



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2012 00483**

(22) Data de depozit: **29/06/2012**

(41) Data publicării cererii:
26/02/2016 BOPI nr. 2/2016

(71) Solicitant:
• **NEXT PHASE, PIAȚA CIPARIU NR. 51/1,**
CLUJ- APOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• **LEOPOLD NICOLAE,**
STR.POET GRIGORE ALEXANDRESCU
NR.12, AP.50, CLUJ- APOCA, CJ, RO;
• **STIUFIUC RAREȘ IONUȚ, STR.ZORILOR**
NR.40, AP.34, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• **VASILE CHIȘ, STR.ALMAȘULUI NR.5,**
AP.13, CLUJ- APOCA, CJ, RO;

• **DINA NICOLETA ELENA, STR.UNIRII**
NR.9, BL.D3, SC.B, AP.17, DEJ, CJ, RO;
• **BUJA OANA MARIA,**
STR.TUDOR VLADIMIRESCU NR.2,
VATRA DORNEI, SV, RO;
• **MARIȘCA OANA TEODORA,**
STR. UZA VODĂ NR.1, AP.114,
BAIA MARE, MM, RO

(74) Mandatar:
INVENTA - AGENȚIE UNIVERSITARĂ DE
INVENTICĂ S.R.L.,
B-DUL CORNELIU COPOSU NR.7, BL.104,
SC.2, AP.31, SECTOR 3, BUCUREȘTI

(54) SINTEZĂ DE NANOPARTICULE DE AUR UTILIZÂND POLIETILENGLICOL

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă pentru sinteza nanoparticulelor de aur, care utilizează polietilenglicol. Metoda conform invenției constă în reducerea unei soluții de sare de aur cu polietilenglicol, în care polietilenglicolul este combinat cu apă și hidroxid, apoi este încălzit, după care se adaugă soluție de sare de aur, care este lăsată să reacționeze cu polietilenglicolul, pentru a produce nanoparticule de aur.

Revendicări: 16
Figuri: 2

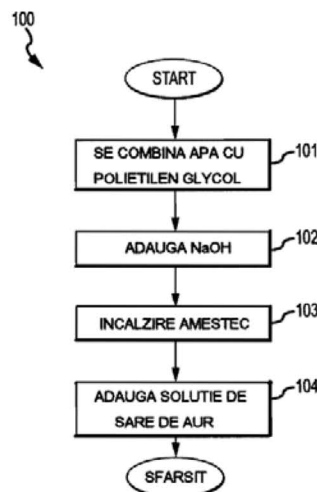


Fig. 1



SINTEZA DE NANOPARTICULE DE AUR UTILIZÂND POLIETILENGLICOL

DOMENIUL TEHNIC

Realizările descrise mai jos se referă la nanoparticule de aur, și mai ales, la o metodă pentru sinteza nanoparticulelor de aur care utilizează polietilen glicol.

CONTEXTUL INVENȚIEI

Nanoparticule de metal au câștigat un interes crescut din cauza proprietăților lor electronice și optice, care le fac ideale în domeniul fizicii, al științei materialelor, chimiei, biotehnologiei, și medicinei, de exemplu. Un tip de nanoparticulă de metal de interes special este nanoparticula de aur. Aurul este, în esență inert și netoxic sub forma vrac. Prin urmare, nanoparticule de aur, sunt de preferat în multe aplicații, cum ar fi detectarea biochimică, imagistica biologică, eliberarea medicamentelor și tratarea cancerului.

O aplicație tipică folosind nanoparticule de aur este spectroscopia prin împrăștiere Raman amplificată de suprafață (SERS). SERS este o metodă de spectroscopie, care este în general, cunoscută în stadiul tehnicii, și poate furniza informații moleculare specifice la sensibilități comparabile în prezent cu fluorescența. O altă aplicație utilizând nanoparticule de aur este în tratamentul cancerului în cazul în care nanoparticule de aur pot fi încălzite pentru a distruge celulele canceroase. Alte aplicații includ imagistica biologică și imagistica computer tomograf (CT). Noi aplicații pentru nanoparticule de aur sunt în continuu în curs de dezvoltare în numeroase domenii și, prin urmare, a existat un interes crescut în dezvoltarea de nanoparticule de aur.

Deși aurul vrac este, în general, considerat non-toxic, sunt în prezent unele controverse cu privire la toxicitatea nanoparticulelor de aur care, în general, depinde de dimensiunile fizice, chimia suprafeței, metoda de sinteză chimică, precum și forma nanoparticulelor de aur. Una dintre cele mai utilizate metode de a produce nanoparticule de aur pe scară largă folosește citrat trisodic ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), pentru a reduce sare de aur în formă de acid chlorauric (HAuCl_4) sau hidrat de tetrachloraurat de sodiu (III) (NaAuCl_4). Reacția reduce Au(III) la aur metalic. Utilizarea de citrat trisodic pentru a produce nanoparticule de aur a fost folosită în trecut și poate produce nanoparticule de aur, de diferite forme și dimensiuni și, prin urmare, a beneficiat de un oarecare succes în industrie. Cu toate acestea, utilizările

rezultatelor cu citrat trisodic într-o toxicitate mult mai mare pentru mai multe celule biologice sunt acceptabile în multe aplicații. Prin urmare, atunci când citrat trisodic este utilizat ca agent de reducere pentru a produce nanoparticule de aur, de multe ori este necesară o etapă secundară pentru a încerca să se elimine citrat trisodic (sau alte molecule legate de suprafață) pentru a produce o nanoparticulă de aur stabilă și biocompatibilă. De obicei încercări anterioare de a elimina citrat trisodic implică folosirea de polietilen glicol, care înlocuiește citrat trisodic cu polietilen glicol. Polietilen glicol este o condensare de polimeri de oxid de etilenă și apă, cu o formulă generală $H(OCH_2CH_2)_nOH$, în care n este numărul mediu de repetare a grupărilor oxietilenice. Cu toate acestea, utilizând polietilen glicol se poate elimina doar o parte din citrat trisodic. Prin urmare, în timp ce toxicitatea nanoparticulelor de aur este redusă, nanoparticulele de aur pot fi încă prea toxice pentru anumite aplicații. Mai mult, acest proces necesită două etape. În prima etapă, sarea de aur este redusă folosind citrat trisodic. În a doua etapă, este utilizat polietilen glicol pentru a elimina citrat trisodic pentru a produce nanoparticule de aur mai biocompatibile și stabilizate.

Prin urmare, există o necesitate în domeniu de a simplifica procesul de producere nanoparticule de aur biocompatibile stabilizate. Realizările descrise mai jos depășesc aceasta și alte probleme și se realizează un progres în domeniu. Realizările descrise mai jos pot produce nanoparticule de aur utilizând polietilen glicol ca un agent de reducere și de stabilizare. În consecință, producția de nanoparticule de aur este simplificată rezultând mai multe nanoparticule de aur biocompatibile stabilizate într-o perioadă de timp mai rapidă.

REZUMATUL INVENȚIEI

O metodă pentru a produce nanoparticule de aur, într-o soluție coloidală este prevăzută conform unei realizări. Conform unei realizări, metoda cuprinde o etapă de reducere a unei soluții de sare de aur utilizând polietilen glicol.

Nanoparticule de aur într-o soluție coloidală sunt produse conform cu o realizare. Nanoparticulele de aur sunt produse dintr-o soluție de sare de aur redusă cu polietilen glicol.

ASPECTE

Conform unui aspect, o metodă pentru producerea de nanoparticule de aur într-o soluție coloidală cuprinde o etapă de reducere a unei soluții de sare de aur utilizând polietilen glicol.

Preferabil, etapa de reducere cuprinde:

combinarea de polietilen glicol cu apă;

adăugarea de hidroxid la amestecul de polietilen glicol / apă

încălzirea amestecului; și

adăugarea soluției de sare de aur și permiterea soluției de sare de aur de a reacționa cu polietilen glicol

Preferabil, etapa de încălzire cuprinde fierberea amestecului.

Preferabil, etapa de încălzire cuprinde încălzirea cu microunde.

Preferabil, etapa de adăugare hidroxid cuprinde ajustarea concentrației de hidroxid pentru de a ajusta pH-ul amestecului.

Preferabil, etapa de adăugare a soluției de sare de aur cuprinde ajustarea concentrației soluției de sare de aur pentru a ajusta un diametru mediu al nanoparticulelor de aur.

Preferabil, etapa de combinare a polietilen glicolului cuprinde o ajustare a concentrației de polietilen glicol pentru a ajusta un diametru mediu al nanoparticulelor de aur.

Preferabil, etapa de adăugare a soluției de sare de aur cuprinde o ajustare a ratei de adăugare pentru a ajusta un diametru mediu de nanoparticule de aur.

Preferabil, etapa de combinare a polietilen glicolului cuprinde ajustarea ratei de adăugare pentru a ajusta un diametru mediu de nanoparticule de aur.

Preferabil, polietilen glicolul cuprinde polietilen glicol cu lanț scurt având o masă molară medie de aproximativ 200 g / mol.

Preferabil, polietilen glicolul cuprinde polietilen glicol cu lanț lung având o masă molară medie de aproximativ 8000 g / mol.

Conform unui alt aspect, nanoparticule de aur într-o soluție coloidală sunt produse dintr-o soluție de sare de aur redusă cu polietilen glicol.

Preferabil, soluția de sare de aur se adaugă la un amestec care cuprinde polietilen glicol, apă, și hidroxid.

Preferabil, amestecul este încălzit înainte de adăugarea soluției de sare de aur.

Preferabil, polietilen glicolul cuprinde un polietilenglicol cu lanț scurt având o masă molară medie de aproximativ 200 g / mol.

Preferabil, polietilen glicolul cuprinde un polietilenglicol cu lanț lung având o masă molară medie de aproximativ 8000 g / mol.

SCURTĂ DESCRIERE A DESENELOR

FIG. 1 prezintă o metodă de producere nanoparticule de aur dintr-o sare de aur și polietilen glicol.

FIG. 2 prezintă un grafic al valorilor extincției pentru diverse nanoparticule de aur.

DESCRIERE DETALIATĂ A INVENȚIEI

Figurile 1 - 2 și următoarea descriere prezintă exemple specifice, pentru a-i învăța pe cei calificați în domeniu cum să facă și să folosească cel mai bun mod de realizare a unei sinteze a nanoparticulelor de aur. În scopul predării de principii inventive, unele aspecte convenționale au fost simplificate sau omise. Cei calificați în domeniu vor aprecia variații de la aceste exemple, care intră în sfera de aplicare a prezentei descrierii. Cei calificați în domeniu vor aprecia faptul că pot fi combinate caracteristicile descrise mai jos în diverse moduri, pentru a forma mai multe variații de sinteză a nanoparticulelor de aur. Ca urmare, realizările descrise mai jos nu sunt limitate la exemple specifice descrise mai jos, ci doar de revendicari și echivalentele lor.

Realizările discutate de mai jos prevăd metode pentru producerea de nanoparticule de aur, prin reducerea de sare de aur cu polietilen glicol. Conform unei variante de realizare, reducerea poate avea loc în prezența unei soluții de hidroxid. Soluția de hidroxid descrisă mai jos folosește o soluție de hidroxid de sodiu. Cu toate acestea, cei calificați în domeniu vor recunoaște ușor că alte soluții de hidroxid pot fi folosite, cum ar fi de exemplu hidroxid de potasiu sau hidroxid de litiu. Prin urmare, realizarea de față nu ar trebui să se limiteze la hidroxid de sodiu. Conform unei realizări, reducerea poate avea loc de exemplu cu ajutorul unui polietilen glicol cu lanț scurt (masă molară 200 g / mol) sau cu un lanț mai lung (masă molară 8000 g / mol). Alte dimensiuni ale lanțurilor de polietilen glicol pot fi utilizate în mod similar și exemplele speciale prevăzute nu ar trebui, în nici un fel să limiteze sfera de aplicare a prezentelor realizări descrise. Conform unei realizări, dimensiunile speciale ale

29-06-2012

lanțului de polietilen glicol pot fi selectate pe baza unei biocompatibilități dorite. De exemplu, lanțuri de polietilen glicol având lungimi diferite pot oferi biocompatibilități diferite. Avantajos, variantele subliniate mai jos elimină utilizarea de citrat, ca agent de reducere și, prin urmare, simplifică producția de nanoparticule de aur la o singură etapă de sinteză.

FIG. 1 prezintă o metodă 100 de producere nanoparticule de aur, conform unei realizări. Cei calificați în domeniu vor recunoaște ușor modificări la metodele descrise în realizările care urmează, care intră în sfera de aplicare a revendicărilor. De exemplu, succesiunea specială a metodei descrise poate fi modificată fără a se îndepărta de la domeniul de aplicare al prezentei realizări. Metoda descrisă și reprezentată în fig. 1 poate produce nanoparticule de aur biocompatibile stabilizate dintr-o soluție de sare de aur, fără a necesita o etapă secundară de stabilizare. Mai mult, metoda descrisă mai jos produce aproximativ 100 ml de soluție coloidală de aur. Prin urmare, în timp ce sunt furnizate cantitățile specifice ale componentelor utilizate în producerea de soluție coloidală de aur, cei calificați în domeniu pot aprecia ușor că alte cantități pot fi utilizate rămânând în același timp în sfera de aplicare a prezentei realizări. Cei calificați în domeniu vor aprecia de asemenea ușor că variațiile în cantități și / sau concentrații ale diferitelor componente pot afecta dimensiunea de nanoparticule de aur produse în soluția coloidală de aur.

În etapa 101, apa este combinată cu o soluție de polietilen glicol. Conform unei realizări, aproximativ 98 ml de apă pot fi combinați cu aproximativ 600 μ l de polietilen glicol. Conform unei realizări apa conține apă ultrapură, care poate fi de exemplu triplu distilată. Polietilen glicolul poate conține polietilen glicol cu lanț scurt sau lung, de exemplu (masă molară 200 sau masă molară 8000). Cu toate acestea, alte dimensiuni de lanțuri pot fi utilizate. Așa cum se arată în fig. 2, diferitele lungimi de lanț pot produce diferite deplasări în lungimi de undă ale extincției nanoparticulelor de aur produse.

Deși amestecarea nu este prezentată ca o etapă separată în prezenta realizare, ar trebui să fie apreciat faptul că amestecul poate fi agitat pe tot parcursul procesului prezentat. În unele realizări, un agitator magnetic poate fi furnizat pentru a permite în mod substanțial amestecarea continuă.

În etapa 102, o soluție apoasă de hidroxid de sodiu se adaugă la amestecul apă / polietilen glicol. Conform unei realizări, se adaugă aproximativ 900 µl de soluție apoasă de hidroxid 1%.

În etapa 103, amestecul este încălzit. Conform unei realizări, amestecul poate fi încălzit la o temperatură de fierbere. De exemplu, placa de încălzire poate fi încălzită la aproximativ 175°C (347°F), pentru o perioadă predeterminată de timp. Potrivit unei realizări, amestecul se fierbe timp de aproximativ zece minute.

Potrivit unei realizări, amestecul poate fi amestecat într-un balon Erlenmeyer. Prin urmare, amestecul poate fi încălzit prin plasarea balonului pe o placă de încălzire. În o altă alternativă, amestecul poate fi încălzit cu microunde. În oricare situație, amestecul este adus preferabil la o temperatura de fierbere. Cu toate acestea, amestecul nu trebuie să fie adus la o temperatura de fierbere și temperaturi mai scăzute pot fi utilizate același timp în sfera de aplicare a prezentei realizări.

În etapa 104, o soluție de sare de aur poate fi adăugată la amestecul încălzit. Conform unei realizări, o soluție de sare de aur conține aproximativ 6 ml, la o concentrație de aproximativ 1g/50 ml. Soluția de sare de aur poate cuprinde o soluție de acid clorauric, o soluție de tetracloraurat de sodiu (III) hidrat, o soluție de tetracloraurat de potasiu (KAuCl_4), sau o altă soluție de sare de aur, care conține ioni de aur. Soluției de sare de aur i se permite să reacționeze cu polietilen glicol pentru a reduce soluția de sare de aur în nanoparticule de aur.

Potrivit unei realizări, soluția de sare de aur poate fi adăugată, picătură cu picătură. De exemplu, o soluție de sare de aur poate fi adăugată utilizând o seringă. Adăugarea soluției de sare de aur, picătură cu picătură poate duce la nanoparticule de aur mai mari în comparație cu adăugarea rapidă a soluției de sare de aur. De exemplu, într-un singur model de testare, adăugând soluția de sare de aur, cu o concentrație de 1g/50 ml picătură cu picătură a produs nanoparticule de aur conținând un diametru mediu de aproximativ 60 nm. În schimb, adăugând rapid soluția de sare de aur, cu o concentrație de aproximativ 1g/50 ml a dus la un diametru mediu de aproximativ 15 nm.

Ar trebui luat în calcul faptul că mai degrabă decât să fie creșcută concentrația pentru a obține nanoparticule de aur mai mici, soluția de sare de aur ar putea fi adăugată rapid, mai degrabă decât picătură cu picătură. O adăugare rapidă a unei concentrații mai mici în mod esențial ar adăuga aceeași cantitate de sare de aur la un moment dat, comparativ cu adăugarea lentă a unei soluții cu

concentrație mai mare. O adăugare rapidă a unei concentrații mai mici ar putea adăuga în esență, aceeași cantitate de sare de aur la un moment dat, în comparație cu o adăugare lentă a unei soluții de concentrație mai mare.

Prin urmare, oricare dintre aceste metode pot fi folosite pentru a ajusta dimensiunea nanoparticulelor de aur după cum se dorește. Prin urmare, cei calificați în domeniu pot aprecia că viteza și/sau concentrațiile componentelor pot fi modificate pentru a obține nanoparticule de aur, de dimensiuni diferite. În special, concentrația soluției de sare de aur, precum și concentrația de polietilen glicol pot fi controlate pentru a obține dimensiunea dorită a nanoparticulelor de aur. Alternativ, viteza cu care se adaugă soluția de sare de aur sau de polietilen glicol (dacă este adăugat, după soluția de sare de aur) poate fi controlată pentru a obține dimensiunea dorită a nanoparticulelor de aur. Potrivit unui realizări, nanoparticulele de aur au un diametru mediu aproximativ între 15-70 nm. În conformitate cu o altă realizare, nanoparticulele de aur au un diametru mediu aproximativ între 20-60 nm. Diametrul special al nanoparticulelor de aur nu ar trebui să limiteze în nici un fel domeniul de aplicare al prezentei realizări. Cu toate acestea, prin definiție, nanoparticulele de aur ar trebui să fie mai mici de 100 nm.

Conform unui realizări, după ce se adaugă soluția de sare de aur, amestecul poate fi încălzit continuu. De exemplu, într-o metodă caracteristică, amestecul se fierbe pentru încă cinci minute. După cum poate fi apreciat, încălzirea amestecului poate accelera reducerea și stabilizarea soluției de sare de aur.

Pe măsură ce soluția de sare de aur este redusă și stabilizată utilizând polietilen glicolul se obține o soluție coloidală de aur de culoare roșie. Culoarea roșie indică formarea de nanoparticule de aur. Utilizând cantitățile și concentrațiile de mai sus, soluția coloidală de aur are un pH în jur de 8. După cum cei calificați în domeniu pot aprecia, pH-ul poate fi ajustat prin ajustarea concentrației și / sau a cantității de hidroxid de sodiu adăugat.

În scopul de a demonstra morfologia coloizilor produși, a fost folosită spectroscopie UV-VIS.

FIG. 2 prezintă un grafic al extincției (u.a.), față de lungimea de undă pentru câteva soluții coloidale. Așa cum s-a arătat, soluția coloidală de nanoparticulele de aur cu cea mai mare extincție se observă a fi cu nanoparticulele de aur de dimensiuni de 60 nm, folosind ca agent de stabilizare și de reducere polietilen glicol cu lanț scurt (200). Pikul se vede la aproximativ 560 nm. Extincția pentru soluția de

nanoparticule de aur coloidal de 15 nm, produse din polietilen glicol cu lanț scurt (200) și polietilen glicol cu lanț lung (8000) are pikul în jurul valorii de 520 nm. Aceasta este aproape de pikul pentru soluția coloidală de nanoparticule de aur produse folosind citrat ca în stadiul tehnicii, care este la aproximativ 518 nm.

Realizările discutate mai sus prezintă o metodă nouă și îmbunătățită pentru producerea de nanoparticule de aur, care folosește polietilen glicol. Spre deosebire de metodele anterioare care au necesitat un proces în două etape, realizările descrise în prezent pot utiliza polietilen glicol pentru reducerea și stabilizarea unei soluții de sare de aur în nanoparticule de aur. Soluția coloidală de aur poate fi apoi utilizată pentru multe scopuri, cum este deja cunoscut în domeniu.

Descrierile detaliate ale realizărilor de mai sus nu sunt descrieri exhaustive ale tuturor realizărilor avute în vedere de către inventatori pentru a fi în domeniul de aplicare al prezentei descrieri. Într-adevăr, persoana calificată în domeniu va recunoaște faptul că anumite elemente ale realizărilor descrise mai sus pot fi combinate în mod diferit sau eliminate pentru a crea mai multe realizări, și astfel de alte realizări, intră în domeniul de aplicare și învățăturile prezentei descrieri. Va fi, de asemenea, evident pentru cei cu calificare obișnuită în domeniu, că realizările descrise mai sus pot fi combinate, în tot sau în parte, pentru a crea realizări suplimentare în domeniul de aplicare și învățăturile din prezenta descriere.

Astfel, deși realizări specifice sunt descrise aici în scopuri ilustrative, diverse modificări echivalente sunt posibile în scopul prezentei descrieri, pe care cei calificați în domeniu le vor recunoaște. Învățăturile prevăzute aici pot fi aplicate la alte sinteze, și nu doar la realizările descrise mai sus și arătate în figurile însoțitoare. În consecință, domeniul de aplicare al realizărilor descrise mai sus ar trebui să fie determinat de următoarele revendicări.

REVENDICĂRI

Noi revendicăm:

1. O metodă pentru producerea de nanoparticule de aur într-o soluție coloidală, care cuprinde o etapă de:

reducere a unei soluții de sare de aur cu polietilen glicol.

2. Metoda conform revendicării 1, caracterizată prin aceea că etapa de reducere cuprinde:

combinarea polietilen glicol cu apă;

adăugarea de hidroxid la amestecul de polietilen glicol / apă;

încălzire amestec; și

adăugarea soluției de sare de aur și permiterea soluției de sare de aur de a reacționa cu polietilen glicol.

3. Metoda conform revendicării 2, caracterizată prin aceea că etapa de încălzire cuprinde fierberea amestecului.

4. Metoda conform revendicării 2, caracterizată prin aceea că etapa de încălzire cuprinde încălzirea la microunde .

5. Metoda conform revendicării 2, caracterizată prin aceea că etapa de adăugare de hidroxid cuprinde ajustarea unei concentrații de hidroxid pentru a ajusta pH-ul amestecului.

6. Metoda conform revendicării 2, caracterizată prin aceea că etapa de adăugare a soluției de sare de aur cuprinde ajustarea concentrației de soluție de sare de aur pentru a ajusta un diametru mediu al nanoparticulelor de aur.

7. Metoda conform revendicării 2, caracterizată prin aceea că etapa de combinare a polietilen glicolului cuprinde ajustarea unei concentrații de polietilen glicol pentru a ajusta un diametru mediu al nanoparticulelor de aur.

8. Metoda conform revendicării 2, caracterizată prin aceea că etapa de adăugare a soluției de sare de aur cuprinde o rată de adăugare pentru a ajusta un diametru mediu al nanoparticulelor de aur.

9. Metoda conform revendicării 2, caracterizată prin aceea că etapa de combinare a polietilen glicolului cuprinde ajustarea unei rate de combinare pentru a ajusta un diametru mediu al nanoparticulelor de aur.
10. Metoda conform revendicării 1, caracterizată prin aceea că polietilen glicolul cuprinde polietilen glicol cu lanț scurt având o masă medie molară de aproximativ 200 g / mol.
11. Metoda conform revendicării 1, caracterizată prin aceea că polietilen glicolul cuprinde polietilen glicol cu lanț lung având o masă medie molară de aproximativ 8000 g / mol.
12. Nanoparticule de aur într-o soluție coloidală, produse dintr-o soluție de sare de aur redusă cu polietilen glicol.
13. Nanoparticulele de aur conform revendicării 12, caracterizate prin aceea că soluția de sare de aur se adaugă la un amestec care cuprinde polietilen glicol, apă, și hidroxid.
14. Nanoparticulele de aur conform revendicării 13, caracterizate prin aceea că, amestecul este încălzit înainte de adăugarea soluției de sare de aur.
15. Nanoparticulele de aur conform revendicării 12, caracterizate prin aceea că polietilen glicolul cuprinde un polietilen glicol cu lanț scurt având o masă medie molară de aproximativ 200 g / mol.
16. Nanoparticulele de aur conform revendicării 12, caracterizate prin aceea că polietilen glicolul cuprinde polietilenglicol cu un lanț lung având o masă medie molară de aproximativ 8000 g / mol.

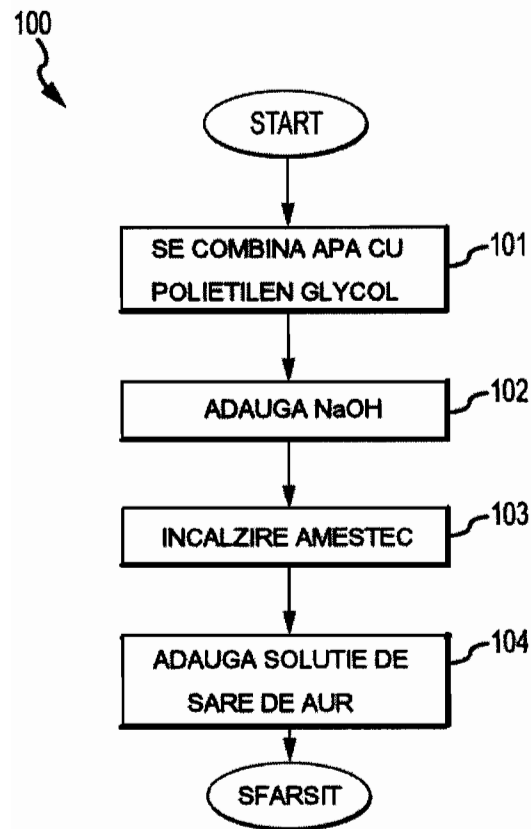


FIG. 1

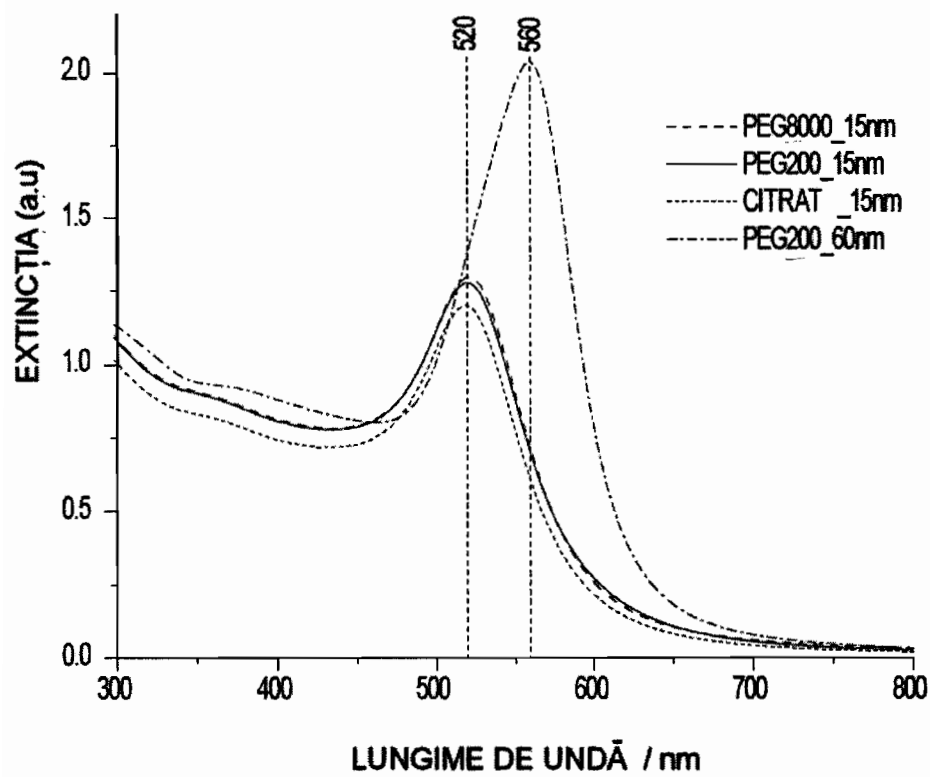


FIG. 2