розчин наночастинок срібла нагрівався до постійної температури 60°C при перемішуванні за допомогою магнітної мішалки. Тоді, певну кількість 25 мМ водного розчину хлораурової кислоти було додано для досягнення мольного співвідношення Au : Ag у розчині як 1: 3. Протягом декількох десятків секунд колір розчину змінювався від жовтого до фіолетово-синього, що відповідає реакції гальванічного заміщення з поступовим розчиненням наночастинок срібла та утворенням на їх поверхні тонкого золотого покриття.

Після встановлення стійкого забарвлення повне зникнення піку LSPR наночастинок срібла у спектрі екстинкції світла було досягнуте титруванням 25 мМ водного розчину хлораурової кислоти. Потім колоїдний розчин порожнистих нанооболонок золота охолоджувався до кімнатної температури при постійному перемішуванні протягом 1 години і зберігали в холодильнику для подальшого використання.

## **2.2. Синтез термочутливого полімеру**

Для створення нового методу синтезу термочутливого полімеру рNIPAM за основу був взятий розроблений в Університеті Лестера (Англія) протокол синтезу кополімеру ААм-МВА для молекулярного імпринтингу. В ньому акриламід (ААм) складає основу полімеру, N,N'-метиленбіс (акриламід) (МВА) відіграє роль зшивача, а також присутній N-(3-амінопропіл) метакриламід гідрохлорид, який в молекулярному імпринтингу відповідає за молекулярний відбиток, тобто за специфічність до молекули-шаблону [19,20]. В цьому методі золоті наночипи спочатку модифікують ініфертером (3-меркаптопропіл диетилкарбамоциат) в 1-пропанолі, а вже після того до нього додають суміш мономерів у воді з подальшою їх полімеризацією під дією ультрафіолетового світла, яке виступає як ініціатор реакції.

В даній роботі використання ініфертера відбувається за оригінальним протоколом для молекулярного імпринтингу шляхом отримання насиченого розчину в 1-пропанолі. Для надійного зберігання його поміщають в холодильник в закритому флаконі, обгорнутому фольгою для запобігання потрапляння світла. Мономери з первинного протоколу замінили на NIPAM, а наночипи на наноболонки.

Дотримуючись протоколу молекулярного імпринтингу, полімеризація NIPAM в деіонізованій воді та в розчині наноболонки золота проводилась фотохімічним шляхом за допомогою опромінення ультрафіолетом протягом одної та двох годин, а при синтезі зародкових наночастинок срібла – при нагріванні до 60°C, відповідно до протоколу першого етапу синтезу золотих наноболонки. Схема цієї RAFT полімеризації наведена на рис. 2.2.

Детальніші методи проведення реакцій полімеризації далі описані в розділі 3 відповідно до кожного досліді.

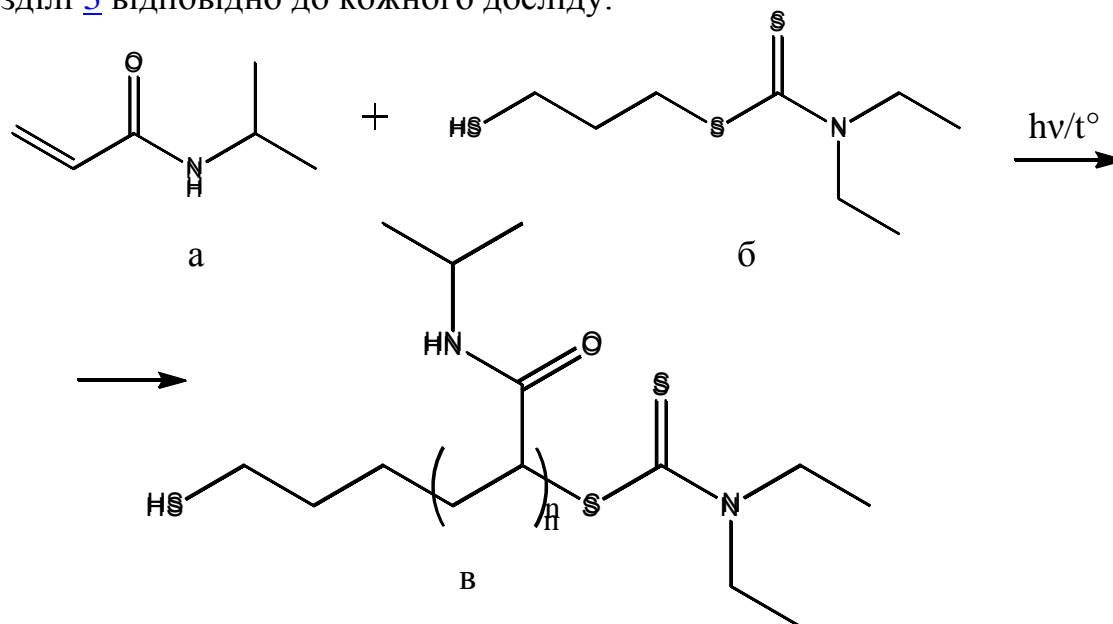


Рис. 2.2. Схема синтезу полі-(N-ізопропіл акриламід) (pNIPAM) методом RAFT полімеризації під дією ультрафіолету або температури.  
(а) – NIPAM, (б) – ініфертер, (в) – pNIPAM.

### **2.3. Спектрофотометричні вимірювання**

Вимірювання екстинкції світла проводилось за допомогою спектрофотометра з подвійним променем SpectroQuest 4802 (Unico, США) у спектральному діапазоні 350–900 нм з кроком в 1 нм в скляних, кварцевих та пластикових кюветах з деіонізованою водою як розчинником і як еталонним зразком і так само з 1-пропанолом в досліді з чистим ініфертером.

## **3. Результати**

### **3.1. Досліди з NIPAM та ініфертером у дистильованій воді**

#### **3.1.1. Дослідження спектрів мономера та ініфертера**

Спочатку були проведені досліді з визначення спектрів поглинання чистого мономера NIPAM та ініфертера, щоб виявити чи дають вони піки і в якій області.

NIPAM було розчинено у воді з концентраціями 60 та 100 мг/мл і знято їхні спектри екстинкції, порівнюючи з еталоном – дистильованою водою. Як видно з графіку на рис. 3.1.1.a мономер поглинає світло в області довжини хвилі 450 нм і, чим більша концентрація мономера, тим інтенсивність піку поглинання більша.

Схожа ситуація спостерігається і для ініфертера (Рис. 3.1.1.б): він також поглинає світло в області довжини хвилі 450 нм. Так як ця речовина у воді погано розчинна, то її насичений розчин в 1-пропанолі було розчинено в 2-пропанолі (ізопропанолі), який у цьому досліді використовується як еталон для порівняння спектрів.

Всі подальші досліді проводились в деіонізованій воді, тільки ініфертер було розчинено в 1-пропанолі для отримання насиченого розчину.

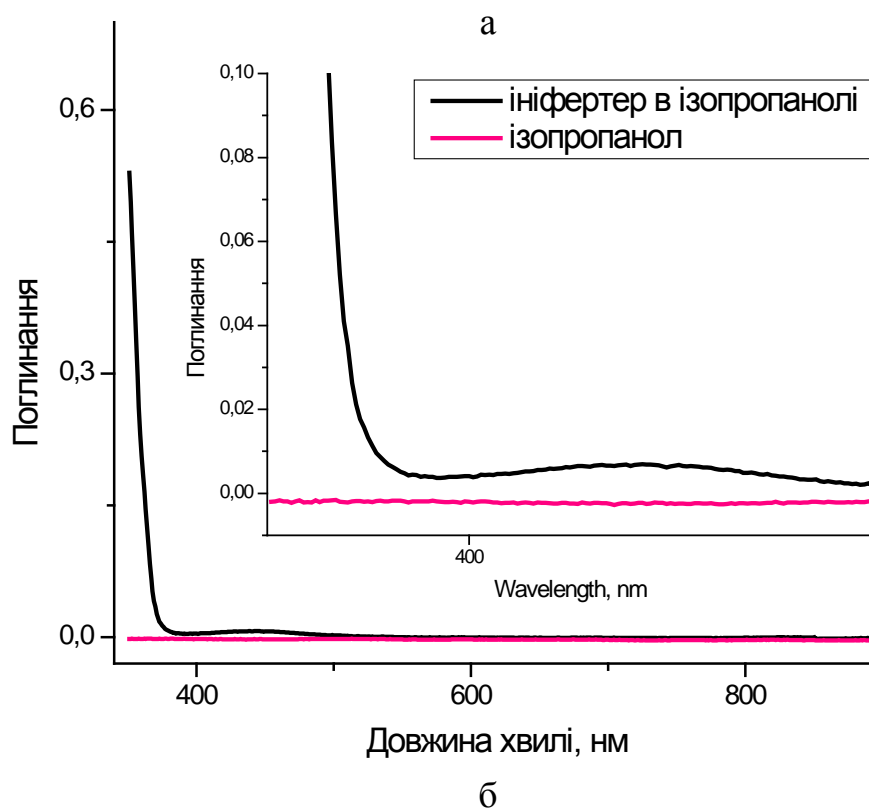
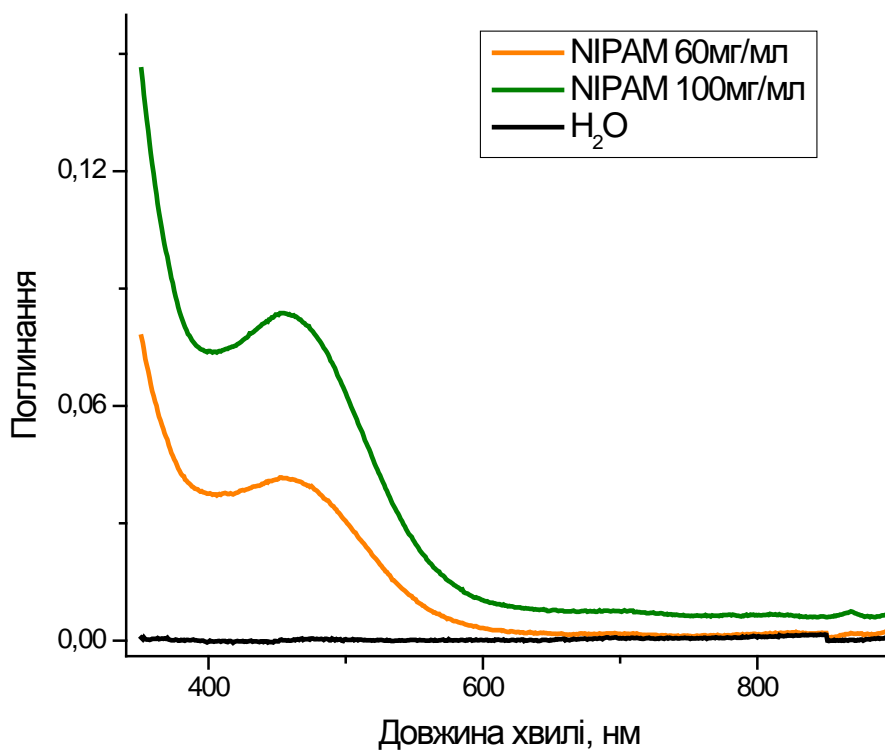


Рис. 3.1.1. Спектри екстинкції чистого мономера NIPAM різної концентрації (а) та ініфертера (б). Вставка – збільшення області поглинання.

### 3.1.2. Полімеризація під ультрафіолетом

Далі було проведено дослідження процесу полімеризації NIPAM з різними концентраціями ініфертера і мономера, а також різним часом витримки під ультрафіолетом.

Для першого досліду було приготовлено три розчини мономера з концентрацією 53.3 мг/мл кожний і додано в один з них 3.78 мкл насиченого розчину ініфертера, а в інші два по 1.26 мкл. На рис. 3.1.2.1 видно, що після додавання меншої концентрації ініфертера інтенсивність піків підвищилась з 0.1 до 0.15, а при додаванні втричі більшої концентрації підвищилась аж до 0.6, причому в останньому пік став менш вираженим. Після опромінення розчину ультрафіолетом протягом одної та двох годин у зразків з меншою концентрацією ініфертера піки зникають, а замість них спостерігається плавне експоненційне зростання інтенсивності навіть після 450 нм в бік зменшення довжини хвилі, причому з часом ця різниця стає суттєвішою, що свідчить про утворення полімеру та про присутність молекул мономерів, які не прореагували. У розчину з більшою концентрацією ініфертера після полімеризації пік в області 450 нм згладжується, а збільшення загальної інтенсивності не спостерігається, що може свідчити про те, що весь мономер повністю перетворився в полімер через збільшення кількості активних центрів і таким чином відбулось прискорення реакції.

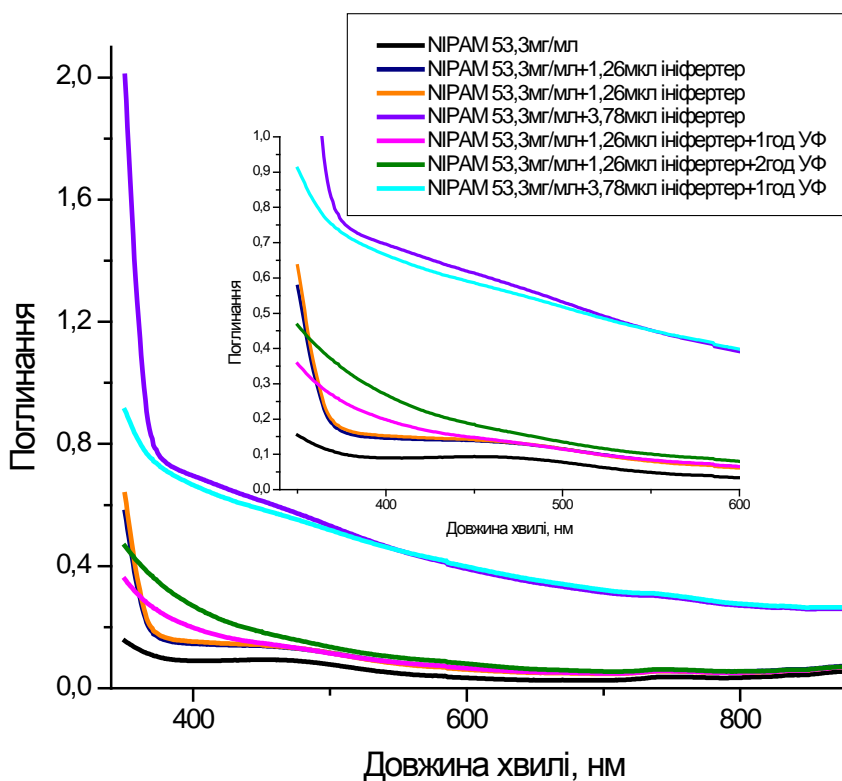
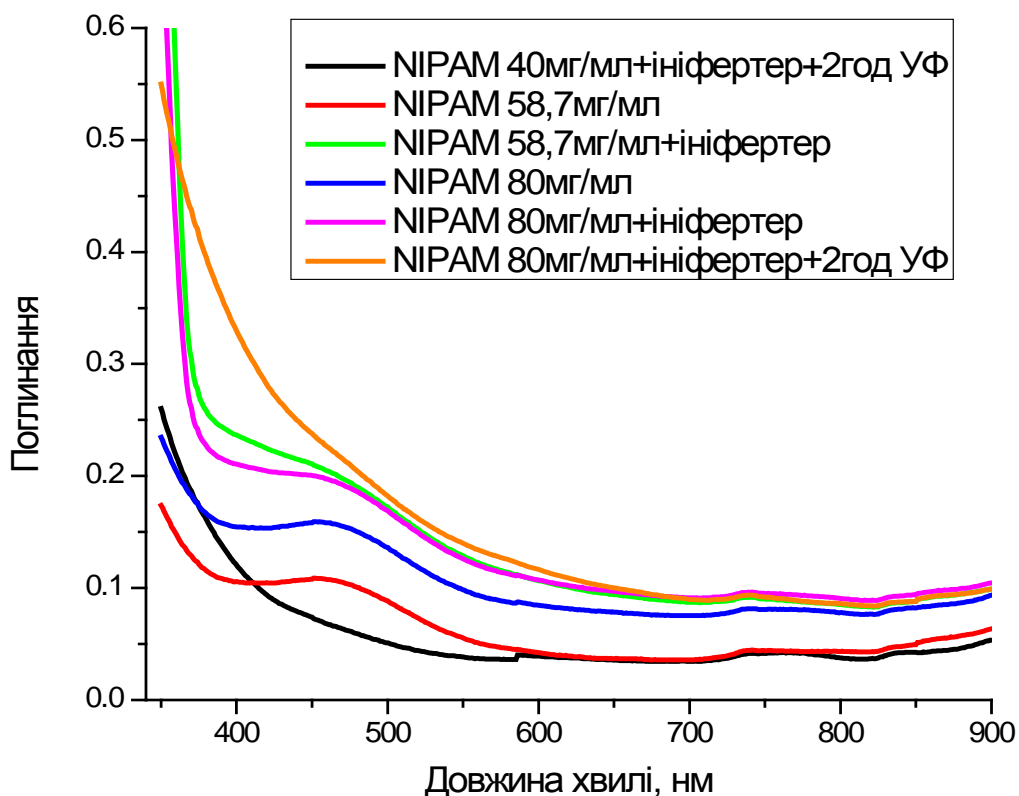


Рис. 3.1.2.1. Спектри екстинкції розчинів мономера з різною концентрацією ініфертера та різним часом витримки під ультрафіолетовим випромінюванням. Вставка – збільшення області поглинання.

Для другого дослідю було приготовлено два розчини NIPAM з концентраціями 58.7 і 80 мг/мл. На рис. 3.1.2.2 яскраво видно, що чим більша концентрація мономера, тим більша загальна інтенсивність поглинання світла по всій довжині спектра. Після додавання 1.26 мкл ініфертера в кожен зразок інтенсивність піків в області 450 нм в обох помітно збільшилась, причому у зразку з більшою концентрацією NIPAM характер піку зберігся, в той час як в іншого пік нівелювався, але різниця між інтенсивностями поглинання значно менша, ніж була до додавання ініфертера, що означає, що на інтенсивність піка в основному впливає саме ініфертер, причому чим менша концентрація мономера відносно ініфертера, тим більше нівелюється пік, що й було помічено раніше на рис. 3.1.2.1.

Після опроміненні розчинів ультрафіолетом протягом двох годин піки на кривих в області 450 нм зовсім зникають і крива перетворюється

на експоненційну, що свідчить про утворення полімеру. Для порівняння було взято також розчин з концентрацією NIPAM 40 мг/мл після двох годин опромінення ультрафіолетом, щоб переконатись, що чим більша початкова концентрація мономеру, тим загальна інтенсивність кривої більша. Відсутність та розділення певних спектрів на різні графіки пов'язана зі збоями спектрофотометра.



а

Рис. 3.1.2.2.

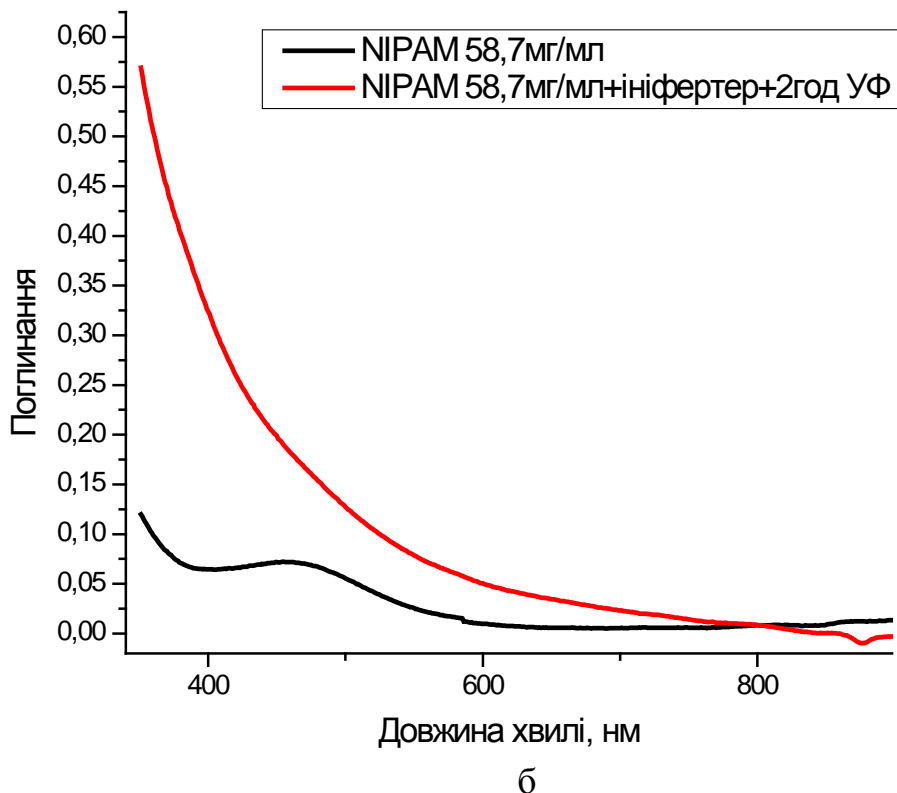
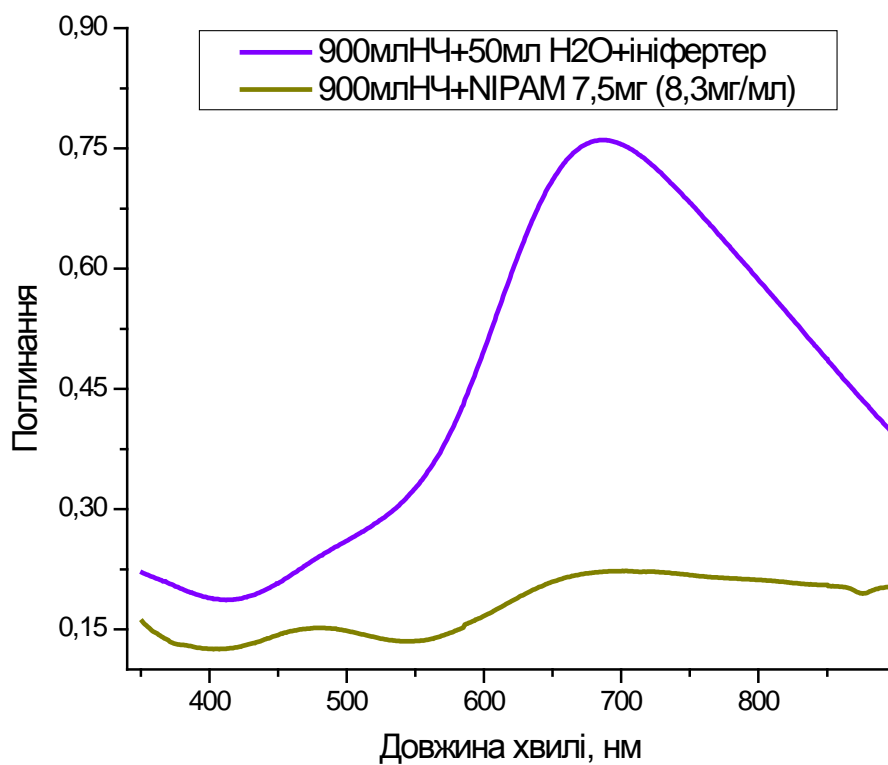


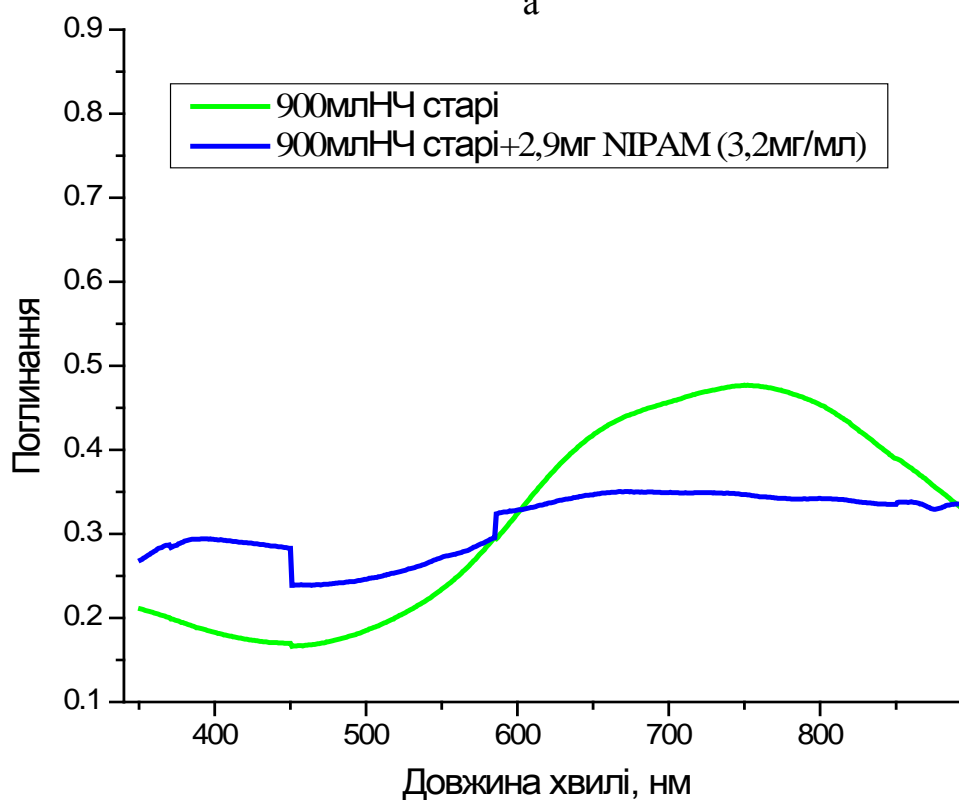
Рис. 3.1.2.2. Спектри екстинкції розчинів з різною концентрацією мономера NIPAM до і після додавання ініфертера та до і після опромінення ультрафіолетом.

### 3.2. Досліди з наноболонками золота з цитратним покриттям

В дослідях з наноболонками золота, які поглинають світло в області довжини хвилі 700 нм, були використані два підходи додавання мономера до їх розчину: попередньо розчиненими у воді та у вигляді порошку (Рис. 3.2.1). Але при додаванні NIPAM у вигляді розчину концентрація наночастинок зменшувалась, через що й інтенсивність піків також зменшувалась.



а

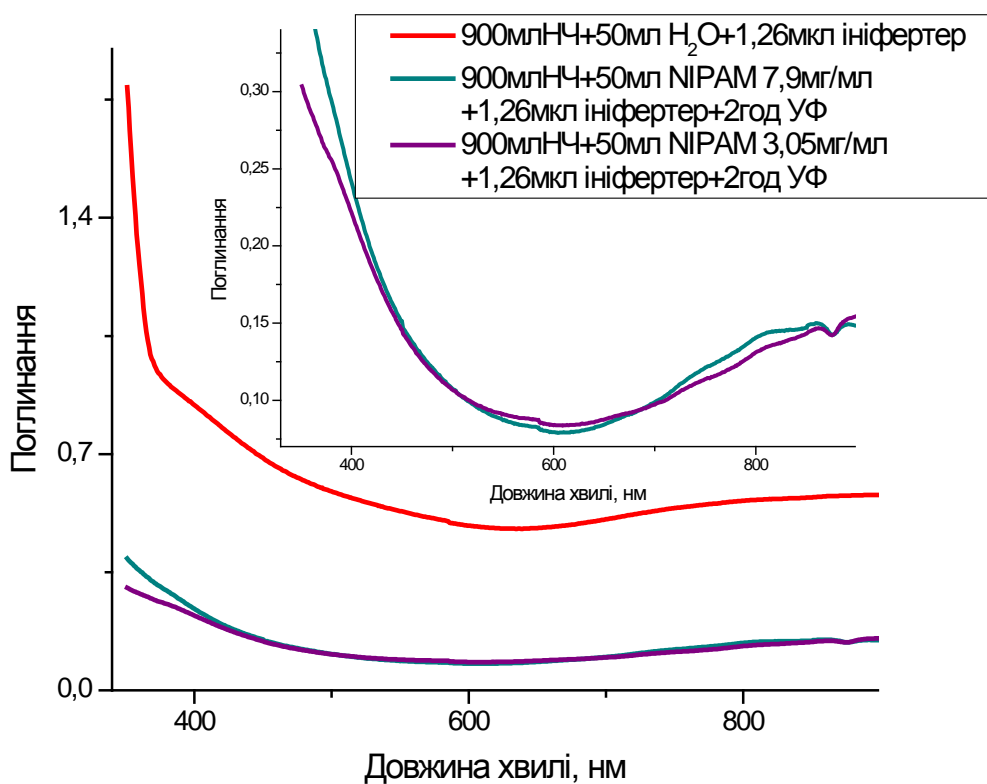


б

Рис. 3.2.1. Спектри екстинкції розчинів наночастинок додавання мономера у вигляді порошку: свіжі (а) і старі (б) наночастинок.

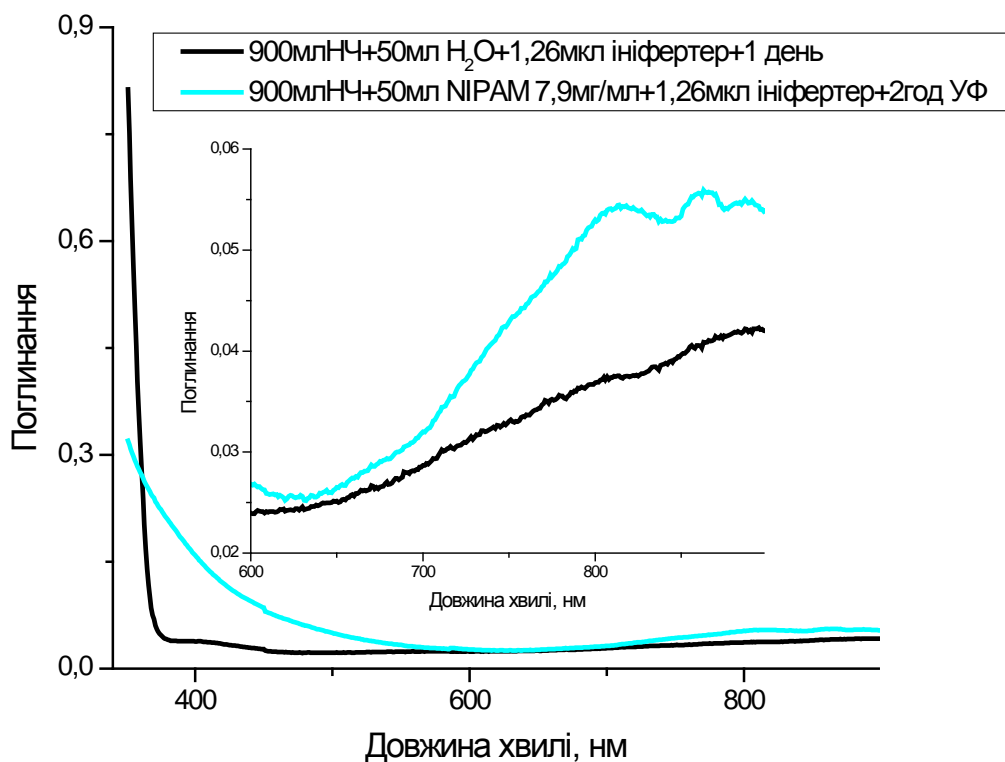
З рис. 3.2.1.a видно, що при додаванні мономера до розчину наноболонок у вигляді порошку і сильному перемішуванні вортексом для повного розчинення, наночастинки агрегували, про що свідчить різке зменшення інтенсивності піків в області 700 нм від 0.75 аж до 0.2. Також це візуально підтверджувалось знебарвленням розчину. У зв'язку з цим, для другої спроби були взяті старі трохи агреговані наноболонки, пік яких зміщений до 750 нм, і перемішування проводилось акуратно шпателем, при цьому вони вже агрегували значно менше, про що свідчить менша різниця інтенсивності піків на рис. 3.2.1.б. (Різкі стрибки на спектрі пов'язані зі збоями спектрофотометра під час знімання спектру).

Для досліду з полімеризацією NIPAM на поверхні наноболонок золота було взято 900 мл цих наночастинок та додано 50 мл розчину мономера з різними кінцевими концентраціями і 1,26 мкл ініфертера з подальшим опроміненням протягом двох годин.



а

Рис. 3.2.2.



б

Рис. 3.2.2. Спектри екстинкції розчинів наночастинок з різною концентрацією мономера NIPAM після опромінення ультрафіолетом.

З рис. 3.2.2.а видно, що після додавання розчину мономера і опромінення ультрафіолетом загальна інтенсивність спектрів суттєво знизилась, причому лінії спектрів майже накладаються для різних концентрацій NIPAM. Незначна різниця спостерігається лише в області 350-430нм, де спектр екстинкції розчину з більшою концентрацією 7,9 мг/мл має й трохи більшу інтенсивність, ніж у розчину з концентрацію 3,05 мг/мл. Але обидва розчини наночастинок все одно агрегували, про що свідчить зміщення піку поглинання наноболонок з 700 нм до 850 нм і зменшення загальної інтенсивності спектрів, порівняно зі спектром без мономера до опромінення ультрафіолетом. При цьому зі спектру видно, що наночастинок в розчині без мономера також агрегували, бо їх пік поглинання світла змістився до 850 нм.

Розчин без мономера ще раз було порівняно з розчином з мономером через добу. З рис. 3.2.2.б видно, що загальна інтенсивність

спектру, першого суттєво знизилась і пік з 700 нм також змістився до 850 нм, що нашоувхнуло на думку, що наночастинки агрегують саме через ініфертер. Для перевірки цього твердження було приготовлено ще один розчин з майже вдвічі меншою концентрацією ініфертера (0.7 мкл насиченого розчину) і було порівняно з чистим розчином наноболонок. З рис. 73.2.3.а видно, що пік змістився з 700 нм до 850 нм, що означає миттєву агрегацію наночастинок. Через добу і остаточно в цьому переконались, бо навіть загальна інтенсивність спектра знизилась майже до нуля, що видно на рис. 3.2.3.б

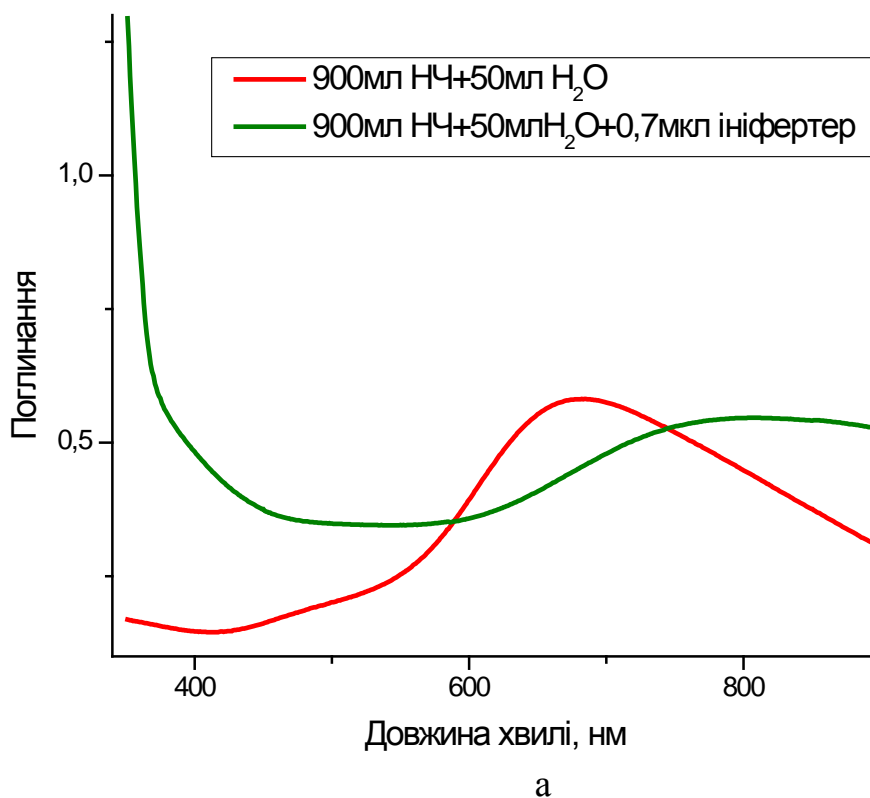
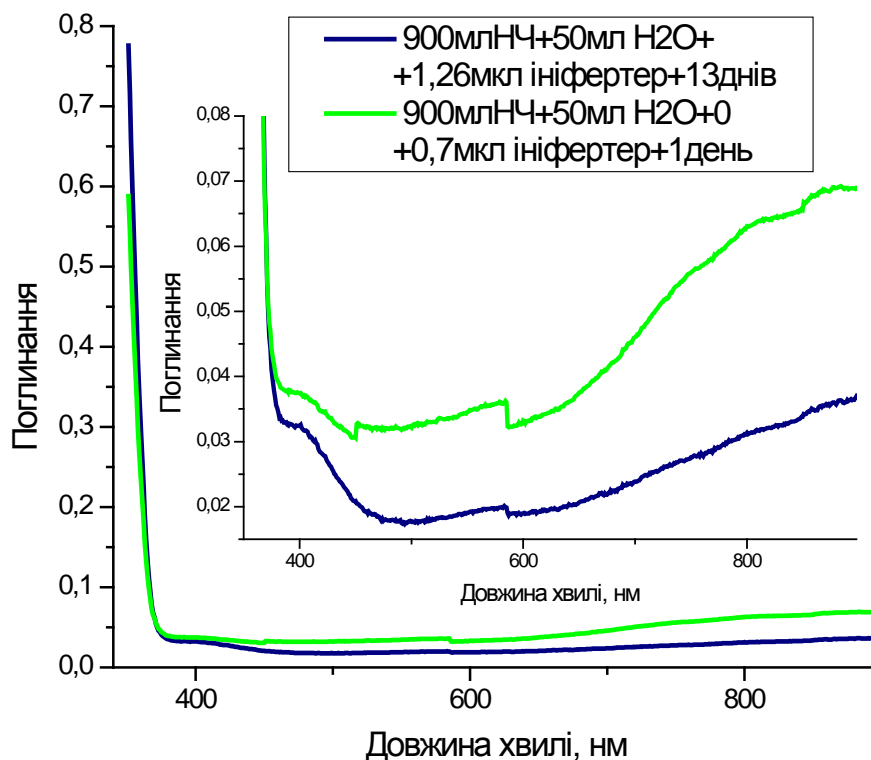


Рис. 3.2.3.



б

Рис. 3.2.3. Спектри екстинкції розчинів наночастинок свіжих та через одну добу з різною концентрацією ініфертера.

## Висновки

1. Чим довше опромінювати ультрафіолетом розчини NIPAM з ініфертером і чим більші концентрації компонентів, тим суттєвіші зміни спектрів і ефективніша полімеризація.
2. При розведенні мономера у вигляді порошку в розчині з нанооболонками при акуратному перемішуванні шпателем, а не вортексом, наночастинок майже не агрегують.
3. Додавання ініфертера до розчину нанооболонки золота призводить до їх агрегації.

### 3.3. Полімеризація з використанням наночастинок срібла

В зв'язку з тим, що після додавання ініфертера до золотих нанооболонок, останні агрегують, було запропоновано додавати ініфертер під час утворення самих наночастинок. Дослідження було розпочато з етапу утворення срібних зародків.

Стандартний протокол включав у себе 0,2 мМ водний розчин нітрату срібла в присутності 0,5 мМ цитрату натрію в якості стабілізатора при нагріві до температури 60°C і додаванні 100 мМ водного розчину боргідриду натрію в якості відновника. Для представлених нижче дослідів цитрат натрію було замінено на розчин NIPAM з вдвічі більшою концентрацією. Для порівняння в один з розчинів було також додатково додано і цитрат натрію.

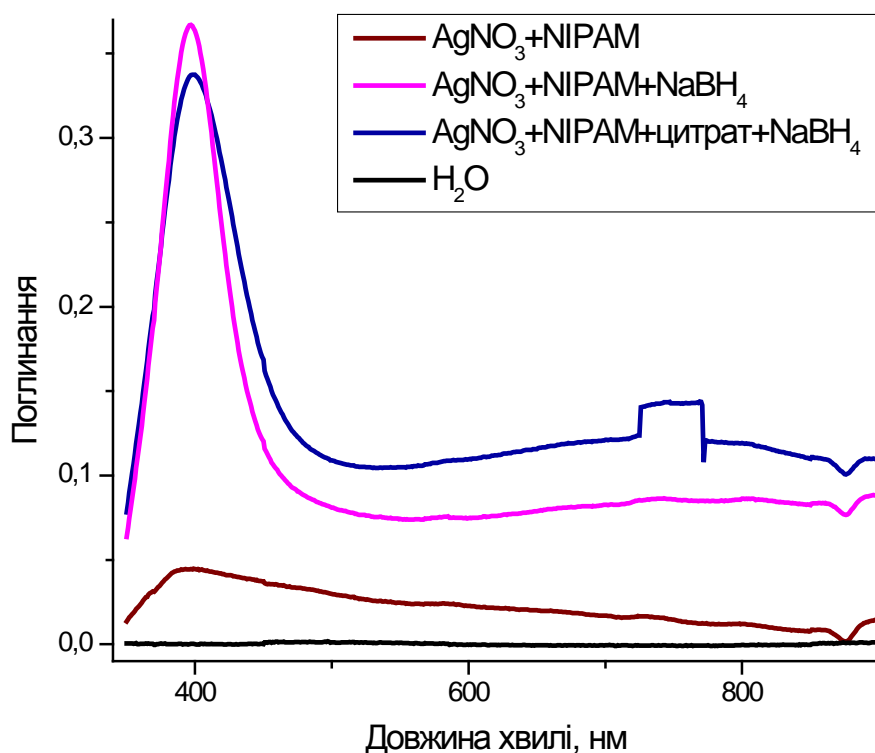


Рис. 3.3.1. Спектри екстинкції розчинів нітрату срібла з та без цитрату до і після додавання боргідриду натрію.

Після додавання розчину мономера до розчину AgNO<sub>3</sub> одразу спостерігалось помутніння з утворенням піку в області 400 нм на рис. 3.3.1 - імовірно, Ag<sup>+</sup> зв'язався з мономерами та невелика частина іонів Ag<sup>+</sup>

відновились, бо в цій області зазвичай цій області зазвичай поглинають наночастинки срібла. Далі цей розчин було розділено на дві частини і в одну з них додано цитрат натрію для додаткової стабілізації, а другу розведено водою для однакової концентрації компонентів в обох розчинах і нагріто до 60°C. Потім в обидва розчини було додано боргідрид натрію, після чого вони почали жовтіти, що свідчило про утворення наночастинок, що підтверджується інтенсивними піками в області 400 нм. Причому пік, що стосується розчину з цитратом, менш інтенсивний, що може свідчити, що цитрат в даному випадку навпаки заважає утворенню наночастинок, а як стабілізатор виступає рNIPAM. (Різкі стрибки на спектрі пов'язані зі збоями спектрофотометра під час знімання спектру).

Для утворення і прив'язування полімеру рNIPAM до наночастинок срібла до розчинів потрібно додати ініфертер (0.7 мкл). Тому його було додано до вже готових наночастинок срібла з мономером, синтезованих в попередньому досліді, а також до розчину нітрату срібла з мономером, обидва при нагріві до 60°C.

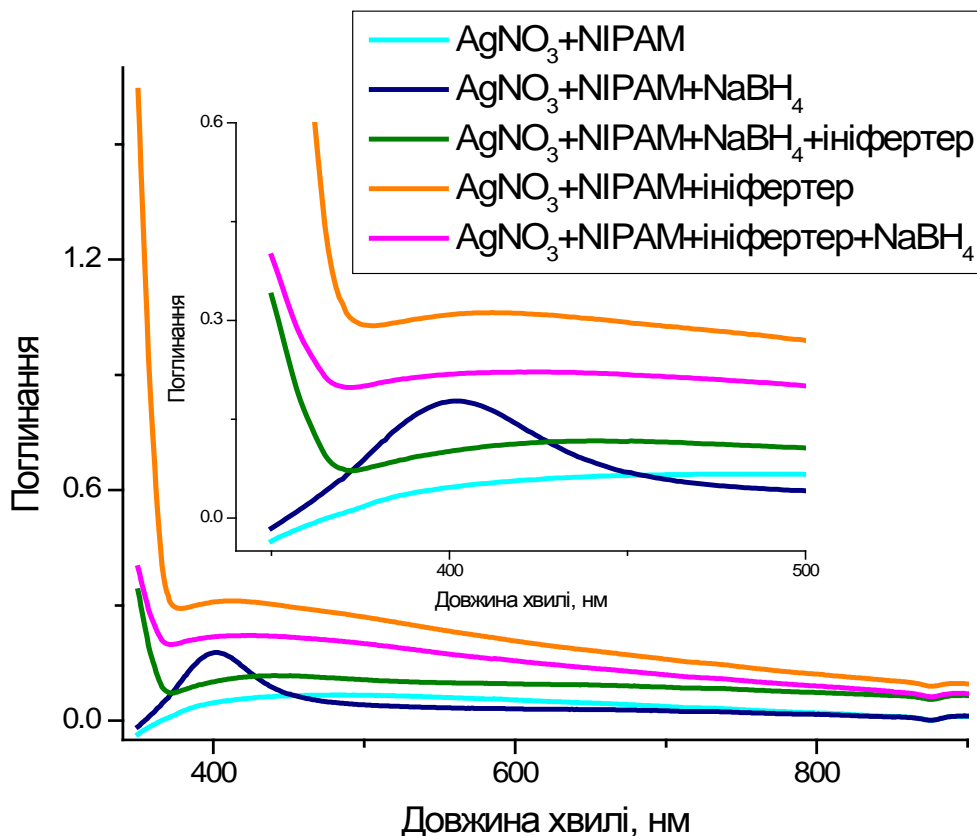


Рис. 3.3.2. Спектри екстинкції розчинів нітрату срібла та наночастинок срібла з NIPAM до та після додавання в них ініфертера.

Як видно з рис. 3.3.2, готові наночастинок після додавання ініфертеру агрегували, бо піки їх поглинання світла значно змістились вправо до 440 нм й інтенсивність суттєво зменшилась, а сам розчин став безбарвним. З нітрату срібла навпаки утворились наночастинок, бо з'явився пік в області 420 нм і розчин став блідо-жовтим. Зміщення піку в цьому випадку можна пояснити збільшенням розмірів зародкових наночастинок за рахунок утворення полімерного шару навколо них. Для додаткового відновлення в останній розчин був доданий також боргідрид натрію, але ні колір розчину, ні характер піку суттєво не змінився, лише зменшилась інтенсивність, що може бути пов'язано з його розведенням при додаванні боргідриду натрію. Значно ширший пік, порівняно з типовими наночастинками, може свідчити про утворення полімеру.

## Загальні висновки

1. Встановлено, що зі збільшенням концентрацій компонентів, зокрема ініфертера, та часом опромінення ультрафіолетом ефективність полімеризації зростає.

2. З'ясовано, що отримання полімерного шару на поверхні наночастинок золота та срібла з цитратним покриттям в більшості випадків приводить до повної або часткової агрегації наночастинок як при проведенні полімеризації з використанням RAFT-агенту (ініфертера).

3. Виявлено, що створення термочутливого полімерного шару одночасно з синтезом зародкових наночастинок срібла без додавання типового відновника – боргідриду натрію, призводить до відновлення іонів срібла та утворення наночастинок з полімерним покриттям.

4. В зв'язку з вищезазначеним висновком запропоновано створення термочутливого полімерного шару одночасно з синтезом наночастинок, що показало позитивний результат на прикладі синтезу наночастинок срібла.

### Список використаної літератури

1. An Introduction to Medicinal Chemistry FIFTH EDITION Graham L. Patrick Oxford University Press 2013 Ст. 121, 525
2. Shin, Woojun, Kyung-Tae Kang and Hongje Jang. "Recent Advances in Nanoparticle Shape and Composition Regulation Based on Galvanic Replacement for Cancer Treatment." (2018).
3. Mustafa S. Yavuz, Yiyun Cheng...Gold nanocages covered by smart polymers for controlled release with near-infrared light // NATURE MATERIALS VOL 8 DECEMBER 2009
4. Трахтенберг І. М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості / І. М. Трахтенберг, Н. М. Дмитруха. – 2013. – №4. – С. 62–74.
5. Lopatynskyi A. M. Solid and hollow gold nanostructures for nanomedicine: comparison of photothermal properties / A. M. Lopatynsyi, Y. O. Malymon, V. I. Chegel. // plasmonics. – 2017.
6. P. V. Demydov, V. K. Lytvyn, A. M. Lopatynskyi, I. I. Hudzenko and V. I. Chegel, "LSPR Tuning by Variable Morphology of Gold Nanoshells," *2021 IEEE 11th International Conference Nanomaterials: Applications & Properties (NAP)*, 2021, pp. 1-3.
7. M. Ogunyankin, J. E. Shin, D. O. Lapotko, V. E. Ferry, J. A. Zasadzinski, Optimizing the NIR Fluence Threshold for Nanobubble Generation by Controlled Synthesis of 10–40 nm Hollow Gold Nanoshells // *Adv. Funct. Mater.* 2018, 28, 1705272
8. Guanyu Hao, Zhi Ping Xu, Li Li Manipulating extracellular tumour pH: an effective target for cancer therapy. *RSC Advances.*, 2018, 8 , 22182 — 22192.
9. Warburg O, Wind F, Negelein E. THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. *J Gen Physiol.* 1927 Mar 7;8(6):519-30.
10. Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* 1986 Dec;46(12 Pt 1):6387-92.

11. Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *J Control Release*. 2001 Jan 29;70(1-2):1-20.
12. Xu ZP, Stevenson GS, Lu CQ, Lu GQ, Bartlett PF, Gray PP. Stable suspension of layered double hydroxide nanoparticles in aqueous solution. *J Am Chem Soc*. 2006 Jan 11;128(1):36-7.
13. Ward, M. A., & Georgiou, T. K. (2011). Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications. *Polymers*, 3(3), 1215–1242.
14. Juillerat-Jeanneret, L. The targeted delivery of cancer drugs across the blood-brain barrier: Chemical modifications of drugs or drug-nanoparticles? *Drug Discov. Today* 2008, 13, 1099-1106.
15. Ganta, S.; Devalapally, H.; Shahiwala, A.; Amiji, M. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery. *J. Control. Release* 2008, 126, 187-204.
16. Hatefi, A.; Amsden, B. Biodegradable injectable *in situ* forming drug delivery systems. *J. Control. Release* 2002, 80, 9-28.
17. Allan S. Hoffman, "Intelligent" Polymers in Medicine and Biotechnology, Artificial Organs, 1995, Volume 19, pp 458–467.
18. Liu, F.; Urban, M.W. Recent advances and challenges in designing stimuli-responsive polymers. *Prog. Polym. Sci.* 2010, 35, 3-23.
19. Karel Solc, Karel Dusek, Ronald Koningsveld, Hugo Berghmans, "Zero and Off-Zero Critical Concentrations in Solutions of Polydisperse Polymers with Very High Molar Masses, Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 1995, Volume 60, pp 1661-1688.
20. Ward, M.A.; Georgiou, T.K. Thermoresponsive terpolymers based on methacrylate monomers: Effect of architecture and composition. *J. Polym. Sci. Part A* 2010, 48, 775-783.
21. Li, W.; Zhang, A.; Schluter, A.D. Thermoresponsive dendronized polymers with tunable lower critical solution temperatures. *Chem. Commun.* 2008, 5523-5525.

22. Liang-chang Dong, Allan S. Hoffman, A novel approach for preparation of pH-sensitive hydrogels for enteric drug delivery, *Journal of Controlled Release*, Volume 15, Issue 2, 1991, Pages 141-152.
23. Chen, G., Hoffman, A. Graft copolymers that exhibit temperature-induced phase transitions over a wide range of pH. *Nature* 373, 49–52 (1995).
24. Hoffman, A. S. Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 43, 3\_12 (2002).
25. Moad, G., Chong, Y. K., Postma, A., Rizzardo, E., & Thang, S. H. (2005). Advances in RAFT polymerization: the synthesis of polymers with defined end-groups. *Polymer*, 46(19), 8458–8468.
26. Jenkins Aubrey, D.; Jones Richard, G.; Moad, G. (2009). "Terminology for reversible-deactivation radical polymerization previously called "controlled" radical or "living" radical polymerization (IUPAC Recommendations 2010)" .*Pure Appl Chem.* 82 (2): 483.
27. Moad, G., Rizzardo, E., & Thang, S. H. (2008). Radical addition–fragmentation chemistry in polymer synthesis. *Polymer*, 49(5), 1079–1131.
28. Abdelhafid Aqila, Hongjin Qiu a, Jean-François Greischb, Robert Jérômea, Edwin De Pauwb, Christine Jérômea Coating of gold nanoparticles by thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide) end-capped by biotin // *Polymer* (2008), vol. 49, iss.5, pp. 1145-1153.
29. Moad, G., Chiefari, J., Chong, Y., Krstina, J., Mayadunne, R.T., Postma, A., Rizzardo, E. and Thang, S.H. (2000), Living free radical polymerization with reversible addition – fragmentation chain transfer (the life of RAFT). *Polym. Int.*, 49: 993-1001.
30. Cristina Fernandez-Lopez, Carlos Perez-Balado, Jorge Perez-Juste, Isabel Pastoriza-Santos, Angel R. de Lera and Luis M. Liz-Marzán A general LbL strategy for the growth of pNIPAM microgels on Au nanoparticles with arbitrary shapes // *Soft Matter*, 2012, 8, 4165–4170.

31. Deng, Y., Yang, W., Wang, C., and Fu, S. (2003) A novel approach for preparation of thermoresponsive polymer magnetic microspheres with core-shell structure. *Adv. Mater.* 15, 1729–1732.
32. Singh, N., and Lyon, L. A. (2007) Au nanoparticle templated synthesis of pNIPAm nanogels. *Chem. Mater.* 19, 719–726.
33. Zeynab Yaghoubi, Jalal Basiri Parsa Preparation of thermo-responsive PNIPAAm-MWCNT membranes and evaluation of its antifouling properties in dairy wastewater *Materials Science & Engineering C* 103 (2019) 109779.
34. Chakraborty, S.; Bishnoi, S.W.; Perez-Luna, V.H. Gold nanoparticles with poly(N-isopropylacrylamide) formed via surface initiated atom transfer free radical polymerization exhibit unusually slow aggregation
35. Flejszar M, Chmielarz P. Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization for the Preparation of Well-Defined Organic–Inorganic Hybrid Nanomaterials. *Materials*. 2019; 12(18):3030.
36. Prevo BG, Esakoff SA, Mikhailovsky A, Zasadzinski JA (2008) Scalable routes to gold nanoshells with tunable sizes and response to near-infrared pulsed-laser irradiation. *Small* 4(8):1183–1195.
37. Vaupel P, Kallinowski F, Okunieff P. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review. *Cancer Res.* 1989 Dec 1;49(23):6449-65. PMID: 2684393.
38. R. Oberhaensli, P. Bore, R. Rampling, D. Hilton-Jones, L. Hands and G. Radda BIOCHEMICAL INVESTIGATION OF HUMAN TUMOURS IN VIVO WITH PHOSPHORUS-31 MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY. *Lancet*, 1986, 328, 8