



Хімічний факультет

Кафедра хімії високомолекулярних сполук

Кваліфікаційна робота

Шилової Катерини Олександрівни

## **СИНТЕЗ РЕНТГЕН-ЧУТЛИВИХ НАНОСИСТЕМ НА ОСНОВІ ПОЛІСТИРОЛУ**

на здобуття освітнього ступеня «Бакалавр»

спеціальність 102 «Хімія»

спеціалізація «Хімія високомолекулярних сполук»

галузь знань 10 «Природничі науки»

Науковий керівник:

д. х. н., доц. Вретік Л. О.

Допустити до захисту:

завідувач кафедри, д.х.н., професор

Савченко І. О.

“ \_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2020 р.

**Київ - 2020**

## Зміст

Список умовних скорочень .....	3
Вступ.....	4
Розділ 1. Синтез та застосування золотих наночастинок в медицині (літературний огляд) .....	5
1.1 Методи синтезу наночастинок золота .....	5
1.2 Застосування золотих наночастинок .....	11
Розділ 2. Обговорення експериментальних даних.....	15
Розділ 3. Експериментальна частина.....	29
3.1 Вихідні речовини.....	29
3.1.1 Вихідні речовини, що використовувались без додаткової очистки.....	29
3.1.2 Стирол та методика його очистки .....	29
3.2 Синтез проміжних речовин .....	30
3.2.1 Синтез полістиролу з кінцевими тіольними групами.....	30
3.2.1.1 Синтез полістиролу з кінцевими тіольними групами ( $M_n = 891$ ).....	30
3.2.1.2 Синтез полістиролу з кінцевими тіольними групами ( $M_n = 4563$ ).....	31
3.2.2 Синтез наночастинок золота .....	32
3.2.3 Визначення молекулярної маси зразків полістиролу віскозиметричним методом.....	32
3.3 Трансмісійна електронна мікроскопія.....	34
3.4 Динамічне розсіювання світла .....	35
3.5 Спектроскопічні методи .....	35
Висновки .....	36
Список літератури .....	37

### Список умовних скорочень

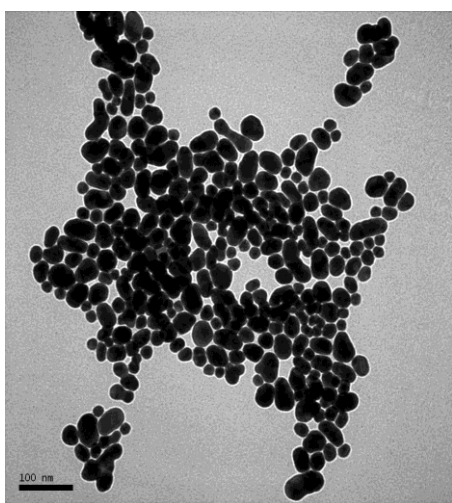
1. RAFT-агент – етил-2-(фенілкарбонотіолтіо)-2-фенілацетат;
2. АІВН – азобісізобутиронітрил;
3. ДСР – динамічне світлорозсіювання;
4. НС – наносистема;
5. НЧ або *англ* Np – наночастинки;
6. ПЕЕЗ – перенесення енергії електронного збудження;
7. ПС або PS *англ* – полістирол;
8. ПС-SH – полістирол з кінцевими тіольними групами;
9. ТГФ – тетрагідрофуран;
10. ТЕМ – трансмісійна електронна мікроскопія;
11. ФА або РА *англ* – фотоакустика
12. ФДТ або PDT *англ* – фотодинамічна терапія
13. ФС – фотосенсибілізатор.

## Вступ

Фотодинамічна терапія (ФДТ або *англ* – PDT) як метод лікування раку інтенсивно розвивається останні кілька десятиріч. Головною його перевагою є нешкідливість для неракових тканин. Суть метода полягає в тому, що в організм вводять фотосенсибілізатор (ФС), молекули якого накопичуються в пухлинній тканині. Місце накопичення опромінюється світлом при довжині хвилі поглинання ФС, який, в свою чергу, генерує синглетний кисень, токсичний для пухлини. Для збільшення глибини проникнення опромінення запропоновано рентген-ДТ, яка використовує рентгенівське опромінення для продукування синглетного кисню.

В нашій роботі ми створили нову наносистему для рентгенівської ДТ, що складається з трьох основних компонентів: (1) наночастинок золота, (2) органічної матриці (полістирол) та (3) фотосенсибілізатора (хлорин еб). Комбінація трьох згаданих компонентів важлива для отримання нанорозмірних агентів для ефективної терапії.

В роботі синтезовано полістирол-стабілізовані наночастинки золота. Нами використано для приготування полістиролу з кінцевими SH-групами метод RAFT-полімеризації стиролу в масі з використанням тіокарбонілтіосполук в якості агентів перенесення ланцюга. Золоті наночастинки синтезували у воді цитратним методом, морфологію синтезованих НЧ вивчали за допомогою ТЕМ-спектроскопії (Рис.1).



Далі було отримано наносистеми, що містять згадані наночастинки золота, полістирол та фотосенсибілізатор хлорин-еб інкапсуляцією в міцели DSPE-PEG2000. Показано, що електронне перенесення енергії збудження існує в отриманих наносистемах між ланцюгами полістиролу та фотосенсибілізатором хлорином-еб.

**Рис. 1.** ТЕМ зображення Au-ПС наночастинок

## **Розділ 1. Синтез та застосування золотих наночастинок в медицині (літературний огляд).**

### **1.1 Методи синтезу наночастинок золота**

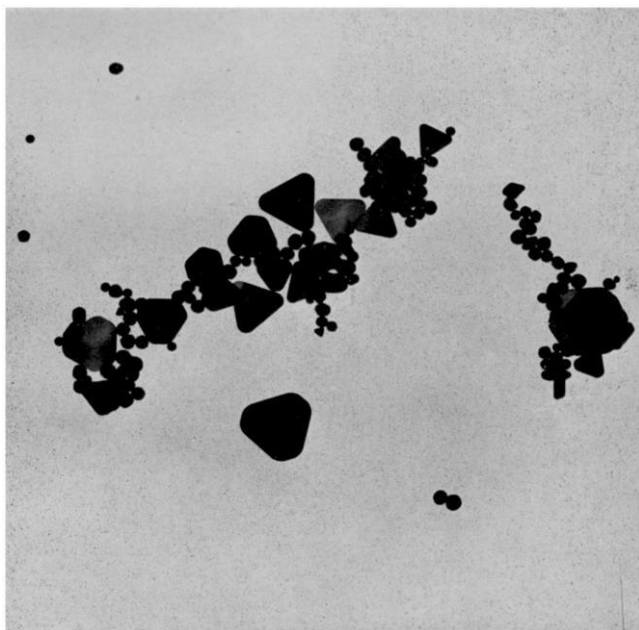
Металічні наноструктури на даний час знаходять використання в широкому спектрі застосувань завдяки своїм видатним оптичним, електричним та каталітичним властивостям. Серед цих структур золото, срібло та магнітні наночастинок особливо добре вивчені та вже показали перспективність для використання у медичній діагностиці та лікуванні. Однак, на практичне використання металічних наночастинок сильно впливає їх чутливість до факторів навколишнього середовища, таких як склад розчинника, концентрація солі та температура. Таким чином, існує постійна потреба у надійних методах модифікації та передачі металевих частинок з покращеною спорідненістю розчинника, стійкістю до агрегації та адаптивної функціональності. Це зазвичай досягається шляхом отримання композитних наночастинок, які поєднують в собі металічні та неметалічні (наприклад, полімерні) компоненти [1].

Золоті наночастинок виявляють широкий спектр корисних властивостей, які суттєво відрізняються від властивостей золота великих розмірів. Наприклад, залежно від їх точного розміру, вони можуть виявляти сильну смугу поглинання у видимій області, посилене поверхневим розсіюванням (СЕРС) адсорбованих молекул, каталітичну поведінку, гасіння проксимальних фторофорів (<5 нм від поверхні) та / або посилену флуоресценцію хромофорів на відстані > 10 нм. Ці властивості роблять золоті наночастинок потенційно корисними для широкого спектру застосувань - від фотонних приладів, біосенсорів та нанореакторів до пристроїв легкого збирання. Розмір, форма та ступінь агрегації золотих наночастинок суттєво впливають на характер перелічених вище властивостей. Однак якщо їх нестабілізувати, наночастинок золота можуть легко агрегуватися до такої міри, що ці властивості втрачаються [2].

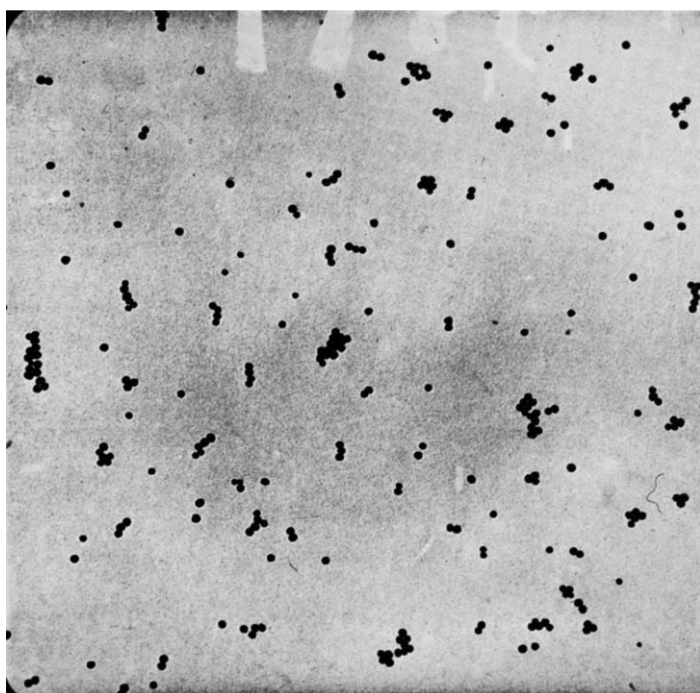
Найкраще систематизовано перші роботи із синтезу нанорозмірних частинок золота у роботі Туркевича та інших, 1951р. [3]. В даній статті наводиться декілька підходів для синтезу золотих наночастинок. Наприклад, описано синтез золя Бредіга, золя Фарадея, синтез золя в ацетоні, оксалатний метод синтезу золотих наночастинок, гідроксиламінний метод, метод Донау, ацетиленовий метод, синтез наночастинок золота з використанням лимонної кислоти і з використанням цитрату натрію. Але НЧ золота, синтезовані цими методами, були різного розміру і форми в залежності від того, в якому середовищі і з яким відновником вони синтезуються.



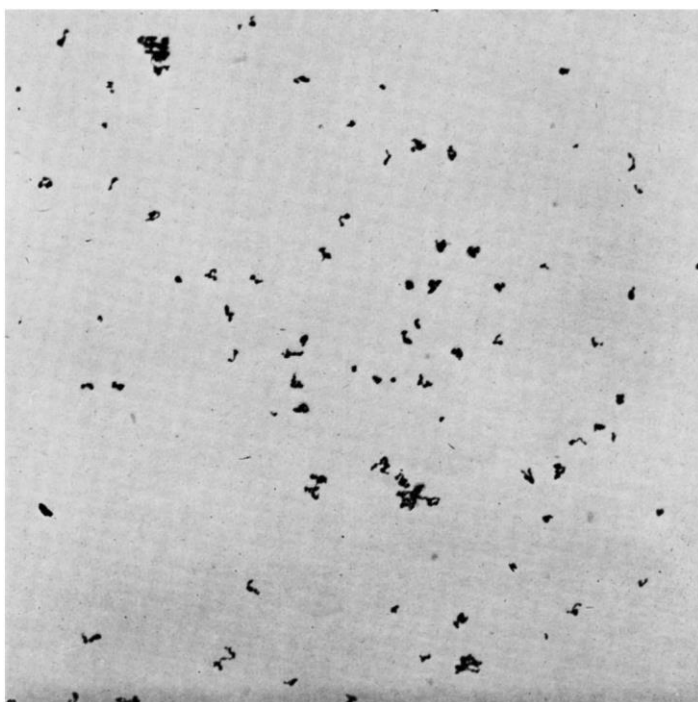
**Рис. 2.** Електронна мікрофотографія золотого золю, одержаного відновленням монооксиду карбону, збільшення 50000.



**Рис. 3.** Електронна мікрофотографія золотого золю, одержаного відновленням лимонної кислоти, збільшення 50000.



**Рис. 4.** Електронна мікрофотографія золотого золю, одержаного відновленням цитрату натрію, збільшення 50000.



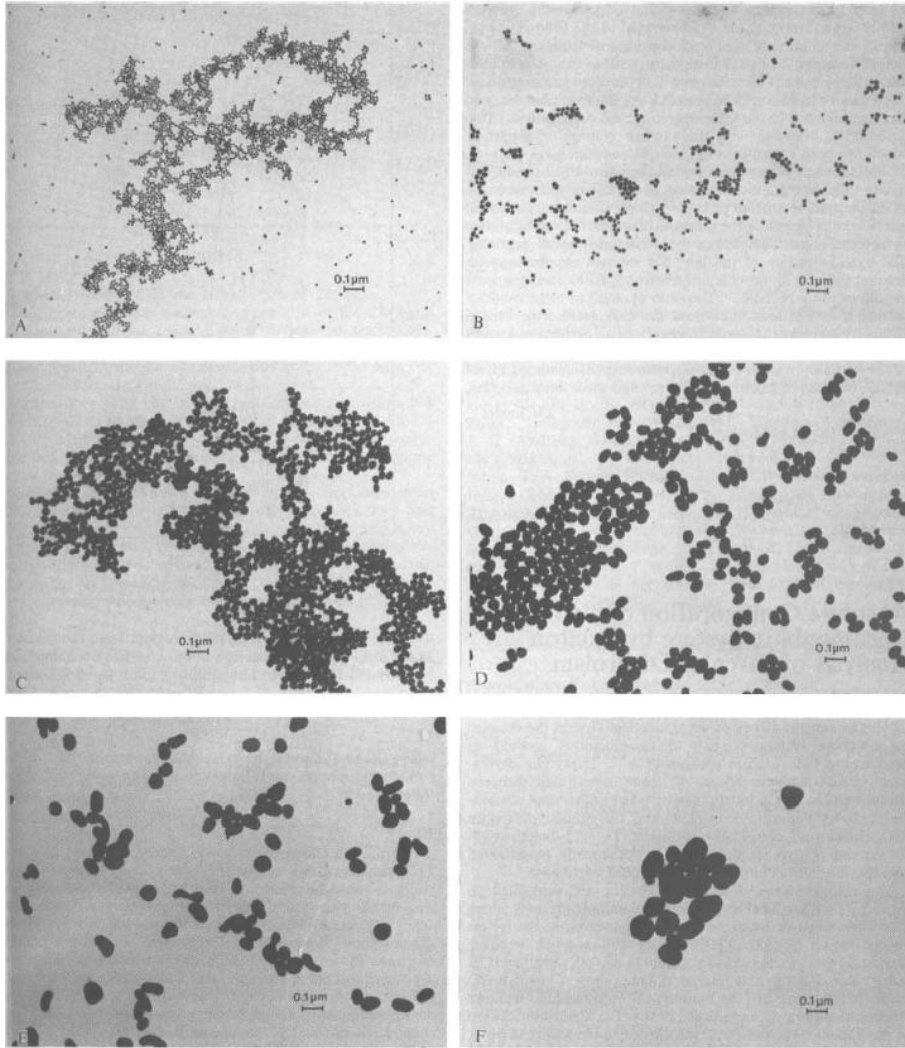
**Рис. 5.** Електронна мікрофотографія ядер колоїдного золота, виділеного методом іонообмінної смоли, збільшення 43600.

Пізніше було запропоновано методику синтезу монодисперсних золотих наночастинок [4]. Авторами було показано, що наночастинки більшого чи меншого розміру можна отримувати лише регулюючи кількість цитратного розчину. В статті наводяться такі данні:

*Таблиця 1.1*

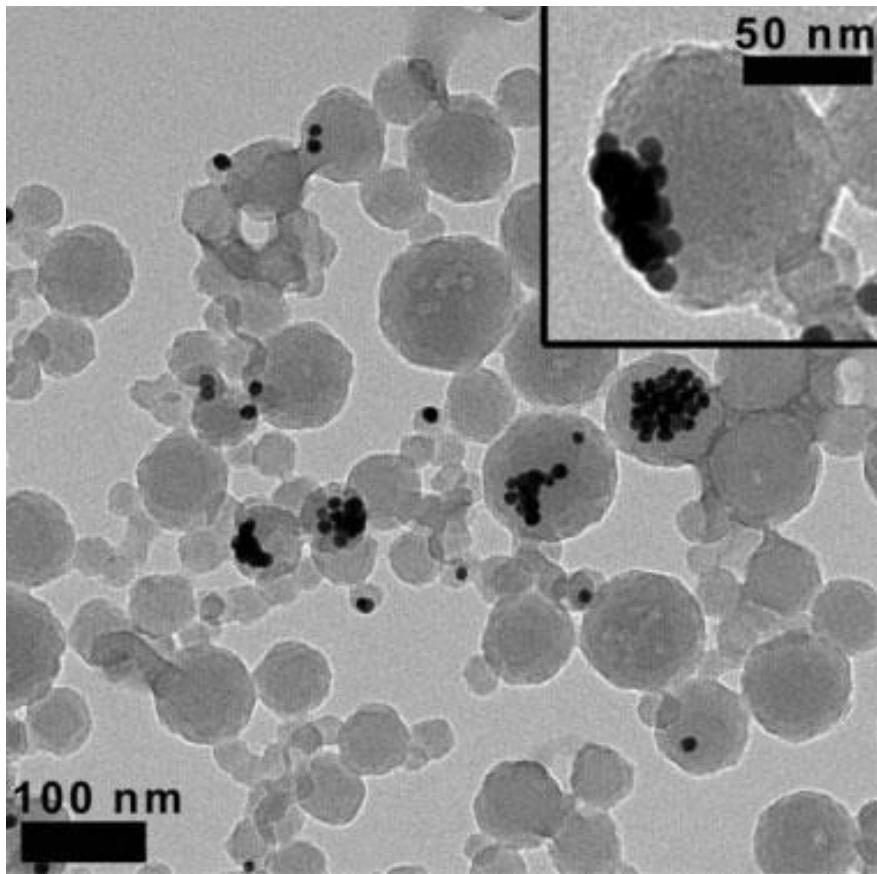
**Експериментальні дані щодо приготування монодисперсних золотих золь**

Золь	Кількість розчину (мл)	Діаметр )Å(	Колір
A	1,00	160	Оранжевий
B	0,75	245	Червоний
C	0,50	410	Червоний
D	0,30	715	Темно-червоний
E	0,21	975	Фіолетовий
F	0,16	1470	Фіолетовий

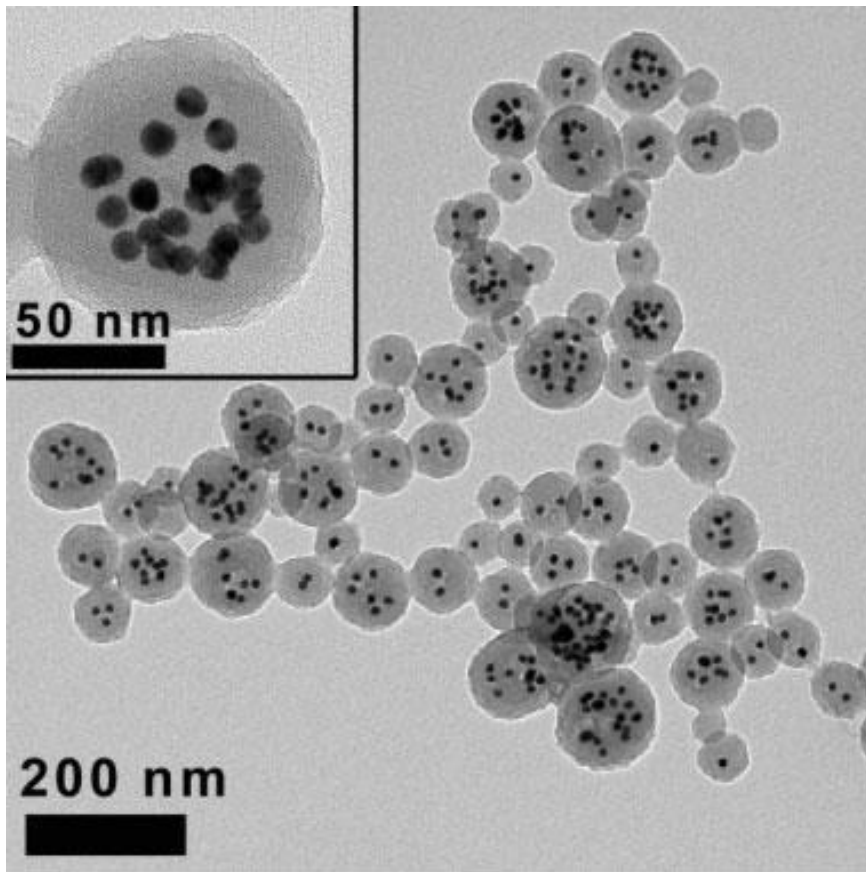


**Рис. 6.** Електронні мікрофотографії золів А-Ф, описаних в Таблиці 1.

Якщо проаналізувати літературу, можна побачити різні методи для створення композитних наночастинок, кожен з цих методів має свої переваги та недоліки. Зокрема, для золотих наночастинок описана велика кількість нанорозмірних систем, які базуються на можливості зв'язування з металічною поверхнею: амінів, тіолів, дисульфідів, тіоєфірів, тіокарбонатів тощо.



**Рис. 7.** Репрезентативна електронна мікрографія для синтезу композиційних полімерно-золотих наночастинок з використанням золотих стабілізованих наночастинок золота. Вставка вгорі праворуч показує як агрегацію наночастинок золота, так і неповне капсулювання полімером [1].



**Рис. 8.** Репрезентативна електронна мікрофотографія композиційних наночастинок полімер-золото, що показує 13 нм золотих наночастинок (чорні домени), інкапсульованих у більші сферичні полі (дивінілбензол) наночастинок (сірі домени). Вставка вгорі зліва показує збільшене зображення єдиної складової частинки[1].

## **1.2 Застосування золотих наночастинок**

В роботі Хайнфельда та інших [5] було показано, що використання золотих наночастинок у великих дозах за рахунок внутрішньовенних ін'єкцій при опроміненні рентгенівськими променями призвело до видалення більшості ракових пухлин. Також авторами було показано, що наявність в раковій пухлині до 0,7% ваг. золотих наночастинок покращує рентгенотерапію раку.

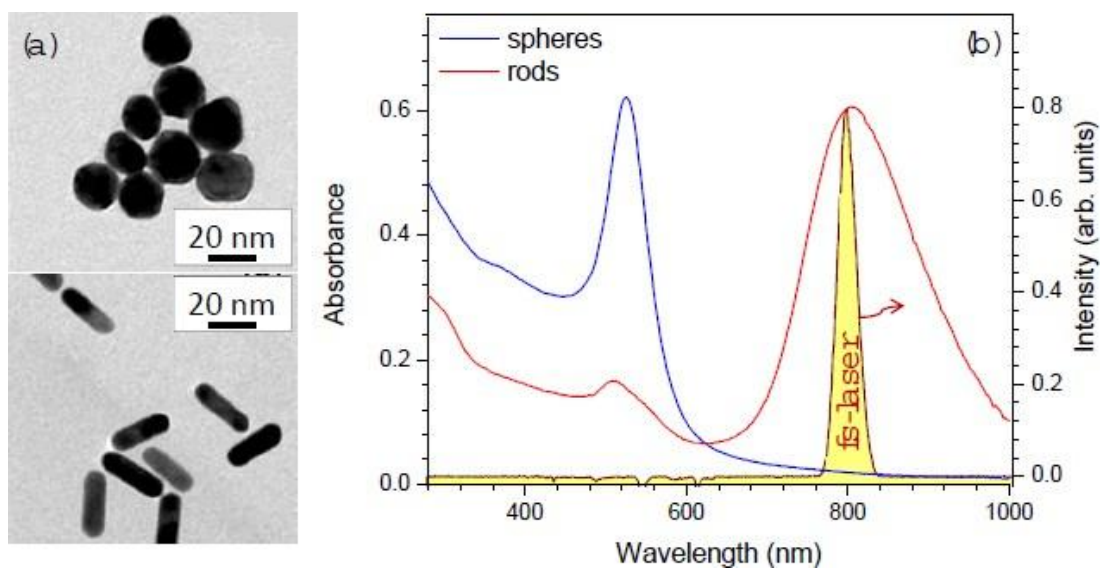
Пізніше канадськими вченими (2008р.) було показано можливість радіосенсибілізації ДНК золотими наночастинками при їх опроміненні електронами високої

енергії [6]. Тонкі плівки плазмідної ДНК pGEM-3Zf були обстріляні 60 кВ електронами з наночастинками золота та без них. ДНК одно- та дволанцюгові розриви (SSBs та DSB) вимірювали за допомогою електрофорезу агарозного гелю. На електронних мікрографах пропускання було виявлено, що золоті наночастинки тісно пов'язані з ДНК-каркасами, внаслідок електростатичного зв'язування. Ймовірність утворення SSBs і DSB під впливом суміші наночастинок золота: плазмідні суміші швидким електронам 1: 1 і 2: 1 збільшується приблизно в 2,5 раза порівняно з акуратними зразками ДНК. Для одношарової ДНК, адсорбованої на товстому золотому субстраті, пошкодження збільшуються на порядок. Отримані результати говорять про те, що підвищення радіочутливості обумовлено виробленням додаткових низьких енергій вторинних електронів, спричинених посиленням поглинання енергії іонізуючого випромінювання металом у вигляді золотих наночастинок або товстого золотого субстрату. Оскільки короткочастотні вторинні електрони низької енергії виробляються у великих кількостях будь-яким типом іонізуючого випромінювання, і оскільки в середньому потрібна лише одна золота наночастинка на молекулу ДНК, щоб значно пошкодити, то націлення на ДНК ракових клітин із золотими наночастинками може запропонувати новий підхід, який зазвичай застосовується до променевого лікування.

У статті 2016р. [7] систематично досліджували посилену інтенсивність фотоакустики (ФА) в залежності від наносфери золота та колоїдних суспензій нанострижнів у воді під щільно зосередженим фемтосекундним імпульсним лазерним опроміненням. Амплітуди ФА сигналу вимірювали ультразвуковими перетворювачами на частотах 5, 10 та 25 МГц. Результати експериментів виявили лінійну залежність відносної амплітуди фотоакустики від потужності лазера, а механізм був віднесений до динаміки нерадіаційної релаксації поверхневих коливань плазмону. Коли нанострижень золота з піком поздовжнього поглинання / гасіння при 800 нм збігається з довжиною хвилі фемтосекундних лазерних імпульсів, генерується найбільш ефективний сигнал ФА. Лазерне збудження зберігалося в області термічної стійкості наночастинок золота, тобто колоїдна суспензія може бути безперервно використана для отримання ФА.

Нещодавні досягнення в галузі фотоакустичних (ФА) методів, заснованих на нерадіаційному перетворенні поглиненої енергії світла в тепло і супутні йому акустичні ефекти, продемонстрували великий внесок у різні біомедичні зондування [8-10], візуалізація [11,12] та терапевтичне застосування [13,14]. У більшості методів оптичної візуалізації сильне розсіювання світла біологічними тканинами було головною проблемою для зображень із глибоким проникненням. Тому нові ідеї, що поєднують ультразвукове та ближнє інфрачервоне (ІЧ) світло для подолання негативного впливу багаторазового розсіювання, були досліджені в останні роки. Візуалізація ФА залежить від кількості падаючих фотонів, поглинених ціллю та перетворених у тепло під час термоеластичного розширення, що призводить до утворення хвилі ультразвуку. Він забезпечує більшу глибину проникнення та кращу просторову роздільну здатність порівняно з оптичними способами візуалізації [15]. Він поєднує роздільну здатність ультразвукового зображення та контраст оптичної візуалізації, що залежить від оптичних властивостей поглинання носія. Контраст у зображенні ФА заснований на ефективності оптичного перетворення в акустичне та може бути значно покращене за рахунок включення різних контрастних речовин [16].

Для посилення контрасту фотоакустичного зображення було розроблено кілька контрастних речовин, таких як флуоресцентні барвники [17,18], металеві [19] та полімерні [20] наночастинки для кращої взаємодоповнюючої реконструкції зображення. Зокрема, останніми роками в якості контрастних речовин були введені плазмонічні металеві наночастинки [18-23]. Індивідуальна конструкція наночастинок та наноструктур золота має велике значення, насамперед завдяки їх біосумісності [24], передових оптичних та каталітичних властивостей, таких як великий переріз поглинання, стійкість до сильних впливів освітлення та спектральна селективність на основі резонансу поверхневого плазмону [21] для потенційних застосувань у фотоелектронних, фотокаталітичних [25,26] та сонячних елементах [27].



**Рис. 9.** (а) ТЕМ-зображення Au наносфер з діаметром 20 нм та нанострижнів розмірами  $12 \times 35$  нм або співвідношенням сторін 2,92. (б) Спектри поглинання Au наносфер та нанострижнів разом із спектром випромінювання фемтосекундного лазера на 800 нм.

## Розділ 2. Обговорення експериментальних даних

Фотодинамічна терапія (ФДТ або *англ* – PDT) включає світло, фотосенсибілізатор (ФС) та кисень для лікування раку та інших захворювань. Після введення ФС в організм його молекули накопичуються в пухлинній тканині і додатково опромінюються світлом при довжині хвилі поглинання ФС. Збуджені молекули ФС передають енергію збудження на сусідні молекули кисню, генеруючи таким чином реактивні види кисню (наприклад, синглетний кисень), які є токсичними для пухлинної тканини. Основна перевага методу ФДТ порівняно з іншими методами лікування раку - його нешкідливість для неракових тканин; саме тому цей метод інтенсивно розвивається. Але головним недоліком ФДТ є мала глибина проникнення світла в біологічні тканини; це обмежує область застосування ФДТ при лікуванні раку. Для подолання цієї проблеми було запропоновано рентгенівську ФДТ, яка використовує рентгенівське опромінення для отримання збуджених молекул ФС, які виробляють реактивні види кисню. Але ФС не можуть бути безпосередньо активовані рентгенограмою через велику невідповідність між енергією рентгенівського фотона (~кВ-МВ) і енергією збудженого стану ФС (~eВ).

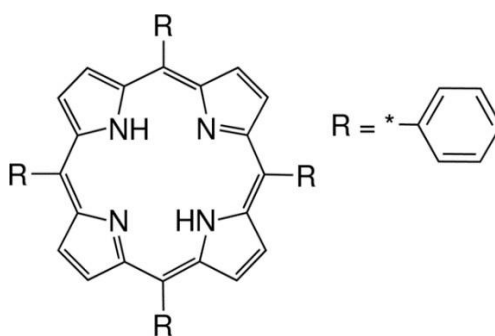
Звичайна рентгенівська фотодинамічна терапія (ФДТ) включає сцинтилюючі наночастинки (НЧ), здатні перетворювати високоенергетичне випромінювання у видиме світло за допомогою процесу сцинтиляції. Далі електронне збудження сцинтилятора передається на ФС і збуджує його. Однак, оскільки енергія вторинних електронів залишається великою, відстань їх міграції становить сотні нм, що значно перевищує розмір НЧ, що призводить до низької ефективності перетворення енергії рентгенівських фотонів у енергію збуджених електронних станів сцинтилятора та ФС і, нарешті, низька ефективність рентгенівської ФДТ. Так основна частина вторинних електронів залишає сцинтилятор НЧ, беручи з собою велику частину квантової енергії рентгенівських променів. Це призводить до низької ефективності перетворення енергії рентгенівських фотонів до енергії збуджених електронних сцинтиляторів та ФС і, нарешті, низької ефективності ФДТ рентгенівських

променів. Таким чином, альтернативна концепція передачі збудження рентгенівських променів на оптичну повинна бути розроблена та застосована до рентгенологічної ФДТ.

В даному випадку ми представляємо нову конструкцію наносистеми рентгенівської ФДТ, що складається з трьох ключових компонентів: (1) наночастинок (НЧ) «важкого елемента» (золото), (2) сцинтиляційної органічної матриці (полістирол) та (3) фотосенсибілізатора (Хлорин е-6). Успішна комбінація трьох згаданих ключових компонентів важлива для отримання нанорозмірних агентів для ефективної рентгенологічної ФДТ.

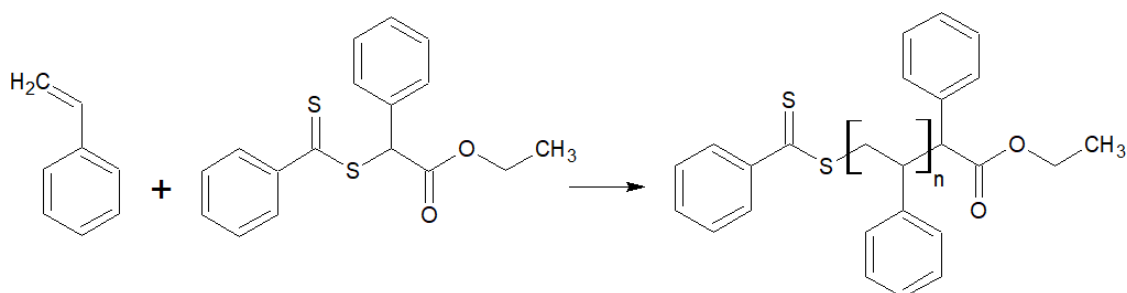
Ми припускаємо, що НЧ, що містять важкі атоми, будуть ефективно поглинати рентгенівські промені та випромінювати вторинні електрони. У свою чергу вторинні електрони залишать важкі золоті НЧ зі зниженою енергією, достатньою для збудження полістирольної органічної матриці. Збудження від останнього буде передано Хлорину е-6 (ФС) за допомогою електронної передачі енергії збудження.

Для генерації синглетного кисню ми в своїй роботі використовували Хлорин е-6:

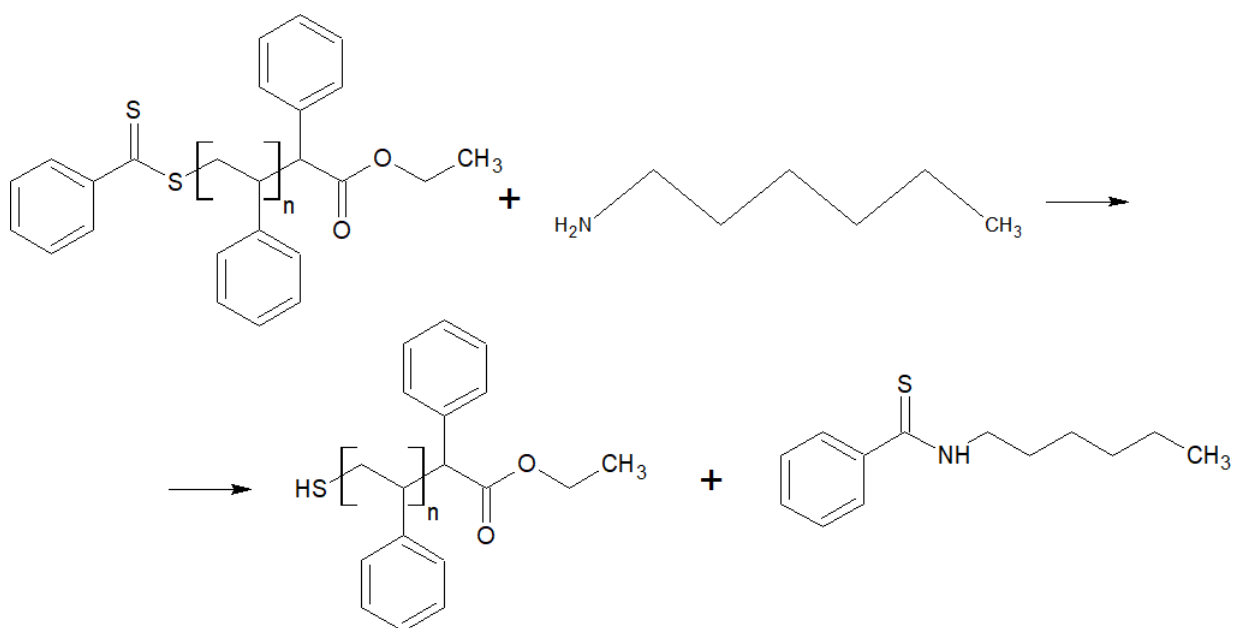


Метою нашої роботи було створення водорозчинної наносистеми для потенційного застосування у рентгено-терапії раку. Тобто головним завданням було сформувати міцели з інкорпорованим “важким атомом”, органічною матрицею та фотосенсибілізатором. В даній роботі було проведено синтез полістирольних лігандів з різними молекулярними масами та кінцевими тіольними групами (ПС-SH) методом RAFT-полімеризації з подальшим амінолізом дитіоефірних груп.

Рівняння реакції RAFT-полімеризації:



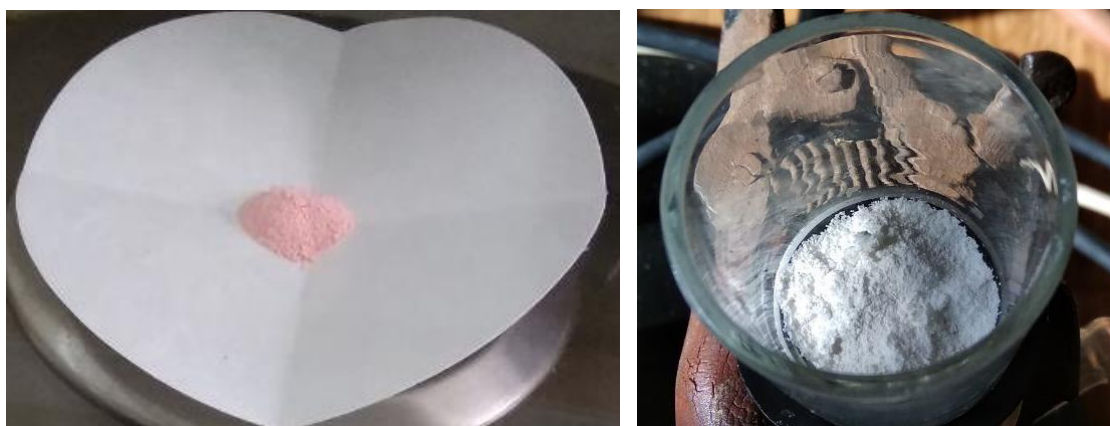
Реакція амінолізу дитіоефірних груп:



RAFT-полімеризацію проводили в круглдонній колбі з магнітною мішалкою з додаванням RAFT-агенту (0,205г), стиролу (3,5г) та АІБН (0,011г) в силіконовій бані при температурі 110°C і при перемішуванні. Через реакційну суміш пропускали аргон протягом 23год. Так як в результаті розчин став дуже в'язким, практично тверда маса (мішалка майже не прокручувалась), тому до реакційної суміші додавали 5мл ТГФ і залишили на добу. Потім отриманий розчин висадили в 50мл метанолу (на льодяній бані), відфільтрували полімер і залишили сушитись до наступного дня. Вихід полімеру 1,89г рожевого порошку (54%).

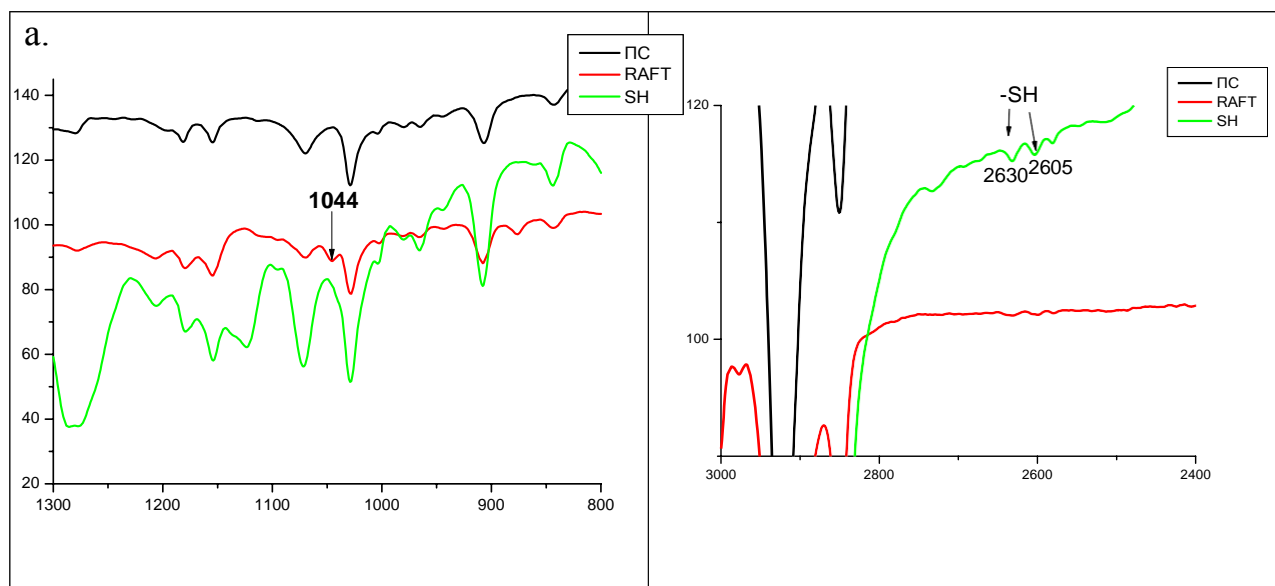
Другу стадію синтезу (аміноліз) проводили в круглдонній тригорлій колбі, розчиняючи наважку полімеру (1,5г) в 17мл ТГФ і пропускаючи 30хв через реакційну суміш аргон, при охолодженні льодом. Далі через шприц додавали розчин гексиламіну (0,13г в 1мл ТГФ), продовжуючи пропускати аргон при перемішуванні за кімнатної температури протягом 20год. Потім упарили на роторі ( $T < 40^{\circ}\text{C}$ ) до 4,8мл розчину і висадили в 50мл метанолу на льодяній бані і залишили сушитись на 2 доби. Отримали 1,203г полімеру у вигляді білого порошку (вихід 80,2%).

Доказом реакції амінолізу є зміна кольору полімеру з рожевого на білий (див. Рис.10).



**Рис.10.** Зміна кольору полімеру з рожевого на білий в результаті реакції амінолізу.

Дослідження молекулярної структури полістиролу до та після проведення амінолізу здійснювали за допомогою ІЧ-спектроскопії. Характеристичні смуги поглинання, присутні у спектрах, свідчать про наявність кінцевих груп із структурними елементами RAFT-агенту (для зразків полістиролу до амінолізу (Рис. 11, а) та SH-групами (для зразків полістиролу після амінолізу (Рис. 11, б)).



**Рис. 11.** ІЧ-спектри полістиролу до та після проведення амінолізу.

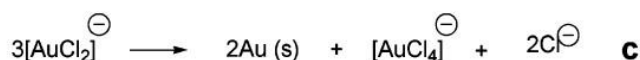
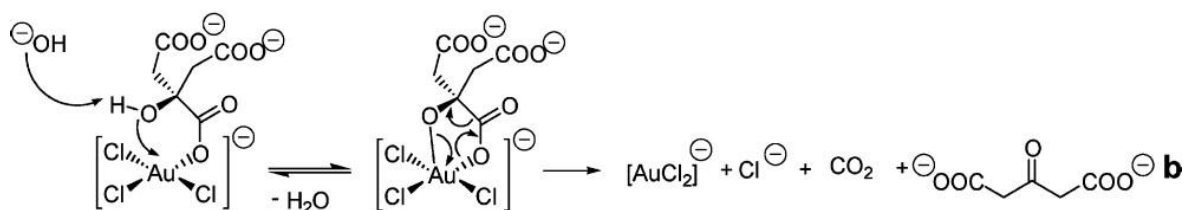
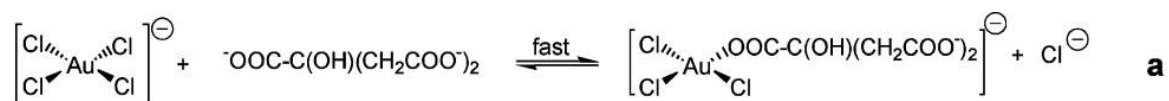
Зокрема, до проведення амінолізу у спектрі присутня смуга при  $1044\text{ см}^{-1}$ , що обумовлено валентними коливаннями  $\text{C}=\text{S}$  групи у складі кінцевих груп  $-\text{S}-\text{C}=\text{S}$ .

Смуги близько  $2630$  та  $2605\text{ см}^{-1}$  для зразків полістиролу після амінолізу відповідають валентним коливанням  $\text{H}-\text{S}$  зв'язків тільки кінцевих груп<sup>1</sup>

Змінюючи співвідношення RAFT-агенту та АІБН (збільшили в 4 рази) нами було синтезовано два полімера різної молекулярної маси: для випадку, описаного вище,  $M_n=4563$ ; при збільшенні кількості RAFT-агенту та АІБН  $M_n=891$ .

Далі ми синтезували водні дисперсії золотих наночастинок цитратним методом за реакцією:

<sup>1</sup>Gunzler, H., Gremlich, H.-U. (2002). IR Spectroscopy. An introduction. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim.



До круглодонної колби налили 20мл води, попередньо відфільтрованої через 0,2мкм мембранний фільтр, й нагрівали на силіконовій бані до 110°C. Тригідрат хлориду золота (0,086г) і дигідрат цитрату натрію (0,42г) завчасно відважили в стаканчиках об'ємом 20мл і далі розчиняли кожну наважку в 10мл води, відфільтрованої через мембранний фільтр. Ще 10мл відфільтрованої води залишили, щоб змити залишки речовин зі стінок стаканчиків. Коли вода нагрілась, влили до колби спочатку розчин тригідрату хлориду золота, а через 3хв розчин цитрату натрію. Нагрівали при перемішуванні 15хв, після чого витягли із бані, охолодили.



**Рис. 12.** Фото водної дисперсії золота після нагрівання.

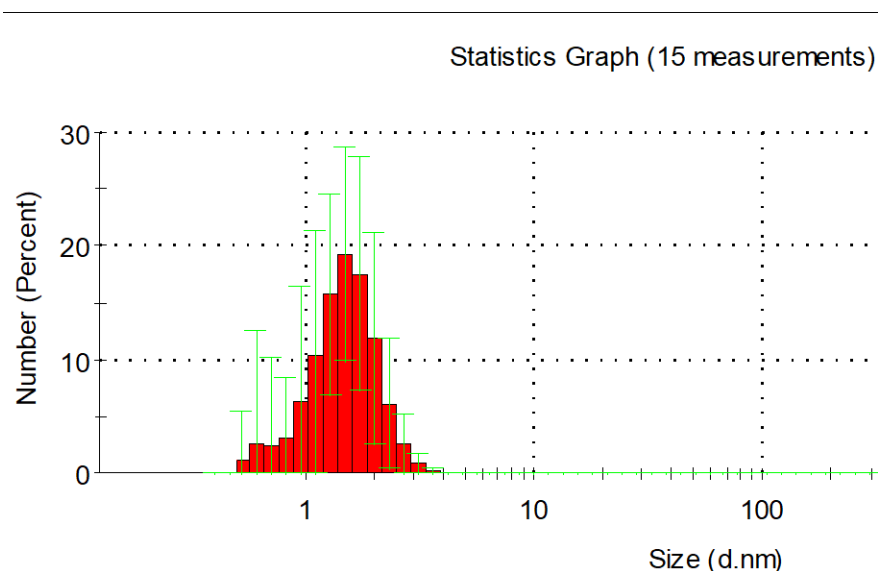
Відділяли золоті наночастинки центрифугуванням, для цього розчин розлили по маленьким баночкам, що закручуються кришками. Центрифугування проводили на 8000об порціями по 4 баночки 20хв кожен порцію. Наступного дня за допомогою шприца зібрали фазу, що осіла на дні баночок. Після центрифугування отримали 25мл концентрованого розчину наночастинок золота.



**Рис.13.** Фото водної дисперсії золота «перед» та «після» центрифугування.

Розміри одержаних водних дисперсій наночастинок золота та кінцевих композитів визначали методом динамічного світлорозсіювання (ДСР) та трансмісійної

електронної спектроскопії (ТЕМ). Нижче приведено статистичний розподіл наночастинок (розподіл за кількістю) Au НЧ. Як свідчать дані ДСР, нами одержано НЧ золота розміром  $\sim 1,5 - 2$  нм.



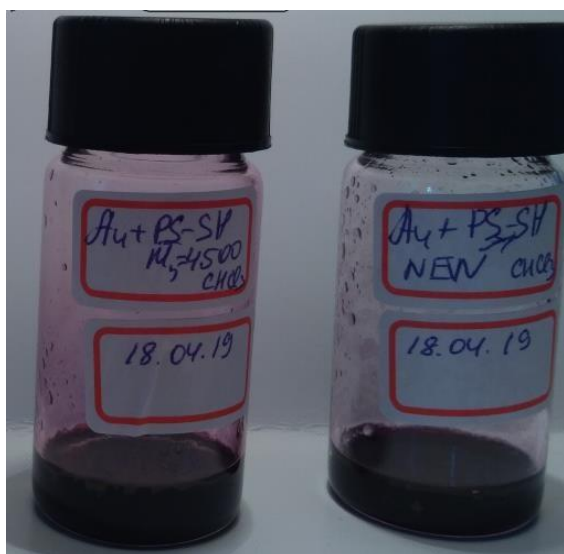
**Рис. 14.** Статистичний розподіл наночастинок золота (розподіл за кількістю) вихідного композиту ПС-ПНІПАМ при кімнатній температурі ( $25^{\circ}\text{C}$ ).

Наступним етапом роботи було створення органостабільних наночастинок ПС-Ау. Для цього ПС-SH розчиняли в ТГФ і змішували з водним розчином наночастинок золота в баночці на 20мл. Потім додавали хлороформ (3 мл) для індукування фазового поділу органічних та водних розчинників. Органічний шар фіолетового кольору, що містить НЧ ПС-Ау, виділяли з неочищеного полімеру центрифугуванням (20 хв при 8000 об).

Будову одержаних наночастинок досліджували спектрально та за допомогою ТЕМ-досліджень.<sup>2</sup> Спектри поглинання були виміряні за допомогою спектрометра Ламбда 900 УФ / ВІС / НІР (Перкін-Елмер) та спектрофотометра УФ1900.

<sup>2</sup>Вимірювання даної частини роботи проводились на кафедрі експериментальної фізики фізичного факультету КНУ ім Шевченка.

Спектри випромінювання реєструвалися Horiba флуорометром (Jobin-Ivon). Вимірювання проводили в кварцових кюветах 1см x 1см при кімнатній температурі. (див. Рис.1, Рис.15, Рис. 17).

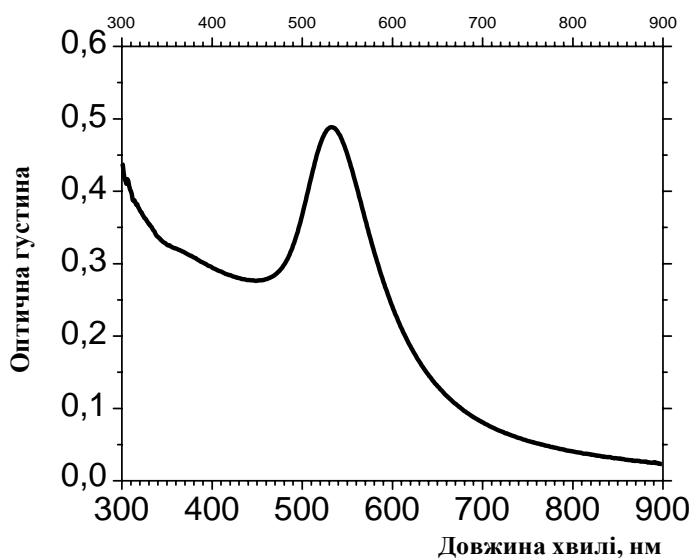


**Рис. 15.** Фото дисперсії НЧ Au-ПС у хлороформі ( $M_n=4563$ ).

Аналогічний експеримент проводили з ПС-SH з  $M_n=891$ . На жаль, з цим зразком не вдалося отримати нанорозмірні органостабільні системи (див. Рис. 16).



**Рис. 16.** Фото дисперсії НЧ Au-ПС у хлороформі ( $M_n=891$ ).

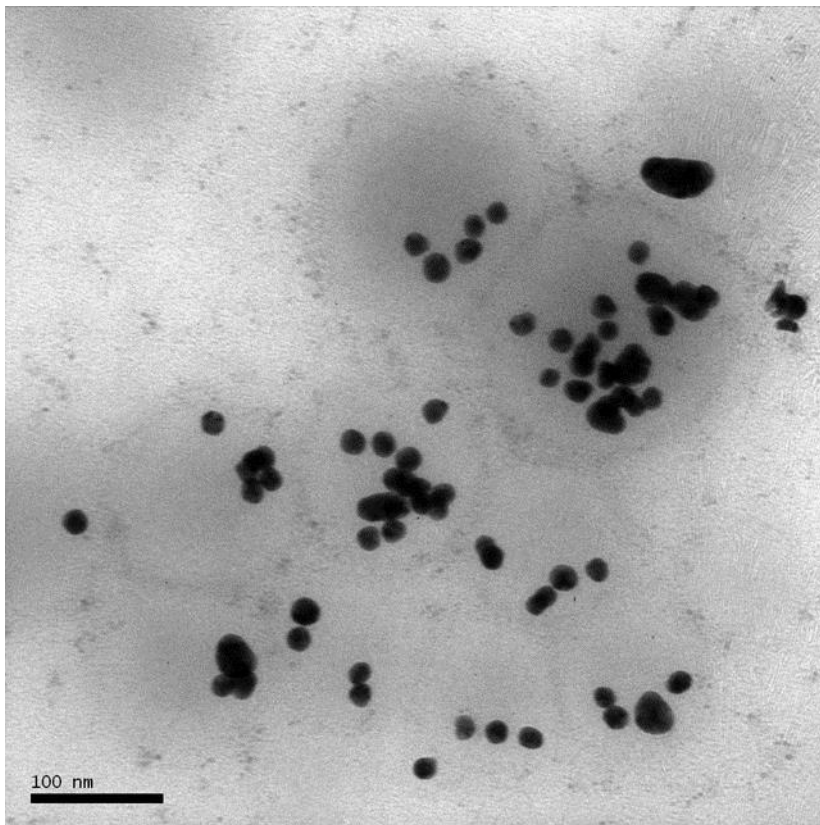
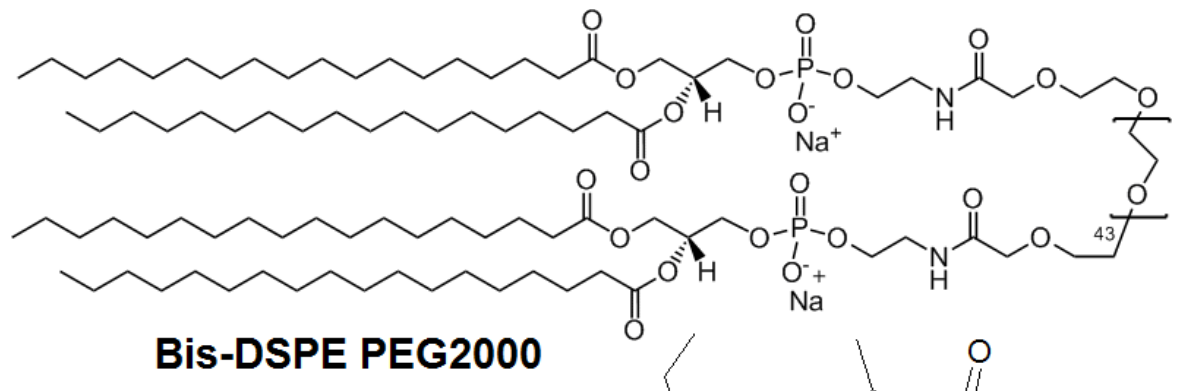


**Рис. 17.** Спектр поглинання НЧ Au-ПС у діоксані (розведення у 40 раз).

Спектр поглинання (Рис. 17) містить чіткий максимум при 532 нм і відповідає плазмоній смузі золотих НЧ. Зображення TEM (Рис. 1) демонструє темні структури приблизно 20-50 нм неоднорідної темряви. Ми вважаємо, що кожній з цих структур відповідає або одина золота НЧ, оточена щільною оболонкою приєднаних ланцюгів ПС, або (для більших конструкцій) агломерат декількох таких НЧ, що агрегуються один з одним після висихання.

Фінальною стадією було створення наносистем (міцел) DSPE-Au-ПС-хлорин- $e_6$ . Для отримання наносистем, що містять золото, полістирол та хлорин  $e_6$ , утримувані разом міцелами DSPE-PEG2000 (DSPE-Au-ПС-хлорин- $e_6$  НС), спочатку 125 мкл розчину хлороформу Au-ПС НЧ сушили і далі розбавляли в 70 мкл ТГФ, після до цього додавали 50 мкл 25 мг / мл розчину хлороформу DSPE-PEG2000 та 20 мкл 1 мМ розчину хлороформу хлорину  $e_6$ . Отриманий розчин змішували з допомогою ультразвуку і сушили. Отриману суху плівку зволожували 200 мкл дистильованої води та піддавали впливу ультразвуку. Опорні наносистеми, що містять золото і полістирол (без хлорину  $e_6$ ) утримуваних разом DSPE-PEG2000 мицелл (DSPE-Au-ПС НС) були отримані аналогічним чином, але замість 20 мкл 1 мМ розчину хлороформу хлорину  $e_6$ , 20 мкл хлороформу були додані поодиноці. Для збору

згаданого Au-ПС НЧ або їх агломератів в єдину НС з молекулами хлорину  $e_6$  використовували фосфоліпиди DSPE-PEG2000; міцели цих фосфоліпідів були стабільні і біологічно безпечні.



**Рис. 18.** TEM фото наносистеми фосфоліпід / Au-ПС НЧ /хлорин-  $e_6$

Спектр поглинання отриманого DSPE-Au-ПС-хлорин- $e_6$  НС представлений на Рис. 19. Спектр складається з фону, спричиненого розсіюванням світла сформованим НС, смугами, що відповідають хлорину  $e_6$  при 409 нм (смуга Core) і 675 нм (найбільш довга хвиля Q-діапазону), і широка смуга в діапазоні 500-900 нм, яку ми

могли б віднести до наночастинок золота та їх агрегатів (агрегати золотих наночастинок відомі, щоб максимуми поглинання змістилися на сотні нанометрів в область довгих хвиль порівняно з окремими наночастинками).

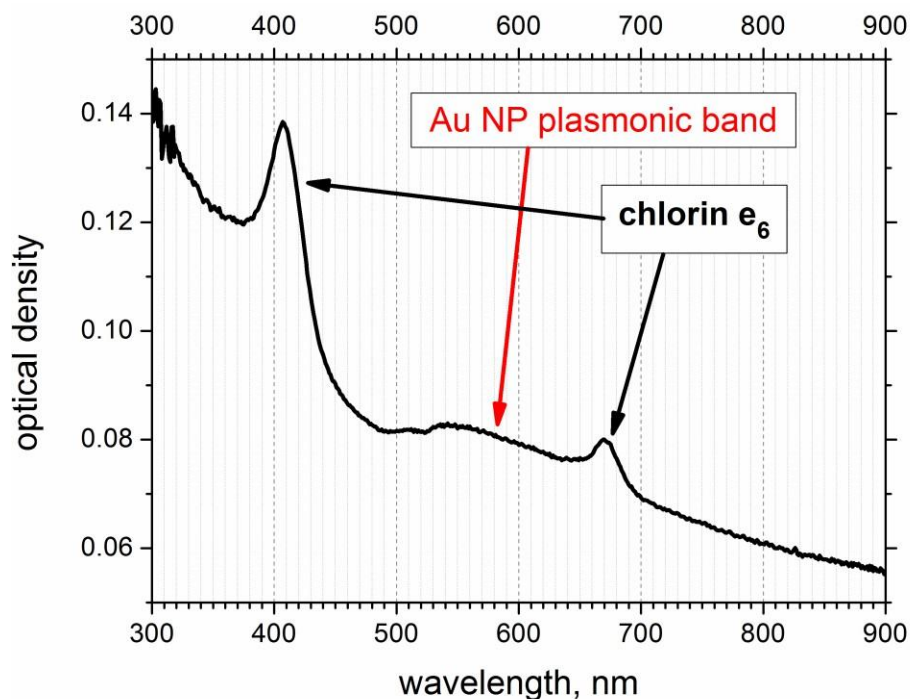


Рис. 19. Спектр поглинання отриманого DSPE-Au-ПС-хлорин-е<sub>6</sub> НС у воді.

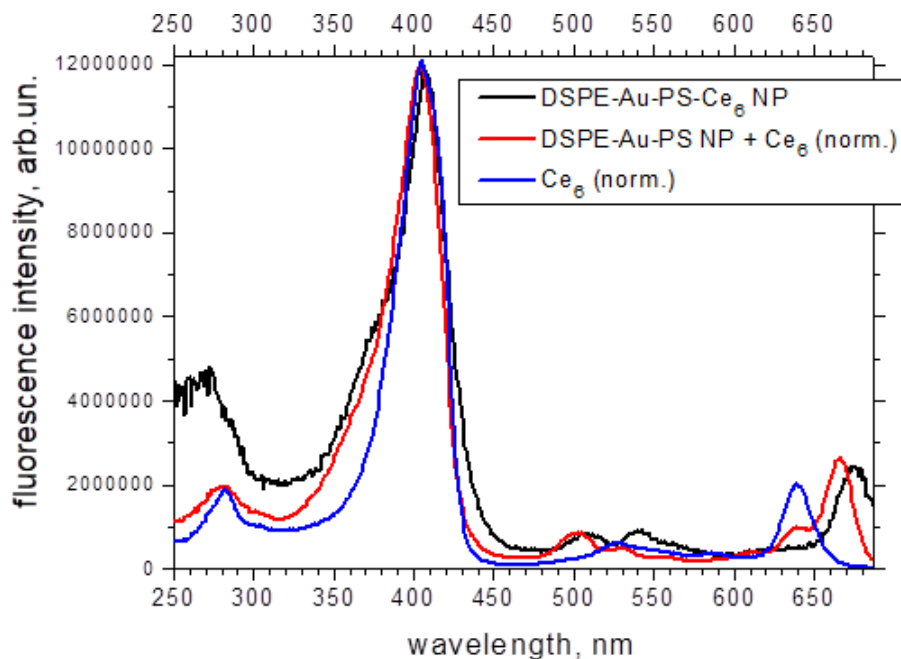
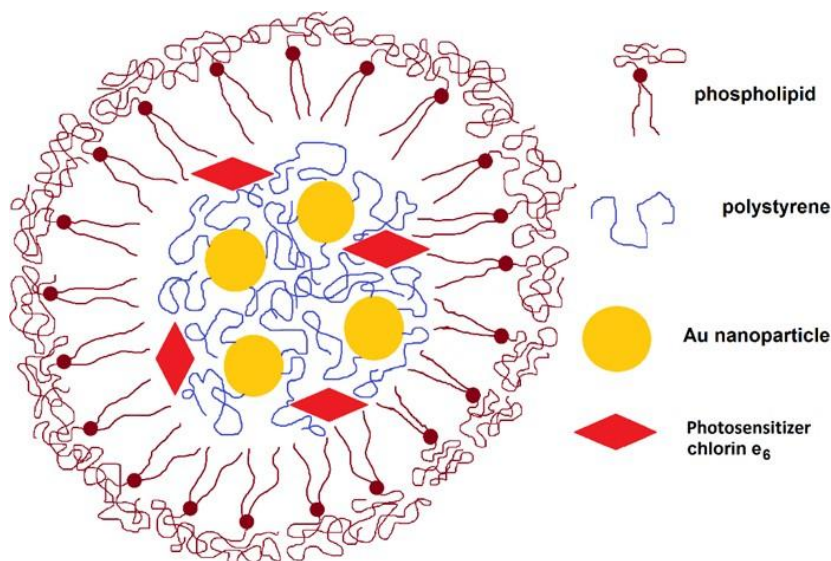


Рис. 20. Спектри флуоресценції збудження водного розчину наносистеми фосфоліпід / Au-ПС НЧ /хлорин- е<sub>6</sub> (ем. 685 нм) та хлорину е<sub>6</sub> (нормалізований; ем. 680 нм).

З спектрів збудження флуоресценції хлорину  $e_6$  у ДСПЕ-Ау-ПС-хлорин- $e_6$  НС (Рис. 20) видно, що максимумами хлорину  $e_6$  у спектрах збудження та поглинання флуоресценції по суті однакові, тому хлорин  $e_6$  у ДСПЕ-Ау-ПС-хлорин- $e_6$  НС знаходиться в основному у флуоресцентній формі. Крім того, спектр збудження флуоресценції хлорину  $e_6$  у ДСПЕ-Ау-ПС-хлорин- $e_6$  НС порівнювали зі спектром вільного хлорину  $e_6$  у воді та хлорину  $e_6$ , що додавались до ДСПЕ-Ау-ПС НС після формування НС (Рис. 19). Видно, що для вільного хлорину  $e_6$  у воді максимум найбільш довгохвильової Q-смуги становить 640 нм, що відповідає літературним даним. У той же час, у разі хлорину  $e_6$ , що додається до ДСПЕ-Ау-ПС НС, ця ж смуга має свій максимум на 666 нм. Це означає, що хлорин  $e_6$  пов'язується з ДСПЕ-Ау-ПС НС, найімовірніше, введенням у зовнішню оболонку PEG міцели ДСПЕ-PEG-2000. Тим часом, для НС ДСПЕ-Ау-ПС-хлорин- $e_6$  НС, куди хлорин  $e_6$  був введений під час підготовки НС, максимум Q-діапазону становить 675 нм; крім того, короткохвильові діапазони Q (при 507 і 541 нм) також зміщуються порівняно з тими, де додаються хлорин  $e_6$  (502 і 531 нм). Це означає, що мікросередовище хлорину  $e_6$  у ДСПЕ-Ау-ПС-хлорин- $e_6$  НС відрізняється від цього у випадку хлорину  $e_6$ , який додається до ДСПЕ-Ау-ПС НС. Можна припустити, що в останньому випадку хлорин  $e_6$  проникає у зовнішню оболонку PEG ДСПЕ-Ау-ПС НС, у першому випадку це або між аліфатичними ліпідними хвостами, або між полістирольними ланцюжками наночастинок Ау-ПС міцели (Рис. 21).



**Рис. 21.** Наносистема (міцел) ДСПЕ-Ау-ПС-хлорин- $e_6$ .

Окрім смуг Соре- та Q-хлорину  $e_6$ , в діапазоні збудження флуоресценції хлорину  $e_6$  в DSPE-Au-ПС-хлорин- $e_6$  НС можна спостерігати смугу з максимумом близько 267 нм. Ця смуга відповідає смугі поглинання полістиролу і вказує на перенесення енергії електронного збудження (ПЕЕЗ) з полістирольних ланцюгів наночастинок Au-ПС до молекул хлорину  $e_6$ , включених до DSPE-Au-ПС-хлорин- $e_6$  НС. Таким же чином, раніше ми спостерігали ПЕЕЗ від полістиролу до хлорину  $e_6$  в наносистемах, що містять наночастинки ПС і хлорин  $e_6$ , пов'язані з ними через стабілізуючий шар ПАР.

Таким чином, ми отримали наносистеми, що містять наночастинки золота, полістирол та хлорин  $e_6$  (фотосенсибілізатор), капсульовані разом; їх властивості як синглетних сенсибілізаторів кисню при рентгенівському збудженні будуть детальніше вивчені.

## Розділ 3. Експериментальна частина

### 3.1 Вихідні речовини

#### 3.1.1 Вихідні речовини, що використовувались без додаткової очистки:

Азобісізобутиронітрил (AIBN). W=98%, вироблено Sigma-Aldrich, Мм=164,21г/моль, mp=102-104<sup>0</sup>С.

RAFT-агент: етил-2-(фенілкарбонотіолтіо)-2-фенілацетат (Ethyl-2-(phenylcarbonothioylthio)-2-phenyl-acetate). W=98%, вироблено Sigma-Aldrich, Мм=316,44г/моль, mp=48-53<sup>0</sup>С.

Тетрагідрофуран (THF). W≥99,9%, вироблено Sigma-Aldrich, Мм=72,11г/моль, густина=0,889г/см<sup>3</sup>, bp=65-67<sup>0</sup>С, mp= -108<sup>0</sup>С.

Гексиламін (Hexylamine). W=99%, вироблено Sigma-Aldrich, Мм=101,19г/моль, густина=0,766г/см<sup>3</sup>, bp=131-132<sup>0</sup>С, mp= -23<sup>0</sup>С.

Метанол (Methanol). W=99,8%, вироблено Sigma-Aldrich, Мм=32,04г/моль, густина=0,791г/см<sup>3</sup>, bp=64,7<sup>0</sup>С, mp= -98<sup>0</sup>С.

Толуол (Toluene). W=99,8%, вироблено Sigma-Aldrich, Мм=92,14г/моль, густина=0,865г/см<sup>3</sup>, bp=110-111<sup>0</sup>С, mp= -93<sup>0</sup>С.

Тригідрат хлориду золота (III) (Gold (III) chloride trihydrate). W≥99,9%, вироблено Sigma-Aldrich, Мм=393,83г/моль, густина=3,9г/см<sup>3</sup>.

Дигідрат цитрату натрію (Sodium citrate dihydrate). W≥99%, вироблено Sigma-Aldrich, Мм=294,10г/моль, mp=300<sup>0</sup>С.

Хлороформ (Chloroform). W≥99%, вироблено Sigma-Aldrich, Мм=119,38г/моль, густина=1,48г/см<sup>3</sup>, bp=60,5-61,5<sup>0</sup>С, mp= -63<sup>0</sup>С.

Стирол (St) із Sigma-Aldrich був очищений методикою, що описана нижче.

#### 3.1.2 Стирол та методика його очистки:

Стирол взято з Реахим, чда.

Очистка стиrolу від інгібіторів: Стирол промивають 10% розчином NaOH (на 4 частки стиrolу – 1 частка розчину). Потім мономер промивають дистильова-

ною водою до нейтральної реакції по фенолфталеїну. Промитий стирол сушать безводними сульфатами кальцію або магнію чи хлористим кальцієм і, нарешті, кінцево – цеолітом марки NaA. Висушений стирол переганяють у вакуумі при температурі не вище 70<sup>0</sup>С, оскільки при перегонці при нормальному тиску стирол внаслідок високої температури полімеризується.

P, мм рт. ст	5	10	20	40	60
T <sub>к</sub> , °С	18	30,8	44,6	59,8	69,6

Відбирають фракцію, яка відганяється за відповідної вибраному тиску температурі. Перегонку ведуть із колби Кляйзена з дефлегматором, теплоізольованим азбестовим шнуром, приймач охолоджують льодяною водою. Перегнаний стирол не варто зберігати при T<sub>кімн</sub> без інгібітора більше, ніж 2-3 дні.

## 3.2 Синтез проміжних речовин

### 3.2.1 Синтез полістиролу з кінцевими тіольними групами

Полімерні тіолові ліганди отримували RAFT-полімеризацією з подальшим амінолізом дитіоефірних груп за методикою, подібною до методики, описаної в статті [1] і [28].

Нами було отримано два зразки ПС-SH різної молекулярної маси. Середньов'язкісну молекулярну масу визначали віскозиметричним методом (описаний в пункті 3.2.3).

#### 3.2.1.1 Синтез полістиролу з кінцевими тіольними групами (M<sub>м</sub>= 891)

В круглодонну колбу з магнітною мішалкою вносимо 0,82г RAFT-агенту (етил-2-(фенілкарбонотіолтіо)-2-фенілацетату), 3,5г стиролу та 0,044г АІБН (азобісізобутиронітрилу) і опускаємо в силіконову баню. Через реакційну суміш пропускаємо аргон і нагріваємо при перемішуванні при 110<sup>0</sup>С протягом 25год. Розчин став

в'язким, додали 4мл ТГФ і розмішали. Отриманий розчин осаджували в 90мл метанолу (на льодяній бані), потім відфільтрували полімер і лишили висихати. Вихід полімеру 1,8964г (54,2%).

Далі проводили аміноліз дитіоефірних груп. В круглодонній тригорлій колбі розчиняли наважку полімеру (1,8964г) в 33мл ТГФ на льодяній бані і пропускали аргон протягом 30хв. Потім додали через шприц розчин гексиламіну (0,8г в 1мл ТГФ) і продовжили пропускати аргон через реакційну суміш при перемішуванні вже за кімнатної температури протягом 2год, далі залишили на ніч. Наступного дня розчин був оранжевого кольору, об'ємом ~ 27мл, упарили до ~13мл і осаджували в 60мл метанолу на льодяній бані, практично нічого не випало. Тоді відфільтрували те, що випало, а фільтрат вилили в чашу і випарили. В результаті отримали в'язкий полімер оранжевого кольору масою 2,1132г.

### **3.2.1.2 Синтез полістиролу з кінцевими тіольними групами (M<sub>n</sub>= 4563)**

В круглодонну колбу з магнітною мішалкою вносимо 0,205г RAFT-агенту (етил-2-(фенілкарбонотіолтіо)-2-фенілацетату), 3,5г стиролу та 0,011г AIBN (азобісізообутиронітрилу) і опускаємо в силіконову баню. Через реакційну суміш пропускаємо аргон і нагріваємо при перемішуванні при 110<sup>0</sup>С протягом 23год. Розчин став дуже в'язким (практично тверда маса), додали 5мл ТГФ, розмішали і залишили на добу. Отриманий розчин висадили в 50мл метанолу (на льодяній бані), відфільтрували полімер і залишили висихати. Вихід полімеру 1,89г (54%).

Далі проводили аміноліз дитіоефірних груп. В круглодонній тригорлій колбі розчиняли наважку полімеру (1,5г) в 17мл ТГФ. Потім додали через шприц розчин гексиламіну (0,13г в 1мл ТГФ) і продували аргон при перемішуванні через реакційну суміш при кімнатній температурі протягом 20год. Потім упарили на роторі до 4,8мл розчину і висадили в 50мл метанолу на льодяній бані і залишили сушитись на 2 доби. Отримали 1,203г полімеру у вигляді білого порошку (80,2%).

Молекулярну масу полістиролу визначали віскозиметричним методом (див. розділ 3.2.3).

### 3.2.2 Синтез наночастинок золота

Наночастинки золота готували у водному розчині цитратним відновленням за методикою подібною до описаної в статті [1].

В круглодонну колбу налили 220мл води, відфільтрованої через 0,2мкм мембранний фільтр, і нагріваємо на силіконовій бані до 110°C. Наважки тригідрату хлориду золота (0,086г) і дигідрату цитрату натрію (0,42г) взяли в стаканчики об'ємом 20мл і кожен наважку розчинили в 10мл води, відфільтрованої через мембранний фільтр. Ще 10мл відфільтрованої води залишили, щоб змити залишок речовин зі стаканчиків.

Коли вода нагрілась, влили спочатку розчин тригідрату хлориду золота, а через 3хв розчин цитрату натрію. Розчин спочатку лишався прозорим і безбарвним, але через 30с почав змінювати колір на синьо-фіолетовий, а з часом став кольору червоного вина. Нагрівали при перемішуванні 15хв, після чого витягли з бані, охолодили й розлили розчин по маленьким баночкам, що закручуються кришками. Центрифугували на 8000об порціями по 4 баночки 20хв кожен порцію. Наступного дня за допомогою шприца зібрали фазу, що осіла дні баночок. Тобто після центрифугування отримали 25мл концентрованого розчину наночастинок золота.

### 3.2.3 Визначення молекулярної маси зразків полістиролу віскозиметричним методом [29].

Віскозиметричний метод – найбільш простий і доступний метод визначення молекулярної маси полімерів в широкій області значень молекулярних мас. Цей метод є непрямим і потребує визначення констант у рівнянні залежності в'язкості від молекулярних мас.

Для визначення в'язкості розчину полімера вимірюють час витікання  $t_0$  і  $t$  (в сек) рівних об'ємів розчинника і розчину через капіляр віскозиметра при заданій постійній температурі. Концентрацію розчину ( $C$ ) зазвичай виражають в грамах на 100мл розчинника; для вимірювання в'язкості використовують розчини з  $C < 1\text{г}/100\text{мл}$ .

Для визначення молекулярної маси користуються формулою Марка – Хувінка, яка виражає залежність характеристичної в'язкості від молекулярної маси:

$$[\eta]=KM^\alpha$$

де  $K$  і  $\alpha$  константи для даної системи полімер-розчинник при певній температурі.

Із рівняння Марка – Хувінка випливає, що логарифм характеристичної в'язкості є лінійною функцією логарифму молекулярної маси:

$$\lg[\eta] = \lg K + \alpha \lg M$$

або ж

$$\lg \bar{M} = \frac{1}{\alpha} \lg[\eta] - \frac{\lg K}{\alpha}$$

Характеристичну в'язкість  $[\eta]$  визначають шляхом графічної екстраполяції значень  $\eta_{\text{пит}}/C$ , отриманих для кількох концентрацій, до нульової концентрації.

Для визначення молекулярної маси полістиролу з кінцевими тіольними групами нами були зроблені серії розчинів різної концентрації (розчинник – толуол). Концентрації, час витікання розчинника і час витікання розчинів при різній концентрації та температурі (25°C) для полістиролу з  $M_n=891$  і  $M_n=4563$  вказані у табл. 3.1 і табл.3.2 відповідно:

Таблиця 3.1

Концентрація, С, моль/л	Час витікання, t, с	$\eta_{\text{відн}}, t/t_0$	$\eta_{\text{пит}}, (t-t_0)/t_0$	$\eta_{\text{пит}}/C,$ л/моль
0,002	189,73	1,0046	0,0046	2,3
0,004	189,66	1,0042	0,0042	1,05
0,005	190,35	1,0078	0,0078	1,56
0,02	198,66	1,0518	0,0518	2,59
0,01	194,8	1,0314	0,0314	3,14

$$t_0=188,86$$

Таблиця 3.2

Концентрація, C, моль/л	Час витікання, t, с	$\eta_{\text{відн}}, t/t_0$	$\eta_{\text{пит}}, (t-t_0)/t_0$	$\eta_{\text{пит}}/C,$ л/моль
0,2	191	1,0106	0,0106	0,053
0,25	193	1,0212	0,0212	0,066
0,4	193	1,0212	0,0212	0,053
0,5	195	1,0317	0,0317	0,0634
1,0	200	1,0582	0,0582	0,0582

$t_0=189$ .

Для розчинів полістиролу у толуолі  $K=1,34 \cdot 10^{-4}$ ;  $\alpha=0,71$ .

Розрахунок вели з використанням формули:

$$\lg \bar{M} = \frac{1}{\alpha} \lg[\eta] - \frac{\lg K}{\alpha}$$

Полістирол з  $M_{\eta}=891$ :

$$\lg \bar{M} = \frac{1}{0,71} \lg[0,01625] - \frac{\lg(1,34 \cdot 10^{-4})}{0,71} = 2,94987$$

Полістирол з  $M_{\eta}=4563$ :

$$\lg \bar{M} = \frac{1}{0,71} \lg[0,054] - \frac{\lg(1,34 \cdot 10^{-4})}{0,71} = 3,6593$$

### 3.3 Трансмійна електронна мікроскопія

Морфологічні дослідження індивідуальних компонентів та зразків проводили методом трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) за допомогою електронного мікроскопа JEM-1400 фірми "JEOL" (Японія). Підготовку зразків для проведення дослідження здійснювали шляхом нанесення малих крапель ( $1 \cdot 10^{-4} \text{ см}^3$ ) розбавлених дисперсійних розчинів на мідні сіточки, вкриті плівкою формвару та вуглецю, і далі швидко висушували протягом  $\sim 0.5-1$  хв. на повітрі, а потім у вакуум-ексикаторі при кімнатній температурі.

### 3.4 Динамічне розсіювання світла

Розмір наночастинок полістиролу та композитів ПС/ПЕДОТ було визначено методом динамічного розсіювання світла (ДРС). Гідродинамічний радіус діалізованих дисперсій зразків, а також температурні залежності гідродинамічних параметрів було отримано цим методом на приладі ZetasizerNanoZS90 (MalvernInstrumentsLtd., UK) з 4-мВт He-Ne лазером (довжина хвилі 632,8 нм), розсіяне світло реєструвалося під кутом  $173^\circ$ .

### 3.5 Спектроскопічні методи

Зміни електронних спектрів під час полімеризації етилендіокситіофену реєстрували при кімнатній температурі в області  $\lambda=200-1000$  нм, використовуючи Varian Cary 50 scan UV-VIS спектрофотометр, використовуючи кварцові кювети з  $l=0,1$  см. та  $l=1$  см.

Фур'є-інфрачервоні спектри ПЕДОТ та його нанокompозитів в таблетках з KBr були записані на Фур'є-ІЧ спектрофотометрі Bruker Vertex 70 з роздільною здатністю  $1 \text{ cm}^{-1}$ .

## Висновки

1. Синтезовано олігомерні полістирольні ліганди з молекулярними масами  $M_n=4563$  і  $M_n=891$  та кінцевими тіольними групами (ПС-SH) методом RAFT-полімеризації.
2. Показано, що органостабільні наночастинки ПС-золото можна отримати лише з використанням ПС-SH лігандами молекулярної маси  $M_n= 4500$  Да.
3. Інкапсуляцією в міцели DSPE-PEG2000 одержано наносистеми, що містять наночастинки золота, полістирол та фотосенсибілізатор хлорин-  $e_6$  .
4. Спектрально доведена наявність перенесення енергії в таких наносистемах між полістирольними ланцюгами та фотосенсибілізатором хлорин-  $e_6$  .

## Список літератури:

1. Kim Y. Van Berkel, Craig J. Hawker. Tailored Composite Polymer–Metal Nanoparticles by Miniemulsion Polymerization and Thiol-ene Functionalization (2009);
2. Zul Merican, Tara L. Schiller, Craig J. Hawker, Peter M. Fredericks, Idriss Blakey. Self-Assembly and Encoding of Polymer-Stabilized Gold Nanoparticles with Surface-Enhanced Raman Reporter Molecules (2007);
3. John Turkevich, Peter Cooper Stevenson, James Hillier. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold (1951);
4. F. M. A. Carpey, W. A. Cense. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions (1973);
5. James F Hainfeld, Daniel N Slatkin, Henry M Smilowitz. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice (2004);
6. Zheng, Y., Hunting, D. J., Ayotte, P. and Sanche, L. Radiosensitization of DNA by Gold Nanoparticles Irradiated with High-Energy Electrons (2008);
7. Frances Camille P. Masim, Hao-Li Liu, Matteo Porta, Tetsu Yonezawa, Armandas Balcytis, Saulius Juodkazis, Wei-Hung Hsu, Koji Hatanaka. Enhanced photoacoustics from gold nano-colloidal suspensions under femtosecond laser excitation (2016);
8. L. Wang, Photoacoustic Imaging and Spectroscopy (Taylor and Francis CRC, 2009);
9. J. Yao and L. V. Wang, “Sensitivity of photoacoustic microscopy,” *Photoacoustics* 2, 87–101 (2014);
10. A. De La Zerda, J. M. Kim, E. I. Galanzha, S. S. Ghambir, and V. P. Zharov, “Advanced contrast nanoagents for photoacoustic molecular imaging, cytometry, blood test and photothermal theranostics,” *Contrast Media Mol. Imaging* 6, 346–369 (2011);
11. V. P. Zharov and V. S. Letokhov, *Laser Optoacoustic Spectroscopy* (Springer, 1986);
12. Y. Yamaoka, H. Yoshinori, M. Sakakura, T. Minamikawa, S. Nishino, S. Maehara, S. Hamano, H. Tanaka, and T. Takamatsu, “Photoacoustic microscopy using ultrashort pulses with two different pulse durations,” *Opt. Express* 19(14), 13365–13377 (2014);

13. C. H. Fan, H. L. Liu, C. Y. Ting, Y. H. Lee, C. Y. Huang, Y. J. Ma, K. C. Wei, T. C. Yen, and C. K. Yeh, "Submicron-bubble-enhanced focused ultrasound for blood-brain barrier disruption and improved CNS drug delivery," *PLOS One* 5(9), e96327 (2014);
14. H. W. Yang, H. L. Liu, M. L. Li, I. W. Hsi, C. H. Fan, C. Y. Huang, Y. J. Lu, M. Y. Hua, H. Y. Chou, J. W. Liaw, C. C. Ma, and K. C. Wei, "Magnetic gold-nanorod / PNIPAAmMA nanoparticles for dual magnetic resonance and photoacoustic imaging and targeted photothermal therapy," *Biomaterials* 34, 5651–5660 (2013);
15. V. P. Zharov, "Ultrasharp nonlinear photothermal and photoacoustic resonances and holes beyond the spectral limit," *Nature Photonics* 5, 110–116 (2015);
16. T. Fukusawa, S. Noguchi, H. Shinto, H. Aoki, S. Ito, and S. Ohshima, "Effects of physicochemical properties of particles and medium on acoustic pressure pulses from laser-irradiated suspensions," *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 487, 42–48 (2015);
17. G. Langer, K. D. Bouchal, H. Grun, P. Burgholzer, and T. Berer, "Two-photon absorption-induced photoacoustic imaging of Rhodamine B dyed polyethylene spheres using a femtosecond laser," *Opt. Express* 19(21), 22410–22422 (2013);
18. Y. Yamaoka and T. Takamatsu, "Enhancement of multiphoton excitation-induced photoacoustic signals by using gold nanoparticles surrounded by fluorescent dyes," *Proc. SPIE* 7177, 71772A (2009);
19. Y. S. Chen, W. Frey, S. Kim, P. Kruizinga, K. Homan, and S. Emelianov, "Silica-coated gold nanorods as photoacoustic signal nanoamplifiers," *Nano Letters* 11, 348–354 (2011);
20. Y. S. Chen, W. Frey, S. Kim, K. Homan, P. Kruizinga, K. Sokolov, and S. Emelianov, "Enhanced thermal stability of silica-coated gold nanorods for photoacoustic imaging and image-guided therapy," *Opt. Express* 9(18), 8867–8878 (2013);
21. J. Liaw, S. W. Tsai, H. H. Lin, T. C. Yen, and B. R. Chen, "Wavelength-dependent Faraday-Tyndall effect on laser-induced microbubble in gold colloid," *J. Quantit. Spectr. Rad. Trans.* 113, 2234–2242 (2012);

- 22.C. Tarapacki, C. Kumaradas, and R. Karshafian, “Enhancing laser thermal-therapy using ultrasoundmicrobubbles and gold nanorods of in vitro cells,” *Ultrasonics* 53, 793–798 (2013);
- 23.V. K. Pustovalov, A. S. Smetannikov, and V. P. Zharov, “Photothermal and accompanied phenomena of selective nanophotothermolysis with gold nanoparticles and laser pulses,” *Laser Phys. Lett.* 5(11), 775–792 (2008);
- 24.L. Wang, C. -H. Liu, Y. Nemoto, N. Fukata, K. C. -Wu, and Y. Yamauchi, “Rapid synthesis of biocompatible gold nanoflowers with tailored surface textures with the assistance of amino acid molecules,” *RCS Advances* 2, 4608–4611 (2012);
- 25.B. P. Bastakoti, K. C. -W. Wu, and Y. Yamauchi, “Synthesis of fine gold nanoparticles in mesoporous titania nanoparticles through different reduction methods”, *J. Nanosci. Nanotechnol.* 13(4), 2735–2739 (2013);
- 26.Y. -T Liao, J. W. Chen, Y. Isida, T. Yonezawa, M. T. Nguyen, W. -C. Chang, S. M. Alshehri, Y. Yamauchi, and K. C. -W. Wu, “De novo synthesis of Au nanoparticles-embedded nitrogen-doped nanoporous carbon nanoparticles with enhanced reduction ability,” *Chem. Sus. Chem.* DOI:10.1002/cctc.201;
- 27.L. H. -W. Chen, C. -Y. Hong, C. -W. Kung, C. -Y. Mou, K. C. -W. Wu, and K. -C. Ho, “A gold surface plasmon enhanced mesoporous titanium dioxide photoelectrode for plastic based flexible dye-sensitized solar cells”, *J. Power Sources.* 288, 221–228 (2015);
- 28.Helen Willcock, Rachel K. O`Reilly. End group removal and modification of RAFT polymers (2009);
- 29.A. М. Торопцева, К. В. Белгородская, В. М. Бондаренко. Лабораторный практикум по химии и технологии высокомолекулярных соединений (1972).