



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**« ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ ΚΑΙ ΟΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ »**

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

**ρΗ-Αποκρινόμενα Τυχαία Συμπολυμερή P(OEGMA-co-DIPAEMA): Σύνθεση, Αυτο-οργάνωση σε Υδατικά Διαλύματα και Εγκλωβισμός Φαρμάκου**

**ΦΙΛΙΠΠΙΔΗΣ ΧΡΗΣΤΟΣ**

**ΧΗΜΙΚΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2020**



## **ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

ρΗ-Αποκρινόμενα Τυχαία Συμπολυμερή P(OEGMA-co-DIPAEMA):  
Σύνθεση, Αυτο-οργάνωση σε Υδατικά Διαλύματα και Εγκλωβισμός Φαρμάκου

**ΧΡΗΣΤΟΣ ΦΙΛΙΠΠΙΔΗΣ**

**A.M.: 181017**

### **ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:**

Μαρίνος Πιτσικάλης, Καθηγητής Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

### **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

Μαρίνος Πιτσικάλης, Καθηγητής Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

Ερμόλαος Ιατρού, Καθηγητής Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

Αστέριος Πίσπας, Διευθυντής Ερευνών, Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας,  
Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών

**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ**

17/02/2020



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τυχαία συμπολυμερή έχουν ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον λόγω της γρήγορης και εύκολης παρασκευής τους συγκριτικά με τα κατά συστάδες, καθώς και της ικανότητάς τους να αυτο-οργανώνονται σε υδατικά διαλύματα. Τα αποκρινόμενα σε ερεθίσματα αμφίφιλα τυχαία συμπολυμερή παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον όσο αφορά τη σύνθεση, την αυτο-οργάνωση σε υδατικά διαλύματα και τις εφαρμογές μεταφοράς φαρμάκων. Ο πολυ(μεθακρυλικός 2-(διισοπροπυλάμινο) αιθυλεστέρας) (PDIPAEMA) είναι ένα βιοσυμβατό πολυμερές με pH-αποκρισιμότητα στην περιοχή pH 6.2-6.4, παρόμοιο με αυτό στην επιφάνεια των εξωκυτταρικών ιστών των καρκινικών κυττάρων, κάτι που το καθιστά ελκυστικό για εφαρμογές μεταφοράς φαρμάκων στους ιστούς αυτούς του ανθρώπινου σώματος. Η παρούσα εργασία αφορά τη σύνθεση pH-αποκρινόμενων αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών πολυ(μεθακρυλικός εστέρας της ολιγο αιθυλενογλυκόλης)-co-μεθακρυλικός 2-(δι-ισοπροπυλάμινο αιθυλεστέρας) (poly[(oligo ethylene glycol) methyl ether methacrylate-co-(2-(diisopropylamino) ethyl methacrylate)] (P(OEGMA-co-DIPAEMA)) μέσω της τεχνικής πολυμερισμού αντιστρεπτής προσθήκης-μεταφοράς αλυσίδας με απόσπαση (Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization, RAFT). Ο μοριακός χαρακτηρισμός των πολυμερών έγινε με χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (SEC) και φασματοσκοπικές μεθόδους (<sup>1</sup>H-NMR και FT-IR). Στη συνέχεια, εξετάστηκε η ικανότητα αυτο-οργάνωσης των τυχαίων συμπολυμερών σε νανοδομές σε υδατικά μέσα. Οι ιδιότητες της αυτο-οργάνωσής τους μελετήθηκαν σαν συνάρτηση μεταβολών στο pH με τη χρήση των μεθόδων σκέδασης φωτός (DLS, SLS, ELS) και την μέθοδο φασματοσκοπίας φθορισμού (FS). Τέλος, εγκλωβίστηκε κουρκουμίνη στον υδρόφοβο πυρήνα των νανοδομών τυχαίων συμπολυμερών και οι προκύπτουσες νέες νανοδομές μελετήθηκαν με ένα σύνολο τεχνικών, συμπεριλαμβάνοντας τη στατική, δυναμική σκέδαση φωτός (SLS, DLS) καθώς και τη φασματοσκοπία UV-Vis και FTIR, οι οποίες έδωσαν πληροφορίες για το μέγεθος και τη δομή των νανοφορέων και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του φαρμάκου και των συστατικών των τυχαίων συμπολυμερών.

**ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ:** Σύνθεση, χαρακτηρισμός, αυτο-οργάνωση, συμπολυμερή

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:** Αμφίφιλα τυχαία συμπολυμερή, πολυμερισμός RAFT, νανοφορείς, εγκλωβισμός φαρμάκου

## ABSTRACT

Random copolymers are of particular scientific interest because of their fast and easy preparation compared to block copolymers and their ability to self-organize in aqueous solutions. Amphiphilic random stimulus-responsive copolymers are of great interest for synthesis, self-organization in aqueous solutions and drug delivery applications. Poly (2-(diisopropylamino) ethyl methacrylate) (PDIPAEMA) is a biocompatible polymer with a pH response in the range of 6.2-6.4, pH similar to that on the surface of extracellular tissue of cancer cells, which makes it attractive to drug applications in the human body. The present work concerns the synthesis of amorphous random copolymers of poly[(oligo ethylene glycol) methyl ether methacrylate-co-(2-(di isopropylamino) ethyl methacrylate)] (P(OEGMA-co-DIPAEMA)) by reversible addition chain transfer polymerization technique (RAFT). Molecular characterization of the copolymers was achieved by size exclusion chromatography (SEC) and spectroscopic methods (<sup>1</sup>H-NMR and FTIR). The ability of the random copolymers for self-organization in aqueous solutions was investigated by as a function of pH changes using light scattering methods (DLS, SLS, ELS) and fluorescence spectroscopy (FS). Finally, curcumin was encapsulated in the hydrophobic core of random copolymer aggregates and the resulting novel nanostructures were studied by a variety of techniques, including static and dynamic light scattering (SLS, DLS), FTIR and UV-Vis spectroscopy, which provided information on the structure of the nanoparticles and the existing interactions between the drug and the random copolymer component.

**SUBJECT AREA:** Polymer synthesis, characterization, self-assembly

**KEYWORDS:** Amphiphilic random copolymers, RAFT polymerization, nanocarriers, drug encapsulation

**Αφιερωμένο στην οικογένειά μου**

**Σας ευχαριστώ...**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εργασία εκπονήθηκε στο Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Δρ. Αστέριο Πίσπα, Διευθυντή Ερευνών στο Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών για την αρμονική συνεργασία, την πολύτιμη συμβολή, καθοδήγηση και υποστήριξή του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας ερευνητικής εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέπων μου Δρ. Μαρίνο Πιτσικάλη, τον Δρ. Ερμόλαο Ιατρού καθώς και όλους του διδάσκοντες του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Επιστήμη Πολυμερών και Εφαρμογές της στην Βιομηχανία» για τις πολύτιμες γνώσεις που αποκόμισα παρακολουθώντας το πρόγραμμα.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην υποψήφια διδάκτορα Μάρθα Καφετζή για την πολύτιμη βοήθεια, καθοδήγηση και συμπαράστασή της κατά την διάρκεια της εργασίας μου καθώς και την υποψήφια διδάκτορα Βαρβάρα Χρυσοστόμου για την εξίσου σημαντική βοήθειά της.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους ερευνητές του Ινστιτούτου Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών, καθώς και τους διδακτορικούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές του Ινστιτούτου για τις πολύτιμες συμβουλές τους και το ευχάριστο περιβάλλον εργασίας.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στην οικογένεια μου για τις θυσίες που πραγματοποιούν προκειμένου να εκπληρώνω τα όνειρά μου, στους φίλους μου και ιδιαίτερα στην Νίκη Μανουρά που με στήριξαν και μου συμπαραστάθηκαν στον απόλυτο βαθμό όλη αυτή τη περίοδο.



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	<b>17</b>
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 - ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	<b>19</b>
1.1 Αμφίφιλα συμπολυμερή .....	19
1.2 Αυτο-οργάνωση αμφίφυλων συμπολυμερών .....	21
1.2.1 Αυτο-οργάνωση των αμφίφυλων τυχαίων συμπολυμερών .....	21
1.2.2 Τρόποι παρασκευής μικκυλίων από αμφίφιλα συμπολυμερή .....	23
1.3 Πολυηλεκτρολύτες.....	24
1.4 Αποκρίσμα πολυμερή .....	26
1.4.1 pH-Αποκρινόμενα πολυμερή .....	28
1.5 Εγκλωβισμός Φαρμακευτικών Ουσιών σε πολυμερικά μικκύλια.....	31
1.6 Κουρκουμίνη .....	34
1.7 Πολυμερισμός Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση (RAFT Polymerization).....	35
1.7.1 Έλεγχος Μοριακού Βάρους στον Πολυμερισμό RAFT .....	38
1.7.2 Επιλογή Κατάλληλου CTA .....	39
1.8 Σκοπός της παρούσας εργασίας.....	40
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 - ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ</b> .....	<b>41</b>
2.1 Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (SEC) .....	41
2.2 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR).....	44
2.3 Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR) .....	47
2.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού (FS) .....	51
2.5 Φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) .....	52
2.6 Σκέδαση φωτός(LS) .....	54
2.6.2 Στατική Σκέδαση Φωτός (SLS).....	58
2.6.3 Ηλεκτροφορητική Σκέδαση φωτός (ELS)-ζ-δυναμικό.....	61

<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 - ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....</b>	<b>65</b>
3.1 Υλικά και Αντιδραστήρια .....	65
3.2 Οργανολογία και Μέθοδοι Χαρακτηρισμού.....	66
3.3 Σύνθεση P(OEGMA-co-DIPAEMA).....	68
3.4 Αυτο-οργάνωση των P(OEGMA-co-DIPAEMA) σε υδατικά διαλύματα .....	70
3.5 Εγκλωβισμός κourκουμίνης στα νανοσωματίδια των P(OEGMA-co-DIPAEMA).....	71
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>73</b>
4.2 Μοριακός χαρακτηρισμός των P(OEGMA-co-DIPAEMA).....	74
4.3 Μοριακός - Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των συσσωματωμάτων συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA) .....	82
4.4 Εγκλωβισμός κourκουμίνης στα συσσωματώματα των P(OEGMA-co-DIPAEMA) .....	107
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>119</b>
<b>ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ .....</b>	<b>121</b>
<b>ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ .....</b>	<b>122</b>
<b>ΑΝΑΦΟΡΕΣ .....</b>	<b>124</b>

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 4.1: Συνθετική πορεία παρασκευής αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) και P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA).....	74
Σχήμα 4.2: Χρωματογράφημα SEC συμπολυμερούς P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 1.....	76
Σχήμα 4.3: Χρωματογράφημα SEC συμπολυμερούς P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 2.....	76
Σχήμα 4.4: Χρωματογράφημα SEC συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 1 πριν και μετά τη μέθοδο dialysis .....	77
Σχήμα 4.5: Χρωματογράφημα SEC συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 2 πριν και μετά τη μέθοδο dialysis .....	77
Σχήμα 4.6: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του τυχαίου συμπολυμερούς P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-1 σε $\text{CDCl}_3$ .....	78
Σχήμα 4.7: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του τυχαίου συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-1 σε $\text{CDCl}_3$ .....	79
Σχήμα 4.8: Φάσμα ATR-FTIR του τυχαίου συμπολυμερούς P(OEGMA)(500)-co-DIPAEMA)-1.....	81
Σχήμα 4.9: Ενδεικτικά φάσματα εκπομπής πυρενίου για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 42/58 σε pH 3, 7.4 και 10.....	84
Σχήμα 4.10: Ενδεικτικά φάσματα εκπομπής πυρενίου για το συμπολυμερές P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 37/63 σε pH 3, 7.4 και 10 .....	85
Σχήμα 4.11: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών $I_1/I_3$ του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58 σε pH 7.4 .....	87
Σχήμα 4.12: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών $I_1/I_3$ του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58 σε pH 10 .....	87
Σχήμα 4.13: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών $I_1/I_3$ του πυρενίου συναρτήσει	

συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38 σε pH 7.4 .....	88
Σχήμα 4.14: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών I1/I3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38 σε pH 10 .....	88
Σχήμα 4.15: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών I1/I3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 σε pH 10 .....	89
Σχήμα 4.16: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών I1/I3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 σε pH 10 .....	89
Σχήμα 4.17: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών I1 / I3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 σε pH 7.4 .....	90
Σχήμα 4.18: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών I1 / I3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 σε pH 10 .....	90
Σχήμα 4.19: Διάγραμμα εξάρτησης της έντασης σκεδάσεως, I, από τη μεταβολή του pH για τα διαλύματα όλων των συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA) .....	95
Σχήμα 4.20: Συγκριτικό διάγραμμα μεταβολής της υδροδυναμικής ακτίνας, Rh , συναρτήσει του pH για τα διαλύματα όλων των συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA) .....	95
Σχήμα 4.21: Διαγράμματα CONTIN για το δείγμα P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 42/58 σε συγκέντρωση $c=1 \times 10^{-3}$ g/ml για pH 3, 7.4 και 10 .....	100
Σχήμα 4.22: Διαγράμματα CONTIN για το δείγμα P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 62/38 σε συγκέντρωση $c=1 \times 10^{-3}$ g/ml για pH 3, 7.4 και 10 .....	102
Σχήμα 4.23: Διαγράμματα CONTIN για το δείγμα P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 58/42 σε συγκέντρωση $c=1 \times 10^{-3}$ g/ml για pH 3, 7.4 και 10 .....	103
Σχήμα 4.24: Διαγράμματα CONTIN για το δείγμα P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 37/63 σε	

συγκέντρωση $c=1 \times 10^{-3}$ g/ml για pH 3, 7.4 και 10.....	104
Σχήμα 4.25: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58 πριν και μετά τον εγκλωβισμό CUR .....	112
Σχήμα 4.26: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 πριν και μετά τον εγκλωβισμό CUR .....	113
Σχήμα 4.27: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 παρουσία διαφορετικών ποσοστών εγκλωβισμένης CUR.....	113
Σχήμα 4.28: Φάσματα απορρόφησης UV-VIS για τα μικτά συσσωματώματα P(OEGMA-co-DIPAEMA) 37/63-CUR.....	116
Σχήμα 4.29: Καμπύλη αναφοράς της κουρκουμίνης σε ακετόνη.....	117

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Σχηματική απεικόνιση μερικών εκ των κυριότερων δομών συμπολυμερών από δύο διαφορετικές δομικές μονάδες.....	20
Εικόνα 1.2: Σχηματική αναπαράσταση πιθανών δομών αυτοοργάνωσης τυχαίων αμφίφυλων συμπολυμερών .....	22
Εικόνα 1.3: Σχηματική αναπαράσταση ενός ανιοντικού πολυηλεκτρολύτη .....	24
Εικόνα 1.4: Σχηματική αναπαράσταση διαφορετικών δομών μικκυλίων ανάλογα με την αποκρισημότητα διαφορετικά ερεθίσματα .....	27
Εικόνα 1.5: Μεταβολές πρωτονίων ιονιζόμενων ομάδων σε τυπικά ανιονικά (PMMA) ή κατιονικά (PDPAEMA) πολυμερή που αποκρίνονται στο pH με αποτέλεσμα αλυσιδωτή διαμόρφωση, διαλυτότητα ή μεταβολές όγκου σε υδατικά διαλύματα .....	29
Εικόνα 1.6: Εγκλωβισμός φαρμακού από αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες σε υδατικό διάλυμα .....	33
Εικόνα 1.7: Χημική δομή κουρκουμίνης Χρώμα: Άνθρακας, C: μαύρο Υδρογόνο, H: λευκό Οξυγόνο, O: κόκκινο .....	34
Εικόνα 2.1: Σχηματική αναπαράσταση του διαχωρισμού ενός αραιού πολυμερικού διαλύματος με χρήση της χρωματογραφίας SEC.....	42
Εικόνα 2.2: Σχηματική αναπαράσταση οργανολογίας SEC .....	43
Εικόνα 2.3: Οργανολογία φασματομέτρου NMR.....	45
Εικόνα 2.4: Βασικοί τύποι δονήσεων τάσης και κάμψης των μοριακών δομών στην IR φασματοσκοπία .....	49
Εικόνα 2.5: Σχηματική διάταξη του τρόπου λειτουργίας ενός τυπικού φασματοφωτομέτρου FT-IR.....	50
Εικόνα 2.6: Απλοποιημένο διάγραμμα, το οποίο αναπαριστά σχηματικά τις διαδικασίες διέγερσης, δονητικής επαναφοράς και αποδιέγερσης.....	52

Εικόνα 2.7: Απλουστευμένη σχηματική απεικόνιση φασματοφωτομέτρου UV-Vis .....	54
Εικόνα 2.8: Σχηματική διάταξη της δυναμικής σκέδασης φωτός .....	57
Εικόνα 2.9: Διάγραμμα Zimm.....	60
Εικόνα 2.10: Ένα αρνητικά φορτισμένο σκληρό σωματίδιο, ένα φορτισμένο σωματίδιο με παχύ αρνητικά φορτισμένο στρώμα πολυηλεκτρολύτη και ένα φορτισμένο σωματίδιο με λεπτή αρνητικά φορτισμένη στιβάδα πολυηλεκτρολύτη, που δείχνει την κατανομή φορτίου .....	63
Εικόνα 4.1: Σταθερά δείγματα όλων των ποσοστών εγκλωβισμού που δοκιμάστηκαν απο 10% μέχρι 70% από αριστερά προς τα δεξιά.....	110
Εικόνα 4.2: Κολλοειδώς σταθερά διάλυμα (αριστερά, μέση), διάλυμα χωρίς κολλοειδή σταθερότητα (δεξιά) .....	110

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 4.1: Μοριακά χαρακτηριστικά P(OEGMA-co-DIPAEMA).....	80
Πίνακας 4.2: Λόγοι $I_1/I_3$ για τα δείγματα P(OEGMA-co-DIPAEMA) σε pH 3, 7.4 και 10.....	86
Πίνακας 4.3: Αποτελέσματα εύρεσης CAC των P(OEGMA-co-DIPAEMA) με φασματοσκοπία φθορισμού .....	91
Πίνακας 4.4: Αποτελέσματα μετρήσεων δυναμικής σκέδασης φωτός για όλα τα δείγματα P(OEGMA-co-DIPAEMA).....	94
Πίνακας 4.5: Αποτελέσματα ζ-δυναμικού μέσω ELS.....	106
Πίνακας 4.6: Αποτελέσματα ποσοστών εγκλωβισμού κουρκουμίνης (%w/w) στα δείγματα P(OEGMA-co-DIPAEMA).....	108
Πίνακας 4.7: Αποτελέσματα μετρήσεων δυναμικής σκέδασης φωτός σε δείγματα με κουρκουμίνη.....	111
Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα λόγου $R_g/R_h$ από μετρήσεις στατικής σκέδασης φωτός ..... σε δείγματα με κουρκουμίνη.....	115
Πίνακας 4.9: Αποτελέσματα υπολογισμού απόδοσης εγκλωβισμού της κουρκουμίνης για τα δείγματα P(OEGMA-co-DIPAEMA).....	117



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματεύεται τη σύνθεση αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών με τη χρήση της τεχνικής πολυμερισμού RAFT, το μοριακό τους χαρακτηρισμό και τη μελέτη της αυτο-οργάνωσής τους σε υδατικά διαλύματα. Στο πρώτο κεφάλαιο παρουσιάζονται βασικές πληροφορίες για τα αμφίφιλα τυχαία συμπολυμερή καθώς και τα pH-αποκρινόμενα συμπολυμερή, τις ιδιότητες αυτο-οργάνωσής τους σε υδατικά διαλύματα και περιγράφεται αναλυτικά η μεθοδολογία του ζωντανού/ελεγχόμενου πολυμερισμού RAFT. Στο τέλος του πρώτου κεφαλαίου παρουσιάζεται ο σκοπός της εργασίας μου.

Στο δεύτερο κεφάλαιο αναπτύσσονται οι αρχές λειτουργίας και διατάξεις των τεχνικών ενόργανης ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη και τον χαρακτηρισμό των υλικών που παρασκευάστηκαν.

Στο τρίτο κεφάλαιο περιγράφεται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε για τη παρασκευή των συμπολυμερών καθώς και τον χαρακτηρισμό τους. Στο τέταρτο κεφάλαιο γίνεται η παρουσίαση και η συζήτηση των αποτελεσμάτων που εξήχθησαν, παραθέτοντας τα αντίστοιχα διαγράμματα, σχήματα, εικόνες και πίνακες για την σωστή ανάλυσή τους. Το τελευταίο κεφάλαιο αναφέρεται στα συμπεράσματα που αποκομίσθησαν κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων και την ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Όλα τα πειράματα διεξήχθησαν στο Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών.



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

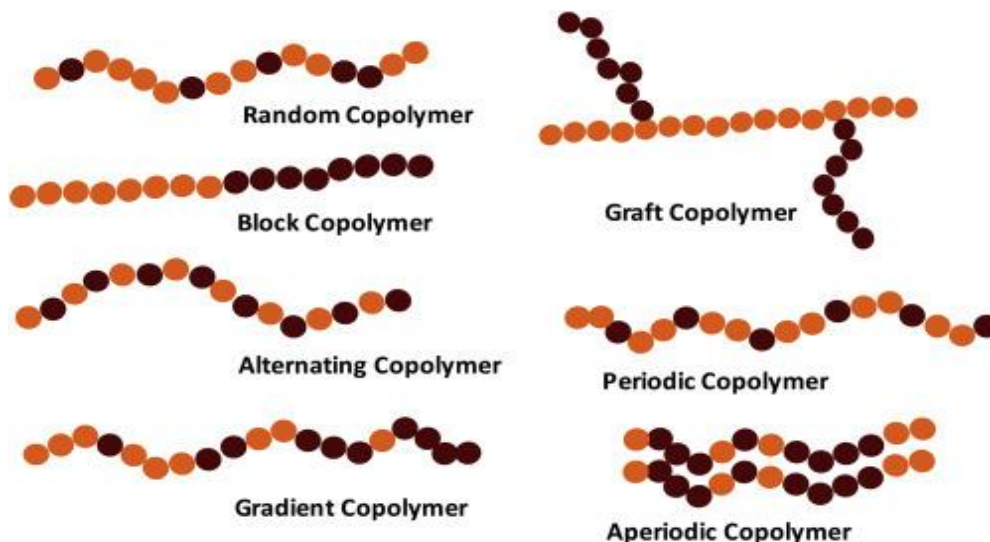
## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Αμφίφιλα συμπολυμερή

*Πολυμερές* είναι ένα μακρομόριο το οποίο αποτελείται από ένα μεγάλο αριθμό επαναλαμβανόμενων μονάδων, *τα μονερή*, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με ομοιοπολικό δεσμό. [1] Σημαντικά πολυμερή όπως το DNA, οι πρωτεΐνες, η κυτταρίνη μας τα έχει δώσει η ίδια η φύση, ενώ πολύ περισσότερα όπως το πολυστυρένιο, το πολυαιθυλένιο παράγονται μόνο μέσω συνθετικών διαδικασιών. Σε μερικές περιπτώσεις, πολυμερή τα οποία προέρχονται από τη φύση μπορούν επίσης να παραχθούν συνθετικά. Συχνά, είναι δυνατή η απόκτηση πολυμερών με καινούργιες και επιθυμητές ιδιότητες μέσω της σύνδεσης διαφορετικών μονομερών ή επαναλαμβανόμενων ομάδων, κατά τη διάρκεια του πολυμερισμού. Πολυμερή που έχουν δύο διαφορετικές επαναλαμβανόμενες ομάδες στην αλυσίδα τους ονομάζονται *συμπολυμερή (copolymers)*, ενώ όπου υπάρχουν τρεις επαναλαμβανόμενες ομάδες, οι οποίες διαφέρουν χημικώς μεταξύ τους, το πολυμερές που προκύπτει ονομάζεται *τριπολυμερές (terpolymer)*. Όταν τα διαφορετικά είδη επαναλαμβανόμενων μονάδων εντοπίζονται σε διακριτές συστάδες (*blocks*) κατά μήκος της πολυμερικής αλυσίδας το συμπολυμερές ή το τριπολυμερές ονομάζεται *δισυσταδικό συμπολυμερές (diblock copolymer)* ή κατά συστάδες τριπολυμερές (*triblock terpolymer*). Στην περίπτωση που οι δομικές μονάδες του πολυμερούς είναι τυχαία κατανεμημένες κατά μήκος της αλυσίδας, το πολυμερές ονομάζεται *τυχαίο ή στατιστικό (random ή statistical)*. (*Εικόνα 1.1*) [2] Τα δισυσταδικά ή τρισυσταδικά συμπολυμερή διατηρούν τις ιδιότητες των συστατικών ομοπολυμερικών συστάδων πολύ καλύτερα από τα αντίστοιχα τυχαία συμπολυμερή, όπου τα δύο ή τρία είδη μονομερών είναι τυχαία κατανεμημένα κατά μήκος της πολυμερικής αλυσίδας. Σε αυτή την περίπτωση οι ιδιότητες που εμφανίζει το τυχαίο συμπολυμερές είναι συνδυασμός των ιδιοτήτων των συστατικών μονομερών ομάδων. Άλλες κατηγορίες συμπολυμερών είναι τα εμβολιασμένα συμπολυμερή και τα αστεροειδή. Όταν

τα συμπολυμερή αποτελούνται από μονομερικές ομάδες οι οποίες διαλύονται σε διαφορετικούς διαλύτες, τότε ονομάζονται *αμφίφιλα (amphiphilic copolymers)*. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αμφίφιλα συμπολυμερή που αποτελούνται από υδρόφοβα και υδρόφιλα μονομερή.

Τα συμπολυμερή αυτά παρουσιάζουν πολλές ιδιαιτερότητες, αλλά και δυσκολίες στη σύνθεσή τους, λόγω της δυσκολίας εύρεσης κοινών διαλυτών.



**Εικόνα 1.1: Σχηματική απεικόνιση μερικών εκ των κυριότερων δομών συμπολυμερών από δύο διαφορετικές δομικές μονάδες**

Το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για αυτά τα πολυμερή οφείλεται στις ενδιαφέρουσες ιδιότητές τους, οι οποίες καθορίζονται από τη μοριακή δομή τους και τα καθιστούν ελκυστικά σε όλους τους τομείς της επιστήμης, αλλά και της βιομηχανίας. Η ασυμβατότητα των συστάδων μεταξύ τους έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενδιαφέρουσων μορφολογιών σε στερεή κατάσταση ή σε διάλυμα. Σε διαλύματα, η πιο χαρακτηριστική ιδιότητά τους είναι αυτή της αυτο-οργάνωσης η οποία οδηγεί στο σχηματισμό οργανωμένων νανοδομών, συνήθως μικκυλίων, ανάλογα με το διαλύτη στον οποίο είναι διαλυμένα. Οι εφαρμογές που βρίσκουν τα συμπολυμερή αυτά είναι ποικίλες. Συνήθως χρησιμοποιούνται σαν νανοφορείς, γαλακτωματοποιητές, μέσα διασποράς, τροποποιητές επιφανειών και ρυθμιστές ιζώδους.[3]

Τα τελευταία χρόνια οι ερευνητικές ομάδες έχουν στρέψει το ενδιαφέρον τους στα αμφίφιλα τυχαία συμπολυμερή (amphiphilic random copolymers), λόγω των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν σε σύγκριση με τα αμφίφιλα

συσταδικά πολυμερή. Αρχικά, σε αντίθεση με τα συσταδικά συμπολυμερή που προκειμένου να συντεθούν απαιτούν πολυμερισμό μέσω πολλών σταδίων, τα τυχαία συμπολυμερή μπορούν να παρασκευαστούν με τον συμπολυμερισμό δυο διαφορετικών μονομερών, σε ένα μόνο στάδιο. [4] Ο γρήγορος και εύκολος τρόπος πολυμερισμού των αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών τα κάνει ιδιαίτερα ελκυστικά για την παραγωγή τους σε βιομηχανική κλίμακα. Επιπρόσθετα, τα αμφίφιλα τυχαία συμπολυμερή όταν αυτο-οργανώνονται σε διαλύματα σχηματίζουν ιδιαίτερες νανο-δομές που αξίζει να μελετηθούν εκτενέστερα. [4]

## **1.2 Αυτο-οργάνωση αμφίφιλων συμπολυμερών**

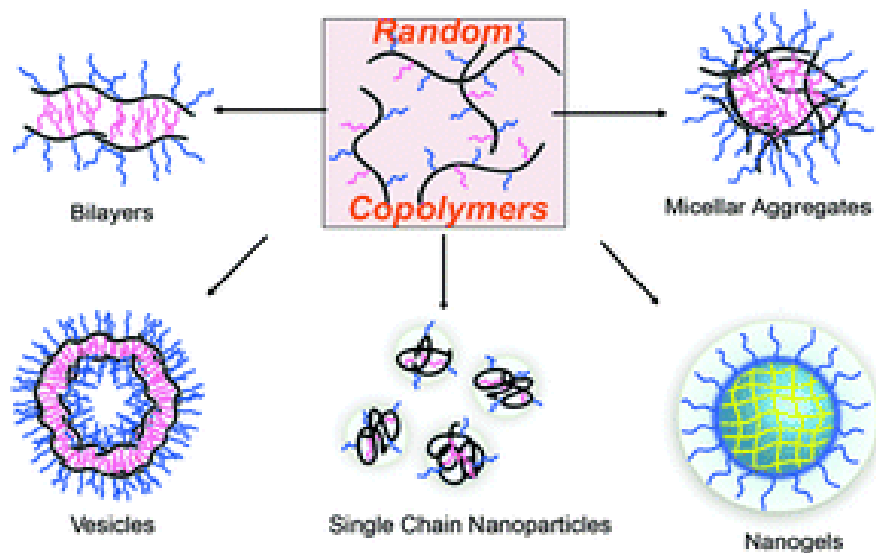
Η πιο σημαντική ιδιότητα των αμφίφιλων συμπολυμερών είναι η αυτοοργάνωση τους σε νανοδομές όταν εισέρχονται σε έναν εκλεκτικό διαλύτη, δηλαδή έναν διαλύτη που είναι καλός μόνο για ένα από τα μονομερικά/πολυμερικά συστατικά. [5]

### **1.2.1 Αυτο-οργάνωση των αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών**

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, τα τελευταία χρόνια αρκετές ερευνητικές ομάδες μελετούν τη σύνθεση και την αυτο-οργάνωση σε διαλύματα, κυρίως υδατικά, των αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών. Τα τυχαία συμπολυμερή δεν προτιμούνταν λόγω των μη καλά καθορισμένων ιδιοτήτων τους και των ευρέων κατανομών μοριακού βάρους. Κάθε αλυσίδα του τυχαίου αμφίφιλου συμπολυμερούς αποτελείται από υδρόφοβα και υδρόφιλα τμήματα, σε αντίθεση με τα συσταδικά που οι επαναλαμβανόμενες μονάδες εντοπίζονται σε διακριτές συστάδες. Συνήθως τα τυχαία συμπολυμερή όταν διαλυθούν στο νερό αυτο-οργανώνονται μέσω ενδομοριακής αλλαγής της διαμόρφωσης της αλυσίδας τους (ενδομοριακή αναδίπλωση - intramolecular self-folding) δημιουργώντας μονομοριακά μικκύλια (unimer micelles), ενώ τα συσταδικά αυτοοργανώνονται συνήθως σε πολυμοριακά μικκύλια. Οι παράγοντες που καθορίζουν την αυτο-οργάνωση των τυχαίων συμπολυμερών είναι η αναλογία υδρόφοβου/υδρόφιλου τμήματος και το μήκος της αλυσίδας (βαθμός πολυμερισμού, degree of polymerization, DP). [4,6] Αναλυτικότερα, όταν το υδρόφοβο ποσοστό είναι αρκετά μικρότερο

σε σχέση με το υδρόφιλο, τα τυχαία συμπολυμερή αυτο-αναδιπλώνονται ενδομοριακά σχηματίζοντας unimer micelles με υδρόφοβους πυρήνες διότι οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις λόγω του μικρού ποσοστού υδρόφοβου τμήματος δεν μπορούν να ανταγωνιστούν τους δεσμούς υδρογόνου με το περιβάλλον νερό. Αν όμως υπάρξει αύξηση του υδρόφοβου τμήματος αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την διαμοριακή αυτοοργάνωση του τυχαίου συμπολυμερούς σε νερό, σχηματίζοντας συσσωματώματα πολλαπλών αλυσίδων (*multichain aggregates*). (Εικόνα 1.2) [4,6]

Για κάθε σύστημα τυχαίου συμπολυμερούς υπάρχει ένας συγκεκριμένος βαθμός πολυμερισμού που εξαρτάται από τη σύστασή του και θεωρείται ως κατώφλι (*composition-dependent threshold degree of polymerization,  $DP_{th}$* ).



**Εικόνα 1.2: Σχηματική αναπαράσταση πιθανών δομών αυτοοργάνωσης τυχαίων αμφίφιλων συμπολυμερών**

Τυχαία συμπολυμερή με μικρότερο  $DP$  του  $DP_{th}$  αυτοοργανώνονται διαμοριακά σχηματίζοντας συσσωματώματα, με το μέγεθος τους να αυξάνεται όσο αυξάνεται το υδρόφοβο ποσοστό.[6] Λόγω της εξάρτησης του μοριακού βάρους από τη σύσταση των συμπολυμερών, τυχαία συμπολυμερή με ευρεία κατανομή μοριακών βαρών αυτο-οργανώνονται σε νανο-συσσωματώματα εξαιτίας της ταυτόχρονης ενδομοριακής αναδίπλωσης των πολυμερικών αλυσίδων με  $DP$  μεγαλύτερο του  $DP_{th}$  και της διαμοριακής αυτο-οργάνωσης των πολυμερικών αλυσίδων με  $DP$  μικρότερο του  $DP_{th}$ . [4]

Αμφίφιλα τυχαία μεθακρυλικά συμπολυμερή που αποτελούνται από πολυ(αιθυλενογλυκόλη) (poly(ethylene glycol) (PEG)) και αλκυλικές ομάδες (alkyl pendent groups) υποβάλλονται σε αντιστρεπτή αναδίπλωση μονής-αλυσίδας στο νερό μέσω ενδομοριακής υδρόφοβης αλληλεπίδρασης, με σκοπό τη δημιουργία ενός δυναμικού μονομοριακού υδρόφοβου νανοχώρου (dynamic unimolecular hydrophobic nanospace), παρόμοιου σχήματος αλλά δομικά διαφορετικού σε σχέση με τα μικκύλια και τα πολυμερή τύπου microgel star. [7]

### **1.2.2 Τρόποι παρασκευής μικκυλίων από αμφίφιλα συμπολυμερή**

Η παρασκευή μικκυλίων των αμφίφιλων συμπολυμερών λαμβάνει χώρα σε αραιά διαλύματα εκλεκτικού διαλύτη για τη μια εκ των δομικών μονάδων, όταν η συγκέντρωση του διαλύματος υπερβαίνει την κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση (Critical Micelle Concentration, CMC), που αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα του εκάστοτε συστήματος συμπολυμερούς-διαλύτη. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις της CMC συνυπάρχουν πολυμοριακά μικκύλια και μεμονωμένες αλυσίδες σε θερμοδυναμική ισορροπία μεταξύ τους, ενώ σε μικρότερες συγκεντρώσεις στο διάλυμα υπάρχουν μόνο μοριακά διαλυμένες μεμονωμένες αλυσίδες (unimer chains) του εκάστοτε συμπολυμερούς. Η πιο κοινή μέθοδος παρασκευής μικκυλιακών δομών είναι η διαλυτοποίηση του πολυμερούς σε έναν κοινό διαλύτη για όλες τις συστάδες και στη συνέχεια μεταβολή των συνθηκών, όπως η θερμοκρασία ή η σύσταση του διαλύτη. Η σύσταση του διαλύτη μεταβάλλεται με την σταδιακή προσθήκη νέου διαλύτη, ο οποίος τείνει να κατακρημνίσει/καταβυθίσει μία ή και περισσότερες από τις συστάδες (στην περίπτωση τριπολυμερών ή πολυμερών με περισσότερες από τρεις συστάδες διαφορετικής χημικής σύστασης).

Η άλλη μέθοδος παρασκευής μικκυλίων είναι η σταδιακή αλλαγή της συνολικής ποσότητας του κοινού διαλύτη, από διαλύτη ο οποίος είναι εκλεκτικός μόνο για τη μία συστάδα και τείνει να καταβυθίσει τις υπόλοιπες.

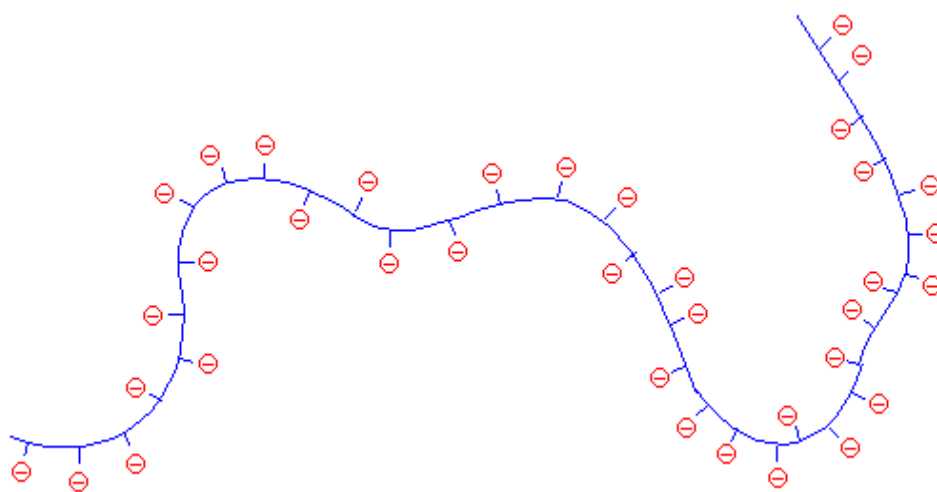
Και στις δυο προαναφερόμενες περιπτώσεις, δεν επιτυγχάνεται κατάσταση θερμοδυναμικής ισορροπίας και ειδικότερα εάν ο πυρήνας σχηματίζεται από πολυμερές με υψηλή τιμή θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης ( $T_g$ ), με κύριο

αποτέλεσμα την παρατήρηση "παγωμένων" μικκυλίων (frozen micelles).

Ο σχηματισμός μικκυλίων με τη πρώτη μέθοδο οδηγεί στην εξάρτηση της μορφολογίας του δείγματος σε στερεά κατάσταση από την αλληλεπίδραση του διαλύτη με αυτή. Για να επιτευχθεί κατάσταση ισορροπίας σε σύντομο χρονικό διάστημα, θα πρέπει ο εκλεκτικός διαλύτης να διογκώνει και την αδιάλυτη συστάδα, γεγονός που θεωρείται αδύνατο στις περισσότερες των περιπτώσεων. [8]

### 1.3 Πολυηλεκτρολύτες

Οι πολυηλεκτρολύτες είναι πολυμερή τα οποία φέρουν ιοντικές ομάδες και αποκτούν ιδιαίτερο ενδιαφέρον σε υδατικά διαλύματα, όπου οι ιοντικές ομάδες είναι ιονισμένες. Από τη σκοπιά της διάστασης σε υδατικό μέσο, οι πολυηλεκτρολύτες διαχωρίζονται σε ισχυρούς και ασθενείς. Οι ιοντιζόμενες ομάδες των ισχυρών πολυηλεκτρολυτών δίστανται πλήρως κατά τη διαλυτοποίηση σε νερό, ενώ στην περίπτωση των ασθενών πολυηλεκτρολυτών οι αντίστοιχες ομάδες δίστανται πλήρως κατά την εξουδετέρωση, δηλαδή την αλλαγή του pH του διαλύματος. Ως εκ τούτου, οι ασθενείς πολυηλεκτρολύτες δεν είναι πλήρως φορτισμένοι σε διάλυμα και το συνολικό τους φορτίο μπορεί να μεταβληθεί συναρτήσει του pH, της συγκέντρωσης των αντισταθμιστικών ιόντων ή/και της ιοντικής ισχύος του διαλύματος. [9]



**Εικόνα 1.3:** Σχηματική αναπαράσταση ενός ανιοντικού πολυηλεκτρολύτη



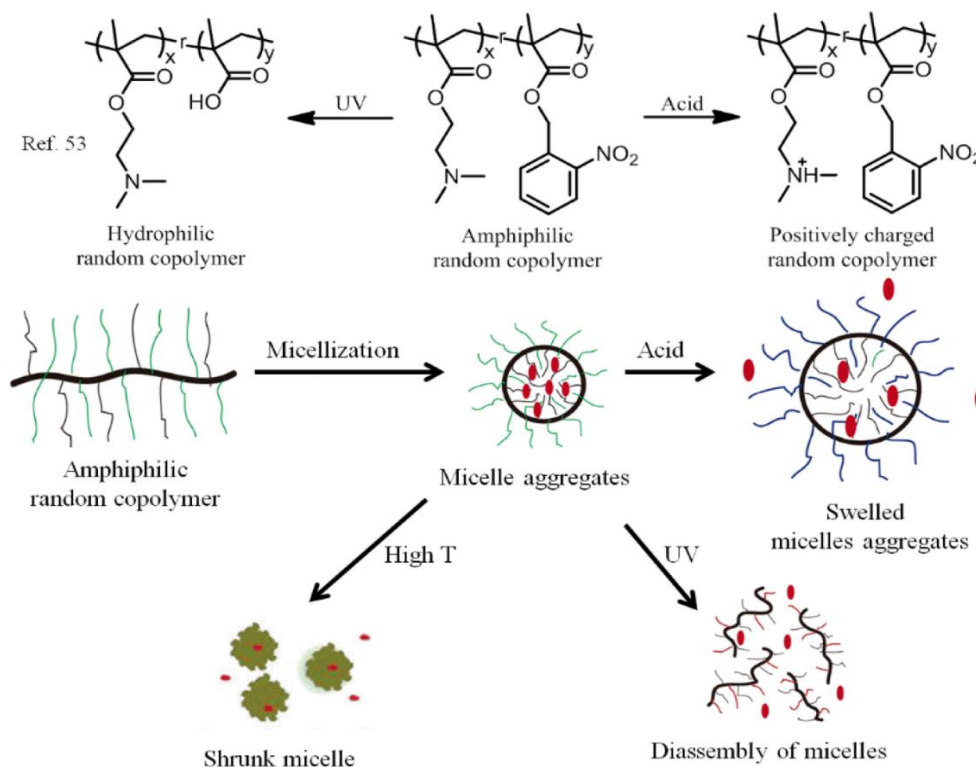
Συγκριτικά με τα μη ιοντικά πολυμερή οι διαφορετικές ιδιότητες που απαντώνται στους πολυηλεκτρολύτες είναι αποτέλεσμα του συνδυασμού περισσότερων χαρακτηριστικών, της παρουσίας σταθερών φορτίων πάνω στην αλυσίδα του πολυμερούς, της ύπαρξης λίγο έως πολύ ελεύθερων αντισταθμιστικών ιόντων στον όγκο του διαλύματος και της συμπεριφοράς σαν μη εύκαμπτα μακρομόρια σε διαλύματα μικρής ιοντικής ισχύος λόγω ιοντικών αλληλεπιδράσεων. Οι αλληλεπιδράσεις Coulomb διέπουν τα υδατικά διαλύματα πολυηλεκτρολυτών, όμως υπάρχουν και άλλες αλληλεπιδράσεις όπως η υδρόφοβη αλληλεπίδραση, η δημιουργία διπόλου και η δημιουργία δεσμών υδρογόνου, οι οποίες παίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο στα φαινόμενα διασύνδεσης και επηρεάζουν τη συμπεριφορά και τη σταθερότητα των σχηματιζόμενων συσσωματωμάτων στο διάλυμα ή προκαλούν καταβύθιση. Η συμπεριφορά των πολυηλεκτρολυτών στο νερό καθορίζεται κυρίως από τη διαμόρφωση της μακρομοριακής αλυσίδας. Η διαμόρφωση αυτή είναι ένα δύσκολο πρόβλημα, αντικείμενο πολλών διαφορετικών ερμηνειών, αφού είναι αποτέλεσμα μιας λεπτής ισορροπίας μεταξύ των απώσεων τύπου Coulomb μεταξύ κοντινών φορτίων, της προάσπισης της άπωσης αυτής (*screening*), εξαιτίας της επαναδιευθέτησης ιόντων στο διάλυμα και της απώλειας εντροπίας εξαιτίας του εντοπισμού του νέφους των αντισταθμιστικών ιόντων. Επιπλέον, η ιοντική ισχύς του διαλύματος και η πυκνότητα φορτίου της μακρομοριακής αλυσίδας καθορίζουν την εμβέλεια των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Οι φορτισμένες αλυσίδες των πολυηλεκτρολυτών υιοθετούν περισσότερο εκτεταμένες διαμορφώσεις, συγκριτικά με τις ουδέτερες πολυμερικές αλυσίδες, λόγω των ηλεκτροστατικών απώσεων μεταξύ των φορτισμένων τμημάτων της αλυσίδας. (Εικόνα 1.3) Στη περίπτωση που αυξηθεί η ιοντική ισχύς του διαλύματος μέσω της προσθήκης άλατος επέρχεται προάσπιση των φορτίων και εξασθένηση των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων του συστήματος, με αποτέλεσμα οι πολυηλεκτρολυτικές αλυσίδες να μεταβαίνουν σε λιγότερο εκτεταμένες διαμορφώσεις, παρόμοιες με αυτές των ουδέτερων πολυμερών σε συνθήκες καλού διαλύτη. Αυτό ονομάζεται και ως φαινόμενο του πολυηλεκτρολύτη (*polyelectrolyte effect*). Η πρακτική πλευρά του προβλήματος της διαμόρφωσης των πολυηλεκτρολυτών έχει μεγάλη σημασία αφού μια μικρή αλλαγή στο βαθμό ιοντισμού αλλάζει

δραματικά τις ιδιότητες του συστήματος του πολυηλεκτρολύτη. [10] Η πυκνότητα φορτίων της μακρομοριακής αλυσίδας μπορεί να ελεγχθεί με διάφορους τρόπους. Συνήθης μέθοδος είναι ο συμπολυμερισμός ιοντικών και μη ιοντικών μονομερών. Επίσης χρησιμοποιώντας πολυμερή τα οποία περιέχουν ασθενείς όξινες ή αλκαλικές ομάδες η πυκνότητα φορτίου καθορίζεται από την ελεγχόμενη μέσω του pH διάσταση των δραστικών ομάδων. Για παράδειγμα μετατρέποντας το βαθμό εξουδετέρωσης του πολυακρυλικού οξέος, το οποίο είναι ασθενές οξύ, επιτυγχάνεται η μεταβολή του μέσου όρου των φορτισμένων μονομερών στη μακρομοριακή αλυσίδα. Ο βαθμός εξουδετέρωσης μεταβάλλεται με συνεχή τρόπο μεταβολής της ισχύος των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, που ελέγχουν τη διαμόρφωση και τη γυροσκοπική ακτίνα της αλυσίδας του πολυηλεκτρολύτη.

#### **1.4 Αποκρίσιμα πολυμερή**

Τα τελευταία χρόνια η επιστήμη των πολυμερών στρέφεται σε υλικά τα οποία να αποκρίνονται σε εξωτερικά ερεθίσματα (μεταξύ των οποίων το pH, η θερμοκρασία και η ιοντική ισχύς) και δημιουργούν πολυμοριακά συσσωματώματα, όπως σφαιρικά και κυλινδρικά μικκύλια, κοίλες σφαίρες/κυστίδια (vesicles), σύμπλοκα πολυηλεκτρολυτών και «σχιζοφρενικά» μικκύλια. [11] Το ενδιαφέρον για αυτά τα πολυμερή έχει αυξηθεί εκθετικά λόγω των δυνατικών εφαρμογών στη βιομηχανία των χρωμάτων, των καλλυντικών, τον καθαρισμό του νερού, αλλά κυρίως στο πεδίο της βιοϊατρικής. Ως αποκρίσιμα σε εξωτερικά ερεθίσματα πολυμερή ορίζονται τα πολυμερή που υφίστανται σχετικά μεγάλες και άμεσες φυσικές ή χημικές μεταβολές αποκρινόμενα σε μικρές εξωτερικές αλλαγές στις συνθήκες του περιβάλλοντος. [12,13] Σε αυτά τα πολυμερή έχουν δοθεί ονομασίες όπως αποκρίσιμα (responsive)[13], έξυπνα (smart) [14,15] και περιβαλλοντικά ευαίσθητα (environmentally sensitive) [16] πολυμερή. Αυτά τα συστήματα αναγνωρίζουν ένα ερέθισμα ως σήμα, κρίνουν το μέγεθος του σήματος και μεταβάλουν τη διαμόρφωση της αλυσίδας με άμεση απόκριση. Υπάρχουν πολλά διαφορετικά ερεθίσματα που ρυθμίζουν την απόκριση των πολυμερών και μπορούν να ταξινομηθούν είτε ως χημικά, είτε ως φυσικά ερεθίσματα. Τα χημικά ερεθίσματα, όπως το pH, η ιοντική ισχύς, οι ιονικοί και χημικοί

παράγοντες, αλλάζουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων ή μεταξύ των αλυσίδων και του διαλύτη σε μοριακό επίπεδο. Τα φυσικά ερεθίσματα, όπως η θερμοκρασία, το ηλεκτρικό ή μαγνητικό πεδίο και η μηχανική τάση, επηρεάζουν τους θερμοδυναμικούς παράγοντες (ενθαλπία και εντροπία) και μεταβάλλουν τις μοριακές αλληλεπιδράσεις. (Εικόνα 1.4) Αυτές οι αποκρίσεις των πολυμερικών συστημάτων είναι πολύ χρήσιμες σε βιολογικές εφαρμογές, όπως στη μεταφορά φαρμάκων, [17,18] στη βιοτεχνολογία [19] και στη χρωματογραφία.[18] Ορισμένα πολυμερικά συστήματα συνδυάζουν απόκριση σε δυο ή περισσότερα ερεθίσματα, για παράδειγμα είναι θερμοαποκρινόμενα, αλλά και αποκρίσιμα σε μεταβολές του pH. [20,21]



**Εικόνα 1.4: Σχηματική αναπαράσταση διαφορετικών δομών μικκυλίων τυχαίων συπολυμερών ανάλογα με την αποκρισσιμότητα σε διαφορετικά ερεθίσματα**

Από την άλλη μεριά υπάρχουν εργασίες που αναφέρουν την ταυτόχρονη επιβολή δυο ερεθισμάτων για να υπάρξει απόκριση από το πολυμερές, το οποίο ονομάζεται διπλοαποκρινόμενο. [21] Μια καινούργια κατηγορία εξωτερικού ερεθίσματος θεωρείται το βιοχημικό ερέθισμα, το οποίο περιλαμβάνει απόκριση σε αντιγόνα, ένζυμα, υποκαταστάτες και βιοχημικούς παράγοντες. [21]

#### 1.4.1 pH-Αποκρινόμενα πολυμερή

Τα pH-αποκρινόμενα πολυμερή είναι μια κατηγορία αποκρίσιμων πολυμερών που υφίστανται αλλαγές στη δομή και στις ιδιότητές τους, όπως η επιφανειακή τάση, η διαμόρφωση της αλυσίδας, η διαλυτότητα και η χωροδιάταξή τους, όταν μεταβάλλεται το pH του διαλύματος. [22] Αποτελούνται από μονομερή που περιέχουν συνήθως ιονιζόμενες ομάδες στη ραχοκοκαλιά τους, την πλευρική ομάδα ή την τελική ομάδα τους που παρουσιάζουν φυσικοχημικές ιδιότητες εξαρτώμενες από το pH. Αυτές οι ιονιζόμενες λειτουργικές ομάδες είναι ικανές να απελευθερώνουν ή να δέχονται πρωτόνια μετά από περιβαλλοντικές μεταβολές του pH. Τα pH-αποκρινόμενα πολυμερικά συστήματα λόγω των αξιόλογων ιδιοτήτων που παρουσιάζουν χρησιμοποιούνται σε πλήθος εφαρμογών, όπως στη μεταφορά φαρμάκων, στη γονιδιακή θεραπεία, σε αισθητήρες, μεμβράνες και σε μεθόδους χρωματογραφίας.

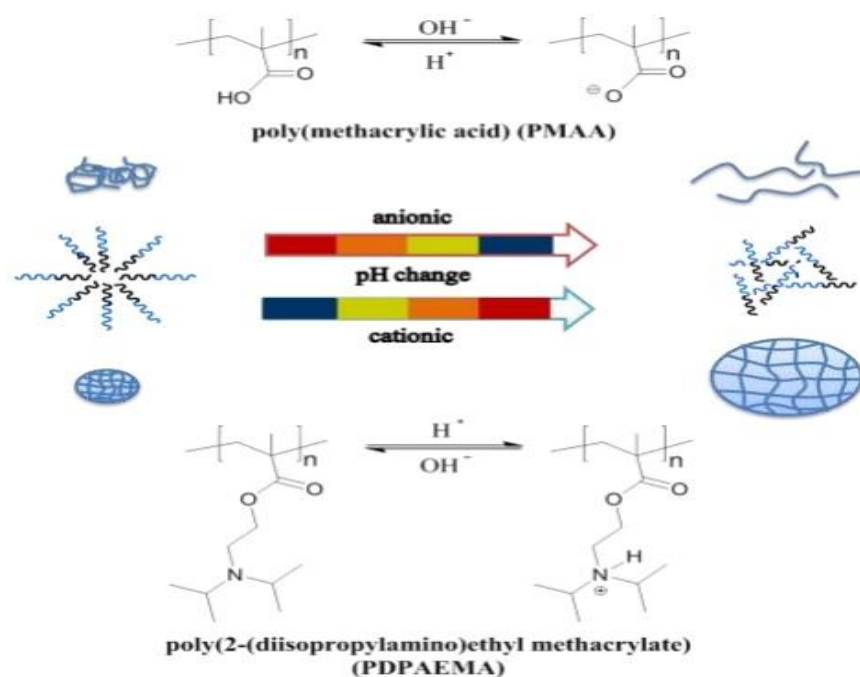
Λόγω των διαφορετικών φυσιολογικών μικροπεριβαλλόντων μεταξύ φυσιολογικού ιστού και καρκινικού ιστού, έχουν διερευνηθεί ευρέως τα πολυμερικά συστήματα που ανταποκρίνονται στο pH για στοχοθετημένη διάγνωση καρκίνου και θεραπεία σε βιοϊατρικές εφαρμογές. [23-25] Αυτά τα συστήματα πολυμερών καταδεικνύουν αλλαγές διαλυτότητας, όγκου ή διαμόρφωσης αλυσίδας σε υδατικά διαλύματα ως αποτέλεσμα περιβαλλοντικών μεταβολών στο pH.

Έτσι, οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ φορτισμένων πολυμερικών αλυσίδων κάνουν τις αλυσίδες να απομακρύνονται η μία από την άλλη, οι οποίες επίσης προκαλούν την έκταση ή την κατάρρευση των αλυσίδων του πολυμερούς και παρουσιάζουν μια εναλλαγή μεταξύ της υδρόφοβης και της υδρόφιλης συμπεριφοράς. (Εικόνα 1.5)

Καθώς το pH αλλάζει ο βαθμός ιονισμού του πολυμερούς αλλάζει δραματικά γύρω από μια συγκεκριμένη τιμή pH, που ονομάζεται pKa. Αυτή η γρήγορη αλλαγή στο συνολικό φορτίο της αλυσίδας προκαλεί μεταβολή του υδροδυναμικού όγκου των πολυμερικών αλυσίδων. Η μετάβαση από συρρικνωμένη σε εκτεταμένη διαμόρφωση ερμηνεύεται από την οσμωτική

πίεση, που προκαλούν τα αντισταθμιστικά ιόντα των φορτίων των αλυσίδων. [22]

Τα συστήματα πολυμερούς που αντιδρούν στο pH ταξινομούνται συνήθως ως συστήματα κατιονικής, ανιονικής ή όξινης υδρόλυσης, με βάση τους μηχανισμούς απόκρισης τους σε βιοϊατρική εφαρμογή. [24] Τα περισσότερα από τα κατιονικά πολυμερή που ανταποκρίνονται στο pH περιέχουν αμινοομάδες, όπως ο πολυ(μεθακρυλικός 2-(δι-ισοπροπυλάμινο αιθυλεστέρας) (PDIPAEMA) [67-69], η πολυ(4-βινυλοπυριδίνη) και η πολυ(ιστιδίνη) [26, 27], ο πολυ(β-αμινο εστέρας) [28, 29], όπου η λειτουργική ομάδα δέχεται ένα πρωτόνιο και γίνεται υδρόφιλη όταν οι περιβαλλοντικές τιμές του pH είναι χαμηλότερες από τις τιμές pKa.



**Εικόνα 1.5: Μεταβολές ιονιζόμενων ομάδων σε τυπικά ανιονικά (PMAA) ή κατιονικά (PDIPAEMA) πολυμερή που αποκρίνονται στο pH με αποτέλεσμα αλυσιδωτή διαμόρφωση, διαλυτότητα ή μεταβολές όγκου σε υδατικά διαλύματα**

Αντίθετα, τα πολυμερή που αντιδρούν στο βασικό pH είναι πολυ-οξέα, όπως το πολυ(μεθακρυλικό οξύ) (PMAA) [30-32], πολυ(ασπαρτικό οξύ) (PAsp) [33] και πολυμερή με βάση το σουλφοναμίδιο [34] που θα απελευθερώνουν πρωτόνια και θα καταστούν διαλυτά όταν οι περιβαλλοντικές τιμές του pH είναι

υψηλότερες από τις τιμές τους pKa. Τα συστήματα όξινης υδρόλυσης είναι συνήθως συζεύγματα πολυμερούς-φαρμάκου που περιέχουν χημικούς δεσμούς ασταθούς σε όξινες συνθήκες, όπως δεσμούς υδραζόνης και ακετάλης, οι οποίοι διασπώνται με υδρόλυση υπό χαμηλό pH, μικρότερο από 6.0, για απελευθέρωση φαρμάκου.

Σύμφωνα με τα προφίλ pH στο σώμα και τις ιδιότητες των πολυμερών που αντιδρούν στο pH, τα συστήματα απελευθέρωσης του φαρμάκου που ανταποκρίνονται στο pH σχεδιάζονται συνήθως για να στοχεύσουν ή να ενεργοποιηθούν σε μία από τις ακόλουθες δύο θέσεις: την εξωκυτταρική μήτρα ιστών στερεών όγκων, η οποία έχει pH 6,2-6,8 ή τα ενδοκυτταρικά ενδοσώματα ή λυσοσώματα άλλων κυττάρων τα οποία έχουν pH 4,5-6,5. Η πλειονότητα των αναφερθέντων συστημάτων απελευθέρωσης ανταποκρινόμενων στο pH που στοχεύουν σε ένα pH μικρότερο από 6.0, τα οποία είναι κατάλληλα μόνο για ενδοκυτταρική στόχευση και απελευθέρωση μετά την κυτταρική πρόσληψη, είναι οξυ-ασταθή συστήματα υδρόλυσης. [35-42] Εντούτοις, αυτά τα συστήματα που ανταποκρίνονται στο ενδοκυτταρικό pH δεν είναι ειδικά για τα καρκινικά κύτταρα επειδή τα φυσιολογικά κύτταρα έχουν επίσης το ίδιο ενδοσωματικό και λυσοσωμικό όξινο pH και στην πραγματικότητα πολλά καρκινικά κύτταρα έχουν τιμές ενδοκυτταρικού pH (pHi) που είναι ουδέτερες ή ελαφρώς αλκαλικές. [43,44] Συνεπώς, ο σχεδιασμός νέων πολυμερών συστημάτων που ανταποκρίνονται στο pH και στοχεύουν ειδικά το ασθενώς όξινο μικροπεριβάλλον εξωκυτταρικής μήτρας των συμπαγών όγκων είναι σημαντικό. Ενώ οι μεταβολές του pH των ανιονικών πολυμερών που ανταποκρίνονται στο pH με ασθενικές όξινες ομάδες, κατά κύριο λόγο εμφανίζονται στην περιοχή pH 4 έως 6 λόγω των εγγενών σταθερών διάσπασής τους, οι μεταβάσεις του pH των κατιονικών πολυμερών που αντιδρούν στο pH, τα οποία περιέχουν ασθενείς βασικές ομάδες, έχουν περισσότερες πιθανότητες να εμφανιστούν γύρω από το pH 7 με προσεκτική επιλογή των ιονιζόμενων λειτουργικών ομάδων. [34]

Συνεπώς, αν και τα ανιονικά πολυμερικά συστήματα που ανταποκρίνονται στο pH είναι πιο αποτελεσματικά ως συστήματα παροχής εντερικού και ενδοκυτταρικού φαρμάκου, τα κατιονικά πολυμερή που αποκρίνονται στο pH

έχουν μελετηθεί εκτενώς σε στόχευση εξωκυτταρικού ιστού όγκων [45,46,47,48]

#### **1.4.2 Επίδραση της ιοντικής ισχύος διαλύματος**

Η αποκρισιμότητα στην ιοντική ισχύ είναι μια τυπική ιδιότητα όταν πρόκειται για πολυμερή που περιέχουν ιοντικές ομάδες. Αλλαγές στην ιοντική ισχύ μπορεί να προκαλούν αλλαγές στο μέγεθος των πολυμερικών μικκυλίων, στη διαλυτότητα του πολυμερούς και στην κινητική απόσβεσης φθορισμού των χρωμοφόρων που είναι δεσμευμένες. Οι πολυαμφολύτες περιέχουν ανιοντικά και κατιοντικά φορτία στην ίδια πολυμερική αλυσίδα και για τον λόγο αυτό η συμπεριφορά τους σε διαλύματα εξαρτάται από την αναλογία ιόντων που είναι ενσωματωμένα στο πολυμερές. Η αναλογία αυτή μπορεί να τροποποιηθεί μέσω συνθετικών πορειών και εξωγενών αλλαγών στο υδατικό περιβάλλον, συγκεκριμένα μεταβάλλοντας το pH. [49] Η προσθήκη άλατος στο σύστημα πολυμερούς/διαλύτη μπορεί να επηρεάσει την θέση της μετάπτωσης φάσης. Η παρουσία αλάτων διαταράσσει την δομή ενυδάτωσης γύρω από τις πολυμερικές αλυσίδες με αποτέλεσμα την μείωση της θερμοκρασίας διαχωρισμού φάσεων. [15] Αυτή η δράση εξαρτάται από το είδος των ιόντων και περιγράφεται από τις σειρές Hofmeister. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω μεταβολή της ιοντικής ισχύος επιφέρει αλλαγές στη διαλυτότητα. Ειδικότερα, λόγω του ανταγωνισμού των πολυμερικών μορίων με τα ιόντα του άλατος για τα μόρια νερού που απαιτούνται για την επιδιαιλύτωσή τους, η διαλυτότητα μειώνεται (γνωστό και σαν φαινόμενο εξαλάτωσης-salting out). Σε υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων τα μόρια του νερού που είναι διαθέσιμα για την επιδιαιλύτωση των πολυμερών δεν είναι αρκετά καθώς η πλειονότητά τους συνδέεται ισχυρά με τα άλατα. Έτσι, οι αλληλεπιδράσεις πολυμερούς-πολυμερούς υπερτερούν των αλληλεπιδράσεων πολυμερούς-νερού, οπότε σχηματίζονται συσσωματώματα με αποτέλεσμα την καταβύθιση των πολυμερικών μορίων.

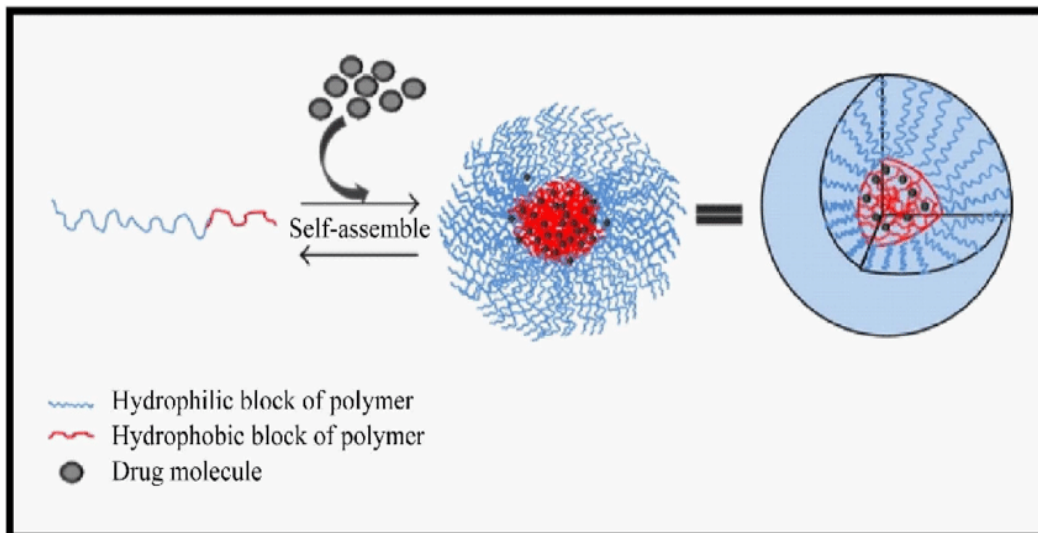
#### **1.5 Εγκλωβισμός φαρμακευτικών ουσιών σε πολυμερικά μικκύλια**

Για τον εγκλωβισμό φαρμακευτικών ουσιών σε αμφίφιλα συμπολυμερή, μπορούν να εφαρμοστούν πολλές διαφορετικές διαδικασίες, οι οποίες

εξαρτώνται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες τόσο των φαρμάκων, όσο και των συμπολυμερών. Οι διαφορετικές διαδικασίες προετοιμασίας των δειγμάτων μπορούν να διακριθούν σε δύο βασικές κατηγορίες.

Στην πρώτη κατηγορία ανήκει η απευθείας διάλυση του συμπολυμερούς και του φαρμάκου σε έναν υδατικό διαλύτη. Αυτή η διαδικασία είναι περισσότερο εφαρμόσιμη σε συμπολυμερή ενδιάμεσης υδροφοβικότητας και ίσως προϋποθέτει την θέρμανση του υδατικού διαλύματος, ώστε να επιτευχθεί η μικκυλίωση μέσω της αφυδάτωσης των υδρόφοβων συστάδων που σχηματίζουν τον πυρήνα των μικκυλίων. Η μέθοδος της απευθείας διάλυσης χρησιμοποιείται επίσης για την παρασκευή μικκυλίων με πολυηλεκτρολυτικές συστάδες, τα οποία σχηματίζονται από τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις των πολυμερικών αλυσίδων. Σε αυτή την περίπτωση το συμπολυμερές και το φάρμακο είναι διαλυμένα σε ξεχωριστά υδατικά διαλύματα και ο σχηματισμός των μικκυλίων πραγματοποιείται με ανάμειξη των δύο υδατικών διαλυμάτων σε κατάλληλες αναλογίες φαρμάκου-πολυμερούς, λόγω ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης των δύο συστατικών. Η δεύτερη κατηγορία διαδικασιών εγκλωβισμού φαρμακευτικών ουσιών εφαρμόζεται σε αμφίφιλα συμπολυμερή, τα οποία δεν είναι άμεσα διαλυτά στο νερό και απαιτεί την χρήση ενός οργανικού διαλύτη, στον οποίο είναι διαλυτό και το φάρμακο και το συμπολυμερές. Σε αυτή την περίπτωση, ο μηχανισμός σχηματισμού των μικκυλιακών δομών εξαρτάται από τον τρόπο απομάκρυνσης του οργανικού διαλύτη. Για οργανικούς διαλύτες, οι οποίοι είναι αναμίξιμοι με το νερό (τετραϋδροφουράνιο (THF), διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF),(ακετόνη)), το υδατικό διάλυμα μπορεί να χωριστεί από τον οργανικό διαλύτη με διαπίδυση σε νερό (dialysis).





**Εικόνα 1.6: Εγκλωβισμός φαρμάκου από αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες σε υδατικό διάλυμα.**

Με τη χρήση δηλαδή της ημιπερατής μεμβράνης, προωθείται η διαδικασία της μικκυλίωσης, μέσω της αργής απομάκρυνσης της οργανικής φάσης, καθώς ο σχηματιζόμενος πυρήνας, στο εσωτερικό του οποίου εγκλωβίζεται το φάρμακο είναι αδιάλυτος στο νερό. Η ελεύθερη, μη ενσωματωμένη ποσότητα του φαρμάκου, απομακρύνεται μέσω της μεμβράνης που αποτρέπει τη διάχυση των μικκυλίων.

Η φυσική ενσωμάτωση ενός υδρόφοβου φαρμάκου σε πολυμερικά μικκύλια μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί μέσω της διαδικασίας σχηματισμού γαλακτώματος ελαίου-εντός-νερού (oil-in-water). Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει τη χρήση ενός οργανικού διαλύτη, μη αναμίξιμου με το νερό. Στην περίπτωση αυτή, το διαλυμένο πολυμερές μπορεί να κατανεμηθεί μεταξύ της οργανικής και της υδατικής φάσης. Η οργανική φάση προστίθεται στην υδατική υπό έντονη ανάδευση και έπειτα απομακρύνεται με εξάτμιση.

Εναλλακτικά, στη μέθοδο μορφοποίησης του διαλύματος σε πολυμερική μήτρα (solution casting), περιλαμβάνονται η αρχική διάλυση του πολυμερούς και της φαρμακευτικής ουσίας σε έναν κατάλληλο, κοινό οργανικό διαλύτη και στη συνέχεια η εξάτμιση της οργανικής φάσης με σκοπό τη δημιουργία μιας πολυμερικής μήτρας, στην οποία υπερισχύουν οι αλληλεπιδράσεις πολυμερούς-φαρμάκου. Με την προσθήκη νερού στην πολυμερική μήτρα υπό έντονη ανάδευση, επιτυγχάνεται ο εγκλωβισμός του φαρμάκου στους

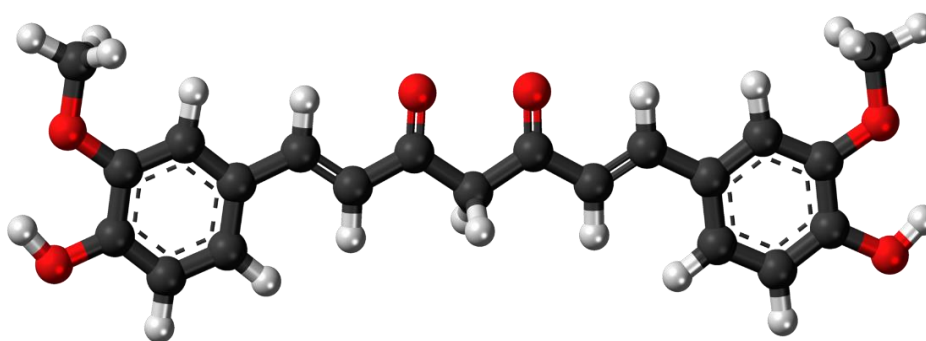
σχηματιζόμενους μικκυλιακούς πυρήνες.

## 1.6 Κουρκουμίνη [50]

Η κουρκουμίνη ή διφερουλοϋλμεθάνιο (curcumin/diferuloylmethane) είναι το κύριο κουρκουμινοειδές του κουρκουμά και θεωρείται το δραστικότερο συστατικό, που του προσδίδει το χαρακτηριστικό πορτοκαλοκίτρινο λαμπρό χρώμα του, το οποίο καταλαμβάνει το 2-8% των περισσότερων σκευασμάτων του κουρκουμά. Είναι μια φυσική, λιποφιλική φαινολική χρωστική και αρωματική ουσία (πολυφαινολική ένωση) που απομονώνεται με εκχύλιση από τις ρίζες και τους μίσχους του τροπικού φυτού Κουρκούμη η μακρά ή Κουρκουμάς [*Curcuma longa*].

Η κουρκουμίνη διαθέτει έναν αριθμό επωφελών βιολογικών και φαρμακολογικών ιδιοτήτων, που της επιτρέπουν να δρα εναντίον πολλαπλών μοριακών και κυτταρικών στόχων της παθολογικής φυσιολογίας του καρκίνου, του σακχαρώδους διαβήτη, καρδιαγγειακών νόσων, οφθαλμικών παθήσεων, νευρολογικών παθήσεων, σκλήρυνσης κατά πλάκας, νόσου του Sjögren και ρευματοειδούς αρθρίτιδας.

Πρόκειται για ένα πολύπλοκο χημικό μόριο (Εικόνα 1.7) με πολλαπλούς βιολογικούς στόχους και διάφορα κυτταρικά αποτελέσματα. Η κουρκουμίνη είναι δυσδιάλυτη στο νερό. Το ανώτατο όριο καθημερινής λήψης για την κουρκουμίνη είναι μέχρι 1mg ανά κιλό σωματικού βάρους.



*Εικόνα 1.7: Χημική δομή κουρκουμίνης. Χρώμα: Άνθρακας, C: μαύρο Υδρογόνο, H: λευκό Οξυγόνο, O: κόκκινο.*

Τα τελευταία 20 χρόνια δημοσιεύθηκαν στο διεθνή ιατρικό τύπο περισσότερες από 6000 δημοσιεύσεις, που αφορούσαν τη μοριακή βάση της

αντιοξειδωτικής, αντιφλεγμονώδους, αντιβακτηριακής, αντιικής, αντιμηκυτιακής και αντικαρκινικής δράσης της κουρκουμίνης (αντιπολλαπλασιαστική και αντιαγγειογενετική), τοποθετώντας την στα φαρμακοτρόφιμα [nutraceuticals]. Από τα μέχρι σήμερα πειραματικά δεδομένα έχει αποδειχτεί ότι η κουρκουμίνη υπεισέρχεται σε μια σειρά μοριακών στόχων και διαδικασιών που συμμετέχουν στον καρκίνο.

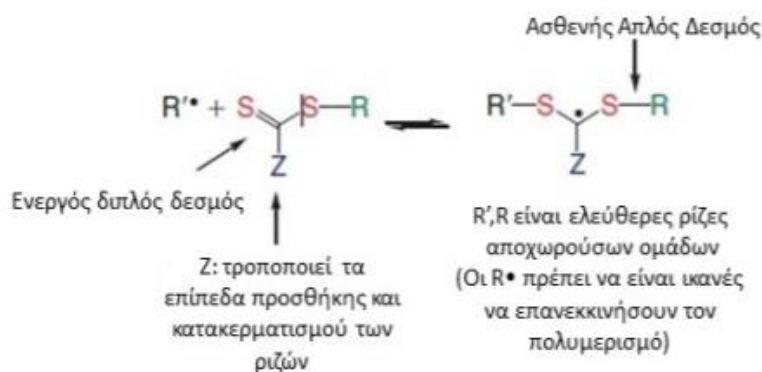
Παρά τούτο, η κλινική εφαρμογή της πολλά υποσχόμενης κουρκουμίνης βρίσκει εμπόδια στη θεραπευτική εξαιτίας της πτωχής υδατοδιαλυτότητάς της, της πτωχής απορροφητικότητας από το έντερο, του σύντομου βιολογικού μέσου χρόνου ζωής και της χαμηλής βιοδιαθεσιμότητάς της, όταν χορηγείται από το στόμα.

Παρ' όλα αυτά η κουρκουμίνη είναι υδρόφοβο φάρμακο, το οποίο μπορεί να εξυπηρετήσει με επιτυχία ερευνητικές μελέτες εγκλωβισμού φαρμάκου από αποκρινόμενα συμπολυμερή και οι σχηματιζόμενοι νανοφορείς της κουρκουμίνης μπορεί να οδηγήσουν στην αποδοτικότερη χρήση του συγκεκριμένου φαρμάκου για θεραπεία, εξαλείφοντας τις παράπλευρες επιδράσεις της.

### **1.7 Πολυμερισμός Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση (RAFT Polymerization) [51,52]**

Οι τεχνικές ζωντανού/ελεγχόμενου ριζικού πολυμερισμού που συγκεντρώνουν τη μεγαλύτερη προσοχή είναι ο πολυμερισμός με χρήση νιτροξειδικών ριζών (Nitroxide Mediated Polymerization, NMP), ο ριζικός πολυμερισμός μεταφοράς ατόμου (Atom Transfer Radical Polymerization, ATRP) και ο πολυμερισμός αντιστρεπτής μεταφοράς αλυσίδας με προσθήκη και απόσπαση (Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization, RAFT). Τα τελευταία δεκαπέντε χρόνια ο πολυμερισμός RAFT έχει εξελιχθεί σε μια ισχυρή τεχνική για την σύνθεση συμπολυμερών με καθορισμένη αρχιτεκτονική. Πιο συγκεκριμένα, τα υδατοδιαλυτά, εμβολιασμένα και αστεροειδή πολυμερή είναι ιδιαίτερα σημαντικά για την στοχευμένη χορήγηση διαγνωστικών και θεραπευτικών μέσων. Σε πολλές περιπτώσεις η διαδικασία πολυμερισμού RAFT διεξάγεται χρησιμοποιώντας ως διαλύτη νερό, σε θερμοκρασία

περιβάλλοντος και χωρίς την ανάγκη για χρήση προστατευτικών ομάδων. Η ενσωμάτωση λειτουργικών μονομερών και η επιλογή του κατάλληλου μέσου μεταφοράς αλυσίδας (Chain Transfer Agent, CTA) επιτρέπει την εύκολη τροποποίηση των πλευρικών ή ακραίων ομάδων μετά τον πολυμερισμό.



**Σχήμα 1.1: Δομικά χαρακτηριστικά του thiocarbonylthio CTA και το ενδιάμεσο προϊόν που σχηματίζεται κατά τη προσθήκη ριζών**

Ο RAFT βασίζεται σε μια σειρά αντιδράσεων αντιστρεπτής μεταφοράς αλυσίδας, ώστε να είναι ελεγχόμενος. Καθώς ο RAFT είναι ουσιαστικά ένας ριζικός πολυμερισμός που διεξάγεται με την παρουσία ενός αντιδραστήριου μεταφοράς αλυσίδας (chain transfer agent, CTA), το στάδιο της έναρξης μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας παραδοσιακούς απαρχητές, όπως αζωενώσεις, υπεροξειδία, οξειδοαναγωγικά συστήματα έναρξης, φωτοαπαρχητές και ακτινοβολία-γ. Η πρόδρομη ρίζα I• πιστεύεται γενικά ότι προστίθεται στο μονομέρες πριν από την προσθήκη του CTA, λόγω της υψηλής σχετικής συγκέντρωσης του μονομερούς σε σχέση με το CTA.

Ωστόσο, αυτή η υπόθεση μπορεί να αποδειχθεί εσφαλμένη σε περιπτώσεις όπου η συγκέντρωση του μονομερούς είναι χαμηλή ή τα CTAs έχουν υψηλή ενεργότητα. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η συγκέντρωση του απαρχητή είναι χαμηλότερη σε σχέση με αυτή του CTA, έτσι ώστε να διασφαλίζεται ότι η έναρξη της πλειοψηφίας των αλυσίδων γίνεται από θραύσματα CTA (R•), επειδή οι αλυσίδες που συμπληρώνονται από τον απαρχητή έχουν αρνητικές επιπτώσεις στον έλεγχο του μοριακού βάρους του τελικού πολυμερούς. Επίσης, λόγω της εκθετικής αποσύνθεσης των συμβατικών θερμικών απαρχητών, δημιουργούνται ελεύθερες ρίζες καθ' όλη τη διάρκεια του πολυμερισμού, γεγονός που είναι πιθανό να οδηγήσει σε διμοριακό

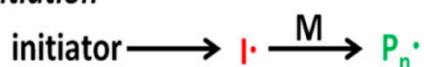
τερματισμό. Η συνεχής παραγωγή ριζών έχει επίσης το πλεονέκτημα ότι μπορεί να αντικαταστήσει ρίζες που χάθηκαν σε τυχόν αντιδράσεις τερματισμού και βοηθά στη διατήρηση του ρυθμού πολυμερισμού σε σταθερά επίπεδα. Μετά την αντίδραση την αρχικής ρίζας  $I^\bullet$  με το μονομερές, που έχει ως αποτέλεσμα μία διαδιδόμενη ολιγομερική αλυσίδα ( $P_n^\bullet$ ), το CTA αντιδρά με την  $P_n^\bullet$  για να δώσει μια ενδιάμεση ρίζα. Αυτή η ενδιάμεση ρίζα, αν έχει γίνει σωστή επιλογή CTA, θρυμματίζεται και δημιουργείται ένα νέο είδος ρίζας  $R^\bullet$ . Το στάδιο προ-ισορροπίας (pre-equilibrium) ορίζεται ως ο χρόνος που απαιτείται ώστε όλα τα θραύσματα  $R^\bullet$  να προσθέσουν μονομερικές μονάδες για να σχηματιστούν διαδιδόμενες αλυσίδες  $P_m^\bullet$  και διέπεται από τις τέσσερις σταθερές  $k_{add}$ ,  $k_{-add}$ ,  $k_\beta$  και  $k_{-\beta}$ . Για να επιτευχθούν στενές κατανομές μοριακών βαρών το στάδιο προ-ισορροπίας πρέπει να ολοκληρωθεί νωρίς για όλες τις αλυσίδες, έτσι ώστε να μπουν στο στάδιο κυρίως ισορροπίας την ίδια στιγμή. Αυτό είναι ανάλογο με άλλα συστήματα ζωντανού πολυμερισμού, στα οποία υποτίθεται ότι η έναρξη συμβαίνει ποσοτικά και ακαριαία.

Όταν ολοκληρωθεί το στάδιο προ-ισορροπίας, ο πολυμερισμός μπαίνει στο στάδιο της κυρίως ισορροπίας. Αυτό το στάδιο περιλαμβάνει την εκφυλιστική μεταφορά της ακραίας μεταφερόμενης ομάδας του CTA πχ. την ομάδα θειοκαρβόνυλοθιο (thiocarbonylthio) ανάμεσα στις διαδιδόμενες αλυσίδες, μέσω του σχηματισμού και της απόσπασης μιας ενδιάμεσης ρίζας. Η ανταλλαγή μεταξύ των ενεργών και αδρανών αλυσίδων επιτυγχάνεται με την άμεση απόσπαση της ενδιάμεσης ρίζας προς τις δύο κατευθύνσεις, επιτρέποντας την ελεγχόμενη προσθήκη μονομερών σε κάθε αλυσίδα με τις ίδιες πιθανότητες. Η μεγαλύτερη κατανάλωση μονομερούς συμβαίνει κατά τη διάρκεια της κυρίως ισορροπίας και ο αριθμός των προστιθέμενων μονομερών μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τις συνθήκες στις οποίες πραγματοποιείται η αντίδραση πολυμερισμού.

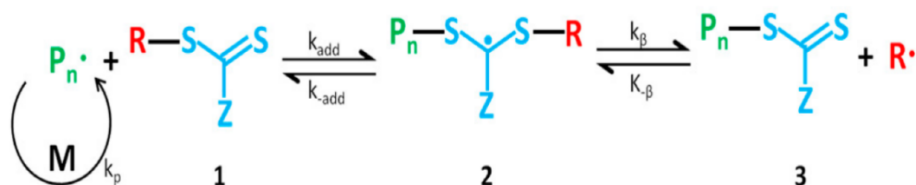
Όπως σε όλες τις τεχνικές ζωντανού/ελεγχόμενου ριζικού πολυμερισμού, ο RAFT δουλεύει για να περιορίσει τον αριθμό των μη αντιστρεπτών αντιδράσεων τερματισμού, με το να ελαχιστοποιεί την συγκέντρωση ριζών που είναι διαθέσιμες για τερματισμό κάθε στιγμή. Ωστόσο, όπως σε όλες τις διαδικασίες ελευθέρων ριζών, αντιδράσεις τερματισμού λαμβάνουν χώρα

εξαιτίας της σύζευξης των ελευθέρων ριζών και η δυσαναλογία μπορεί να συσχετιστεί άμεσα με την αρχική συγκέντρωση του απαρχητή. Όταν ο αρχικός τρόπος τερματισμού είναι διμοριακός συνδυασμός (bimolecular combination), ο αριθμός των νεκρών αλυσίδων δημιουργείται με το μισό των αλυσίδων να προέρχονται από τον απαρχητή. Στην περίπτωση όπου η δυσαναλογία (disproportionation) είναι ο κυρίαρχος τρόπος τερματισμού, ο αριθμός των νεκρών αλυσίδων δημιουργείται με τον συνολικό αριθμό των αλυσίδων που προέρχονται από τον απαρχητή. (Σχήμα 1.2)

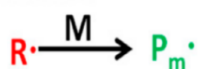
### 1. Initiation



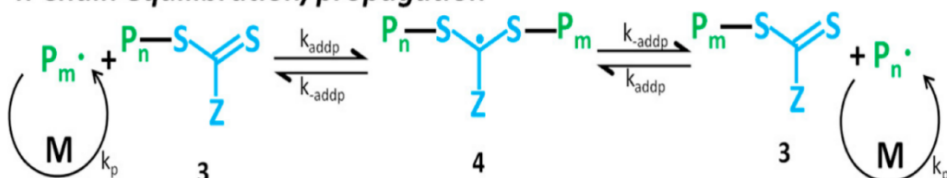
### 2. Reversible chain transfer/propagation



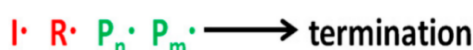
### 3. Reinitiation



### 4. Chain equilibration/propagation



### 5. Termination



Σχήμα 1.2: Μηχανισμός πολυμερισμού RAFT

#### 1.7.1 Έλεγχος μοριακού βάρους στον πολυμερισμό RAFT [53]

Πρέπει να πληρούνται αρκετές συνθήκες, ώστε να υπάρχει έλεγχος του μοριακού βάρους σε έναν πολυμερισμό RAFT. Τα δύο πιο σημαντικά κριτήρια είναι η επιλογή του κατάλληλου CTA για τον πολυμερισμό του επιθυμητού μονομερούς και η επαρκώς υψηλότερη συγκέντρωση CTA σε σχέση με αυτή του απαρχητή. Σύμφωνα με τον μηχανισμό RAFT, οι πιθανές πηγές παραγωγής πολυμερικών αλυσίδων είναι δύο: τα θραύσματα του απαρχητή

και η αποχωρούσα ομάδα του CTA (R•). Έτσι, το θεωρητικό μέσο μοριακό βάρος κατ' αριθμό  $\langle M_n \rangle$  μπορεί να προσδιοριστεί σύμφωνα με την εξίσωση.

$$M_{n,th} = \frac{[M]_0 M_{MW} \rho}{[CTA]_0 + 2f[I]_0(1 - e^{-k_d t})} + CTA_{MW} \quad (1.2.1)$$

Όπου  $[M]_0$  η αρχική συγκέντρωση μονομερούς,  $M_{MW}$  το μοριακό βάρος του μονομερούς,  $\rho$  είναι η μετατροπή του μονομερούς,  $[CTA]_0$  η αρχική συγκέντρωση του CTA,  $f$  η αποδοτικότητα του απαρχητή,  $[I]_0$  η αρχική συγκέντρωση του απαρχητή,  $k_d$  σταθερά ρυθμού αποσύνθεσης του απαρχητή και  $CTA_{MW}$  είναι το μοριακό βάρος του απαρχητή. Σε έναν καλά σχεδιασμένο πολυμερισμό RAFT, με υψηλή συγκέντρωση CTA σε σχέση με τον απαρχητή, το ποσοστό των αλυσίδων που προέρχονται από τον απαρχητή είναι μικρότερο του 5% και έτσι οι όροι που αντιστοιχούν σε αυτές τις αλυσίδες μπορούν να παραληφθούν. Έτσι η εξίσωση γίνεται:

$$M_{n,th} = \frac{[M]_0 M_{MW} \rho}{[CTA]_0} + CTA_{MW} \quad (1.2.2)$$

Από αυτή τη σχέση, το μοριακό βάρος αυξάνεται γραμμικά με τη μετατροπή του μονομερούς, επιτρέποντας τη σύνθεση πολυμερών με προκαθορισμένο μοριακό βάρος και χαμηλές τιμές πολυδιασποράς.

### 1.7.2 Επιλογή κατάλληλου CTA

Έχει αναφερθεί μια ευρεία ποικιλία CTAs. Η αποτελεσματικότητα του CTA εξαρτάται από το μονομερές που προορίζεται για πολυμερισμό και καθορίζεται από τις ιδιότητες της αποχωρούσας ομάδας R και της ομάδας Z, η οποία μπορεί να επιλεγεί έτσι ώστε να ενεργοποιεί ή να απενεργοποιεί τον θειοκαρβόνυλο (thiocarbonyl) διπλό δεσμό του CTA και να τροποποιεί τη σταθερότητα των ενδιάμεσων ριζών. Για έναν αποτελεσματικό πολυμερισμό RAFT:

- Ο αρχικός CTA και ο CTA στα άκρα του πολυμερούς πρέπει να έχουν έναν ενεργό διπλό δεσμό C=S (υψηλή  $k_{add}$ )
- Οι ενδιάμεσες ρίζες πρέπει να αποσπώνται εύκολα (υψηλή  $k_\beta$ , ασθενής δεσμός S–R στο ενδιάμεσο) και να μην δίνουν παράπλευρες αντιδράσεις

- Οι ρίζες που έχουν αποσπαστεί ( $R\cdot$ ) πρέπει να επανεκκινούν αποτελεσματικά τον πολυμερισμό ( $k_i > k_p$ ).

## 1.8 Σκοπός της παρούσας εργασίας

Πρωταρχικός σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν η επιτυχής σύνθεση καλά καθορισμένων pH-αποκρινόμενων τυχαίων συμπολυμερών, του τύπου πολυ(μεθακρυλικός μεθυλεστέρας της (ολιγο αιθυλενογλυκόλης)-co-μεθακρυλικός 2-(δι-ισοπροπυλαμινο) αιθυλεστέρας) (poly[(oligo ethylene glycol) methyl ether methacrylate-co-(2-(diisopropylamino) ethyl methacrylate)]) μέσω της τεχνικής πολυμερισμού αντιστρεπτής προσθήκης-μεταφοράς αλυσίδας με απόσπαση (Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization, RAFT), όπου το OEGMA αποτελεί την υδρόφιλη δομική μονάδα και το DIPAEMA την pH-αποκρινόμενη δομική μονάδα, η οποία ανάλογα με τον βαθμό πρωτονίωσης ή αποπρωτονίωσης του αζώτου της διισοπροπυλαμίνης μπορεί να είναι υδρόφιλο ή αντίστοιχα υδρόφοβο. Συνολικά παρασκευάστηκαν δύο συστήματα το καθένα αποτελούμενο από δύο τυχαία συμπολυμερή με διαφορετικές αναλογίες μονομερικών μονάδων. Στο πρώτο σύστημα χρησιμοποιήθηκε μεθακρυλικός μεθυλεστέρας της (ολιγο αιθυλενογλυκόλης) με εννέα μονάδες αιθυλενογλυκόλης ( $M_w=500$ ) στην πλευρική του αλυσίδα η οποία τερματίζεται με μεθυλαιθέρα, ενώ στο δεύτερο σύστημα τα συμπολυμερή παρασκευάστηκαν με την χρήση μεθακρυλικού μεθυλεστέρα της (ολιγο αιθυλενογλυκόλης) με 19 μονάδες αιθυλενογλυκόλης ( $M_w=950$ ) στην πλευρική του αλυσίδα. Ο χαρακτηρισμός τους έλαβε χώρα κάνοντας χρήση της χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγεθών (SEC), της φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και της φασματοσκοπίας υπερύθρου (FTIR). Μετά την επίτευξη του πρωταρχικού στόχου, το ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στην μελέτη της αυτοοργάνωσης των συμπολυμερών σε υδατικά διαλύματα και στην απόκριση την οποία παρουσιάζουν στην αλλαγή του pH, με τη χρήση των μεθόδων σκέδασης φωτός (DLS, SLS, ELS) και της φασματοσκοπίας φθορισμού (FS). Ακολούθως μελετήθηκε η δυνατότητα χρήσης των πολυμερικών μικκυλίων όλων των συστημάτων για τον εγκλωβισμό του υδρόφοβου φαρμάκου κουρκουμίνη προκειμένου να εξεταστεί η ικανότητά τους ως νανοφορείς υδρόφοβων φαρμάκων.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

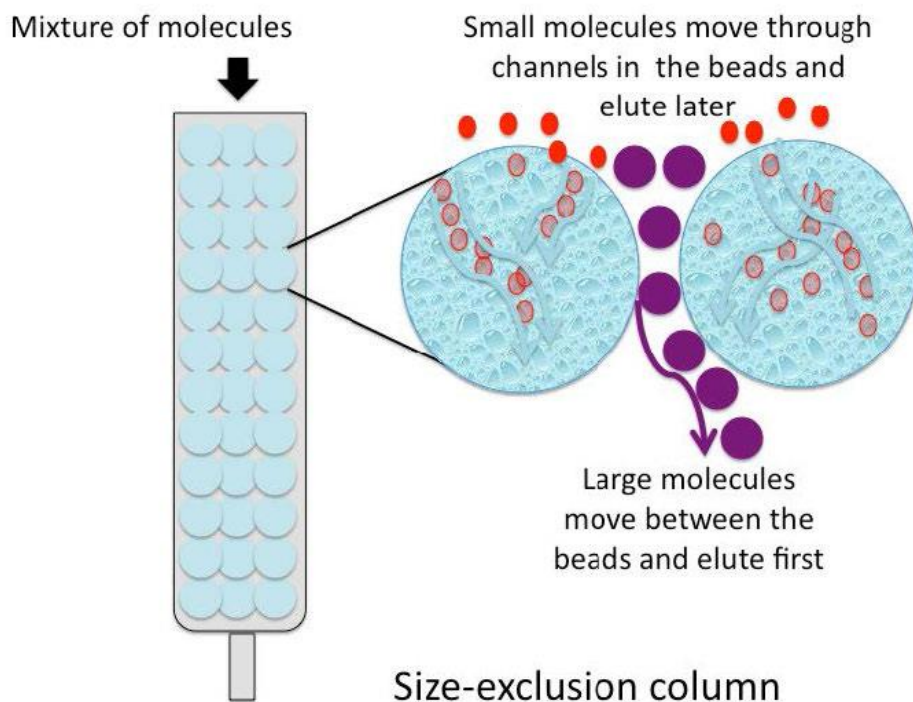
### ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

#### 2.1 Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (SEC)

Η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (Size Exclusion Chromatography, SEC), είναι μια από τις σημαντικότερες μεθόδους προσδιορισμού του μοριακού βάρους και της κατανομής μοριακών βαρών των πολυμερών. Βασίζεται στο διαχωρισμό των μακρομοριακών αλυσίδων βάσει του μεγέθους τους και για αυτόν το λόγο ονομάζεται και χρωματογραφία διαπερατότητας μέσω πηκτής (Gel Permeation Chromatography, GPC). Κατά τη διάρκεια της χρωματογραφίας SEC, τα μακρομόρια διαχωρίζονται σύμφωνα με τον υδροδυναμικό τους όγκο, δηλαδή σύμφωνα με την έκταση που καταλαμβάνει το μόριο τους μέσα στο συγκεκριμένο διαλύτη. [54] Η διαδικασία βασίζεται στο γεγονός ότι ένα αραιό πολυμερικό διάλυμα, το οποίο μπορεί να περιέχει μια πλατιά κατανομή ΜΒ πολυμερικών αλυσίδων, ολογομερών ή ακόμα και μονομερών, τα οποία δεν πολυμερίστηκαν, αφήνεται να περάσει μέσα από μια στήλη η οποία έχει πληρωθεί με στερεά πορώδη σωματίδια πολύ μικρής διαμέτρου. [55] Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στο γεγονός ότι τα μικρά μόρια μπορούν να διεισδύσουν βαθύτερα μέσα στους πόρους του πληρωτικού υλικού της στήλης με αποτέλεσμα να καθυστερήσουν να εξέλθουν της στήλης, ενώ τα μεγάλα μόρια, επειδή δεν μπορούν να εισχωρήσουν μέσα στους μικρότερους πόρους, εκλούνται πρώτα. [56] Ο τρόπος με τον οποίο διαχωρίζονται τα μόρια αναλόγως του μεγέθους τους φαίνεται στην *Εικόνα 2.1*.

Διάφοροι ανιχνευτές έχουν ανακαλυφθεί για τη συνεχή παρακολούθηση των μορίων που εκλούνται. Αυτοί μπορούν να χωριστούν στις εξής κατηγορίες:

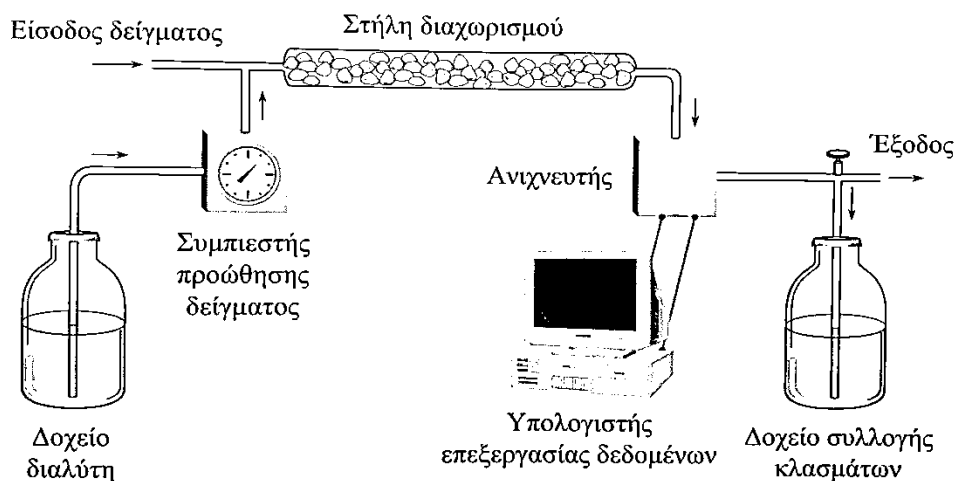
- Ανιχνευτές μάζας (διαφορικό διαθλασίμετρο, πυκνόμετρο)
- Ειδικοί ανιχνευτές (ανιχνευτές απορρόφησης)
- Ανιχνευτές ευαίσθητοι σε μοριακή μάζα (φωτόμετρο σκέδασης φωτός λείζερ σε μικρές γωνίες)



**Εικόνα 2.1: Σχηματική αναπαράσταση του διαχωρισμού ενός αραιού πολυμερικού διαλύματος με χρήση της χρωματογραφίας SEC**

Το πακεταριστικό υλικό των στηλών μπορεί να είναι οργανικής φύσεως όπως πολυστυρένιο δικτυωμένο με διβινυλοβενζόλιο ή ανόργανο όπως οξειδίο του πυριτίου ή πορώδες γυαλί. Συνήθως προτιμάται πακεταριστικό υλικό από πολυστυρένιο και όχι από ανόργανες ύλες, επειδή έτσι δεν δημιουργούνται δευτερογενείς αλληλεπιδράσεις, οι οποίες θα οδηγούσαν σε δευτερογενείς διαδικασίες κατανομής. Οι λόγοι για τέτοιες δευτερογενείς διαδικασίες είναι προσρόφηση, κατανομή, ασυμβατότητα κ.α. Γενικά, τέτοιες διαδικασίες αυξάνουν τον όγκο έκλουσης, δίνοντας έτσι μειωμένο μοριακό βάρος για το άγνωστο δείγμα. [57]

Η χρωματογραφία SEC είναι μια σχετική μέθοδος προσδιορισμού MB διότι απαιτεί βαθμονόμηση για μετατροπή της κατανομής όγκων έκλουσης σε κατανομή μοριακών βαρών, MB. Η βαθμονόμηση γίνεται με πρότυπα, μονοδιάσπαρτα πολυμερή, των οποίων τα MB είναι γνωστά, γιατί έχουν χαρακτηριστεί με απόλυτες μεθόδους, όπως η στατική σκέδαση φωτός και η ωσμωμετρία.



**Εικόνα 2.2: Σχηματική αναπαράσταση οργάνολογίας SEC**

Με τον τρόπο αυτό γίνεται γνωστός ο χρόνος κατακράτησης στη στήλη μορίων συγκεκριμένου MB και με βάση αυτά μπορούν να μετατραπούν οι χρόνοι κατακράτησης αγνώστων δειγμάτων σε ισοδύναμα MB, με την προϋπόθεση ότι οι συνθήκες διεξαγωγής της βαθμονόμησης και ανάλυσης ενός αγνώστου MB δείγματος παραμένουν οι ίδιες (π.χ. η στήλη, ο φέρων διαλύτης, η ροή του διαλύτη και η πίεση). Επίσης θα πρέπει το άγνωστο δείγμα να έχει την ίδια χημική σύσταση και αρχιτεκτονική με τα πρότυπα δείγματα με τα οποία έγινε η βαθμονόμηση. Για παράδειγμα στην περίπτωση μιγμάτων ομοπολυμερών, συμπολυμερών και διακλαδισμένων ή αστεροειδών ομοπολυμερών ή συμπολυμερών θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν ότι:

- Για δεδομένο μοριακό βάρος, ο υδροδυναμικός όγκος των διακλαδισμένων πολυμερών είναι μικρότερος από του αντίστοιχου γραμμικού.
- Σε ένα συμπολυμερές, ο μερικός μοριακός όγκος  $M_i/M_h$  για κάθε μία από τις επαναλαμβανόμενες μονάδες είναι διαφορετικός.

Σε αυτή την περίπτωση θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί η παγκόσμια καμπύλη βαθμονόμησης  $\log[\eta]M_w=f(V_e)$ , όπου  $[\eta]$  το εσωτερικό ιξώδες του εκάστοτε προτύπου στο φέροντα διαλύτη και στη θερμοκρασία λειτουργίας του οργάνου της SEC. Η μέθοδος αυτή εξομοιώνει τις διαφορετικές αρχιτεκτονικές.

Ένα πρόβλημα που υπάρχει είναι ότι στην αγορά διατίθεται περιορισμένος αριθμός τύπων ομοπολυμερών στενής κατανομής MB για βαθμονόμηση της

SEC. Τα πιο συνηθισμένα είναι τα πρότυπα του πολυστυρενίου, πολυ(μεθακρυλικού μεθυλεστέρα) και του πολυαιθυλενοξειδίου. Έτσι η βαθμονόμηση γίνεται συνήθως όχι με βάση τη μοριακή μάζα, αλλά με βάση τον υδροδυναμικό όγκο του πολυμερούς στο διάλυμα. Ο υδροδυναμικός όγκος εξαρτάται από την αρχιτεκτονική του πολυμερούς, τη φύση του πολυμερούς, τη θερμοκρασία και τη φύση του χρησιμοποιούμενου διαλύτη. [58]

## 2.2 Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

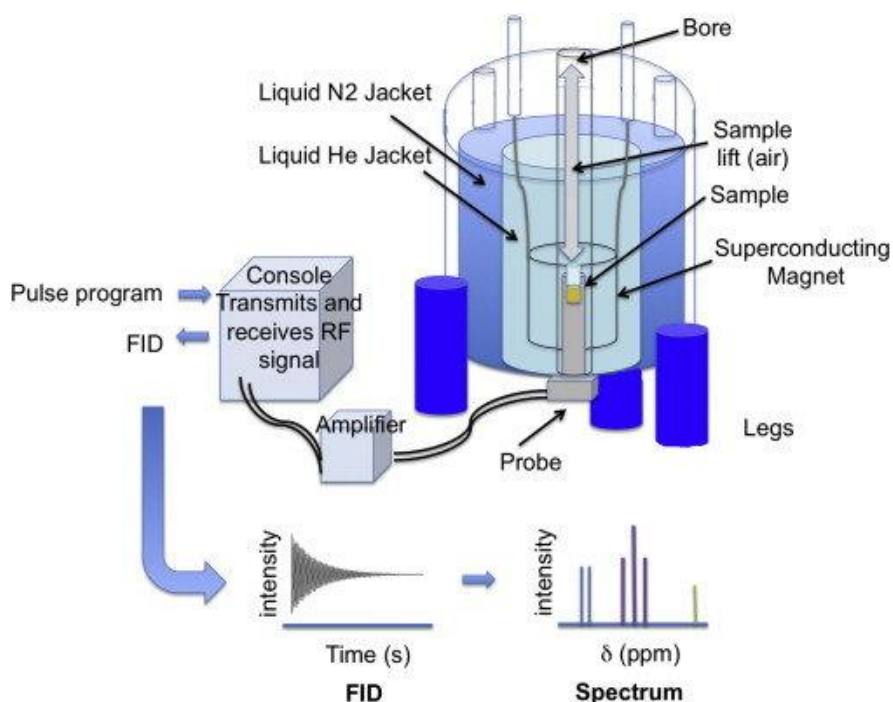
Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) είναι ένα από τα αποτελεσματικότερα εργαλεία που διαθέτουμε για τον προσδιορισμό της δομής χημικών ουσιών. Παρέχει ποιοτικές και ποσοτικές πληροφορίες για τη σύσταση των δομικών μονάδων και τη στερεοχημική διαμόρφωση των μορίων. Για τον προσδιορισμό των δομών πολύπλοκων οργανικών ενώσεων η φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται συνήθως σε συνδυασμό με άλλα είδη φασματοσκοπίας και χημικής ανάλυσης. Βασίζεται στη μέτρηση της απορρόφησης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων, από περίπου 4 έως 900 MHz. Στη διαδικασία της απορρόφησης μετέχουν οι πυρήνες των ατόμων και σε αντίθεση με την απορρόφηση υπεριώδους, ορατής και υπέρυθρης ακτινοβολίας όπου μετέχουν τα ηλεκτρόνια. Η θεωρητική βάση για τη φασματοσκοπία NMR τέθηκε από τον W. Pauli το 1924, ο οποίος πρότεινε ότι ορισμένοι ατομικοί πυρήνες θα έπρεπε να έχουν ιδιότητες αυτοστροφορμής (spin) και μαγνητικής ροπής και συνεπώς η έκθεσή τους σε μαγνητικό πεδίο θα οδηγούσε σε διαχωρισμό των ενεργειακών τους επιπέδων. [59,60] Η τεχνική λαμβάνει χώρα είτε σε διάλυμα είτε σε στερεή κατάσταση για μη διαλυτά υλικά και βασίζεται στην αναλογία μεταξύ της μέγιστης παρατηρούμενης έντασης του φάσματος NMR και τον αριθμό των πυρήνων που παράγουν αντίστοιχο σήμα. Για τη λήψη ενός φάσματος NMR είναι αρκετό ένα πολύ μικρό δείγμα, το οποίο παραμένει αναλλοίωτο. Η φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται για την μελέτη μιας μεγάλης ποικιλίας πυρήνων, όπως  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$  και  $^{31}\text{P}$ . Οι πυρήνες πρωτονίου ( $^1\text{H}$ ) και άνθρακα ( $^{13}\text{C}$ ), θεωρούνται από τους οργανικούς χημικούς οι χρησιμότεροι, αφού το υδρογόνο και ο άνθρακας αποτελούν τα κύρια συστατικά των

οργανικών ενώσεων. Η σημαντικότερη και συνηθέστερη χρήση του NMR στα πολυμερή είναι η εύρεση της σύστασης συμπολυμερών. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι υπάρχει αναλογικότητα μεταξύ του σήματος και του αριθμού των πυρήνων που δημιουργούν το σήμα αυτό.

Η οργανολογία ενός απλούστερου τύπου φασματομέτρου NMR αποτελείται από τέσσερα βασικά μέρη: [61]

- Ένα σταθερό μαγνήτη με ευαίσθητο ελεγκτή, για την παραγωγή μαγνητικού πεδίου ακριβείας
- Μια γεννήτρια ραδιοσυχνοτήτων (RF *Transmitter*), η οποία εκπέμπει σε σταθερή συχνότητα
- Έναν ανιχνευτή (*Detector*) για τη μέτρηση της απορρόφησης του δείγματος, ενέργειας RF

Η αναλυτική οργανολογία ενός φασματομέτρου NMR φαίνεται αναλυτικά παρακάτω: (Εικόνα 2.3)



**Εικόνα 2.3: Οργανολογία φασματομέτρου NMR**

Το φάσμα πρωτονίου  $^1\text{H}$  NMR, το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως για την μελέτη των πολυμερών, αποτελείται από μία ομάδα φασματικών γραμμών οι οποίες οφείλονται στα διαφορετικά είδη πρωτονίων του δείγματος. Υπάρχουν

τρεις βασικές πληροφορίες που μπορούμε να πάρουμε από ένα φάσμα:

- Η θέση της φασματικής γραμμής ή όπως λέγεται η χημική μετατόπιση, η οποία είναι χαρακτηριστική του είδους των πυρήνων και του μοριακού περιβάλλοντος τους.
- Το εμβαδόν της περιοχής κάτω από κάθε φασματική γραμμή, το οποίο είναι ανάλογο με τον αριθμό των πυρήνων που υπάρχουν στο δείγμα.
- Το εύρος της φασματικής γραμμής, το οποίο σχετίζεται με το μοριακό περιβάλλον του συγκεκριμένου πρωτονίου.

Ο συντονισμός του κάθε πυρήνα σε διαφορετική συχνότητα οφείλεται στην ύπαρξη ηλεκτρονίων τα οποία τον περιβάλλουν. Τα ηλεκτρόνια αυτά δημιουργούν τοπικά μαγνητικά πεδία τα οποία τον προασπίζουν, με αποτέλεσμα ο πυρήνας να αισθάνεται πεδίο  $B_{eff}$  διαφορετικό από το εφαρμοζόμενο  $B_0$ :

$$B_{eff}=B_0(1-\sigma) \quad (2.2.1)$$

Όπου  $\sigma$  είναι η σταθερά προάσπισης (shielding ή screening constant), ένα αδιάστατο μέγεθος που καθορίζει την ηλεκτρονική πυκνότητα γύρω από τον πυρήνα και κατά συνέπεια το βαθμό προάσπισής του.

Η χημική μετατόπιση ενός πυρήνα είναι η διαφορά μεταξύ της συχνότητας συντονισμού του πυρήνα και μιας πρότυπης ουσίας αναφοράς. Η ουσία αναφοράς για το φάσμα πρωτονίου είναι το τετραμεθυλοσιλάνιο ( $Si(CH_3)_4$ ), που αναφέρεται ως TMS και έχει δώδεκα ισοδύναμα και ισχυρά προασπισμένα πρωτόνια. Η χημική μετατόπιση  $\delta$  ορίζεται από τις σχέσεις:

$$\delta=(B_\alpha-B_\delta)/B_\alpha \times 10^6\text{ppm} \quad (2.2.2)$$

$$\delta=(\nu_\alpha-\nu_\delta)/\nu_\alpha \times 10^6\text{ppm} \quad (2.2.3)$$

όπου  $B_\alpha$  και  $B_\delta$  τα πεδία συντονισμού των πυρήνων της ουσίας αναφοράς και του δείγματος αντίστοιχα, ενώ  $\nu_\alpha$  και  $\nu_\delta$  οι συχνότητες της ουσίας αναφοράς και του δείγματος αντίστοιχα. Γενικά, όσο πιο προασπισμένος είναι ένας πυρήνας (μεγάλη τιμή του  $\sigma$ ) τόσο ο συντονισμός θα επιτυγχάνεται σε υψηλά εφαρμοζόμενα μαγνητικά πεδία και σε χαμηλότερη συχνότητα. Το γεγονός ότι

η περιοχή κάτω από τη φασματική γραμμή είναι ανάλογη με τον αριθμό των σωματιδίων στο δείγμα αποτελεί τη βάση της ποσοτικής ανάλυσης. Παίρνοντας το λόγο των διαφορετικών φασματικών γραμμών οι οποίες οφείλονται σε διαφορετικά είδη πυρήνων μπορούμε να προσδιορίσουμε τη σύσταση των συμπολυμερών.

Τέλος, ο βαθμός διάσχισης της κορυφής μας βοηθάει στην ταυτοποίησή της. Ο αριθμός των φασματικών γραμμών που παίρνουμε δίνεται από τον τύπο  $(2n_x I_x + 1)$ , όπου  $n_x$  είναι ο αριθμός των ισοδύναμων πυρήνων και  $I_x$  το spin του πυρήνα. Στην περίπτωση του  $^1\text{H}$  και το  $^{13}\text{C}$ , όπου το spin τους είναι  $I=1/2$ , η παραπάνω σχέση ανάγεται σε  $n_x+1$ . Οι σχετικές εντάσεις των κορυφών είναι οι συντελεστές των όρων του αναπτύγματος  $(1+x)^n$ . Έτσι ένας πυρήνας που διασχίζεται από δύο άλλους γειτονικούς θα δίνει μία τριπλή κορυφή με εντάσεις κορυφών 1:2:1.

### 2.3 Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR)

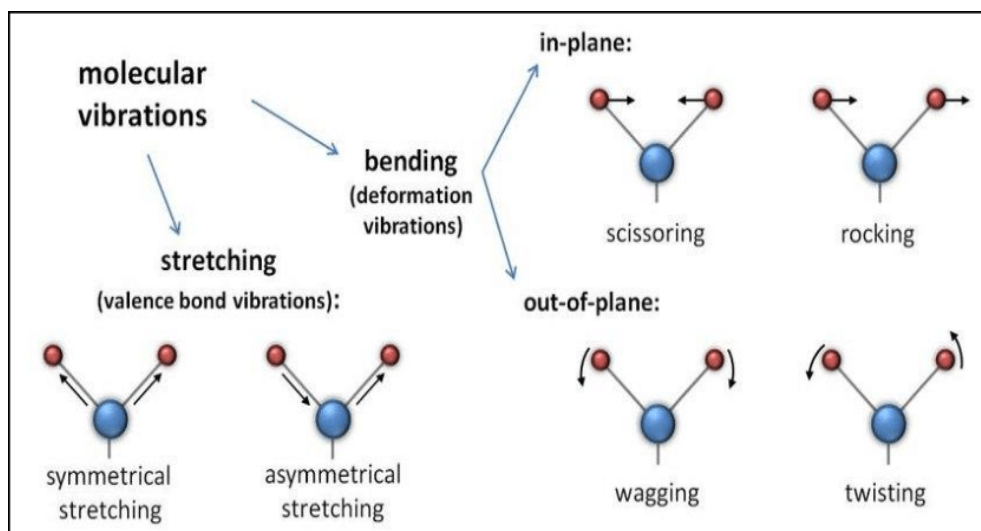
Η φασματοσκοπία υπερύθρου (Infrared Spectroscopy, IR) αποτελεί κλάδο της δονητικής φασματοσκοπίας και αφορά την αλληλεπίδραση της υπέρυθρης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ύλη. Δίνει δηλαδή ένα μέτρο της ικανότητας του υλικού να απορροφά ή να ανακλά την υπέρυθρη ακτινοβολία, λόγω συντονισμού με τους κανονικούς τρόπους δόνησής του. Το φάσμα υπερύθρου συνδέεται άμεσα με τη δομή και τη χημική σύσταση ενός υλικού και έμμεσα με τις ιδιότητές του. Για τον λόγο αυτόν αποτελεί μία μέθοδο εύκολης και γρήγορης ταυτοποίησης της ύπαρξης χαρακτηριστικών ομάδων σε ένα μόριο. Η ελάχιστη ποσότητα δείγματος και η ταχύτητα λήψης είναι τα σημεία που καθιστούν την φασματοσκοπία IR ιδιαίτερα χρήσιμη και εύχρηστη μέθοδο στην ταυτοποίηση ενός άγνωστου δείγματος. [62,63]

Η υπέρυθρη περιοχή του φάσματος περιλαμβάνει ακτινοβολία στην περιοχή από  $14000\text{ cm}^{-1}$  μέχρι  $10\text{ cm}^{-1}$ . Το φάσμα της υπέρυθρης ακτινοβολίας υποδιαιρείται συμβατικά σε τρεις περιοχές: την εγγύς, μέση και άπω περιοχή, (εγγύς περιοχή:  $14000-4000\text{ cm}^{-1}$ , μέση περιοχή  $4000-400\text{ cm}^{-1}$ , άπω περιοχή  $400-10\text{ cm}^{-1}$ ). Βασίζεται στην αρχή ότι οι χημικοί δεσμοί απορροφούν την

υπέρυθρη ακτινοβολία, χαρακτηριστικής ενέργειας και κάθε δείγμα παράγει ένα φάσμα το οποίο απεικονίζει τη συνδυασμένη απορρόφηση των ατόμων που είναι παρόντα. Επειδή κάθε διαφορετικό υλικό είναι ένας μοναδικός συνδυασμός ατόμων, καμία ένωση δύο ατόμων δεν παράγει ακριβώς το ίδιο φάσμα υπέρυθρου. Επομένως, η φασματοσκοπία υπέρυθρου μπορεί να οδηγήσει σε έναν σαφή προσδιορισμό (ποιοτική ανάλυση) των διαφορετικών ειδών του υλικού. [62,63] Όταν μια ποσότητα ύλης ακτινοβολείται με υπέρυθρη ακτινοβολία, ένα ποσοστό από τα μόρια που δέχονται την ακτινοβολία διεγείρονται, αυξάνοντας την ενέργεια δόνησης και περιστροφής τους. Για να λάβει χώρα η απορρόφηση ενέργειας από τα μόρια, θα πρέπει η συχνότητα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας να συμπέσει με την συχνότητα δόνησης των ατόμων του δεσμού. Οι συχνότητες με τις οποίες δονούνται τα άτομα στο μόριο εξαρτώνται μόνο από τις μάζες των ατόμων, τον τύπο του δεσμού και το σχήμα του μορίου. Αν ένα μόριο είναι συμμετρικό δεν παρατηρείται απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας. Ένα μόριο θα απορροφήσει στο IR μόνο εφόσον μεταβάλλεται η διπολική ροπή του κατά την διάρκεια της δόνησης. Διαφορετικά, η δόνηση θεωρείται ανενεργή στο IR. Όσο μεγαλύτερη είναι η μεταβολή της διπολικής ροπής, τόσο ισχυρότερη είναι και η απορρόφηση. Στη φασματοσκοπία IR έχουμε απορροφήσεις που οφείλονται σε δονήσεις ή κάμψεις των ατόμων στα μόρια και στους κρυστάλλους. Σε ένα μόριο κάθε δεσμός απορροφά ακτινοβολία σε ορισμένα μήκη κύματος δίνοντας κβαντωμένες διεγερμένες καταστάσεις δόνησης.

Συνήθως στα μόρια συναντώνται οι ακόλουθοι βασικοί τύποι δονήσεων οι οποίοι παρουσιάζονται στη *Εικόνα 2.4* :





**Εικόνα 2.4: Βασικοί τύποι δονήσεων τάσης και κάμψης των μοριακών δομών στην IR φασματοσκοπία**

1. Δονήσεις τάσης (stretching vibrations) οι οποίες παράγονται όταν δύο συνδεδεμένα άτομα πάλλονται συνεχώς μεταξύ τους, μεταβάλλοντας τη μεταξύ τους απόσταση κατά μήκος του άξονα του δεσμού. Οι δονήσεις αυτές μπορεί να είναι είτε μεμονωμένες, όπως συμβαίνει στον δεσμό O–H, είτε συζευγμένες, όπως για παράδειγμα η ομάδα του μεθυλενίου. Οι συζευγμένες δονήσεις διακρίνονται σε συμμετρικές (symmetric stretching) και ασύμμετρες (asymmetric stretching).

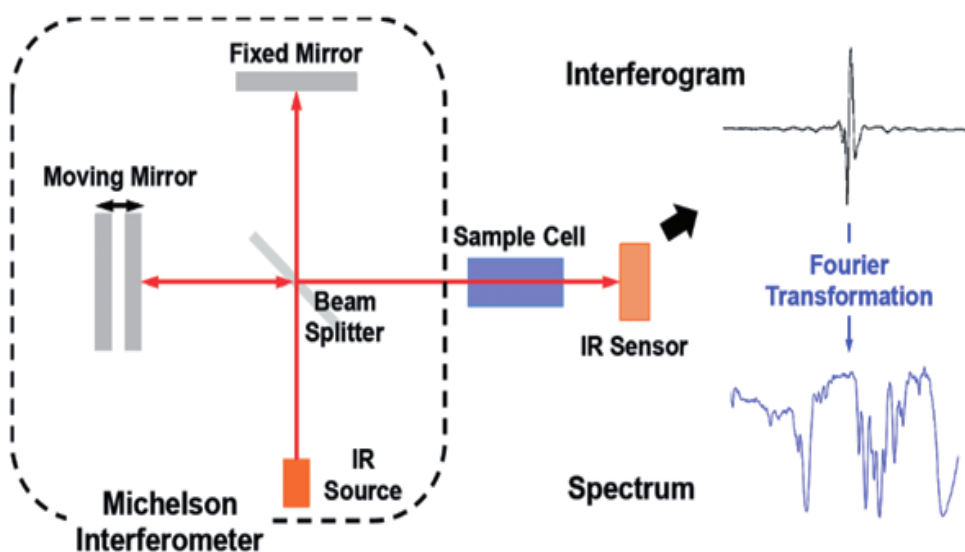
2. Δονήσεις κάμψης (bending vibrations) οι οποίες χαρακτηρίζονται από μία συνεχή μεταβολή της γωνίας μεταξύ των δύο δεσμών και διακρίνονται στους εξής τέσσερις τύπους:

- Δονήσεις ψαλιδιού ή παραμόρφωσης (scissoring or deformation vibrations) οι οποίες παράγονται όταν δύο άτομα που είναι συνδεδεμένα με ένα κεντρικό άτομο κινούνται εμπρός πίσω εντός του επιπέδου ισορροπίας (in-plane) και προς τη μεταξύ τους διεύθυνση.
- Δονήσεις αιώρησης (rocking vibrations) οι οποίες συμβαίνουν όταν μία μη γραμμική δομική μονάδα τριών ατόμων δονείται εμπρός και πίσω εντός του επιπέδου ισορροπίας (in-plane) που σχηματίζεται από τα άτομα και τους δύο δεσμούς.
- Δονήσεις σείσης (wagging vibrations) οι οποίες παράγονται όταν μία γραμμική δομική μονάδα τριών ατόμων δονείται εκτός του επιπέδου

ισορροπίας (out-of-plane) που σχηματίζεται από τα άτομα και τους δεσμούς.

- Δονήσεις συστροφής (twisting vibrations) οι οποίες λαμβάνουν χώρα όταν μία δομική μονάδα τριών ατόμων συστρέφεται γύρω από τον δεσμό σύνδεσης με το υπόλοιπο τμήμα του μορίου εκτός του επιπέδου ισορροπίας (out-of-plane).

Το βασικό μέρος της διάταξης μέτρησης υπέρυθρης φασματοσκοπίας με μετασχηματισμό Fourier, FT-IR, (Εικόνα 2.5) είναι το συμβολόμετρο *Michelson*. Το συμβολόμετρο αποτελείται από έναν διαχωριστή δέσμης (*beam splitter*) των ακτινών, ένα σταθερό καθρέφτη και έναν κινητό καθρέφτη που "μεταφράζει" το σήμα πριν και μετά, με πολύ μεγάλη ακρίβεια. Ο διαχωριστής ακτινών αποτελείται από ένα ειδικό υλικό που διαβιβάζει τη μισή από την ακτινοβολία που το χτυπά και ανακλά την άλλη μισή. Η ακτινοβολία από την πηγή χτυπά το διαχωριστή ακτινών και διαχωρίζεται σε δύο ακτίνες. Μια ακτίνα διαβιβάζεται μέσω του διαχωριστή ακτινών στο σταθερό καθρέφτη και μια δεύτερη ανακλάται από το διαχωριστή ακτινών στον κινούμενο καθρέφτη.



Εικόνα 2.5: Σχηματική διάταξη του τρόπου λειτουργίας ενός τυπικού φασματοφωτομέτρου FT-IR

Οι σταθεροί και κινούμενοι καθρέφτες ανακλούν ξανά την ακτινοβολία πίσω στο *beam splitter*. Οι δύο δέσμες επανασυνδεόμενες μετά από την ανάκλασή τους στα κάτοπτρα, συμβάλλουν με μια διαφορά πορείας,  $\chi$ , ίση με το διάστημα μετατόπισης του κινητού κατόπτρου. Πάλι, η μισή από αυτήν την

ανακλώμενη ακτινοβολία διαβιβάζεται και η άλλη μισή ανακλάται από τον *beam splitter*, με συνέπεια μια ακτίνα να περνά στον ανιχνευτή και μια δεύτερη να πηγαίνει πίσω στην πηγή. Το σήμα του ανιχνευτή είναι συνάρτηση της απόστασης  $\chi$ , ενώ το φάσμα λαμβάνεται στη συνηθισμένη μορφή ( $\%T = f(\lambda)$ ), με τη βοήθεια του μετασχηματισμού Fourier και καταγράφεται στον ηλεκτρονικού υπολογιστή. [64]

#### **2.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού (FS) [65]**

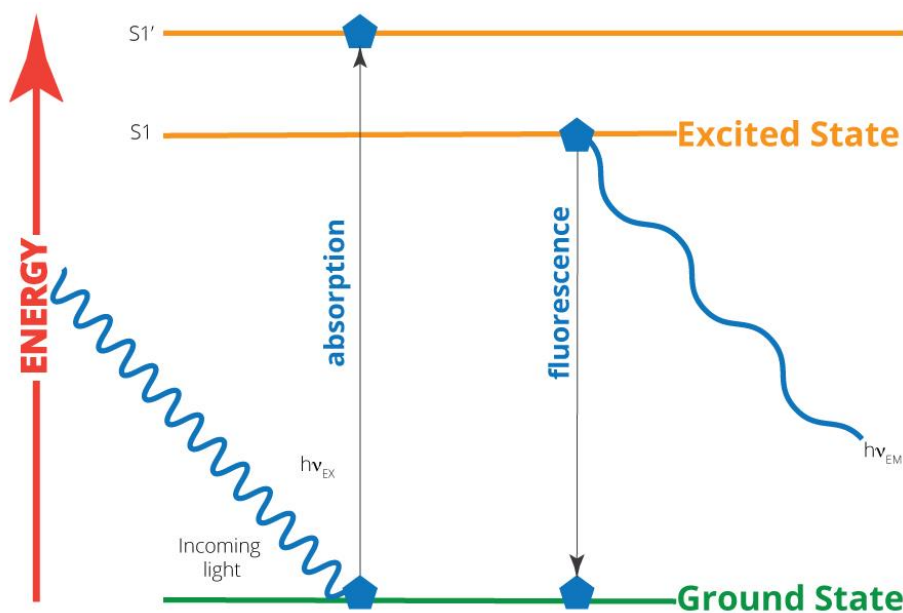
Η φασματοσκοπία φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy, FS), επιτρέπει την ανίχνευση συστατικών πολύπλοκων δομών, με εξαιρετική ευαισθησία και εκλεκτικότητα. Ο φθορισμός είναι αποτέλεσμα μιας διαδικασίας τριών σταδίων που συμβαίνει σε συγκεκριμένα μόρια που ονομάζονται μόρια χρωμοφόρου φθορισμού (fluorophore) ή φθορίζουσες χρωστικές (fluorescent dyes). Οι φθορίζοντες ιχνηθέτες είναι μόρια χρωμοφόρου φθορισμού, οι οποίοι είναι σχεδιασμένοι με τέτοιο τρόπο ώστε να εντοπίζονται εντός μιας συγκεκριμένης περιοχής του δείγματος ή να αποκρίνονται σε ένα συγκεκριμένο ερέθισμα. Τα στάδια του φθορισμού περιγράφονται ως εξής: (Εικόνα 2.6)

Στάδιο 1<sup>ο</sup>: Διέγερση. Ένα φωτόνιο ενέργειας  $h\nu_{EX}$  παρέχεται από μια εξωτερική πηγή όπως laser ή λάμπα πυρακτώσεως και απορροφάται από το μόριο που βρίσκεται στη θεμελιώδη ηλεκτρονιακή κατάσταση  $S_0$ . Αποτέλεσμα της απορρόφησης αυτής, είναι η μετάβαση ενός ηλεκτρονίου από τη θεμελιώδη κατάσταση  $S_1'$ . Κάθε ηλεκτρονιακή κατάσταση διαχωρίζεται σε επιμέρους δονητικά επίπεδα και η μετάβαση συνήθως πραγματοποιείται στο υψηλότερο ενεργειακά δονητικό επίπεδο της πρώτης διεγερμένης κατάστασης  $S_1'$ .

Στάδιο 2<sup>ο</sup>: Διάρκεια ζωής της διεγερμένης κατάστασης. Η διεγερμένη κατάσταση υπάρχει μόνο για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα (συνήθως 1-10 nanoseconds). Στο χρονικό διάστημα αυτό το μόριο χάνει ενέργεια καθώς υποβάλλεται σε αλλαγές στη διαμόρφωση και υπόκειται σε πολλαπλές αλληλεπιδράσεις με τον περιβάλλον του. Οι διαδικασίες αυτές έχουν ως συνέπεια τη μετάβαση του ηλεκτρονίου από το υψηλότερο στο χαμηλότερο

δονητικό επίπεδο της πρώτης διεγερμένης κατάστασης  $S_1$  και η διαδικασία αυτή καλείται δονητική επαναφορά.

Στάδιο 3<sup>ο</sup>: Εκπομπή φθορισμού. Όταν το μόριο αποδιεγείρεται το ηλεκτρόνιο μεταπίπτει από το χαμηλότερο ενεργειακά δονητικό επίπεδο της κατάστασης  $S_1$  στη θεμελιώδη κατάσταση  $S_0$  εκπέμποντας παράλληλα ακτινοβολία ενέργειας  $h\nu_{EM}$ .



**Εικόνα 2.6:** Απλοποιημένο διάγραμμα, το οποίο αναπαριστά σχηματικά τις διαδικασίες διέγερσης, δονητικής επαναφοράς και αποδιέγερσης

Η διαδικασία φθορισμού είναι κυκλική. Εάν το μόριο δεν έχει καταστραφεί μη αντιστρεπτά κατά τη διέγερση, μπορεί να διεγείρεται και να ανιχνεύεται επανειλημμένα. Το γεγονός ότι ένα μόριο μπορεί να παράξει πολλά ανιχνεύσιμα φωτόνια είναι το βασικό στοιχείο των τεχνικών ανίχνευσης φθορισμού υψηλής ευαισθησίας.

## 2.5 Φασματοσκοπία απορρόφησης υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) [66,67]

Η φασματοσκοπία απορρόφησης ορατού-υπεριώδους (Uv-Vis spectroscopy) βασίζεται στην αλληλεπίδραση της ύλης με την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Οι μετρήσεις απορρόφησης βρίσκουν ευρεία εφαρμογή στον ποσοτικό προσδιορισμό μιας μεγάλης ποικιλίας ανόργανων και οργανικών ουσιών. Όταν

μονοχρωματική ακτινοβολία διέρχεται από διάλυμα ικανό να την απορροφήσει τότε η ισχύς της ακτινοβολίας ελαττώνεται προοδευτικά κατά μήκος της διαδρομής. Η ελάττωση της ισχύος εξαρτάται από την συγκέντρωση της ουσίας που την απορροφά και από την απόσταση που διάνυσε η δέσμη μέσα στο διάλυμα. [92] Οι σχέσεις αυτές εκφράζονται με τον νόμο των Lambert-Beer και διατυπώνεται με τη μορφή:

$$A = \log(P_0/P) = -\log T = \log(100/\%T) = abc_{g/L} = \epsilon bc_{mol/L} \quad (2.5.1)$$

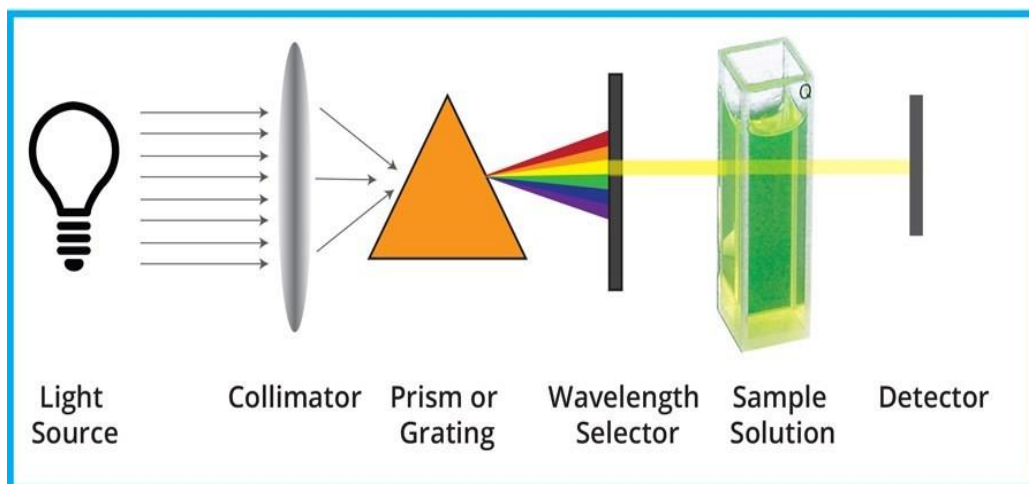
όπου A είναι η απορρόφηση, P<sub>0</sub> η ισχύς της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, P η ισχύς της εξερχόμενης ακτινοβολίας, μετά την διέλευση από το διάλυμα, T η διαπερατότητα ίση με P/P<sub>0</sub>, a η σταθερά αναλογίας όταν η c εκφράζεται σε g/L και καλείται απορροφητικότητα (g<sup>-1</sup>L cm<sup>-1</sup>), b το μήκος διαδρομής που διανύθηκε μέσα στο διάλυμα και εκφράζεται συνήθως σε cm, ε η σταθερά αναλογίας όταν η c εκφράζεται σε mol/L, η οποία καλείται μοριακή απορροφητικότητα (mol<sup>-1</sup>Lcm<sup>-1</sup> ή M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>).

Επειδή πρακτικώς είναι αδύνατη η μέτρηση των P και P<sub>0</sub> για την μέτρηση της απορρόφησης A, στην πράξη συγκρίνεται η ισχύς της ακτινοβολίας που διέρχεται από το διάλυμα του δείγματος, με την ισχύ της ακτινοβολίας που διέρχεται από το τυφλό.

$$A = \epsilon bc = \log(P_0/P) = \log(P_{\text{τυφλό}}/P_{\text{δείγμα}}) \quad (2.5.2)$$

Θεωρητικά είναι δυνατός ο υπολογισμός της c με την παραπάνω εξίσωση, αυτό όμως είναι πρακτικά ανεφάρμοστο (διαφορά στην τιμή της ε με διάφορα φασματοφωτόμετρα) και γι' αυτό στην πράξη χρησιμοποιείται πάντοτε καμπύλη αναφοράς της απορρόφησης ως συνάρτηση της συγκέντρωσης (που λαμβάνεται με σειρά προτύπων διαλυμάτων). Η κλίση της καμπύλης αναφοράς, που αναφέρεται και ως διάγραμμα του νόμου του Beer, ισούται με εb ή ab και απ' αυτή μπορεί να υπολογιστεί η τιμή της ε ή α (b είναι γνωστό). Η απεικόνιση της A ή της T ως συνάρτηση του μήκους κύματος λ ή του κυματάριθμου ν παρέχει το φάσμα απορροφήσεως, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διαπίστωση της ύπαρξης χαρακτηριστικών ομάδων, για την διευκρίνιση της δομής της ουσίας που απορροφά και για την ταυτοποίησή της. Η απορρόφηση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας

προκαλεί μεταπτώσεις ηλεκτρονίων εξωτερικών στοιβάδων. Το μόριο απορροφά φως με αποτέλεσμα την διέγερση των ηλεκτρονίων σθένους από την βασική στην διεγερμένη κατάσταση. Υπάρχουν τρεις τύποι ηλεκτρονιακών μεταπτώσεων κατά την απορρόφηση ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας: οι μεταπτώσεις π, σ και η ηλεκτρονίων, οι μεταπτώσεις d και f ηλεκτρονίων και οι μεταπτώσεις μεταφοράς φορτίου. Στην περίπτωση των μεταλλικών ιόντων παρατηρούνται μεταπτώσεις dη ηλεκτρονίων.



**Εικόνα 2.7: Απλουστευμένη σχηματική απεικόνιση φασματοφωτομέτρου UV-Vis**

## 2.6 Σκέδαση φωτός(LS)

Η τεχνική της σκέδασης του φωτός (Light Scattering) αποτελεί μια από τις σημαντικότερες πειραματικές τεχνικές για το χαρακτηρισμό των πολυμερών σε αραιά διαλύματα, διότι επιτρέπει τον προσδιορισμό του απολύτου μοριακού βάρους κατά βάρος  $\langle M_w \rangle$  και της γυροσκοπικής ακτίνας,  $\langle R_g^2 \rangle$  (στατική σκέδαση φωτός), καθώς και της υδροδυναμικής ακτίνας  $R_h$  (δυναμική σκέδαση του φωτός). Οι πρώτες μελέτες σκέδασης του φωτός από διαλύματα έγιναν από τον Faraday τον 19<sup>ο</sup> αιώνα κατά την μελέτη κολλοειδών διασπορών του χρυσού. Οι μελέτες αυτές συνεχίστηκαν από τον Tyndall και ολοκληρώθηκαν από τον Rayleigh, όταν το 1871 θεμελίωσε τη θεωρία σκέδασης του φωτός από σωματίδια που έχουν μέγεθος πολύ μικρότερο σε σχέση με το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Όταν μια δέσμη φωτός προσπέσει σε ένα κολλοειδές διάλυμα ένα μέρος της ακτινοβολίας διέρχεται μέσα από το διάλυμα και το υπόλοιπο σκεδάζεται προς όλες τις

κατευθύνσεις. Στην περίπτωση διαλυμάτων μακρομορίων η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας (Intensity) είναι πολύ μεγαλύτερη από εκείνη των διαλυμάτων των “μικρών” μορίων. Η όλη τεχνική της σκέδασης του φωτός συνίσταται στη μέτρηση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας από το διάλυμα σε διάφορες κατευθύνσεις σε σχέση με την προσπίπτουσα ακτινοβολία. Το φως είναι μια ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που αποτελείται από ένα ηλεκτρικό και ένα μαγνητικό πεδίο, τα οποία είναι κάθετα μεταξύ τους. Όταν μια δέσμη φωτός προσπέσει σε ένα υλικό, τα ηλεκτρόνια του υλικού αλληλεπιδρούν με το φως, διεγείρονται και γίνονται δευτερογενείς πηγές ακτινοβολίας, επανεκπέμποντας την απορροφούμενη ενέργεια προς όλες τις κατευθύνσεις με το ίδιο ακριβώς μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Η τεχνική της σκέδασης του φωτός συνίσταται στη μέτρηση της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας σε διάφορες κατευθύνσεις σε σχέση με την προσπίπτουσα ακτινοβολία. Η ένταση του σκεδαζόμενου φωτός εξαρτάται από το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός, το μέγεθος και το σχήμα των κέντρων σκέδασης, τις οπτικές ιδιότητες των σκεδαστών και τη γωνία παρατήρησης. [68] Η τεχνική της σκέδασης του φωτός είναι μια γρήγορη μέθοδος, μη καταστρεπτική για το δείγμα, απόλυτη γιατί δεν χρειάζεται βαθμονόμηση και μπορεί να εφαρμοστεί σε συστήματα, τα οποία αποτελούνται από μεγάλο αριθμό σωματιδίων. Υπάρχουν όμως και δυο μειονεκτήματα: το δείγμα δεν πρέπει να είναι πολύ πυκνό για να μην γίνεται πολλαπλή σκέδαση και δεν πρέπει να υπάρχει πουθενά στο σύστημα σκόνη, διότι τα σωματίδια σκόνης αποτελούν και αυτά κέντρα σκέδασης.

### **2.6.1 Δυναμική Σκέδαση Φωτός (DLS) [57,68,69,70]**

Η συνεχής μεταβολή της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας λόγω της κίνησης Brown των αλυσίδων (ή των νανοσωματιδίων γενικότερα) σε ένα διάλυμα πολυμερούς (ή σε μία σωματιδιακή διασπορά) είναι η κύρια αρχή λειτουργίας της δυναμικής σκέδασης φωτός (Dynamic Light Scattering, **DLS**). Έτσι, η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας είναι αποτέλεσμα των καταστρεπτικών ή ενισχυτικών αλληλεπιδράσεων της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας από κάθε σωματίδιο – σκεδαστή μέσα στο διάλυμα ξεχωριστά. Εξαιτίας όμως της κίνησης Brown, οι σκεδαστές κινούνται μέσα στο διάλυμα

και οι αλληλεπιδράσεις των σκεδαζόμενων ακτινών είναι διαφορετικές με αποτέλεσμα η συνολική ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας που φτάνει στον ανιχνευτή να μεταβάλλεται με τον χρόνο. Η μεταβολή της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας σε σχέση με το χρόνο περιγράφεται από μία χρονική συνάρτηση αυτοσυσχέτισης. Γενικά, μία συνάρτηση αυτοσυσχέτισης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας από διαλύματα που περιέχουν σφαιρικά σωματίδια που δεν αλληλεπιδρούν έχει τη μορφή:

$$G_{(2)}(t) = \langle I_{(0)} \cdot I_{(t)} \rangle = A + B \cdot e^{-\Gamma t} = A + B \cdot e^{-Dq^2 t} \quad (2.5.1.1)$$

Όπου: **A** και **B** είναι πειραματικές σταθερές, **Γ** είναι η ταχύτητα που φθίνει η συνάρτηση, **D** είναι ο μεταφορικός συντελεστής διάχυσης και **q** είναι το διάνυσμα σκέδασης, το οποίο ορίζεται ως:

$$q = \frac{4\pi n_o}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.6.1.1)$$

Όπου: **n<sub>o</sub>** ο δείκτης διάθλασης του δείγματος, **λ** το μήκος κύματος του λέιζερ που ακτινοβολεί το δείγμα και **θ** η γωνία που τοποθετείται ο ανιχνευτής σε σχέση με την κυψελίδα που περιέχει το δείγμα.

Ο μεταφορικός συντελεστής διάχυσης, **D** περιγράφει την δυσκολία κίνησης ενός σώματος μέσα σε ένα διάλυμα και είναι αντιστρόφως ανάλογος του μεγέθους του πολυμερούς (ή νανοσωματιδίου) και συγκεκριμένα της υδροδυναμικής ακτίνας.

$$D_o = \frac{kT}{6\pi\eta R_h} \quad (2.6.1.2)$$

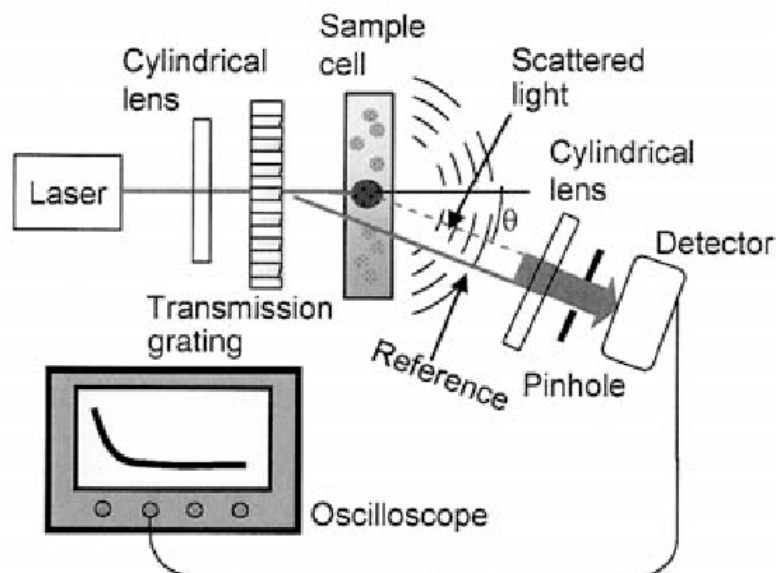
Όπου: **k** η σταθερά Boltzmann, **T** η απόλυτη θερμοκρασία, **η** το ιξώδες του διαλύματος και **R<sub>h</sub>** η υδροδυναμική ακτίνα του πολυμερούς.

Συμπερασματικά, μετρώντας και εκφράζοντας τις μεταβολές της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας από ένα διάλυμα πολυμερούς ως συνάρτηση του χρόνου, είναι δυνατός ο υπολογισμός της υδροδυναμικής ακτίνας **R<sub>h</sub>** των πολυμερών στο διάλυμα. Ο υπολογισμός της υδροδυναμικής ακτίνας από τη συνάρτηση



αυτοσυσχέτισης προκύπτει έπειτα από ανάλυση χρησιμοποιώντας ειδικό μαθηματικό αλγόριθμο. Δύο τέτοιοι αλγόριθμοι που χρησιμοποιούνται σχεδόν αποκλειστικά για την παραπάνω ανάλυση είναι η μέθοδος των αθροισμάτων και οι τεχνικές κανονικοποίησης μέσω του προγράμματος CONTIN. Σύμφωνα με τη μέθοδο των αθροισμάτων, η συνάρτηση αυτοσυσχέτισης περιγράφεται με ένα πολυώνυμο, συνήθως 2<sup>ης</sup> ή 3<sup>ης</sup> τάξης και από τους συντελεστές του πολυωνύμου προκύπτουν ο συντελεστής διάχυσης (1<sup>ος</sup> cumulant) και η πολυδιασπορά μεγέθους του συστήματος (2<sup>ος</sup> cumulant). Χρησιμοποιώντας ανάλυση μέσω του προγράμματος CONTIN, η συνάρτηση αυτοσυσχέτισης έχει ως αποτέλεσμα μία πληθώρα πιθανών λύσεων που στην συνέχεια απορρίπτονται οι πιο περίπλοκες λύσεις ως λιγότερο πιθανές να υπάρξουν σε πραγματικά συστήματα. Η λύση που προκύπτει δεν είναι μοναδική, συνεπώς θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψη όλες οι λύσεις που προτείνει το πρόγραμμα. Η ανάλυση μέσω του προγράμματος CONTIN οδηγεί στον προσδιορισμό της συνάρτησης κατανομής μεγεθών των σωματιδίων στο διάλυμα.

Ένα τυπικό αναλυτικό σύστημα δυναμικής σκέδασης του φωτός αποτελείται από τα εξής κύρια τμήματα (Εικόνα 2.8):



**Εικόνα 2.8: Σχηματική διάταξη δυναμικής σκέδασης φωτός**

- μία πηγή φωτεινής δέσμης laser, τα φωτόνια της οποίας περνούν μέσα από κυψελίδα που περιέχει το εκάστοτε δείγμα,

- μία διάταξη ανιχνευτή σκεδαζόμενης ακτινοβολίας,
- μία πλατφόρμα ψηφιακής επεξεργασίας του σήματος από την ανιχνευτική διάταξη όπου τελικά αναλύεται και καταγράφεται η πληροφορία της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας και το μοτίβο ταλάντωσης (συσχετιστής φωτονίων),
- έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή σε διασύνδεση με την πλατφόρμα ψηφιακής επεξεργασίας, όπου με το κατάλληλο λογισμικό και κώδικες μοντελοποίησης αναλύονται τα δεδομένα και εξάγονται πληροφορίες για το μέγεθος των σωματιδίων.

### 2.6.2 Στατική Σκέδαση Φωτός (SLS) [57,68,71,72]

Στην στατική σκέδαση φωτός (Static Light Scattering, **SLS**), η μέση χρονική τιμή της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας μετράται συναρτήσει της γωνίας σκέδασης  $\theta$  και της συγκέντρωσης του διαλύματος  $c$  και εκφράζεται μέσω του λόγου Rayleigh,  $R_\theta$ , ο οποίος ορίζεται ως:

$$R_\theta = \frac{d^2 I_S}{V f I_0} \quad (2.6.2.1)$$

Όπου:  $d$  είναι η απόσταση μεταξύ δείγματος και ανιχνευτή,  $V$  ο σκεδάζων όγκος,  $f$  ο παράγοντας διόρθωσης ως προς το επίπεδο πόλωσης της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και  $I_S$ ,  $I_0$  οι εντάσεις της σκεδαζόμενης και προσπίπτουσας ακτινοβολίας, αντίστοιχα.

Σε ένα αραιό σύστημα, όπως για παράδειγμα ένα αέριο, τα μόρια κατανέμονται τυχαία στο χώρο και σε μεγάλες αποστάσεις μεταξύ τους, οπότε η συνεισφορά κάθε μορίου στην ένταση σκέδασης μπορεί να θεωρηθεί ανάλογη του αριθμού τους. Στην περίπτωση όμως πυκνών συστημάτων, όπως τα καθαρά υγρά και τα διαλύματα, τα μόρια βρίσκονται σε κοντινές αποστάσεις, οπότε η ακτινοβολία που σκεδάζεται από κάθε μόριο αλληλεπιδρά με εκείνη που προέρχεται από άλλα μόρια. Η πιθανότητα για καταστρεπτική συμβολή αυξάνεται και το φαινόμενο αυτό μειώνει την ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας. Η περιγραφή του φαινομένου αυτού μπορεί να γίνει μέσω της θεωρίας των διακυμάνσεων Einstein-Smoluchowski η οποία

λαμβάνει υπόψη τις τοπικές διακυμάνσεις της διηλεκτρικής σταθεράς, σε κλίμακα της τάξης μεγέθους του μήκους κύματος, οι οποίες προέρχονται από διακυμάνσεις πυκνότητας σε ένα καθαρό υγρό και/ή από διακυμάνσεις συγκέντρωσης σε ένα διάλυμα.

Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η συνεισφορά των διακυμάνσεων συγκέντρωσης στη σκέδαση εκφράζεται μέσω της σχέσης:

$$\Delta R_{\theta} = R_{\theta, \text{διαλύματος}} - R_{\theta, \text{διαλύτη}} \quad (2.6.2.2)$$

Όπως φαίνεται στη παραπάνω σχέση, ο λόγος  $R_{\theta}$  εξαρτάται από τη γεωμετρία της πειραματικής διάταξης όπου η τιμή του μας δίνει τον απόλυτο λόγο  $R_{\theta}$ . Ύστερα από την κανονικοποίησή του ως προς πρότυπους διαλύτες όπως το τολουόλιο, η εξίσωση παίρνει την εξής μορφή

$$R_{\theta} = R_T \frac{n_o^2 I_S}{n_T^2 I_{S,T}} \quad (2.6.2.3)$$

Όπου:  $R_T$  ο λόγος Rayleigh του τολουολίου,  $n_o^2$  και  $n_T^2$  οι δείκτες διάθλασης του διαλύτη και του τολουολίου και  $I_S$  και  $I_{S,T}$  οι εντάσεις της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας του διαλύματος και του τολουολίου, αντίστοιχα.

Στην περίπτωση των πολυμερικών διαλυμάτων, η διαφορά  $\Delta R_{\theta}$  συνδέεται με τα μοριακά χαρακτηριστικά του πολυμερούς και τις θερμοδυναμικές ιδιότητες του διαλύματος μέσω της εξίσωσης Zimm:

$$\frac{K_c}{\Delta R_{\theta}} = \frac{1}{M_w} \left( 1 + \frac{1}{3} R_g^2 q^2 \right) + 2A_2 c \quad (2.5.2.4)$$

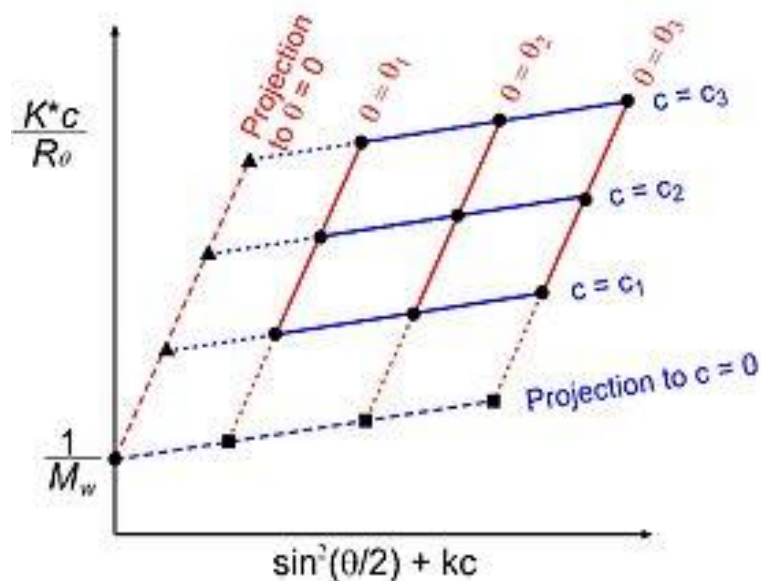
Όπου:  $M_w$  το μοριακό βάρος κατά βάρος του πολυμερούς,  $R_g$  η γυροσκοπική ακτίνα του πολυμερούς,  $A_2$  ο δεύτερος συντελεστής Virial, ο οποίος εκφράζει αλληλεπιδράσεις μεταξύ δύο μορίων/σωμάτων και  $q$  το διάνυσμα σκέδασης, το οποίο ορίζεται ως:

$$q = \frac{4n\pi_o}{\lambda} \sin(\theta/2) \quad (2.5.2.5)$$

όπου  $\lambda$  το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Η σταθερά  $K$  δίνεται από τη σχέση:

$$K = \frac{4\pi^2 n_0^2}{\lambda^4 N_A} \left( \frac{dn}{dc} \right)^2 \quad (2.5.2.6)$$

όπου  $N_A$  ο αριθμός του Avogadro και  $dn/dc$  ο διαφορικός δείκτης διάθλασης. Με τη βοήθεια της εξίσωσης για μετρήσεις σε πολλαπλές γωνίες  $\theta$  και συγκεντρώσεις  $c$  προκύπτει το διάγραμμα Zimm (Εικόνα 2.9). Από το διάγραμμα αυτό με διπλή προέκταση των μετρούμενων τιμών του λόγου  $Kc/\Delta R_\theta$  σε μηδενική γωνία σκέδασης και μηδενική συγκέντρωση, εξάγεται το μοριακό βάρος  $M_w$  ως το αντίστροφο της κοινής τεταγμένης επί της αρχής, ενώ ο συντελεστής  $A_2$  και η γυροσκοπική ακτίνα  $R_g$  υπολογίζονται από τις κλίσεις των ευθειών για  $\theta = 0$  και  $c = 0$ , αντίστοιχα.



Εικόνα 2.9: Διάγραμμα Zimm.

Η παράμετρος  $dn/dc$  αποτελεί το μέτρο της μεταβολής του δείκτη διάθλασης του διαλύματος συναρτήσει της αύξησης της συγκέντρωσης του πολυμερούς, είναι δε χαρακτηριστική του κάθε συστήματος πολυμερούς-διαλύτη και μετράται με τη χρήση διαφορικών διαθλασιμέτρων. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην περίπτωση συμπολυμερών κατά συστάδες ο διαφορικός δείκτης διάθλασης του διαλύματος ( $dn/dc$ ) ολικό μπορεί να υπολογιστεί ως ο

σταθμισμένος μέσος όρος των διαφορικών δεικτών διάθλασης  $(dn/dc)_1$  και  $(dn/dc)_2$  των επιμέρους συστατικών, ως εξής:

$$\left(\frac{dn}{dc}\right)^2 = w_1 \left(\frac{dn}{dc}\right)_1 + w_2 \left(\frac{dn}{dc}\right)_2 \quad (2.5.2.7)$$

όπου  $w_1$  και  $w_2$  τα κλάσματα βάρους των δύο συστατικών.

Το κύριο πλεονέκτημα της SLS είναι ότι είναι μία απόλυτη μέθοδος από την οποία αντλούνται σημαντικές πληροφορίες για τα πολυμερή και είναι μη καταστρεπτική μέθοδος για το δείγμα. Τα μειονεκτήματά περιλαμβάνουν το ότι είναι ευαίσθητη στην παρουσία σκόνης και ότι δεν μπορούν να μελετηθούν συστήματα που απορροφούν στο μήκος κύματος που εκπέμπει το λέιζερ.

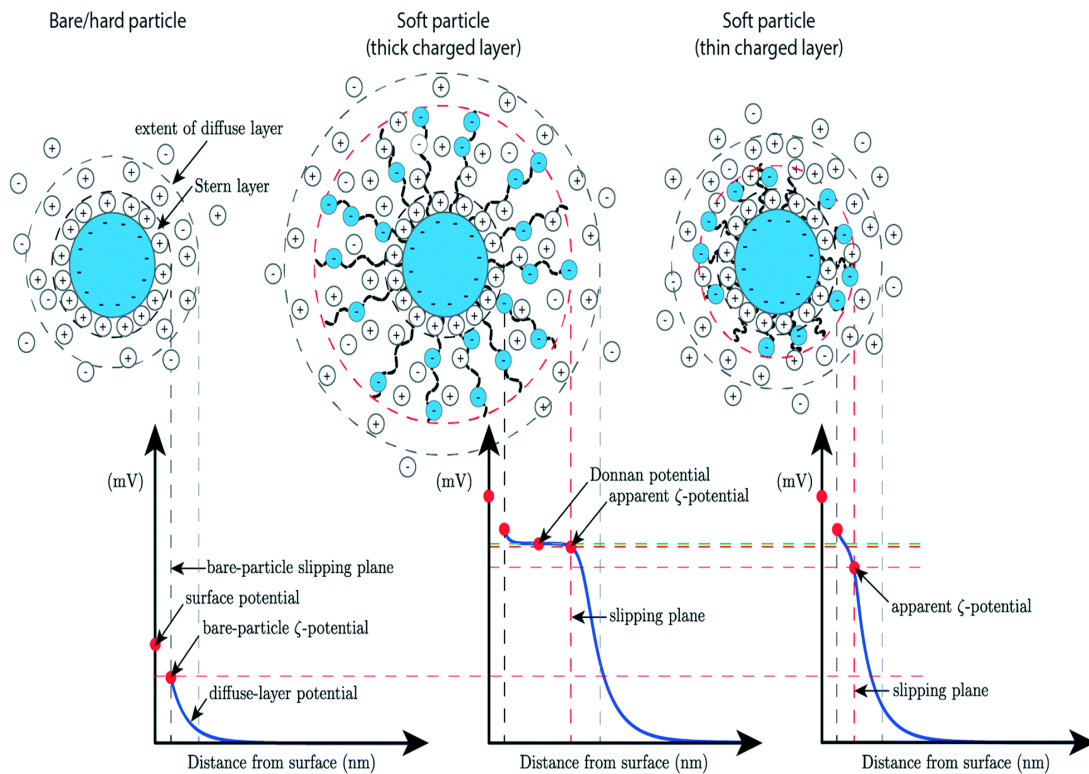
### **2.6.3 Ηλεκτροφορητική Σκέδαση φωτός (ELS) - ζ-δυναμικό [73,74]**

Ηλεκτροφόρηση ονομάζεται η κίνηση φορτισμένων κολλοειδών σωματιδίων κατόπιν εφαρμογής εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου. Το πεδίο δημιουργείται σε διάταξη που περιλαμβάνει ηλεκτρόδια υπό ρυθμιζόμενη τάση και κατάλληλο χώρο για την τοποθέτηση του υγρού δείγματος. Όταν οι φορτισμένες επιφάνειες των ηλεκτροδίων είναι ακίνητες, το ηλεκτρικό πεδίο προκαλεί κίνηση του υγρού, φαινόμενο το οποίο καλείται ηλεκτροώσμωση. Το υγρό αναγκάζεται να κινηθεί μέσω ενός τριχοειδούς σωλήνα ή ενός πορώδους υλικού, με αποτέλεσμα να επέρχεται μια διαφορά στα ηλεκτρικά δυναμικά που ονομάζεται δυναμικό ρεύματος (streaming potential). Η εξαναγκασμένη κίνηση φορτισμένων σωματιδίων εντός ενός υγρού λόγω της βαρύτητας επιφέρει μια διαφορά στο ηλεκτρικό δυναμικό, η οποία καλείται δυναμικό καθίζησης (sedimentation potential). Η ταχύτητα των φορτισμένων σωματιδίων κατά τη διάρκεια της ηλεκτροφόρησης είναι ανάλογη της έντασης του εφαρμοζόμενου ηλεκτρικού πεδίου. Όταν τα σωματίδια διασπείρονται σε ένα υδατικό σύστημα συχνά εμφανίζουν επιφανειακό φορτίο, το οποίο οφείλεται στον ιοντισμό των επιφανειακών χημικών ομάδων τους ή στην προσρόφηση φορτισμένων μορίων ή ιόντων. Η ανάπτυξη τέτοιων φορτίων έχει ως αποτέλεσμα τη μεταβολή της συγκέντρωσης των ιόντων του διαλύματος κοντά στην επιφάνεια των σωματιδίων δημιουργώντας ένα στρώμα γύρω από αυτά, με διαφορετική

κατανομή ιόντων από εκείνη του κυρίου όγκου του διαλύματος, το οποίο αποτελείται από δύο μέρη. Το εσωτερικό μέρος λέγεται στρώμα Stern (Stern layer) και αποτελείται από ιόντα ισχυρά συνδεδεμένα με τα σωματίδια, λόγω των αντίθετων φορτίων τους, ενώ το εξωτερικό μέρος δημιουργείται από διάχυση ασθενέστερα συνδεδεμένων ιόντων του μίγματος. (Εικόνα 2.10)

Στο διάχυτο στρώμα υπάρχει ένα νοητό όριο μέσα στο οποίο ιόντα και μόρια διαλυτή αλληλεπιδρούν ισχυρά με την φορτισμένη επιφάνεια του σωματιδίου σχηματίζοντας μια σταθερή οντότητα με αυτό. Το όριο αυτό ονομάζεται επίπεδο ολίσθησης. Όταν ένα σωματίδιο κινείται, τα ιόντα που βρίσκονται μέσα σε αυτό κινούνται μαζί του. Το ηλεκτρικό δυναμικό το οποίο υπάρχει στο εξωτερικό μέρος αυτού του ορίου (επίπεδο ολίσθησης) λέγεται δυναμικό ζ (z-potential) και αποτελεί ένδειξη του επιφανειακού φορτίου του σωματιδίου. Έτσι απαντάται με τον όρο << φαινόμενο επιφανειακό φορτίο >>. Το μέγεθος του δυναμικού ζ αποτελεί ένδειξη της δυναμικής σταθερότητας του κολλοειδούς συστήματος. Αν όλα τα σωματίδια στο μίγμα είχαν πολύ μεγάλη απόλυτη τιμή ζ (πολύ θετικό ή πολύ αρνητικό δυναμικό), θα είχαν την τάση να απομακρυνθούν το ένα από το άλλο με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα σταθερό και ομοιογενές κολλοειδές σύστημα. Ωστόσο, αν τα σωματίδια έχουν τιμή δυναμικού ζ κοντά στο μηδέν, τότε δεν υπάρχει καμία δύναμη να τα αποτρέψει από το έρθουν κοντά και να συσσωματωθούν, δημιουργώντας ένα ασταθές κολλοειδές σύστημα. Για το λόγο αυτό κολλοειδή συστήματα που αποτελούνται από φορτισμένα επιφανειακά σωματίδια με δυναμικό ζ πιο θετικό από +30mV ή πιο αρνητικό από -30mV θεωρούνται σταθερά.

Η μέτρηση και η γνώση του ζ-δυναμικού είναι κρίσιμη για τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας που θα ακολουθήσει, την πρόβλεψη της σταθερότητας της παρασκευής και των αλληλεπιδράσεων. Επιπλέον, αποτελεί μια απλή μέθοδο για ποιοτικό έλεγχο. Οι μέθοδοι μέτρησης εξαρτώνται τόσο από τη φύση των σωματιδίων όσο και από τη σύνθεση της διασποράς. Γενικά το μέγεθος και η συγκέντρωση των σωματιδίων της διεσπαρμένης φάσης είναι σημαντικοί παράγοντες που καθορίζουν ποια τεχνική είναι εφαρμόσιμη.



**Εικόνα 2.10: Ένα αρνητικά φορισμένο σκληρό σωματίδιο, ένα φορισμένο σωματίδιο με παχύ αρνητικά φορισμένο στρώμα πολυηλεκτρολύτη και ένα φορισμένο σωματίδιο με λεπτή αρνητικά φορισμένη στιβάδα πολυηλεκτρολύτη, που δείχνει την κατανομή φορτίου**

Η ηλεκτροφόρηση είναι η πιο διαδεδομένη τεχνική για την μέτρηση του ζ-δυναμικού. Κατά την εφαρμογή της, προσδιορίζεται το ζ δυναμικό ως εξής: τα φορισμένα σωματίδια σε διάλυμα τίθενται σε κίνηση με την εφαρμογή εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου ανάμεσα σε δύο σταθερά ηλεκτρόδια. Η κατεύθυνση και η ταχύτητα (ηλεκτροφορητική κινητικότητα) των σωματιδίων εξαρτώνται από το εφαρμοζόμενο πεδίο. Εναλλάσσοντας το φορτίο μεταξύ των ηλεκτροδίων, τα σωματίδια κινούνται παλινδρομικά με ταχύτητα ανάλογη του επιφανειακού φορτίου, της εφαρμοζόμενης τάσης, της διηλεκτρικής σταθεράς του μέσου και του ιξώδους.

Η εξίσωση που συνδέει την ταχύτητα του σωματιδίου, το ιξώδες, και τη διηλεκτρική σταθερά του διαλύτη με το ζ δυναμικό είναι η εξίσωση Smoluchowski:

$$\zeta = \eta / \epsilon U_e \quad (2.4.3.1)$$

Όπου  $\eta$  είναι το ιξώδες,  $\epsilon$  η διηλεκτρική σταθερά του μέσου και  $U_e$  η

ηλεκτροφορητική κινητικότητα (electrophoretic mobility) των σωματιδίων, που εκφράζεται ως:

$$Ue = \frac{u}{V/L} \quad (2.4.3.1)$$

Όπου  $u$  η ταχύτητα του σωματιδίου,  $V$  η εφαρμοζόμενη τάση και  $L$  η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων. Εφόσον όλα τα μεγέθη των σχέσεων (2.4.3.1) και (2.4.3.2) είναι γνωστά, εύκολα μπορεί να προσδιοριστεί το ζ-δυναμικό των σωματιδίων.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

#### 3.1 Υλικά και Αντιδραστήρια

Τα υλικά και αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων είναι τα εξής:

##### **Αντιδραστήρια (Sigma Aldrich):**

- Μονομερή: Μεθακρυλικός μεθυλεστέρας της (ολιγο αιθυλενογλυκόλης) με  $M_w=500$  και  $M_w=950$  ((oligo ethylene glycol) methyl ether methacrylate, OEGMA), μεθακρυλικός 2-(διισοπροπυλάμινο) αιθυλεστέρας με  $M_w=213,32$  (2-(diisopropylamino)ethyl methacrylate, DIPAEMA)) (Sigma-Aldrich).
- Μέσο μεταφοράς αλυσίδας (CTA): 4-κυανο-4-(φαινυλο καρβονυλοθειο) πεντανοϊκό οξύ (4-cyano-4-(phenyl-carbonothioylthio) pentanoic acid, CPAD) (Sigma-Aldrich).
- Απαρχητής: Αζωδιισοβουτυρονιτρίλιο (azobisisobutyronitrile, AIBN) (Sigma-Aldrich).
- Ρητίνες: Απομάκρυνσης σταθεροποιητών 311340 και 311332 (Sigma-Aldrich).
- Πυρένιο

##### **Αντιδραστήρια:**

Κουρκουμίνη (curcumin), κετονική μορφή (Merck )

##### **Διαλύτες:**

Τετραϋδροφουράνιο (tetrahydrofuran, THF), κανονικό εξάνιο (n-Hexane), ακετόνη (Acetone), 1,4-Διοξάνιο (1,4-dioxane), δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (deuterated chloroform,  $CDCl_3$ ) (Sigma-Aldrich).

### 3.2 Οργανολογία και Μέθοδοι Χαρακτηρισμού

- Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών

Τα μοριακά βάρη και οι κατανομές μοριακών βαρών των δειγμάτων προσδιορίστηκαν με τη χρήση χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγεθών, χρησιμοποιώντας ένα όργανο Waters, αποτελούμενο από μια ισοκρατική αντλία Waters 1515, ένα σετ από τρεις στήλες διαχωρισμού μεικτής σύστασης μ-Styragel (εύρος πόρων από  $10^2$  έως  $10^6$  Å), έναν ανιχνευτή διαφορικού δείκτη διάθλασης Waters 2414 (ισορροπημένος στους 40°C) και ελεγχόμενο από το λογισμικό Breeze. Η κινητή φάση είναι τετραϋδροφουράνιο, το οποίο περιέχει 5% τριαιθυλαμίνη με ρυθμό ροής 1mL/min στους 30° C. Η βαθμονόμηση του οργάνου έγινε με πρότυπα δείγματα πολυστυρενίου με στενές κατανομές μοριακών βαρών και μέσα μοριακά βάρη στο εύρος 1.200 έως 929.000 g/mol. Τα δείγματα ήταν ήδη διαλυμένα στην κινητή φάση σε συγκεντρώσεις της κλίμακας των 2-4mg/mL.

- Φασματοσκοπία  $^1\text{H-NMR}$

Τα φάσματα  $^1\text{H-NMR}$  ελήφθησαν με ένα φασματόμετρο Bruker AC 300 FT-NMR στους 30° C. Οι χημικές μετατοπίσεις παρουσιάζονται σε ppm με σημείο αναφοράς το τετραμεθυλοσιλάνιο (TMS). Η προετοιμασία των δειγμάτων για τις μετρήσεις  $^1\text{H-NMR}$  ήταν η εξής: διάλυση περίπου 10mg δείγματος σε 0,7mL δευτεριωμένο χλωροφόρμιο και εισαγωγή του διαλύματος στα σωληνάκια NMR (NMR tubes). Η ανάλυση των φασμάτων NMR έγινε με χρήση του λογισμικού MestReNova της εταιρίας MestRelabs.

- Φασματοσκοπία FTIR

Οι μετρήσεις στην περιοχή του μέσου υπέρυθρου ( $550\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ ) πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση ενός φασματομέτρου μετασχηματισμού Fourier (Equinox 55 από την Bruker Optics), εξοπλισμένο με διαμάντι ATR μονής αντανάκλασης (Dura-Samp1IR II της εταιρίας SensIR Technologies) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και στη στερεή φάση των συμπολυμερών.

- Δυναμική και στατική σκέδαση φωτός

Οι μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το όργανο ALV/CGS-3 Compact Goniometer System (ALV GmbH, Germany), εξοπλισμένο με λέιζερ JDS Uniphase 22mW He–Ne, που λειτουργεί στα 632,8 nm, συνδεδεμένο με έναν ψηφιακό συσχετιστή 288 καναλιών ALV-5000/EPP multi-tau και μία ηλεκτρονική μονάδα σκέδασης φωτός ALV/LSE-5003, για έλεγχο της σταδιακής κίνησης του γωνιομέτρου και έλεγχο του διακόπτη ακραίας θέσης. Η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας και οι συναρτήσεις αυτοσυσχέτισης μετρήθηκαν στις 90°. Οι συναρτήσεις συσχέτισης καταγράφηκαν πέντε φορές ανά γωνία μέτρησης και αναλύθηκαν με τη μέθοδο αθροισμάτων και τον αλγόριθμο CONTIN, ο οποίος παρέχει τις κατανομές για την φαινόμενη υδροδυναμική ακτίνα με χρήση αντίστροφου μετασχηματισμού Laplace της συνάρτησης αυτοσυσχέτισης με τη βοήθεια της σχέσης Stokes – Einstein. Οι μετρήσεις στατικής σκέδασης φωτός πραγματοποιήθηκαν με το ίδιο όργανο σε γωνιακό εύρος 30°- 150° λαμβάνοντας μέτρηση ανά 10 μοίρες. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων για τον υπολογισμό του γυροσκοπικού λόγου έγινε με τη χρήση της προσέγγισης Guinier 2<sup>ης</sup> τάξης. Όλα τα διαλύματα διηθήθηκαν με υδρόφιλο φίλτρο πορώδους 0,45μm από PVDF πριν τη μέτρηση.

- Ηλεκτροφορητική Σκέδαση Φωτός- ζ-δυναμικό

Το ζ-δυναμικό μετρήθηκε σε σύστημα της εταιρίας *Malvern (Nano Zeta Sizer)* εφοδιασμένο με λέιζερ He-Ne 4mW μήκους κύματος  $\lambda=633\text{nm}$ . Χρησιμοποιεί μία φωτοδίοδο ως ανιχνευτή και η σκεδαζόμενη ακτινοβολία μετριέται σε γωνία 173°. Οι ηλεκτροκινητικές μετρήσεις για τον προσδιορισμό της κινητικότητας και των τιμών ζ<sub>p</sub> των κολλοειδών, πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση της τεχνικής LDV (*Laser Doppler Velocimetry*) και με την προσέγγιση κατά Smoluchowski. Οι αναφερόμενες τιμές ζ<sub>p</sub> είναι η μέση τιμή 100 μετρήσεων. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις ίδιες συγκεντρώσεις με εκείνες όπου χρησιμοποιήθηκαν στην δυναμική και στατική σκέδαση φωτός.

- Φασματοσκοπία φθορισμού

Χρησιμοποιήθηκε φθορισμόμετρο NanoLog (Horiba Jobin Yvon), χρησιμοποιώντας μία δίοδο λείζερ ως πηγή διέγερσης (NanoLED, 440 nm, εύρος παλμού 100 ps) και ανιχνευτή UV TBX-PMT series (250-850 nm) από την Horiba Jobin Yvon. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε περιγράφεται παρακάτω. Έγινε προετοιμασία διαλυμάτων σε συγκεντρώσεις ανάλογες αυτών που χρησιμοποιήθηκαν στη δυναμική και στατική σκέδαση φωτός. Τα διαλύματα αυτά ιχνηθετήθηκαν με πυρένιο σε αναλογία 1μL / mL. Τα δείγματα παρέμειναν σε ηρεμία για 24 ώρες και έπειτα μετρήθηκαν.

- Φασματοσκοπία UV-Vis

Τα φάσματα UV-Vis-NIR καταγράφηκαν από ένα φασματοφωτόμετρο Perkin–Elmer (Lambda 19) UV-Vis-NIR. Χρησιμοποιήθηκαν κυψελίδες χαλαζία, στις οποίες τοποθετούνταν 3mL από το προς μέτρηση διάλυμα/δείγμα.

### **3.3 Σύνθεση τυχαίων συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA)**

Οι συνθέσεις των τυχαίων συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA), με DIPAEMA και με OEGMA  $M_w=500$  και  $M_w=950$ , έγιναν με τη χρήση της τεχνικής ριζικού πολυμερισμού αντιστρεπτής προσθήκης-μεταφοράς αλυσίδας με απόσπαση (RAFT). Συνολικά παρασκευάστηκαν τέσσερα τυχαία συμπολυμερή με διαφορετικές αναλογίες μεταξύ των μονομερών τους, από δύο διαφορετικού μοριακού βάρους OEGMA (δύο συμπολυμερή για κάθε μονομερές OEGMA με διαφορετικό μοριακό βάρος) με σκοπό να μελετηθούν οι τυχόν διαφορετικές μεταβολές του συστήματος όταν αλλάζει το ποσοστό του pH-αποκρινόμενου DIPAEMA, αλλά και το μέγεθος της αλυσίδας του OEGMA.

Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε προκειμένου να συντεθούν και οι δυο κατηγορίες συμπολυμερών περιγράφεται στη συνέχεια.

Αρχικά, τα μονομερή καθαρίστηκαν από τους παραμποδιστές τους οποίους περιείχαν: OEGMA (μονομεθυλαιθέρας της υδροκινόνης και τριτοταγής βουτυλική κατεχόλη), DIPAEMA (μονομεθυλαιθέρας της υδροκινόνης), διαπερνώντας τα το καθένα ξεχωριστά από στήλη, πληρωμένη με τις

κατάλληλες ρητίνες στην κάθε περίπτωση. Παρακάτω αναφέρονται ενδεικτικά οι ποσότητες μίας εκ των τεσσάρων συνθέσεων.

Σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν κατάλληλες ποσότητες από 4-κυανο-4-(φαινυλο καρβονυλόθειο) πεντανοϊκό οξύ (CPAD) (0,0279g ( $1 \times 10^{-4}$  mol)), ως αντιδραστήριο μεταφοράς αλυσίδας, αζωδισισοβουτυρονιτρίλιο (AIBN) (0,00328g ( $0,2 \times 10^{-4}$  mol)), ως απαρχητής, μεθακρυλικός εστέρας της ολιγο αιθυλενογλυκόλης (OEGMA)  $M_w=950$  (0,5g ( $5,26 \times 10^{-4}$  mol)), μεθακρυλικός 2-(δι-ισοπροπυλάμινο αιθυλεστέρας (DIPAEMA) (0,5g ( $2,35 \times 10^{-3}$ )) ως τα δύο μονομερή και 1,4-διοξάνιο (4ml) ως διαλύτης πολυμερισμού. Ο συνολικός όγκος του διαλύματος ήταν 5,01 ml για συγκέντρωση μονομερούς 20%. Η αναλογία CTA / απαρχητή (σε mol) που χρησιμοποιήθηκε είναι CPAD / AIBN= 5.

Έπειτα ακολούθησε η απαέρωση του διαλύματος με τη χρήση αερίου αζώτου για 20 λεπτά (υπό ανάδευση χαμηλής έντασης). Μετά το τέλος αυτής, η σφαιρική φιάλη εμβαπτίζεται σε ελαιόλουτρο στους 70°C. Η αντίδραση του πολυμερισμού είχε διάρκεια 24 ωρών. Μετά το πέρας των 24 ωρών, τοποθετήθηκε κατευθείαν η σφαιρική φιάλη στην κατάψυξη (για 15 λεπτά στους -8°C), με σκοπό την απενεργοποίηση των ελεύθερων ριζών και επαναφέρεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και ανοίγεται στο περιβάλλον. Για την ανάκτηση του προϊόντος μετά την ολοκλήρωση του πολυμερισμού, για τα τυχαία συμπολυμερή με το μικρότερο μοριακού βάρους OEGMA, πραγματοποιήθηκε καταβύθιση του προϊόντος της αντίδρασης σε δεκαπλάσια ποσότητα κανονικού εξανίου και ακολούθησε απόχυση του υπερκειμένου και τοποθέτηση του προϊόντος στο φούρνο κενού για 48 ώρες για ξήρανση. Στην περίπτωση των συμπολυμερών με το μεγαλύτερο μοριακού βάρους OEGMA χρειάστηκε απομάκρυνση των μονομερών (ή του μονομερούς) που δεν αντέδρασαν με την χρήση της μεθόδου διαπίδυσης μεμβράνης (Dialysis Method). Κατά τη μέθοδο αυτή, το πολυμερές εγκλωβίζεται εντός μιας μεμβράνης διαπίδυσης της οποίας το μέγεθος των πόρων επιτρέπει στα μονομερή που δεν αντέδρασαν να εξέλθουν, αλλά συγκρατεί το πολυμερές. Η μεμβράνη σφραγίζεται στα άκρα της με δύο σφιχτούς κόμπους ώστε να μην

χαθεί ποσότητα του πολυμερούς και τοποθετείται σε λουτρό που περιέχει μεγάλη περίσσεια απεσταγμένου νερού (το οποίο ανανεώνεται ανά 3 ώρες για 4 ημέρες) υπό χαμηλή ανάδευση. Μετά το πέρας των 4 ημερών το πολυμερές ήταν απαλλαγμένο σχεδόν ολοκληρωτικά από τα εναπομείναντα μονομερή, όπως διαπιστώθηκε με χρωματογραφία SEC και με την βοήθεια του περιστροφικού εξατμιστήρα εξατμίστηκε το νερό, συλλέχθηκε σε ξηρή σχεδόν μορφή και τοποθετήθηκε στο φούρνο κενού για ξήρανση επί 48 ώρες.

### **3.4 Αυτο-οργάνωση των P(OEGMA-co-DIPAEMA) σε υδατικά διαλύματα**

Τα τυχαία συμπολυμερή που παρουσιάστηκαν παραπάνω μελετήθηκαν τόσο σε επίπεδο μοριακού χαρακτηρισμού (τα αποτελέσματα εκθέτονται στο επόμενο κεφάλαιο) ωστόσο ένας από τους πιο σημαντικούς σκοπούς της σύνθεσης των συγκεκριμένων συμπολυμερών είναι η αυτο-οργάνωση τους σε υδατικά διαλύματα η οποία επηρεάζεται από το pH και η μελέτη των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων σε συνάρτηση αυτής της παραμέτρου. Τα υδατικά διαλύματα εξετάστηκαν με τις τεχνικές δυναμικής και στατικής σκέδασης φωτός καθώς και φασματοσκοπίας φθορισμού. Η διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των υδατικών πολυμερικών διαλυμάτων περιγράφεται παρακάτω. Όλα τα συμπολυμερή που παρασκευάστηκαν ήταν απευθείας διαλυτά σε νερό, έτσι δεν χρειάστηκε να γίνει χρήση κάποιου οργανικού διαλύτη. Τα υδατικά διαλύματα των συμπολυμερών είχαν συγκέντρωση  $1.0 \times 10^{-3}$  g/mL και μελετήθηκαν σε περιβάλλον τριών διαφορετικών pH, pH 3, pH 7.4 και pH 10 με δυναμική και στατική σκέδαση φωτός. Η διαλυτοποίηση του συμπολυμερούς λάμβανε χώρα σε νερό το οποίο είχε προηγουμένως ρυθμιστεί στο επιθυμητό pH, είτε με προσθήκη NaOH 0.1M είτε προσθήκη HCl 0.1M. Τα διαλύματα με pH 7.4 παρασκευάστηκαν με την χρήση δισκίου φωσφορικού ρυθμιστικού αλατούχου διαλύματος (PBS). Τα διαλύματα των συμπολυμερών παρέμειναν για 24 ώρες, πριν τη χρήση τους για φυσικοχημικές μελέτες έτσι ώστε να επέλθει ισορροπία στο σύστημα. Οι μετρήσεις δυναμικής/στατικής σκέδασης του φωτός πραγματοποιήθηκαν υπό γωνία 90°. Προκειμένου να διεξαχθούν οι μετρήσεις φασματοσκοπίας φθορισμού, παρασκευάστηκαν διαλύματα συγκέντρωσης  $1.0 \times 10^{-3}$  g/mL σε pH

3, 7.4 και 10. Όπως και στην περίπτωση των διαλυμάτων για σκέδαση φωτός έτσι και εδώ η ρύθμιση του pH έγινε πριν την διεξαγωγή των μετρήσεων ώστε να καταστεί δυνατή η προσθήκη πυρενίου (σε αναλογία 1  $\mu\text{L}$  / 1 mL) που δρά ως ιχνηθέτης. Τα διαλύματα αφέθηκαν σε ηρεμία για 24 ώρες και έπειτα μετρήθηκαν.

### **3.5 Εγκλωβισμός κουρκουμίνης στα νανοσωματίδια των P(OEGMA-co-DIPAEMA)**

Ο εγκλωβισμός της κουρκουμίνης στα συσσωματώματα του P(OEGMA-co-DIPAEMA) έγινε σε υδατικό διάλυμα pH 7.4 χρησιμοποιώντας ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος (phosphate buffered saline, PBS). Το πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε παρουσιάζεται αμέσως μετά. Χρησιμοποιήθηκε οργανικός διαλύτης διότι παρόλο που το συμπολυμερές είναι διαλυτό στο νερό, η κουρκουμίνη είναι υδρόφοβο μόριο. Αρχικά γίνεται η παρασκευή δυο ξεχωριστών διαλυμάτων, πολυμερούς σε ακετόνη συγκέντρωσης  $1.0 \times 10^{-3} \text{g/mL}$  και κουρκουμίνης σε ακετόνη με κατάλληλες ποσότητες. Ακολουθεί ανάμειξη των διαλυμάτων αυτών σε διαφορετικές αναλογίες και ένεσή τους με μεγάλη ταχύτητα στο υπό γρήγορη ανάδευση διάλυμα του PBS. Έπειτα γίνεται εξάτμιση της ακετόνης. Μετά την εξάτμιση της ακετόνης συμπληρώνεται στο δείγμα κατάλληλη ποσότητα διαλύματος PBS έως ότου ο τελικός όγκος του διαλύματος να είναι 10 mL και η συγκέντρωση του πολυμερούς στο διάλυμα  $1.0 \times 10^{-3} \text{g/mL}$ .

Οι υπολογισμοί των ποσοτήτων πραγματοποιήθηκαν με βάση:

- Το % κ.β ποσοστό (%wt) του DIPAEMA, καθώς αυτό αποτελεί το υδρόφοβο συστατικό του πολυμερούς.
- Το επιθυμητό ποσοστό της κουρκουμίνης που θα εγκλωβιστεί στα νανοσωματίδια.

Τα δείγματα που προέκυψαν μελετήθηκαν με δυναμική, στατική και ηλεκτροφορητική σκέδαση φωτός. Κατασκευάστηκε επίσης η πρότυπη καμπύλη αναφοράς της κουρκουμίνης, μετρώντας την απορρόφηση σε  $\lambda_{\text{max}} = 420 \text{ nm}$ , έξι διαφορετικών συγκεντρώσεων κουρκουμίνης σε ακετόνη με

φασματοσκοπία Uv-Vis. Στη συνέχεια, τα δείγματα P(OEGMA-co-DIPAEMA)/Curcumin που παρασκευάστηκαν, αραιώθηκαν με ακετόνη και μετρήθηκε η απορρόφησή τους σε  $\lambda_{\max} = 420$  nm με φασματοσκοπία Uv-Vis. Με βάση την καμπύλη αναφοράς και την τιμή απορρόφησης κάθε δείγματος, κατέστη δυνατό να υπολογιστεί το πραγματικό ποσοστό κουρκουμίνης που εγκλωβίστηκε στα πολυμερικά νανο-συσσωματώματα.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

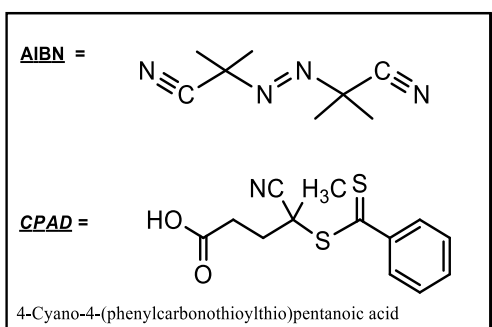
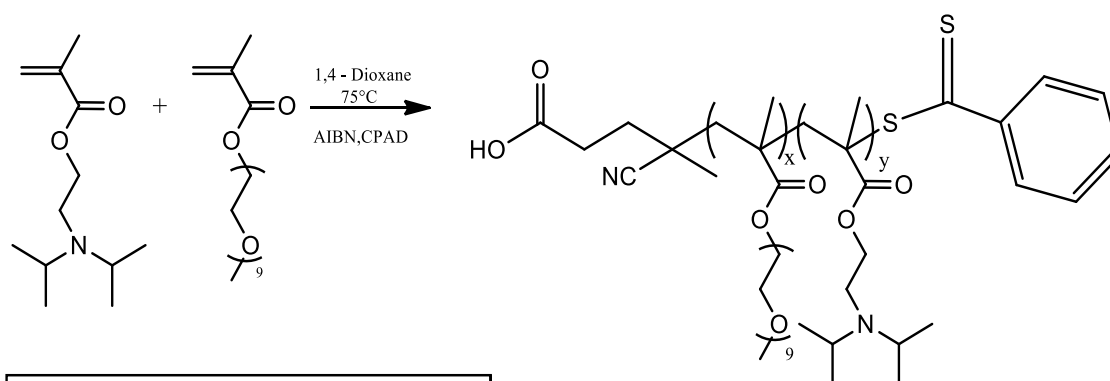
### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στον παρόν κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα από την σύνθεση των τεσσάρων τυχαίων συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA) και από τον μοριακό και φυσικοχημικό χαρακτηρισμό τους. Έπειτα αναλύονται τα αποτελέσματα από την αυτο-οργάνωσή τους σε υδατικά διαλύματα σε συνάρτηση με τις μεταβολές του pH, καθώς επίσης και τα αποτελέσματα των πειραμάτων εγκλωβισμού κουρκουμίνης. Ο χαρακτηρισμός των συμπολυμερών επιτεύχθηκε με διάφορες τεχνικές ενόργανης ανάλυσης οι οποίες είναι οι εξής: Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγεθών (SEC), Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR), Φασματοσκοπία Υπερύθρου (FT-IR), Στατική (SLS), Δυναμική (DLS), Ηλεκτροφορητική Σκέδαση Φωτός (ELS), Φασματοσκοπία Φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy) καθώς και Φασματοσκοπία ορατού- υπεριώδους(UV-VIS).

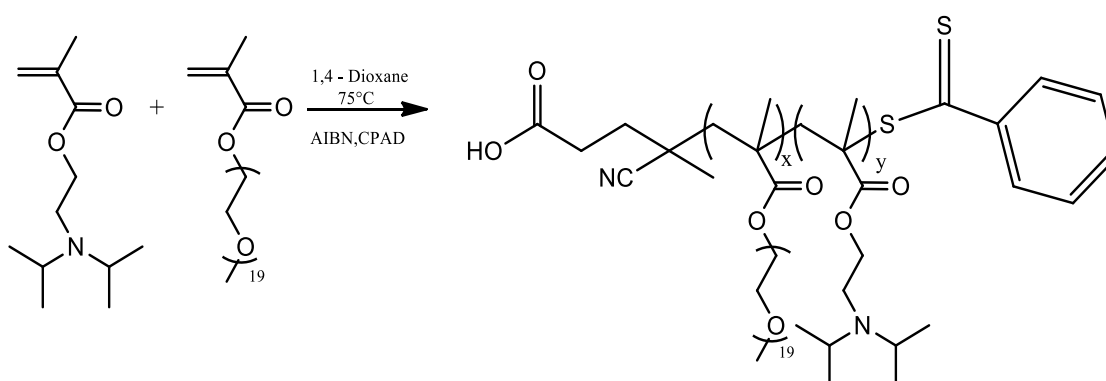
#### 4.1 Σύνθεση Συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA)

Η σύνθεση των αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA) πραγματοποιήθηκε όπως ειπώθηκε με την τεχνική RAFT, σε ένα μόνο στάδιο, χρησιμοποιώντας ως απαρχητή το AIBN, ως CTA το 4-κυανο-4-(φαινυλοκαρβονυλοθειο) πεντανοϊκό οξύ και ως διαλύτη το 1,4-διοξάνιο και για τα 4 συμπολυμερή ανεξαρτήτως του μεγέθους της αλυσίδας του OEGMA. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 75°C για 24 ώρες και περιγράφεται στην *Εικόνα 4.2*. Συντέθηκαν τέσσερα τυχαία συμπολυμερή P(OEGMA-co-DIPAEMA) με διαφορετική σύσταση και με διαφορετικού μήκους αλυσίδες OEGMA. Τα μοριακά χαρακτηριστικά των τυχαίων συμπολυμερών περιγράφονται παρακάτω μετά τον σχολιασμό αποτελεσμάτων σύνθεσης στον *Πίνακα 4.1*.

### P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)



### P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)



**Σχήμα 4.1:** Συνθετική πορεία παρασκευής αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) και P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)

## 4.2 Μοριακός χαρακτηρισμός των P(OEGMA-co-DIPAEMA) συμπολυμερών

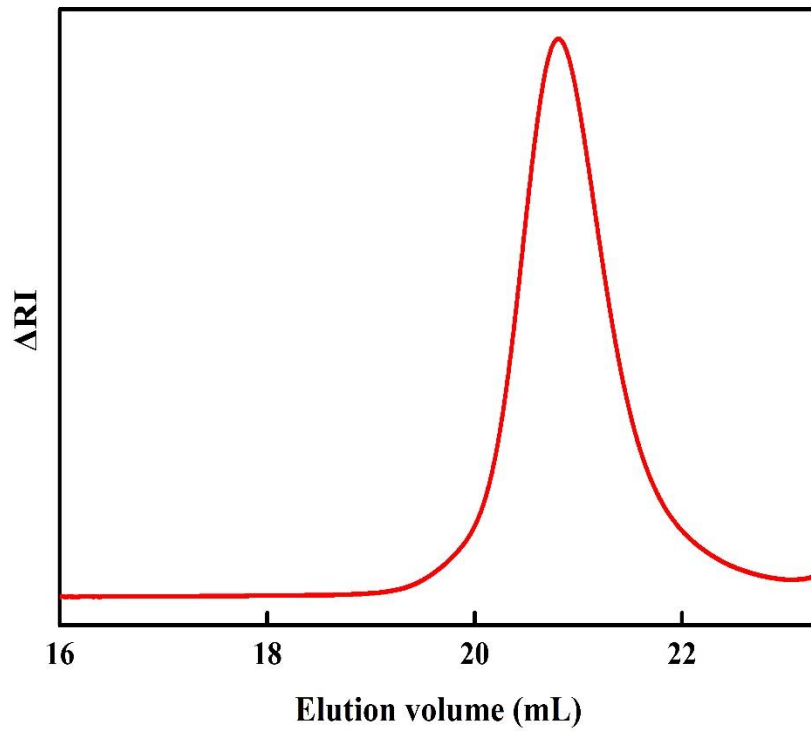
Τα μοριακά βάρη καθώς και οι κατανομές των μοριακών βαρών των πολυμερών που συντέθηκαν στην παρούσα εργασία προσδιορίστηκαν μέσω χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγεθών (SEC). Από την ανάλυση των χρωματογραφημάτων διαπιστώθηκε ο επιτυχής πολυμερισμός σε όλα τα

τυχαία συμπολυμερή. Επιπρόσθετα, διαπιστώθηκε και καλός έλεγχος του μοριακού βάρους και της σύστασης των συμπολυμερών που συντέθηκαν. Εντούτοις, χρειάστηκε να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος διαπίδυσης μέσω μεμβράνης (Dialysis) στα συμπολυμερή όπου χρησιμοποιήθηκε η μεγάλη αλυσίδα του OEGMA ( $M_w = 950$ ) ώστε να προκύψουν καθαρά συμπολυμερή, χωρίς να υπάρχουν σε αυτά εναπομείναντα μονομερή που δεν έχουν αντιδράσει.

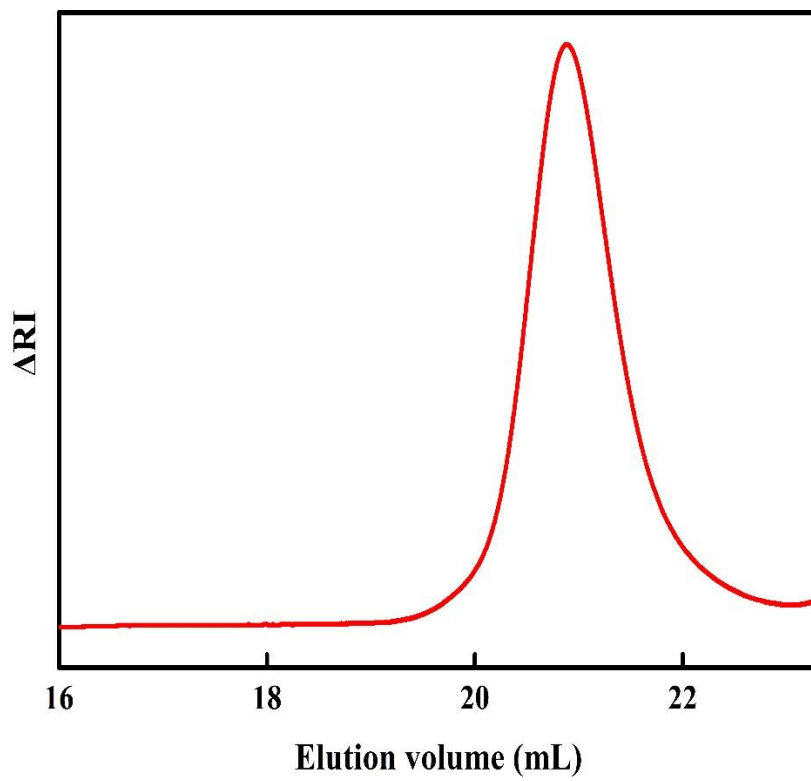
Σύμφωνα με τα χρωματογραφήματα, οι κατανομές μοριακών βαρών ήταν μικρές και οι τιμές τους εντός του εύρους που επιβάλλει το θεωρητικό υπόβαθρο και η πρακτική εφαρμογή της τεχνικής πολυμερισμού RAFT.

Στα σχήματα που ακολουθούν παρουσιάζονται χαρακτηριστικά χρωματογραφήματα για όλα τα συμπολυμερή που παρασκευάστηκαν. Η μέθοδος Dialysis χρησιμοποιήθηκε για να καθαριστούν τα συμπολυμερή από εναπομείναντες ποσότητες μονομερών OEGMA που δεν έχουν αντιδράσει. Ο καθαρισμός αυτός ήταν επιτυχής, όπως φαίνεται στο *Σχήμα 4.4*. Η δεύτερη κορυφή που εντοπίζεται σε όγκο έκλουσης 23mL και οφείλεται στα εναπομείναντα μονομερή έχει σχεδόν εξαφανιστεί, ενώ στην δεύτερη περίπτωση όπου η κορυφή αυτή ήταν μεγαλύτερη λόγω μεγαλύτερης αρχικής ποσότητας OEGMA μειώθηκε από 19.4% σε μόλις 5.9%. (*Σχήμα 4.5*) Με βάση τα χρωματογραφήματα παρατηρούνται οι στενές κατανομές μοριακών βαρών και συνεπώς ο έλεγχος των μοριακών βαρών ήταν επιτυχής.

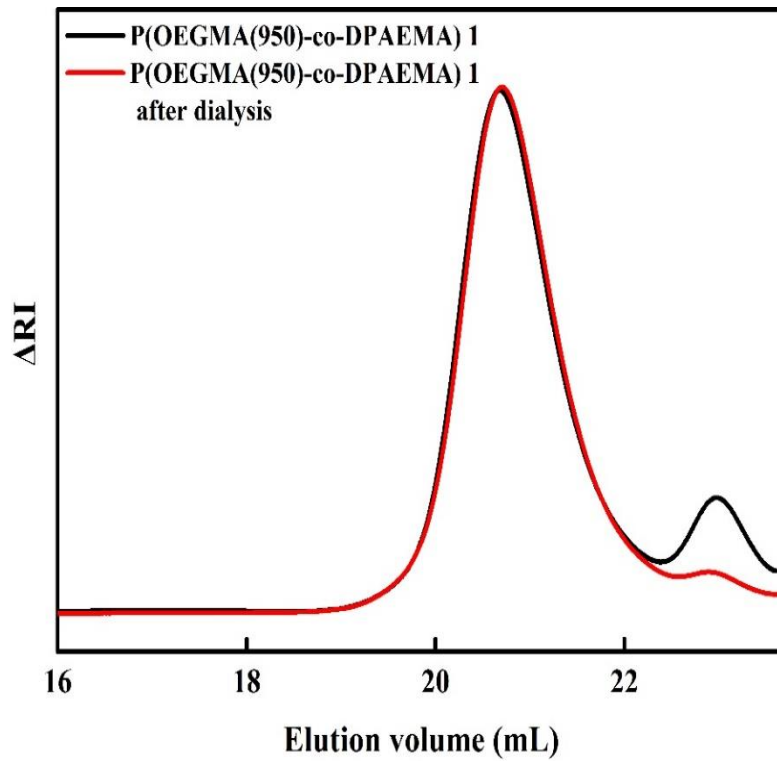
Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι με την τεχνική SEC προσδιορίστηκαν τα μοριακά βάρη των συντιθέμενων συμπολυμερών και προέκυψαν παρόμοια με τα θεωρητικά αναμενόμενα καταδεικνύοντας την επιτυχή σύνθεσή τους.



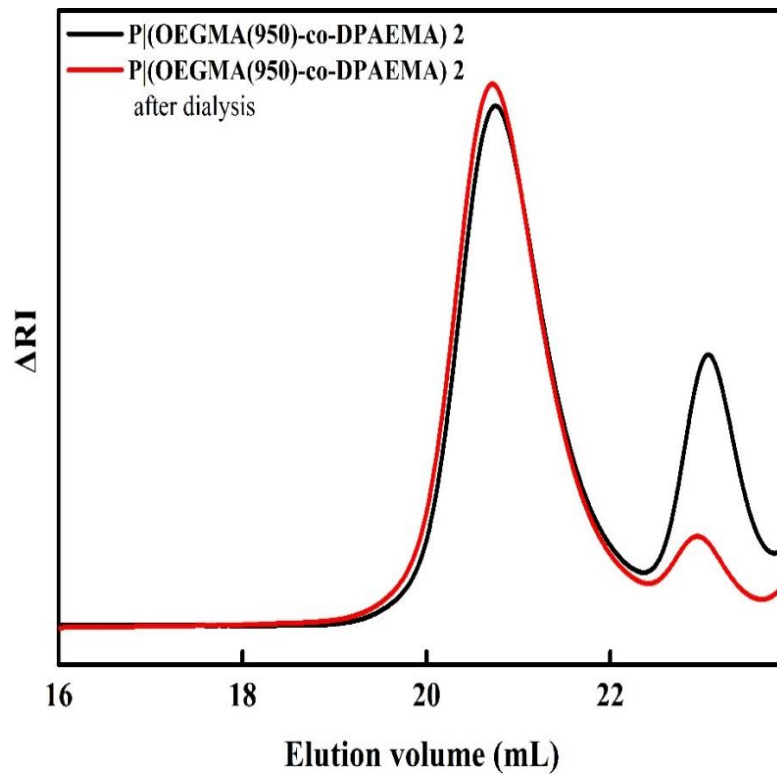
Σχήμα 4.2: Χρωματογράφημα SEC συμπολυμερούς P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 1



Σχήμα 4.3: Χρωματογράφημα SEC συμπολυμερούς P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 2



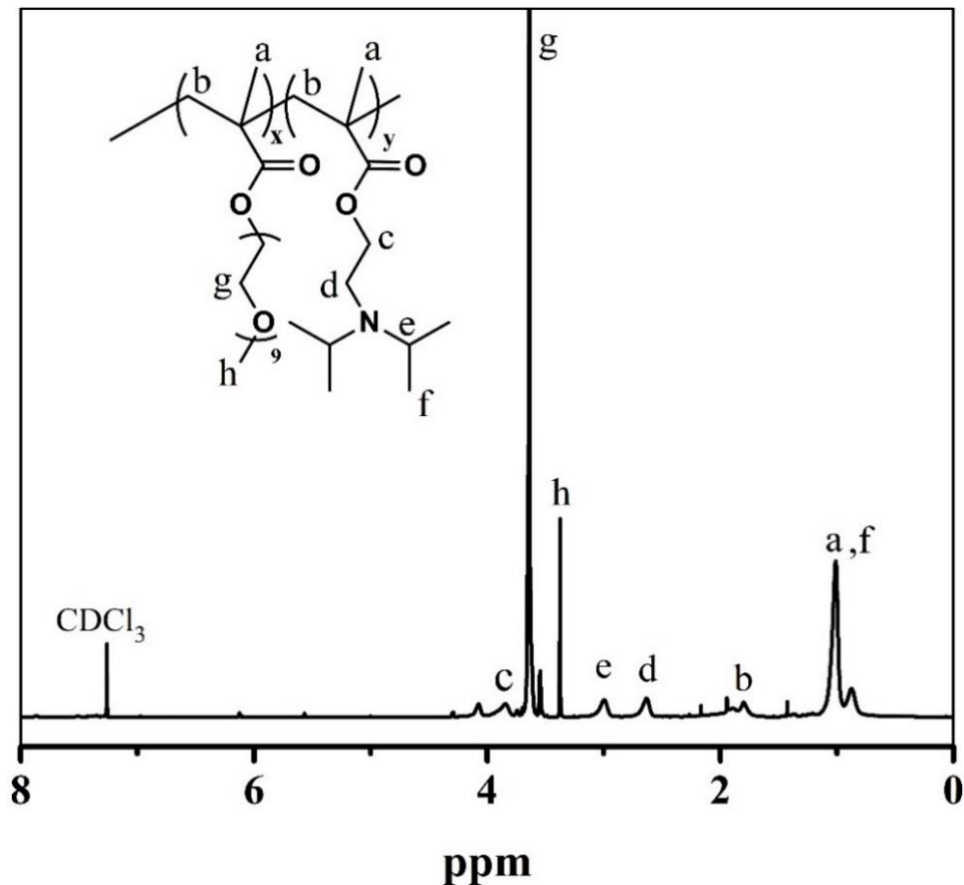
Σχήμα 4.4: Χρωματογραφήματα SEC συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 1 πριν και μετά τη μέθοδο dialysis



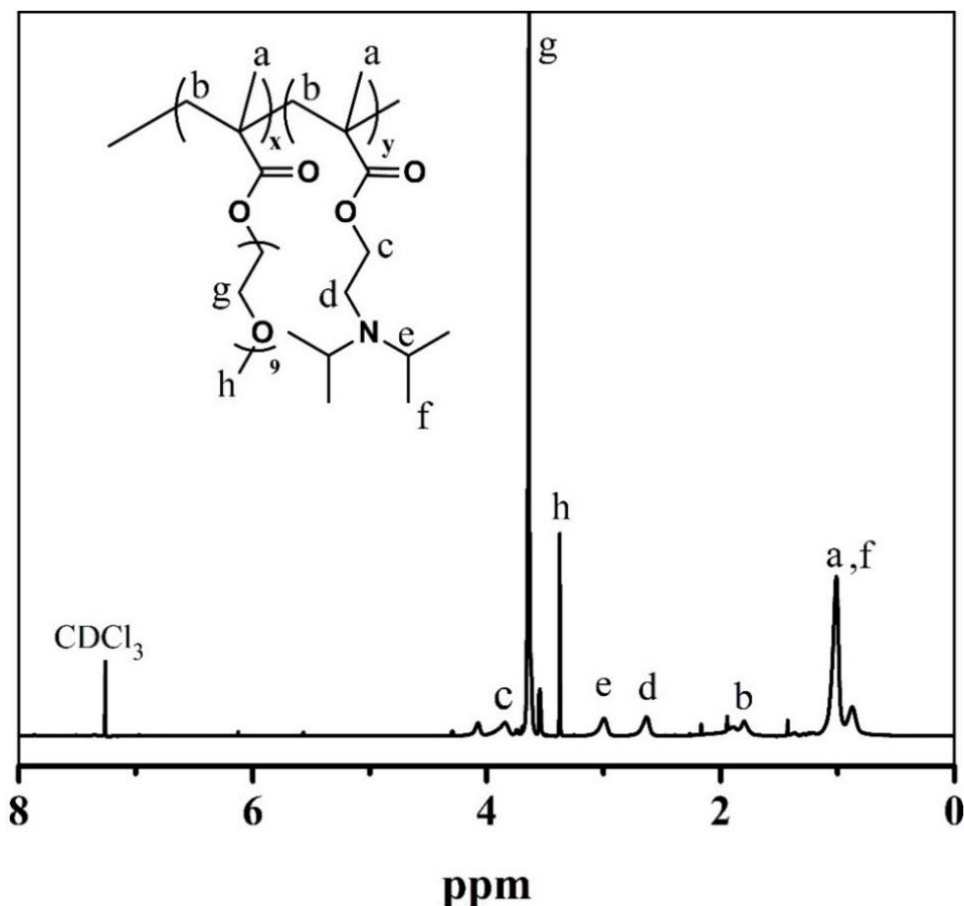
Σχήμα 4.5: Χρωματογραφήματα SEC συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 2 πριν και μετά τη μέθοδο dialysis

Η ταυτοποίηση της χημικής δομής και ο προσδιορισμός της σύστασης των

συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA) πραγματοποιήθηκε με φασματοσκοπία  $^1\text{H-NMR}$ . Χαρακτηριστικά παραδείγματα φασμάτων των συμπολυμερών δίνονται στα Σχήματα 4.6 και 4.7 μαζί με την αποτίμηση των κορυφών του φάσματος σε σχέση με τις δομικές μονάδες των συμπολυμερών.



Σχήμα 4.6: Φάσμα  $^1\text{H-NMR}$  του τυχαίου συμπολυμερούς P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-1 σε  $\text{CDCl}_3$



**Σχήμα 4.7:** Φάσμα <sup>1</sup>H-NMR του τυχαίου συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-1 σε CDCl<sub>3</sub>

Με βάση τα παραπάνω ενδεικτικά φάσματα <sup>1</sup>H-NMR, παρατηρούνται διαφορές ανάμεσα στην ένταση και το πλάτος των κορυφών. Αυτό οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των μονομερικών μονάδων που αποτελούν τα διαφορετικά τυχαία συμπολυμερή. Για τον υπολογισμό της σύστασης σε όλες τις περιπτώσεις (Σχήμα 4.6) χρησιμοποιήθηκαν οι πιο χαρακτηριστικές κορυφές της κάθε συστάδας. Πιο συγκεκριμένα, για το OEGMA (και για τα 2 μοριακά βάρη) επιλέχθηκαν τα –CH<sub>2</sub> υδρογόνα της πλευρικής ομάδας της ολιγοαιθυλενογλυκόλης με την κορυφή g στα 3,63 [75] ppm και τα (CH-N)<sub>2</sub>– υδρογόνα των τριτοταγών ανθράκων των δύο ισοπροπυλομάδων με την κορυφή e να εμφανίζονται στα 2,99 ppm.[76] Στη συνέχεια, έγινε διαίρεση του εμβαδού κάθε κορυφής με τον αριθμό των υδρογόνων που αντιστοιχούν σε αυτή και έπειτα πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό που προκύπτει με το μοριακό βάρος της αντίστοιχης μονομερικής μονάδας. Η κατά βάρος σύσταση της ποσότητας κάθε δομικής μονάδας στο τυχαίο συμπολυμερές (% wt) προκύπτει

διαιρώντας τον παραπάνω αριθμό με το άθροισμα αυτού και για τις δύο κορυφές. Οι πειραματικά προσδιορισμένες συστάσεις για τα συμπολυμερή που συντέθηκαν βρίσκονται καταγεγραμμένες στο Πίνακα 4.1.

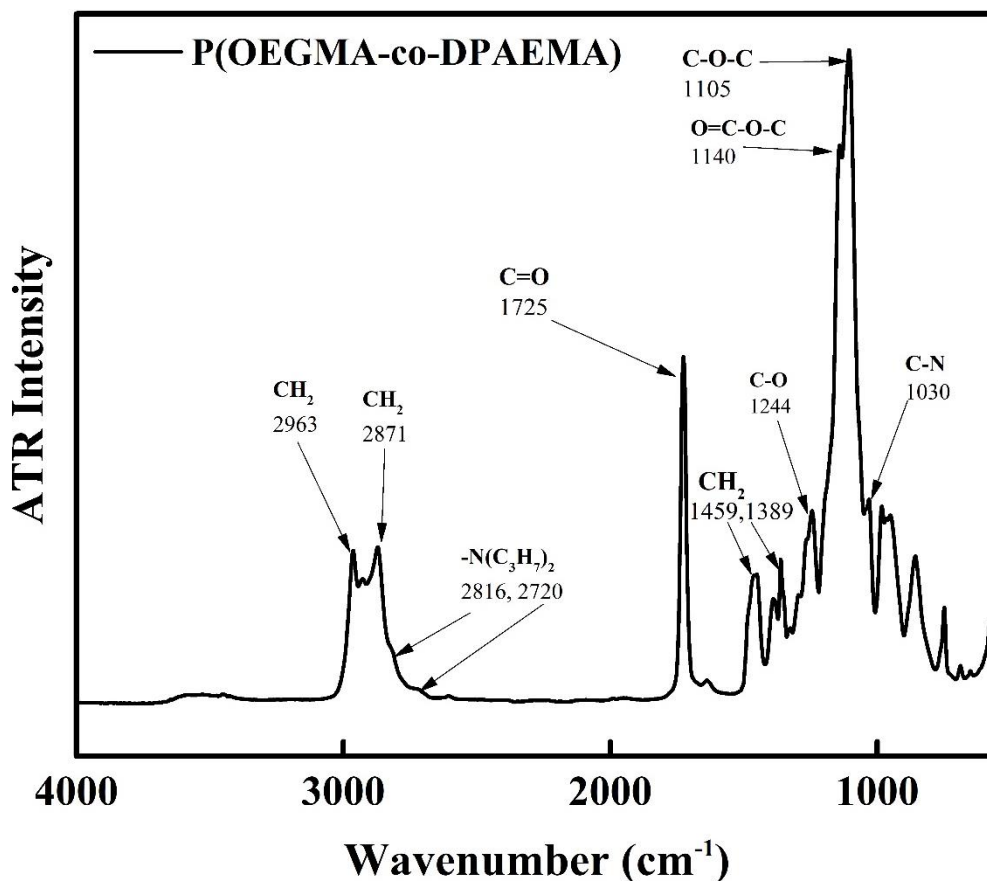
**Πίνακας 4.1: Μοριακά χαρακτηριστικά P(OEGMA-co-DIPAEMA)**

Συμπολυμερές	$M_w$ ( $\times 10^4$ ) (g/mol) (SEC)	$M_w / M_n$ (SEC)	Σύσταση %wt OEGMA ( $^1H$ -NMR)	Σύσταση %wt DIPAEMA ( $^1H$ -NMR)
<i>P(OEGMA(500)- co-DIPAEMA)-1</i>	1.03	1.14	42	58
<i>P(OEGMA(500)- co-DIPAEMA)-2</i>	0.97	1.15	62	38
<i>P(OEGMA(950)- co-DIPAEMA)-1</i>	1.10	1.16	37	63
<i>P(OEGMA(950)- co-DIPAEMA)-2</i>	1.24	1.13	58	42

Οι τιμές τους συμφωνούν ικανοποιητικά με τις στοιχειομετρικά προσδιορισμένες. Το γεγονός αυτό δηλώνει ότι η σύσταση του τελικού συμπολυμερούς είναι παρόμοια με του αρχικού διαλύματος πολυμερισμού δηλώνοντας την τυχαία κατανομή των μονομερών στο συμπολυμερές. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε για όλες τις διαφορετικές αναλογίες συμπολυμερών που παρασκευάστηκαν.

Η ταυτοποίηση της χημικής δομής των συμπολυμερών έγινε ποιοτικά και με την εφαρμογή της φασματοσκοπίας FTIR. Παρουσιάζεται παρακάτω ενδεικτικό φάσμα μαζί με την αποτίμηση των κορυφών για τις χαρακτηριστικές χημικές ομάδες που φέρουν τα συμπολυμερή.





**Σχήμα 4.8:** Φάσμα ATR-FTIR του τυχαίου συμπολυμερούς P(OEGMA)(500)-co-DIPAEMA)-1

Στο Σχήμα 4.8 παρουσιάζεται το φάσμα FTIR του P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-1. Από την αποτίμηση των κορυφών, οι μπάντες απορρόφησης: στα 2963cm<sup>-1</sup> αντιστοιχούν σε δονήσεις έκτασης δεσμών C-H των ομάδων –CH<sub>2</sub> (ασύμμετρη έκταση), ενώ αυτή στα 2871 cm<sup>-1</sup> αντιστοιχεί στις ίδιες ομάδες αλλά σε συμμετρική έκταση του δεσμού. Οι δονήσεις αυτές είναι αποτέλεσμα των -CH<sub>2</sub> ομάδων του DIPAEMA και του OEGMA. Οι κορυφές στους κυματάριθμους 2816 cm<sup>-1</sup> και 2720 cm<sup>-1</sup> αντιστοιχούν σε δονήσεις έκτασης δεσμών της ομάδας της τριτοταγούς αμίνης -N(C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)<sub>2</sub> του DIPAEMA. Ωστόσο βιβλιογραφικά φαίνεται πως δονήσεις δεσμών που προέρχονται από την ισοπροπυλάμινο ομάδα εμφανίζονται στην ίδια περιοχή με τις εκτάσεις δεσμών των υδρογόνων των ομάδων –CH<sub>2</sub>. Η κορυφή που εμφανίζεται στα 1725 cm<sup>-1</sup> αντιστοιχεί σε δονήσεις έκτασης του καρβονυλίου της εστερικής ομάδας τόσο του PDPAEMA όσο και του POEGMA. Στο εύρος 1500 με 1350 cm<sup>-1</sup> και πιο συγκεκριμένα στα 1459 cm<sup>-1</sup> παρατηρείται μια ασύμμετρη κάμψη

που αντιστοιχεί στους δεσμούς C-H των  $-CH_2$  και αντίστοιχα στα  $1389\text{ cm}^{-1}$  η συμμετρική τους. Στα  $1244\text{ cm}^{-1}$  παρατηρείται μια δόνηση έκτασης του δεσμού C-O που βρίσκεται και στα δύο μονομερή. Στα  $1140\text{ cm}^{-1}$  παρατηρείται μια δόνηση έκτασης δεσμών της ομάδας O=C-O. Παρατηρείται επίσης κορυφή στα  $1105\text{ cm}^{-1}$  με αυξημένη ένταση αναλογικά με τις υπόλοιπες κορυφές του φάσματος, στοιχείο που καταδεικνύει ότι η κορυφή οφείλεται σε δόνηση έκτασης δεσμών της ομάδας C-O-C, διότι αυτή περιέχεται στη δομική μονάδα του μονομερούς OEGMA. [75] Τέλος, στα  $1030\text{ cm}^{-1}$  παρατηρείται χαρακτηριστική δόνηση έκτασης δεσμών που αντιστοιχούν στη χαρακτηριστική δόνηση C-N της διισοπροπυλαμινο ομάδας. [77]

#### **4.3 Μελέτες αυτο-οργάνωση τυχαίων συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA) σε υδατικά διαλύματα**

Η αυτο-οργάνωση των αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών σε υδατικά μέσα πραγματοποιήθηκε με την απευθείας διάλυση των πολυμερών σε νερό με pH 3 και 10, τα οποία είχαν παρασκευαστεί με την χρήση HCl 0,1M, 1M και NaOH 0.1M, 1M αντίστοιχα, και ρυθμιστικό διάλυμα PBS pH 7.4. Η συγκέντρωση που παρασκευάστηκε ήταν σε όλες τις περιπτώσεις  $1 \times 10^{-3}\text{ g/mL}$ . Το πρωτόκολλο σχηματισμού συσσωματωμάτων ήταν κοινό και για τα τέσσερα τυχαία συμπολυμερή. Τα διαλύματα των πολυμερών μετρήθηκαν την επόμενη από την παρασκευή τους ημέρα με σκοπό την επίτευξη ισορροπίας.

Η μελέτη των τυχαίων συμπολυμερών έγινε σε διαφορετικά pH για όλες τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν λόγω της φύσης του DIPAEMA. Το DIPAEMA παρουσιάζει αναστρέψιμη υδρόφιλη και υδρόφοβη συμπεριφορά ως ένας κατιονικός pH-ανταποκρινόμενος κατιοντικός πολυηλεκτρολύτης. Αυτό συμβαίνει λόγω του βασικού χαρακτήρα των ιονιζόμενων τριτοταγών αμινομάδων κατά μήκος του πολυμερούς, η οποία πρωτονιώνεται σε τιμές pH κάτω από την  $pK_a$  (περίπου 6.3) όπου είναι πλήρως διαλυτό στο νερό και τα σωματίδια που υπάρχουν στο διάλυμα είναι σε μορφή ελεύθερων αλυσίδων (unimers) (υδρόφιλη συμπεριφορά) και αποπρωτονιώνεται σε τιμές pH πάνω από την  $pK_a$ , με αποτέλεσμα την μείωση των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων και τον σχηματισμό συσσωματωμάτων (υδρόφοβη

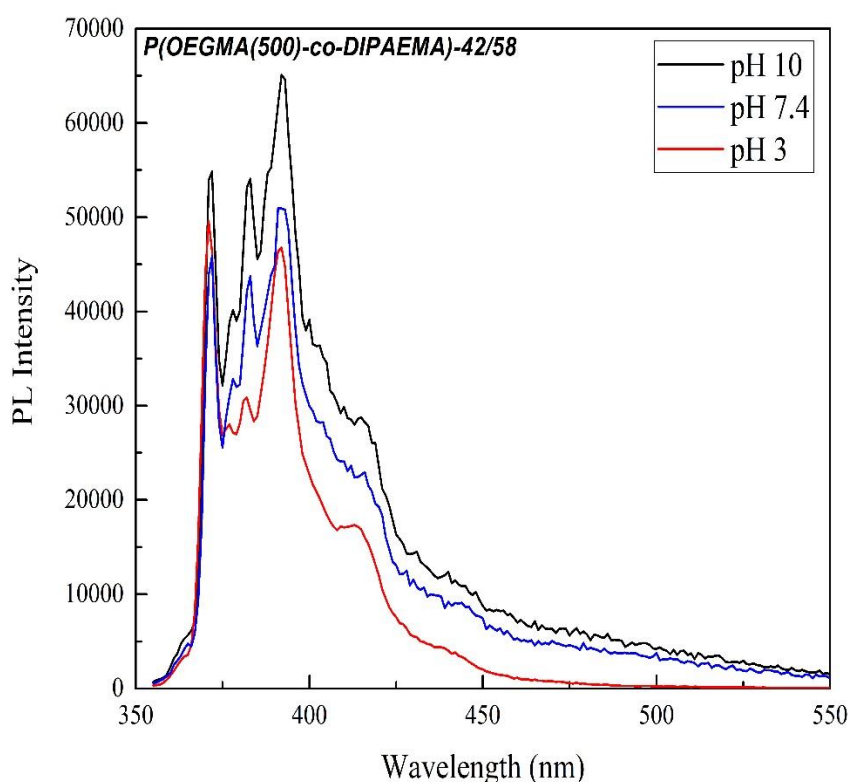
συμπεριφορά), κάτι το οποίο είναι πολύ σημαντικό στον τομέα της εφαρμογής πολυμερών σε συστήματα μεταφοράς φαρμάκων με αντικαρκινικές δράσεις. Στην περίπτωση των τυχαίων συμπολυμερών που περιέχουν το DIPAEMA ως δομική μονάδα της πολυμερικής αλυσίδας, επίσης αναμένεται εξάρτηση των ιδιοτήτων των συσσωματωμάτων που σχηματίζει το συμπολυμερές σε υδατικά μέσα, ανάλογα με τη μεταβολή του pH. Μάλιστα αναμένεται να κυριαρχεί η ίδια τάση στη συμπεριφορά ανάλογα με την πρωτονίωση-αποπρωτονίωση των αμινομάδων του συγκεκριμένου μονομερούς. Φυσικά στην περίπτωση των συμπολυμερών η εξάρτηση από το pH επηρεάζεται και από άλλες παραμέτρους, οι οποίες είναι το μοριακό βάρος του συμπολυμερούς, η συγκέντρωση του στο υδατικό διάλυμα, η χημική του σύσταση ως προς την υδρόφιλη και υδρόφοβη αναλογία των μονομερικών μονάδων και η αρχιτεκτονική του πολυμερούς και τυχόν στερεοχημικές παρεμπλοδίσσεις.

Τα υδατικά διαλύματα των P(OEGMA-co-DIPAEMA) συμπολυμερών διερευνήθηκαν μέσω της φασματοσκοπίας φθορισμού προκειμένου να διερευνηθεί εάν παρουσιάζουν κρίσιμη συγκέντρωση σχηματισμού συσσωματωμάτων (CAC). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με εγκλωβισμό του πυρενίου στο υδρόφοβο τμήμα των συσσωματωμάτων. Η CAC ορίζεται ως η συγκέντρωση που αντιστοιχεί στο σημείο που ο λόγος των σχετικών εντάσεων της πρώτης και τρίτης κορυφής ( $I_1/I_3$ ) στο φάσμα φθορισμού του πυρενίου εμφανίζει έντονη μεταβολή. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία αναμένεται η μείωση της CAC με την αύξηση του ποσοστού της υδρόφοβης συστάδας.

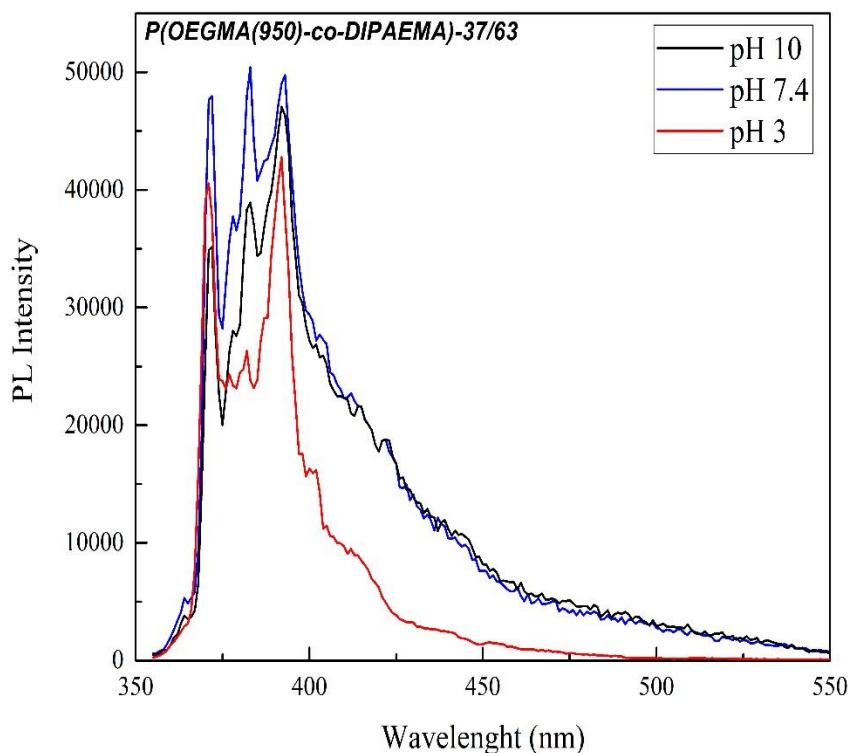
Για τον προσδιορισμό της CAC (και της CMC) χρησιμοποιείται ως ιχνηθέτης το πυρένιο γιατί αποτελεί υδρόφοβη ένωση με μικρή διαλυτότητα στο νερό, που μπορεί όμως να αυξηθεί σημαντικά σε λιγότερο πολικό περιβάλλον, αφού ως υδρόφοβη ουσία μπορεί να εισχωρήσει στο εσωτερικό των υδρόφοβων περιοχών των συσσωματωμάτων. Ο λόγος  $I_1/I_3$  είναι πολύ ευαίσθητος στις μεταβολές πολικότητας του διαλύτη και του μικροπεριβάλλοντος που «αντιλαμβάνεται» το πυρένιο γύρω του. Αύξηση του υδρόφοβου συστατικού σημαίνει ότι μεγαλύτερο ποσοστό πυρενίου θα εγκλωβιστεί στα συσσωματώματα καθώς ανιχνεύει την ύπαρξη υδρόφοβου

μικροπεριβάλλοντος και άρα αναμένεται ο λόγος  $I_1/I_3$  να έχει τιμή 1.0-1.3 που αντιπροσωπεύει υδρόφοβο μικροπεριβάλλον, ενώ σε πολικό έως πολύ πολικό για τον ιχνηθέτη μικροπεριβάλλον ο λόγος  $I_1/I_3$  αντιστοιχεί σε τιμές 1.6-1.9. [78,79,80].

Πριν τον καθορισμό της CAC παρασκευάστηκαν δώδεκα υδατικά διαλύματα πολυμερούς, τρία για κάθε τυχαίο συμπολυμερές με τα pH που έχουν προαναφερθεί σε σχετικά μεγάλη συγκέντρωση,  $1 \times 10^{-3}$  g/mL στη συνέχεια προστέθηκε πυρένιο σε κάθε ένα από τα διαλύματα και οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν την επόμενη μέρα, για να φανεί από τον λόγο  $I_1/I_3$  αν υπάρχει σχηματισμός συσσωματωμάτων σε όλα τα pH (Σχήματα 4.9, 4.10) ώστε να βρεθεί στην συνέχεια η κρίσιμη συγκέντρωση σχηματισμού συσσωματωμάτων.



**Σχήμα 4.9:** Ενδεικτικά φάσματα εκπομπής πυρενίου για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 42/58 σε pH 3, 7.4 και 10



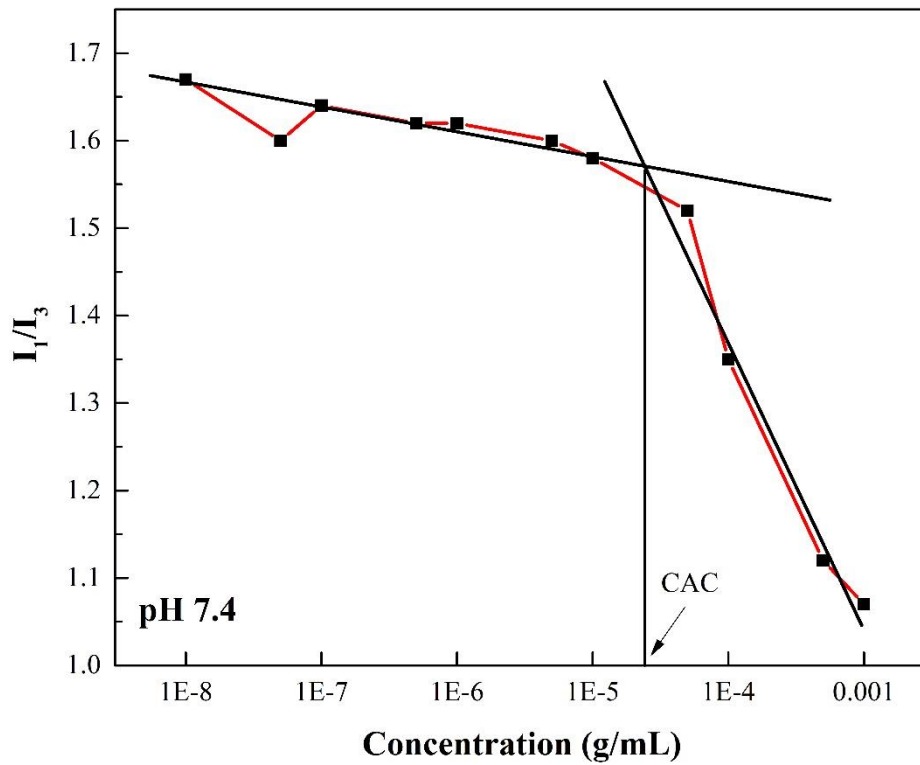
**Σχήμα 4.10: Ενδεικτικά φάσματα εκπομπής πυρενίου για το συμπολυμερές P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 37/63 σε pH 3, 7.4 και 10**

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων ήταν τα αναμενόμενα. Σε pH 10 η αποπρωτονίωση των αμινομάδων του DIPAEMA τμήματος έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της υδροφοβικότητας και λόγω της μείωσης της πολικότητας στο μέσο, η οποία εκφράζεται με τη μείωση του λόγου  $I_1/I_3$ , το πυρένιο εγκλωβίζεται στα συσσωματώματα. Σε pH 7.4 παρατηρείται αντίστοιχη συμπεριφορά καθώς παρά την μερική πρωτονίωση του DIPAEMA παραμένει ο υδρόφοβος χαρακτήρας του σε pH μεγαλύτερα της  $pK_a$  του (6.4). Σε όξινο pH οι αμινομάδες στις αλυσίδες του DIPAEMA είναι πρωτονιωμένες με αποτέλεσμα την μετατροπή της αμινομάδας από υδρόφοβη σε υδρόφιλη και συνεπώς την αύξηση του λόγου  $I_1/I_3$  καθώς στην περίπτωση αυτήν το πυρένιο δεν βρίσκει κατάλληλα υδρόφοβο περιβάλλον για να εγκλωβιστεί. Η ίδια συμπεριφορά παρατηρήθηκε σε όλα τα συμπολυμερή που μελετήθηκαν, όπως φαίνεται και στον Πίνακα.4.2.

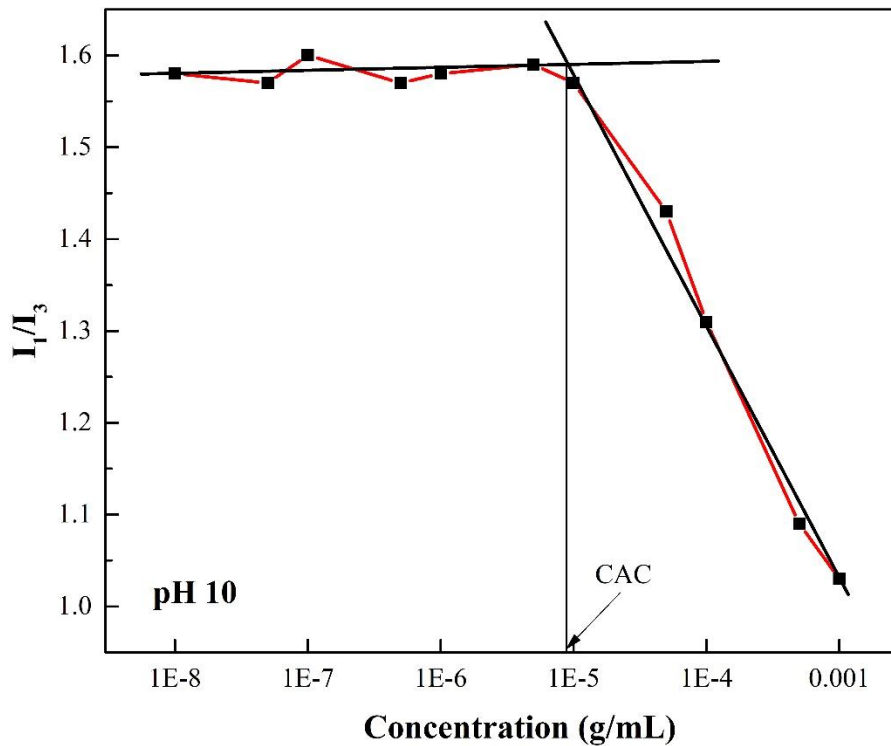
**Πίνακας 4.2: Λόγοι  $I_1/I_3$  για τα  $P(OEGMA-co-DIPAEMA)$  σε pH 3, 7.4 και 10.**

Συμπολυμερές	pH	$I_1/I_3$ (FS)
$P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58$	3	1.7
	7.4	1.05
	10	1.01
$P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38$	3	1.60
	7.4	1.23
	10	1.18
$P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63$	3	1.57
	7.4	0.93
	10	0.92
$P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42$	3	1.61
	7.4	1.24
	10	1.15

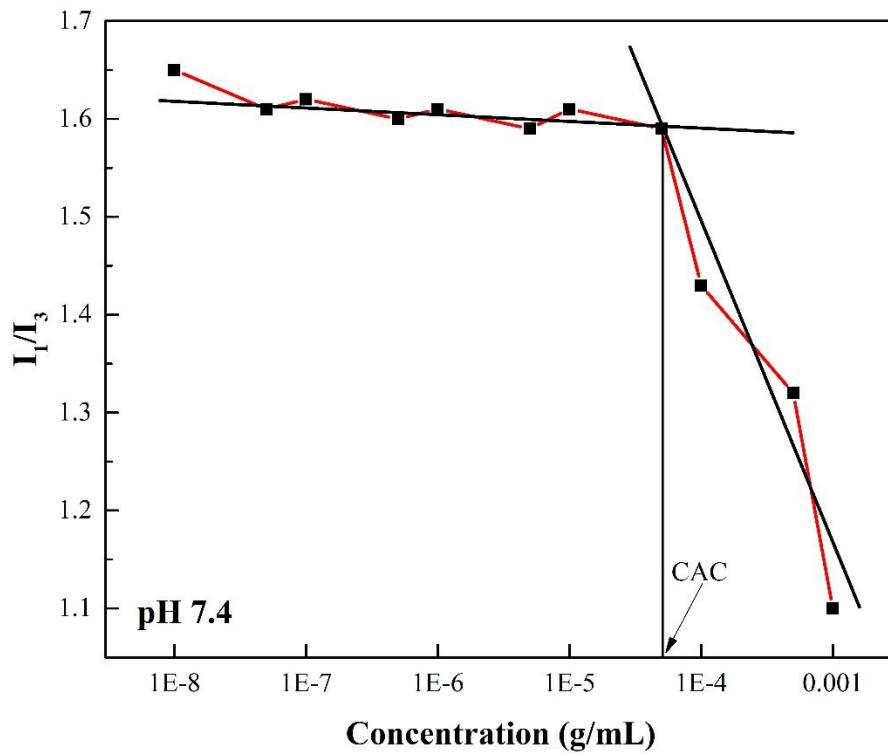
Αξίζει να σημειωθεί ότι στα συμπολυμερή που η αναλογία του DIPAEMA είναι μεγαλύτερη ως προς αυτή του OEGMA ο λόγος  $I_1/I_3$  κατεβαίνει σε μικρότερες τιμές όταν βρισκόμαστε είτε σε ελαφρώς ή ισχυρά βασικά pH. Αυτό είναι λογικό καθώς υπάρχουν περισσότερες υδρόφοβες ομάδες DIPAEMA στην πολυμερική αλυσίδα με αποτέλεσμα να υπάρχει εντονότερη τάση για συσσωμάτωση και έτσι να δημιουργείται ένα ισχυρότερα υδρόφοβο μικροπεριβάλλον κατάλληλο για να εγκλωβίσει μεγαλύτερη ποσότητα πυρενίου. Ακολούθησαν μετρήσεις σε αραιά προς πυκνότερα υδατικά διαλύματα συμπολυμερούς, σε pH 7.4 και 10 καθώς σε αυτά τα pH εντοπίστηκε η παρουσία φαινομένου συσσωμάτωσης ,για τον προσδιορισμό της κρίσιμης συγκέντρωσης σχηματισμού συσσωματωμάτων (CAC). Τα διαγράμματα συγκέντρωσης συναρτήσεως της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών  $I_1/I_3$  του πυρενίου για όλα τα συμπολυμερή παρουσιάζονται αναλυτικά στις επόμενες σελίδες:



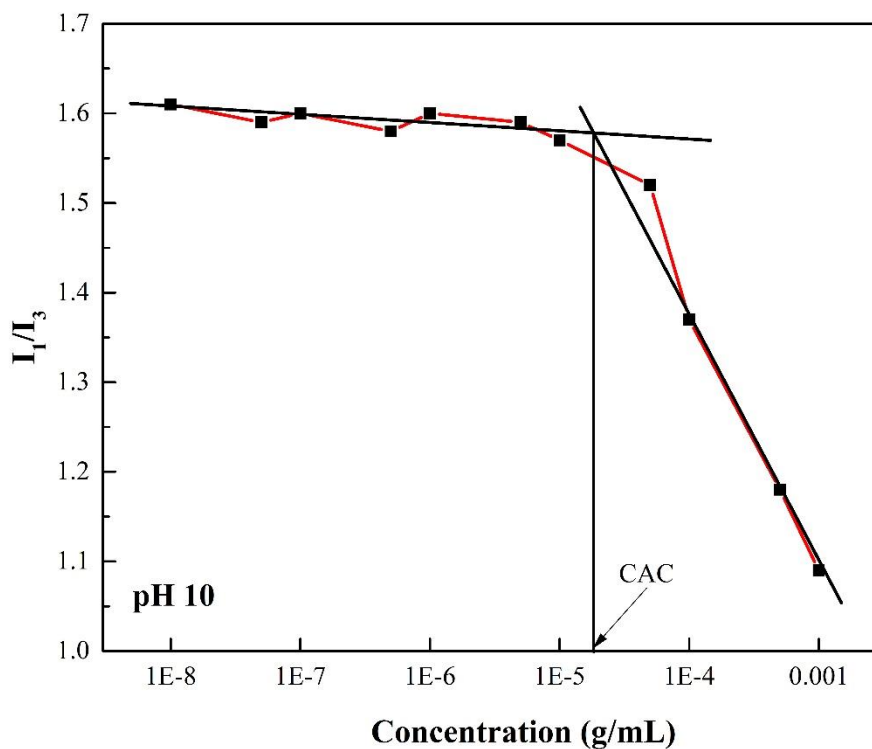
**Σχήμα 4.11:** Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών  $I_1/I_3$  του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58 σε pH 7.4



**Σχήμα 4.12:** Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών  $I_1/I_3$  του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58 σε pH 10

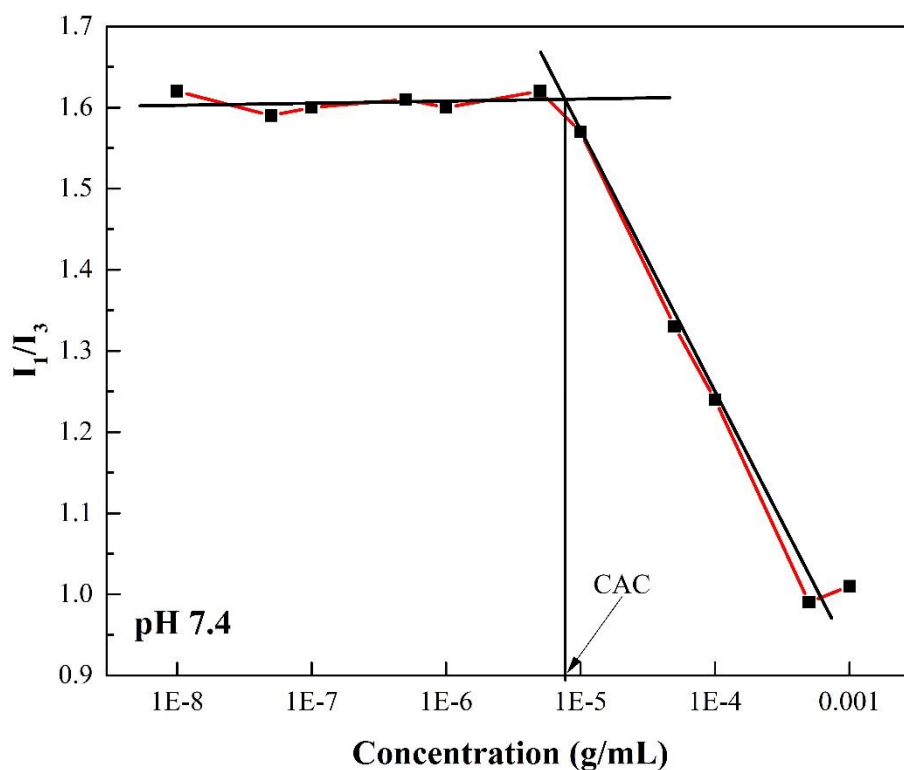


**Σχήμα 4.13:** Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών  $I_1/I_3$  του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38 σε pH 7.4

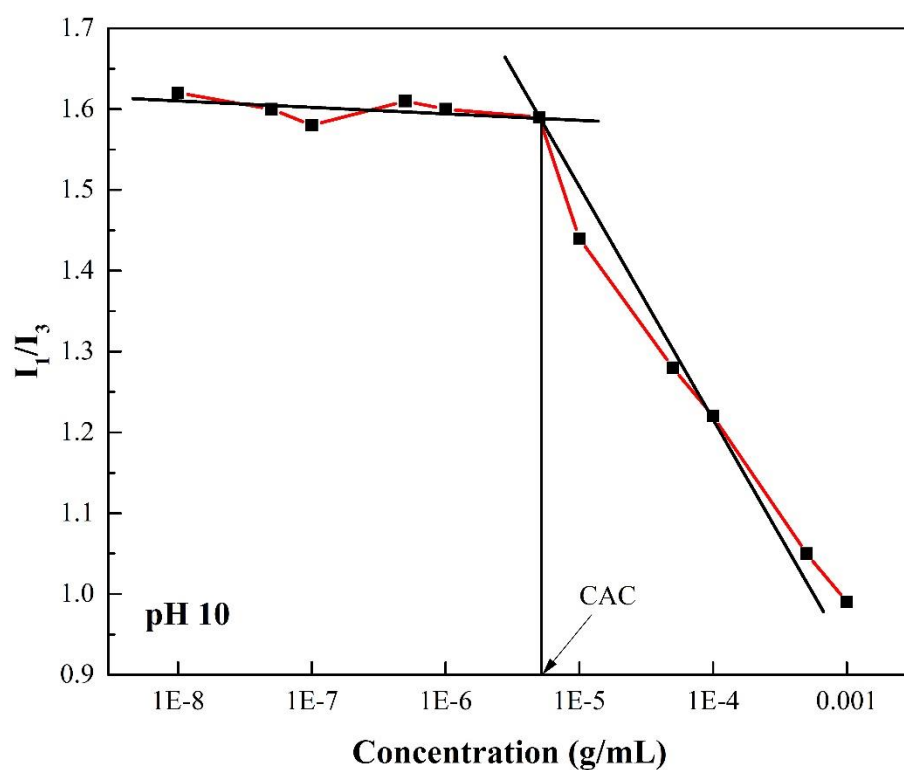


**Σχήμα 4.14:** Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών  $I_1/I_3$  του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38 σε pH 10

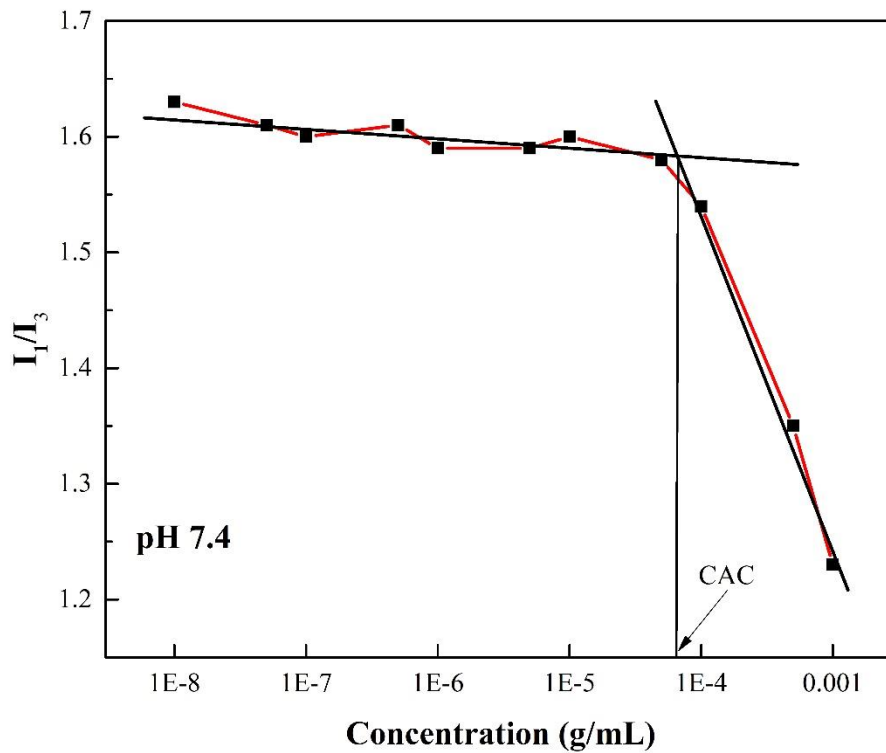




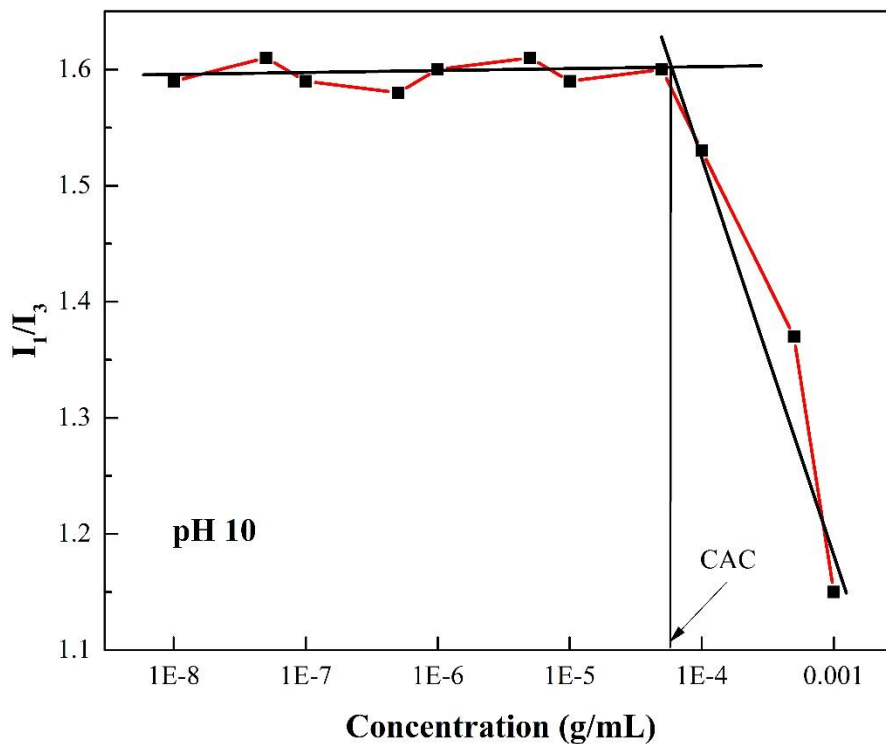
**Σχήμα 4.15:** Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών  $I_1/I_3$  του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 σε pH 10



**Σχήμα 4.16:** Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών  $I_1/I_3$  του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 σε pH 10



Σχήμα 4.17: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών  $I_1/I_3$  του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές  $P(\text{OEGMA}(950)\text{-co-DIPAEMA})\text{-}58/42$  σε pH 7.4



Σχήμα 4.18: Διάγραμμα του λόγου της έντασης των κορυφών  $I_1/I_3$  του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές  $P(\text{OEGMA}(950)\text{-co-DIPAEMA})\text{-}58/42$  σε pH 10

Παρατηρείται καθαρά το πλατώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις όπου δεν εμφανίζονται συσσωματώματα, η περιοχή μετάβασης σε ενδιάμεσες συγκεντρώσεις, καθώς και το πλατώ σε υψηλές συγκεντρώσεις σε μία περίπτωση. Η CAC προσδιορίζεται από το πρώτο σημείο καμπής σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3.

**Πίνακας 4.3: Αποτελέσματα εύρεσης CAC των P(OEGMA-co-DIPAEMA) με φασματοσκοπία φθορισμού**

Συμπολυμερές	pH	CAC (g/ml) (FS)
<b>P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58</b>	7.4	$2.45 \times 10^{-5}$
	10	$8.89 \times 10^{-6}$
<b>P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38</b>	7.4	$5.09 \times 10^{-5}$
	10	$1.81 \times 10^{-5}$
<b>P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63</b>	7.4	$7.66 \times 10^{-6}$
	10	$5.20 \times 10^{-6}$
<b>P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42</b>	7.4	$6.67 \times 10^{-5}$
	10	$5.81 \times 10^{-5}$

Το πρώτο που παρατηρείται μεταξύ των εξεταζόμενων pH 7.4 και 10 για κάθε συμπολυμερές ξεχωριστά, είναι το γεγονός πως και στα τέσσερα συμπολυμερή βλέπουμε ότι η CAC πάντα εμφανίζεται σε μικρότερες συγκεντρώσεις στην περίπτωση του ισχυρά βασικού pH 10 και σε πιο μεγάλες για pH 7.4. Αυτό όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως είναι λογικό και αναμενόμενο αφού όσο μεγαλύτερο είναι το pH υπάρχει όλο και μεγαλύτερος βαθμός αποπρωτονίωσης της αμινομάδας με αποτέλεσμα την εμφάνιση εντονότερου υδρόφοβου χαρακτήρα και συνεπώς δημιουργία συσσωματωμάτων πιο γρήγορα στο διάλυμα. Επίσης παρατηρούμε πως η διαφορά της CAC στο ίδιο συμπολυμερές από το ένα pH στο άλλο, είναι μεγαλύτερη στα συμπολυμερή με την μικρή αλυσίδα του OEGMA απ' ότι σε

αυτά με την αλυσίδα διπλάσιου μήκους όπου οι διαφορές είναι αρκετά μικρότερες. Αυτή η συμπεριφορά μπορεί να οφείλεται στην επίδραση του OEGMA στον αμφίφιλο χαρακτήρα του συμπολυμερούς. Οι μικρές αλυσίδες «αφήνουν» το DIPAEMA να αυτο-οργανωθεί ευκολότερα χωρίς να εμποδίζουν την όλο και μεγαλύτερη τάση του για συσσωμάτωση όσο πηγαίνουμε σε πιο βασικά pH και έτσι παρατηρούνται σημαντικές διαφορές στους λόγους  $I_1/I_3$ . Στην δεύτερη περίπτωση οι μεγάλες αλυσίδες OEGMA είναι περισσότερο υδρόφιλες και έτσι δεν είναι το ίδιο εύκολη η αυτο-οργάνωση του DIPAEMA σε μικκύλια με αποτέλεσμα να μην φαίνονται έντονες αλλαγές στον λόγο  $I_1/I_3$  παρά την αύξηση του pH. Τα παραπάνω προφανώς επιδρούν και στη δομή και τον όγκο του υδρόφοβου πυρήνα των συσσωματωμάτων που σχηματίζονται.

Στην συνέχεια χωρίζοντας τα πολυμερικά συστήματα σε δυάδες ανάλογα με το μήκος της αλυσίδας του OEGMA, εξετάζουμε την επίδραση της αναλογίας του OEGMA/DIPAEMA στην CAC. Είναι εμφανές πως η αναλογία αυτή παίζει σημαντικό ρόλο αφού βλέπουμε ότι στα συμπολυμερή με μεγαλύτερα ποσοστά DIPAEMA, στο ίδιο pH, η CAC εμφανίζεται σε μικρότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με τα συμπολυμερή με την μικρότερη αναλογία. Αυτό συμβαίνει λόγω του μεγαλύτερου αριθμού μονομερικών ομάδων DIPAEMA σε σχέση με αυτές του υδρόφιλου OEGMA στο συμπολυμερές με αποτέλεσμα να δημιουργείται μεγαλύτερη τάση για συσσωμάτωση άρα δημιουργία συσσωματωμάτων σε μικρότερη συγκέντρωση.

Τέλος, μπορεί να γίνει σύγκριση μεταξύ συμπολυμερών με παρόμοια αναλογία OEGMA/DIPAEMA, αλλά διαφορετικό μήκος αλυσίδας OEGMA ώστε να μελετηθεί αν το μήκος αυτής επιδρά στη θέση της CAC. Παρατηρώντας τα P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 και P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58 που περιέχουν μεγάλα ποσοστά υδρόφοβου DIPAEMA φαίνεται πως το P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 δημιουργεί συσσωματώματα λίγο πιο γρήγορα από το P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58 και στα δύο pH. Αντίθετα στις περιπτώσεις που το DIPAEMA βρίσκεται σε μικρότερο ποσοστό στα συμπολυμερή P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38 και P(OEGMA(950)-

co-DIPAEMA)-58/42 φαίνεται πως το συμπολυμερές P(OEGMA(500)- co-DIPAEMA)-62/38 δημιουργεί συσσωματώματα εμφανώς σε μικρότερες συγκεντρώσεις και στα δύο pH. Με βάση λοιπόν τις παραπάνω παρατηρήσεις, θα μπορούσαμε να πούμε πως όταν το DIPAEMA είναι η κυρίαρχη μονομερική ομάδα του συμπολυμερούς, το μέγεθος της αλυσίδας OEGMA δεν επηρεάζει την κρίσιμη συγκέντρωση συσσωμάτωσης και τα συσσωματώματα δημιουργούνται πρώτα εκεί που υπάρχει περισσότερο DIPAEMA, όπως στην περίπτωση του συμπολυμερούς με 63% DIPAEMA έναντι εκείνου με 58% DIPAEMA.

Από την άλλη μεριά όταν το OEGMA είναι η κυρίαρχη μονομερική ομάδα του συμπολυμερούς, το μέγεθος της πλευρικής αλυσίδας φαίνεται να επηρεάζει την κρίσιμη συγκέντρωση συσσωμάτωσης λόγω της όλο και μεγαλύτερης υδροφιλικότητας του OEGMA όσο αυξάνεται το μέγεθος της αλυσίδας του και σε συνδυασμό με την τυχαία διάταξη που έχουν όλα τα συμπολυμερή, κάνει πιο δύσκολη την έκφραση του υδρόφοβου χαρακτήρα του DIPAEMA. Αυτό φαίνεται καθώς τα συμπολυμερή με τις μακριές αλυσίδες OEGMA εμφανίζουν φαινόμενα συσσωμάτωσης σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ακόμα και σε pH 10, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα συμπολυμερή με τις κοντύτερες αλυσίδες OEGMA.

Μετά την επαλήθευση δημιουργίας μικκυλίων και συσσωματωμάτων μέσω της φασματοσκοπίας φθορισμού ακολούθησαν μελέτες για τον περεταίρω χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων μέσω δυναμικής, στατικής και ηλεκτροφορετικής σκέδασης φωτός. Τα υδατικά διαλύματα παρασκευάστηκαν ακολουθώντας το ίδιο πρωτόκολλο παρασκευής με τα διαλύματα φασματοσκοπίας φθορισμού, με την απευθείας διάλυση των συμπολυμερών σε νερό, με προκαθορισμένο pH 3 παρασκευασμένο με χρήση HCl 0.1M, pH 10 παρασκευασμένο με χρήση NaOH 0.1M και pH 7.4 με χρήση δισκίου ρυθμιστικού διαλύματος PBS. Τα διαλύματα που παρασκευάστηκαν ήταν συγκέντρωσης  $1.0 \times 10^{-3}$  g/mL. Όλες οι μετρήσεις ανεξαρτήτως συμπολυμερούς έγιναν στους 25°C και οι μετρήσεις δυναμικής/στατικής σκέδασης πραγματοποιήθηκαν στις 90° και για τις τρεις τιμές pH.

Η μελέτη της μάζας και του μεγέθους των νανοσωματιδίων και της μεταβολής αυτών σε εξάρτηση με το pH με την τεχνική της δυναμικής σκέδασης φωτός, παρουσιάζει ενδιαφέρον στα συγκεκριμένα νανοσωματίδια λόγω των ιδιοτήτων του DIPAEMA, οι οποίες παρουσιάστηκαν αναλυτικά στην αρχή της ενότητας, καθώς και τον τρόπο που αλληλεπιδρούν και αυτο-οργανώνονται το DIPAEMA και το OEGMA σε μια πολυμερική δομή τυχαίας διάταξης.

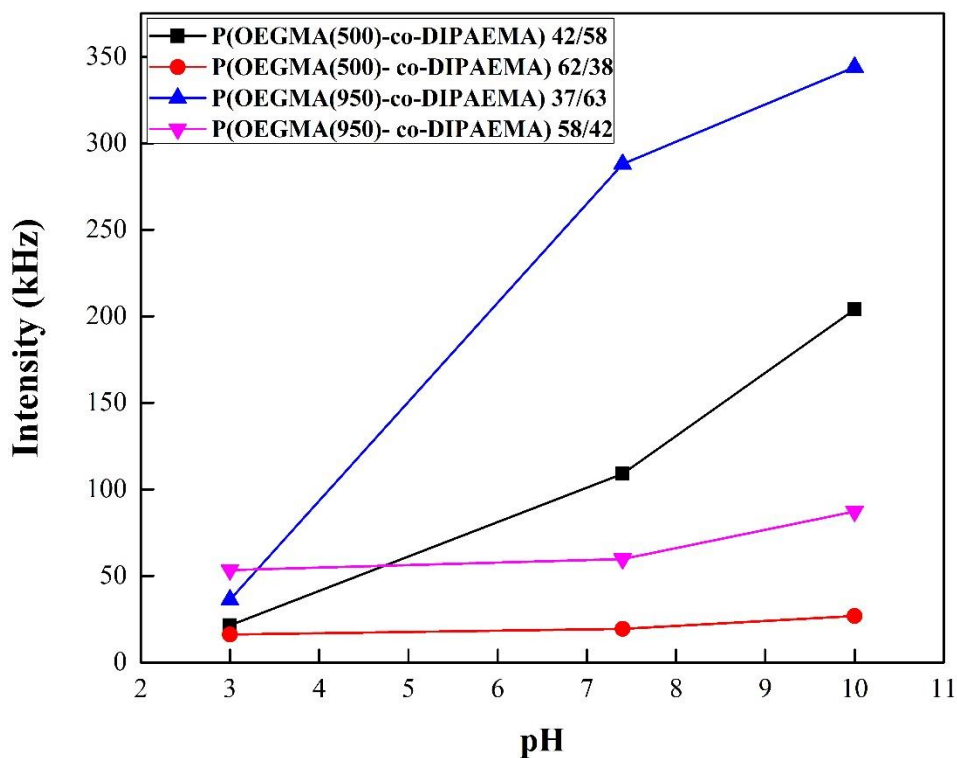
Τα αποτελέσματα της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, της υδροδυναμικής ακτίνας και του δείκτη πολυδιασποράς (PDI), των σωματιδίων όπως μετρήθηκαν μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός, στις 90° και για τα τέσσερα δείγματα σε όλα τα pH, αναλύθηκαν με την μέθοδο αθροισμάτων και παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.4.

**Πίνακας 4.4: Αποτελέσματα μετρήσεων δυναμικής σκέδασης φωτός για όλα τα P(OEGMA-co-DIPAEMA)**

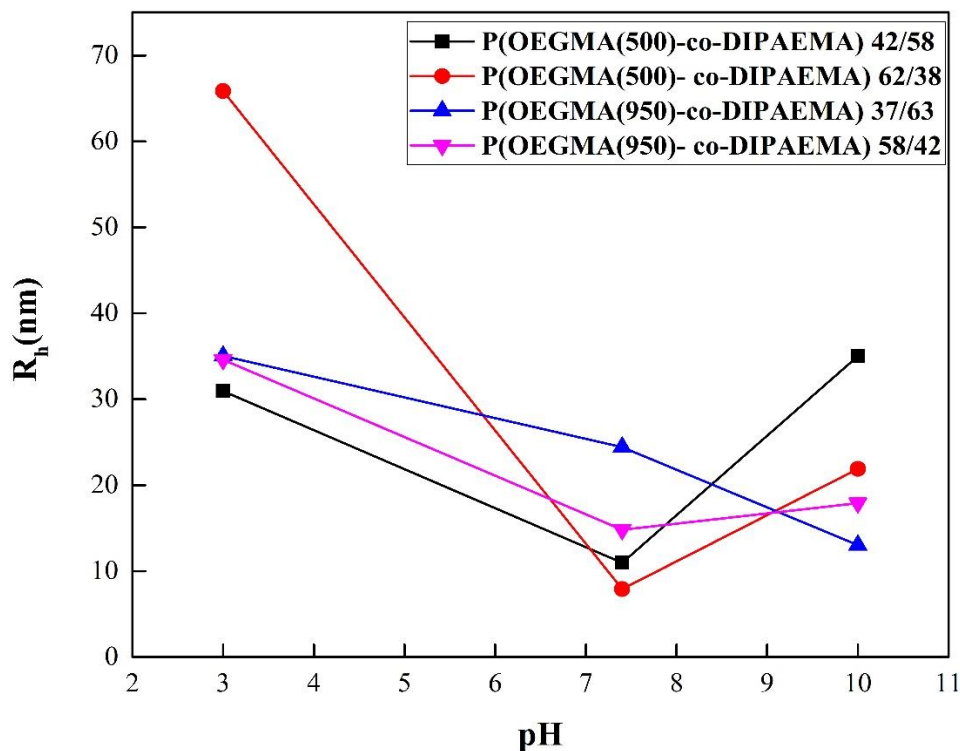
Συμπολυμερές	pH	I (kHz)	R <sub>h</sub> (nm)	PDI
<i>P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58</i>	3	21.2	31.0	0.598
	7.4	109	11.0	0.357
	10	204	35.0	0.525
<i>P(OEGMA(500)- co-DIPAEMA)-62/38</i>	3	16.1	65.8	0.605
	7.4	19.4	7.9	0.505
	10	26.8	21.9	0.518
<i>P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63</i>	3	36,2	35.0	0.547
	7.4	288	24.4	0.323
	10	344	13.0	0.252
<i>P(OEGMA(950)- co-DIPAEMA)-58/42</i>	3	53.4	34.6	0.567
	7.4	59.7	14.8	0.491
	10	87.2	17.9	0.498

Στο Σχήμα 4.19 παρουσιάζεται η μεταβολή της έντασης σκεδάσεως συναρτήσει του pH ενώ στο Σχήμα 4.20 παρουσιάζεται η μεταβολή της υδροδυναμικής ακτίνας συναρτήσει του pH για τα διαλύματα όλων των τυχαίων συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA) χρησιμοποιώντας τα

αποτελέσματα του Πίνακα 4.4 από τις μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός.



Σχήμα 4.19: Διάγραμμα εξάρτησης της έντασης σκεδάσεως,  $I$ , από τη μεταβολή του pH για τα διαλύματα όλων των συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA)



Σχήμα 4.20: Συγκριτικό διάγραμμα μεταβολής της υδροδυναμικής ακτίνας,  $R_h$ , συναρτήσει του pH για τα διαλύματα όλων των συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA)

Με βάση το παραπάνω διάγραμμα της έντασης σκεδαζόμενης ακτινοβολίας παρατηρούμε αύξηση αυτής για όλες της αναλογίες OEGMA/DIPAEMA και ανεξαρτήτως του μήκους της αλυσίδας του OEGMA. Η παρατήρηση αυτή έρχεται σε συμφωνία με το παρακάτω σενάριο συμπεριφοράς: σε όξινο περιβάλλον τα συμπολυμερή P(OEGMA-co-DIPAEMA) παρουσιάζουν αρκετά μικρές τιμές έντασης σκεδαζόμενης ακτινοβολίας που δηλώνει πως δεν υπάρχουν σωματίδια μεγάλης μάζας στο διάλυμα καθώς και οι δύο μονομερικές ομάδες του συμπολυμερούς είναι διαλυτές σε αυτές τις συνθήκες. Το DIPAEMA βρίσκεται σε πρωτονιωμένη κατάσταση και είναι διαλυτό στο νερό ενώ το OEGMA δεν παρουσιάζει pH αποκρισημότητα γι' αυτό παραμένει υδρόφιλο σε όλα τα pH. Μπορούμε ακόμα να δούμε πως τα συμπολυμερή με της αλυσίδες OEGMA μεγάλου μοριακού βάρους  $M_w=950$  παρουσιάζουν αυξημένη ένταση σε σχέση με τις αντίστοιχες εντάσεις των άλλων δύο συμπολυμερών που περιέχουν αλυσίδες OEGMA  $M_w=500$ . Το φαινόμενο αυτό δικαιολογείται καθώς λαμβάνει χώρα ο σχηματισμός συσσωματωμάτων με μεγαλύτερη μάζα με αποτέλεσμα να έχουμε μεγαλύτερες τιμές στην ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας.

Όσο αφορά το διάγραμμα της υδροδυναμικής ακτίνας  $R_h$  παρατηρούμε μεγάλες τιμές, που δεν παραπέμπουν σε τιμές υδροδυναμικής ακτίνας μόνο ελεύθερων αλυσίδων, κάτι που δεν θα περιμέναμε να συμβαίνει σε όξινα pH καθώς όπως είπαμε τα τυχαία πολυμερή θα έπρεπε να είναι πλήρως διαλυτά κάτω από αυτές τις συνθήκες. Ο συνδυασμός χαμηλής έντασης και υψηλής υδροδυναμικής ακτίνας δηλώνει πως εκτός από την ύπαρξη ελεύθερων πολυμερικών αλυσίδων έχουμε μάλλον παρουσία σωματιδίων μεγάλου όγκου αλλά μικρής μάζας σε όλα τα συστήματα που μελετήθηκαν. Η ύπαρξη των σωματιδίων αυτών θα σχολιαστεί αναλυτικά παρακάτω με την βοήθεια διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών των πολυμερικών συσσωματωμάτων με χρήση του αλγόριθμου CONTIN. (Σχήματα 4.21 – 4.24)

Με την διαλυτοποίηση των συμπολυμερών σε ελαφρώς αλκαλικό περιβάλλον (pH 7.4) βλέπουμε και εδώ κοινή συμπεριφορά για όλα τα συστήματα καθώς έχουμε σε όλα αύξηση της έντασης στις σκεδαζόμενης ακτινοβολίας. Η αύξηση



της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας βλέπουμε πως συνοδεύεται από μείωση της υδροδυναμικής ακτίνας για όλα τα διαλύματα συμπολυμερών, κάτι το οποίο μπορεί να υποδηλώνει την μερική ή πλήρη διάσπαση των μεγάλων σε μέγεθος αλλά όχι σε μάζα χαλαρών δομών, που παρατηρούνται σε όξινα pH και την δημιουργία πιο συμπαγών οργανωμένων δομών, πιθανώς μικκυλίων. Η συμπεριφορά αυτή οφείλεται στην pH αποκρισημότητα του DIPAEMA, με την μετατροπή του σε υδρόφοβο μόριο εξαιτίας της αποπρωτονίωσης της αμινομάδας όταν το υδατικό περιβάλλον γύρω από το συμπολυμερές γίνεται αλκαλικό. Η αλλαγή αυτή οδηγεί στη αυτο-οργάνωση των τυχαίων συμπολυμερών και την εμφάνιση μικκυλίων. Στα τελευταία διαλύματα, που μελετήθηκαν σε ισχυρό αλκαλικό περιβάλλον με pH 10 βλέπουμε ξανά αύξηση της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας από τις τιμές της σε pH 7.4, αυτή τη φορά όμως έχουμε αύξηση της υδροδυναμικής ακτίνας σε όλες τις περιπτώσεις πλην μίας. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να έχει την εξής ερμηνεία, επειδή πλέον βρισκόμαστε σε αρκετά αλκαλικό περιβάλλον η πρωτονίωση των αμινομάδων του DIPAEMA είναι ολοκληρωτική με αποτέλεσμα να έχουμε την εμφάνιση του εντονότερου μέχρι τώρα υδρόφοβου χαρακτήρα των ομάδων του DIPAEMA. Γι' αυτό τα συσσωματώματα που δημιουργούνται λόγω του έντονα υδρόφοβου χαρακτήρα του πυρήνα τους έχουν την τάση για δευτερογενή συσσωμάτωση, επειδή η προστασία του υδρόφοβου πυρήνα από την υδρόφιλη κορώνα δεν είναι πλέον αρκετή, δημιουργώντας έτσι σωματίδια μεγαλύτερης μάζας από περισσότερες αλυσίδες άρα και μεγαλύτερης υδροδυναμικής ακτίνας.

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν στις συνθήκες αυτές τα συμπολυμερή που περιέχουν το OEGMA μεγάλου μοριακού βάρους. Βλέπουμε πως το P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 παρουσιάζει μικρή αύξηση της  $R_h$  του, ενώ το P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 είναι το μόνο σύστημα που παρουσιάζει μείωση της  $R_h$  του σε pH 10. Στην περίπτωση του P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 φαίνεται πως το σύστημα παρά την αύξηση του υδρόφοβου χαρακτήρα του λόγω του DIPAEMA, δεν έχει τόσο μεγάλη τάση για περαιτέρω συσσωμάτωση. Οι μεγάλες αλυσίδες OEGMA δημιουργούν μεγαλύτερη σταθερότητα στα πολυμερικά μικκύλια λόγω του

μεγαλύτερου αριθμού αιθερικών οξυγόνων που έχουν στην ολιγομερική πλευρική αλυσίδα τους, δημιουργώντας έτσι περισσότερους δεσμούς υδρογόνου με το νερό καθιστώντας το περισσότερο υδρόφιλο.

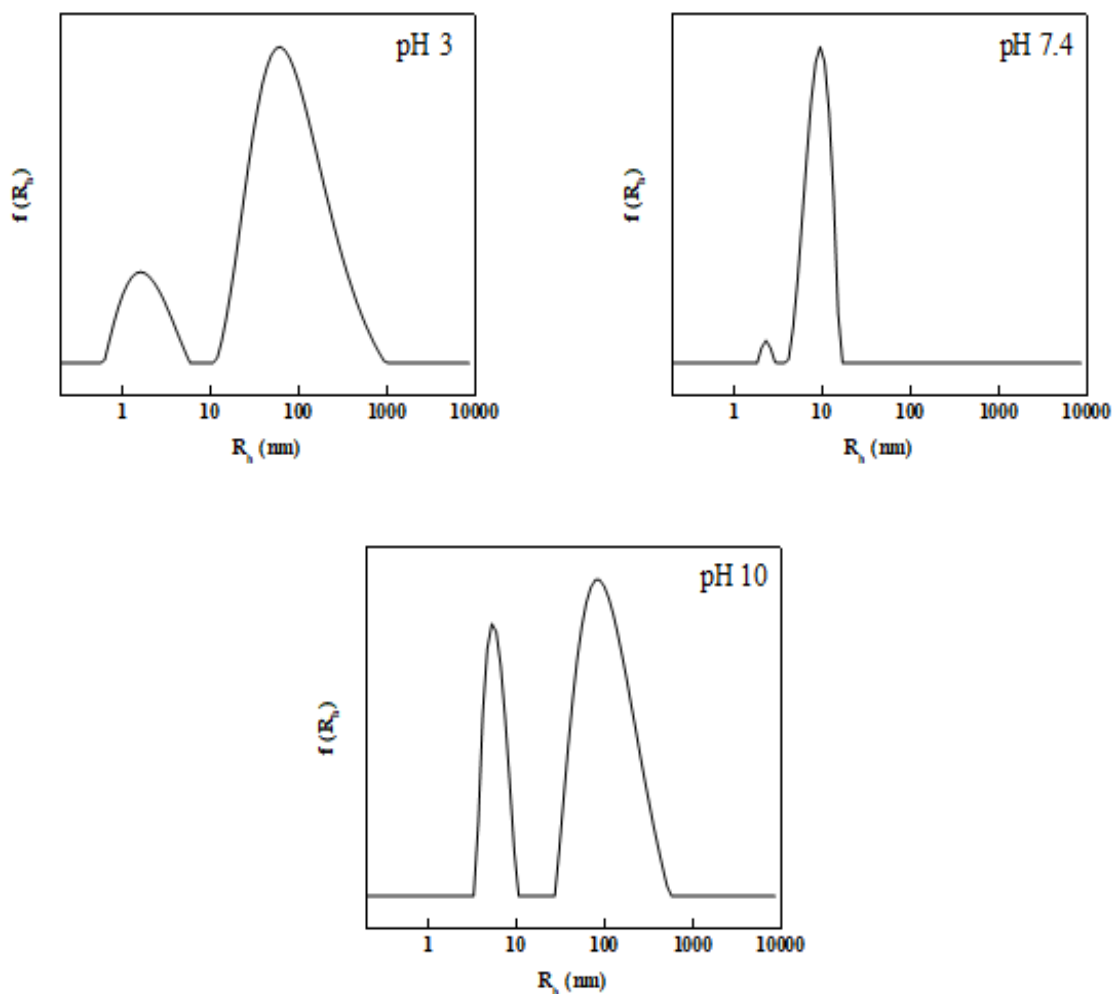
Το συμπολυμερές P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 παρουσιάζει μείωση της  $R_h$  και σημαντική αύξηση στην ένταση σκέδασης γεγονός που δείχνει όχι μόνο να μην έχει τάσεις για δευτερογενή συσσωμάτωση αλλά να δημιουργεί ακόμα πιο σφιχτές, καλύτερα καθορισμένες δομές μικκυλίων μικρότερου μεγέθους. Θα μπορούσαμε να πούμε πως το μεγάλο μοριακού βάρους OEGMA και η σταθερότητα που αυτό προσφέρει όπως εξηγήσαμε, σε συνδυασμό με το ποσοστό του DIPAEMA, που είναι πλέον πολύ μεγάλο, δίνει στα σχηματιζόμενα συσσωματώματα μία κατάλληλη ισορροπία με την υδρόφιλη φάση OEGMA να προσφέρει την απαιτούμενη σταθερότητα και προστασία στον πυρήνα και ενός πυρήνα ο οποίος λόγω του πολύ μεγάλου υδρόφοβου χαρακτήρα του, σε τόσο αλκαλικό περιβάλλον, έχει πολύ μεγάλη ενδομοριακή τάση για συσσωμάτωση, που ενδεχομένως μπορεί να πάρει πολύ συμπαγείς δομές χωρίς να έχει ανάγκη να συσσωματωθεί με περισσότερες αλυσίδες ή περισσότερα συσσωματώματα.

Σαν γενικό συμπέρασμα από τα γραφήματα της έντασης σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, βλέπουμε πως η ένταση αυξάνεται περισσότερο όσο μεγαλύτερη είναι η αναλογία του DIPAEMA στο συμπολυμερές ανεξαρτήτως του μεγέθους της αλυσίδας του OEGMA που έχει χρησιμοποιηθεί. Αξίζει λοιπόν να σχολιάσουμε πως στα συμπολυμερή P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38 και P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 όπου το DIPAEMA βρίσκεται σε μικρότερη αναλογία η αύξηση της έντασης με τις αλλαγές του pH είναι πολύ μικρή συγκριτικά με τα συστήματα όπου το DIPAEMA βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό έναντι του OEGMA. Από το γεγονός αυτό φαίνεται πως όταν το DIPAEMA δεν βρίσκεται πάνω από μια συγκεκριμένη αναλογία ως προς το υδρόφιλο OEGMA, δεν έχει την δυνατότητα να δημιουργήσει καλά καθορισμένους υδρόφοβους πυρήνες με την ίδια ευκολία όπως όταν βρίσκεται σε μεγάλες αναλογίες στα συμπολυμερή.

Σε αυτό το σημείο είναι σημαντικό να αναφερθεί η σημασία της αρχιτεκτονικής

των συμπολυμερών. Τα συμπολυμερή που έχουν παρασκευαστεί έχουν τυχαία διάταξη των μονομερικών ομάδων τους, το γεγονός αυτό καθιστά πιο δύσκολη την εκδήλωση έντονα υδρόφοβων ή υδρόφιλων χαρακτηριστικών καθώς δεν υπάρχουν ομοιογενείς ενιαίες πολυμερικές συστάδες που να συμπεριφέρονται με τον ίδιο τρόπο, όπως π.χ στην περίπτωση καθορισμένων δισυσταδικών αμφίφιλων συμπολυμερών όπου υπάρχει ξεκάθαρος χαρακτήρας σε κάθε συστάδα, αλλά υπάρχουν τυχαία κατανεμημένες ομάδες μονομερών. Τα τυχαία συμπολυμερή P(OEGMA-co-DIPAEMA) που εξετάζονται μοιάζουν περισσότερο με τυχαία εμβολιασμένα συμπολυμερή (graft copolymers), με εμβολιασμένες τις πλευρικές αλυσίδες αιθυλενοξειδίου των OEGMA μονομερών. Με αυτή τη θεώρηση και λόγω του μεγαλύτερου μήκους των πλευρικών αλυσίδων στην περίπτωση των P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) συμπολυμερών τα σχηματιζόμενα συσσωματώματα μοιάζουν περισσότερο με μικκύλια πυρήνα-κελύφους με υδρόφοβο πυρήνα από DIPAEMA και κέλυφος/κορώνα τις πλευρικές αλυσίδες αιθυλενοξειδίου του OEGMA.

Για να έχουμε μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα για τις δομές στις οποίες αναφερόμαστε από τις παρατηρήσεις της έντασης σκεδάσεως και της  $R_h$ , τα αποτελέσματα αναλύθηκαν και με τη χρήση του αλγορίθμου CONTIN για να μπορέσουμε να δούμε την κατανομή των πληθυσμών στα διαλύματα. Παρακάτω παρατίθενται διαγράμματα κατανομής μεγεθών των πολυμερικών συσσωματωμάτων (CONTIN) για κάθε ένα από τα συμπολυμερή που συντέθηκαν και μελετήθηκαν.



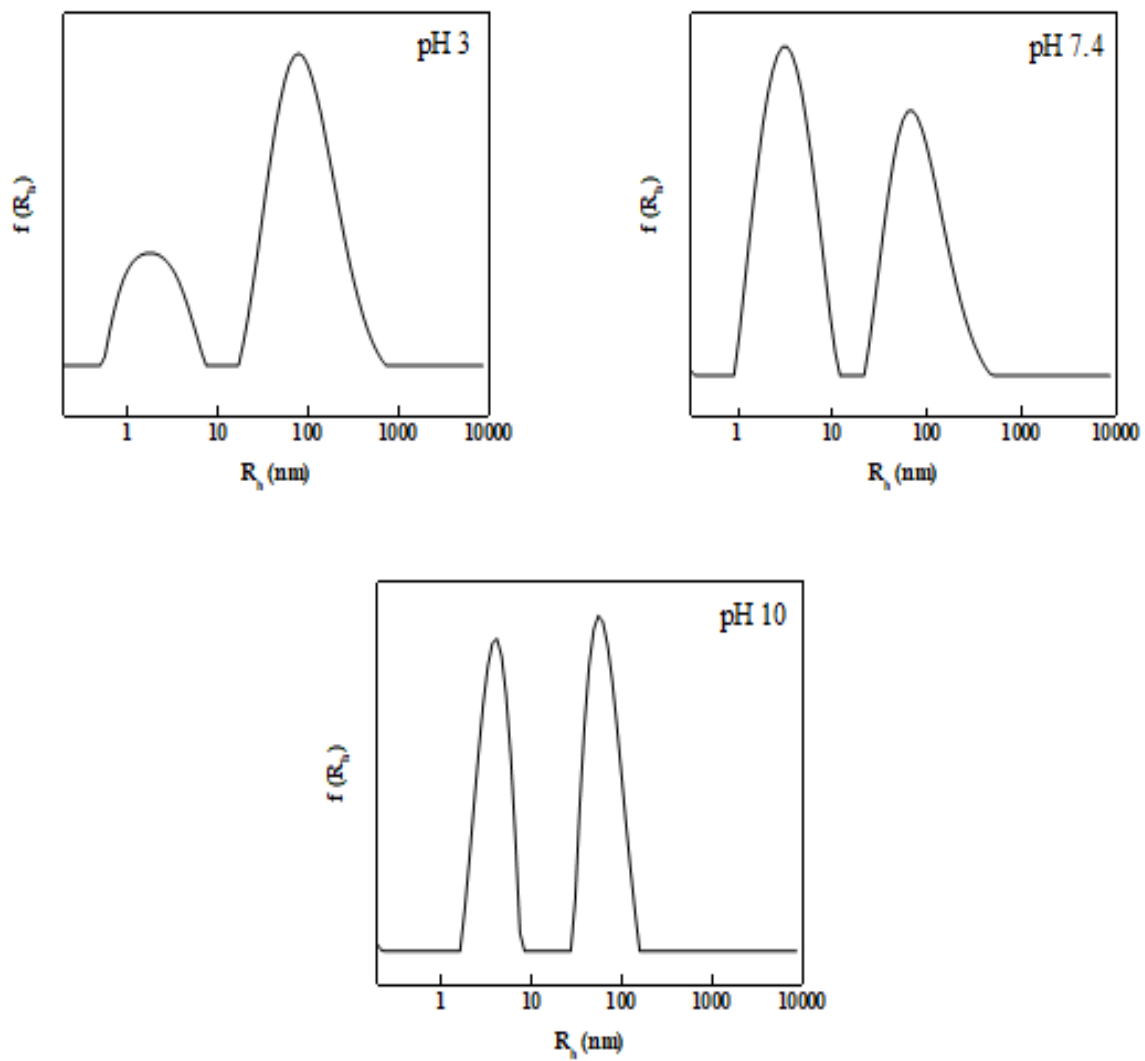
**Σχήμα 4.21:** Διαγράμματα CONTIN για το δείγμα P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 42/58 σε συγκέντρωση  $c=1 \times 10^{-3}$  g/mL για pH 3, 7.4 και 10

Παρατηρούμε πως σε pH 3 έχουμε δύο πληθυσμούς, ο ένας αντιστοιχεί στις ελεύθερες πολυμερικές αλυσίδες με ακτίνα 2 nm, όμως έχουμε και έναν πληθυσμό αρκετά μεγάλων σωματιδίων με ευρεία κατανομή μεγεθών (13 με 950 nm). Όπως είπαμε προηγουμένως το αποτέλεσμα αυτό δεν είναι αυτό που θα περιμέναμε λόγω της διαλυτότητας και των δύο μονομερικών ομάδων. Τα συμπολυμερή είναι τυχαία, αποτελούνται από OEGMA το οποίο είναι μεγάλο μόριο που δημιουργεί στερεοχημική παρεμπόδιση στο διάλυμα και το DIPAEMA που όταν βρίσκεται σε όξινο περιβάλλον είναι ένας ασθενής κατιοντικός πολυηλεκτρολύτης πράγμα που σημαίνει πως θέλει να παίρνει όσο πιο εκτεταμένες διαμορφώσεις γίνεται λόγω της άπωσης των όμοιων φορτίων τις αμινομάδας. Ο συνδυασμός αυτός ίσως να έχει ως αποτέλεσμα

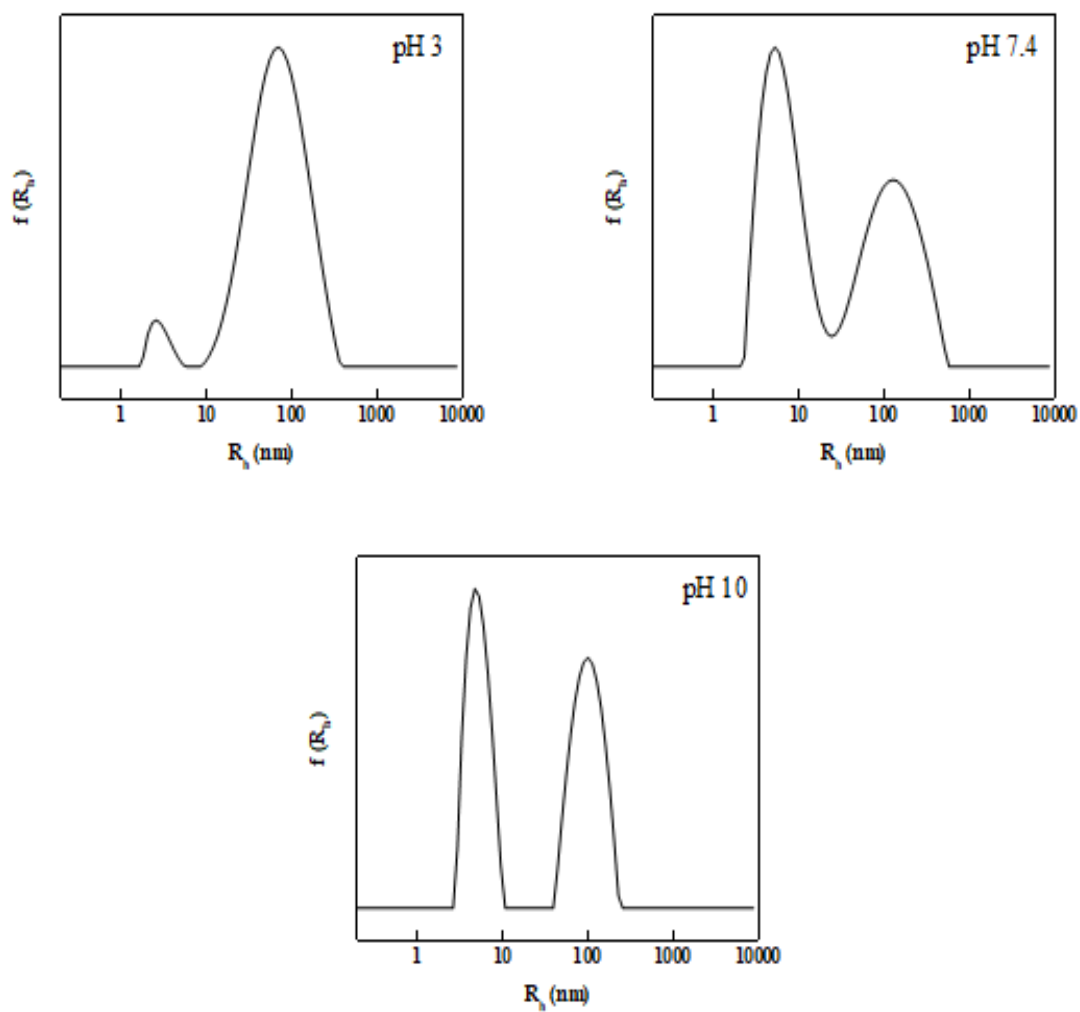
την εμφάνιση ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων που οδηγούν σε οργάνωση μικροδομών/μικροπεριοχών, μάλλον διογκωμένων σε χωρικές διαστάσεις, στα διαλύματα όπως γενικότερα συμβαίνει στην περίπτωση των πολυηλεκτρολυτών.

Στο pH 7.4 παρατηρούμε την πλήρη απουσία των μεγάλων διογκωμένων δομών και την δημιουργία συσσωματωμάτων μικρής κατανομής και υδροδυναμικής ακτίνας 9.6 nm. Αυτό δηλώνει πως με την διαλυτοποίηση του πολυμερούς σε ελαφρώς αλκαλικό pH, το υδρόφοβο DIPAEMA αυτο-οργανώνεται αποτελεσματικά σε μικκύλια. Σε αλκαλικό pH 10 έχουμε μικρή μείωση της ακτίνας από 9.6 σε 6.4 nm και την δημιουργία νέων μεγάλων συσσωματωμάτων. Αυτό φαίνεται να δηλώνει την ακόμα καλύτερη σύσφιξη των ήδη υπάρχοντων μικκυλίων και την δημιουργία νέων αρκετά μεγαλύτερων, αλλά πιο συμπαγών σωματιδίων, λόγω δευτερογενούς συσσωμάτωσης. (Σχήμα 4.21)

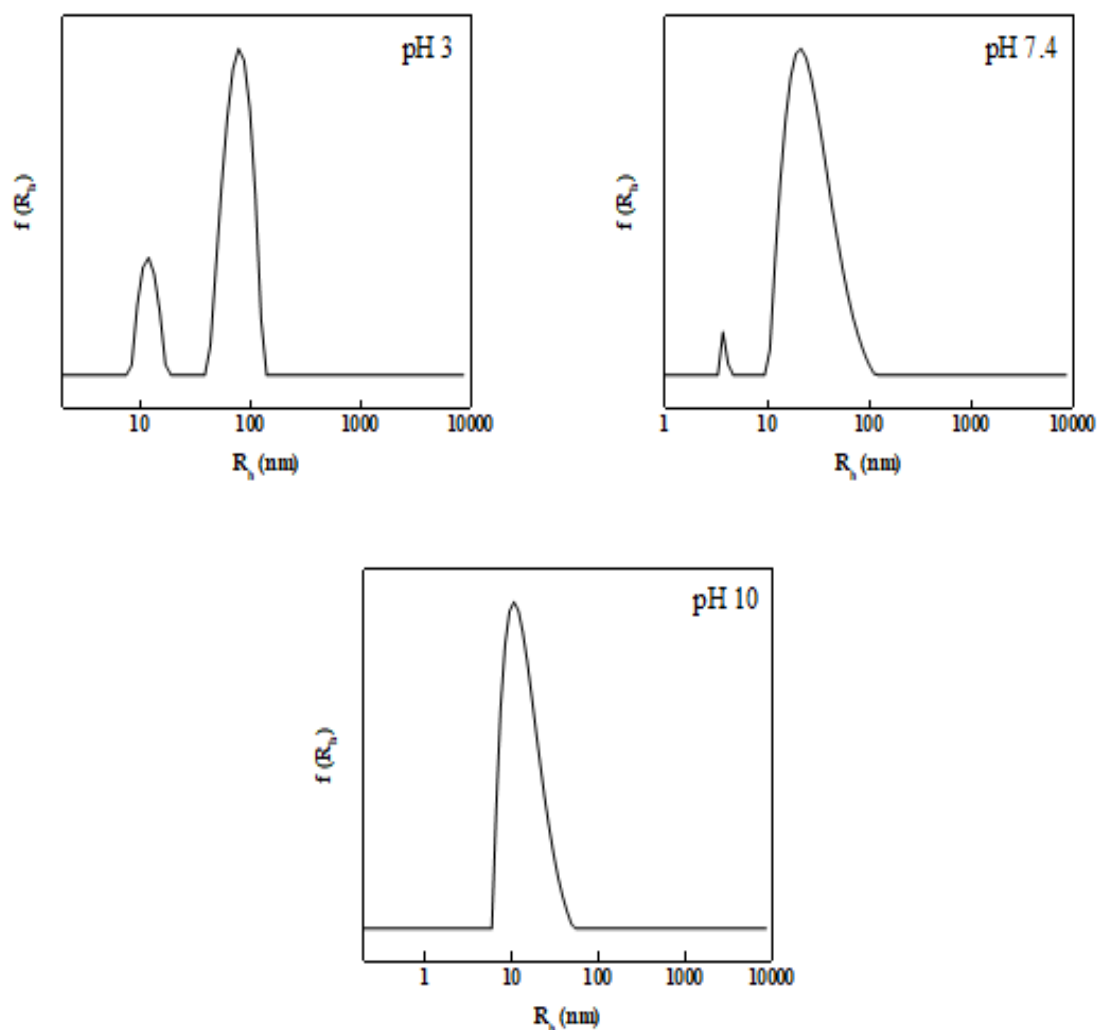
Το ίδιο μοτίβο συμπεριφοράς ακολουθούν και τα άλλα τρία συστήματα σε όλα τα pH. Θα αναφερθούμε μόνο σε μερικές αξιοσημείωτες διαφορές.



**Σχήμα 4.22:** Διαγράμματα CONTIN για το δείγμα P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA) 62/38 σε συγκέντρωση  $c=1 \times 10^{-3}$  g/mL για pH 3, 7.4 και 10.



Σχήμα 4.23: Διαγράμματα CONTIN για το δείγμα P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 58/42 σε συγκέντρωση  $c=1 \times 10^{-3}$  g/mL για pH 3, 7.4 και 10.



**Σχήμα 4.24:** Διαγράμματα CONTIN για το δείγμα P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) 37/63 σε συγκέντρωση  $c=1 \times 10^{-3}$  g/mL για pH 3, 7.4 και 10.

Στα συστήματα P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38 και P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA) - 58/42 (Σχήματα 4.22, 4.23) βλέπουμε πως σε pH 7.4 εκτός από την αναμενόμενη συσσωμάτωση (7.51 και 6.93 nm αντίστοιχα) συνεχίζουν να υπάρχουν τα μεγάλα μεγέθους μάλλον διογκωμένα σωματίδια. Από ότι φαίνεται στα συμπολυμερή αυτά, λόγω της μειονότητας του DIPAEMA δεν έχουν τον απαραίτητο υδρόφοβο χαρακτήρα για να διασπασούν αυτές τις δομές και να αυτο-οργανωθούν καλύτερα.



Στο P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 σε pH 3 παρατηρούμε πως τα μεγάλα συσσωματώματα είναι καλύτερα καθορισμένα γεγονός που ίσως να επηρεάζεται από την μεγάλη αναλογία του DIPAEMA ή την ακόμα μεγαλύτερη αλυσίδα του OEGMA. Σε pH 7.4 βλέπουμε μια κορυφή σχετικά ευρείας κατανομής η οποία φαίνεται να περιέχει πιο συμπαγή, καλά καθορισμένα μικκύλια αλλά και μεγαλύτερα σωματίδια μέχρι σχεδόν 100nm. Όπως αναφερθήκαμε αυτό είναι το μόνο σύστημα που σε pH 10 δεν παρατηρήθηκε μεγαλύτερη συσσωμάτωση, αλλά πιο στενή κατανομή μεγεθών με μικρότερα συσσωματώματα,  $R_h = 14.2$  nm. (Σχήμα 4.24)

Δεν ήταν δυνατό να γίνουν μετρήσεις στατικής σκέδασης φωτός (SLS) για να καθοριστεί η μορφολογία των συσσωματωμάτων καθώς τα διαλύματα των συμπολυμερών είχαν περισσότερους από έναν πληθυσμό και στις περιπτώσεις που υπήρχε μόνο ένας πληθυσμός σωματιδίων στο δείγμα αυτά είχαν πολύ μικρή ακτίνα και κατ' επέκταση διάμετρο, που δεν ήταν προσδιορίσιμες από την μέθοδο.

Κλείνοντας με τον δομικό χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων, έγιναν μετρήσεις ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός (ELS) για να προσδιοριστεί το φαινόμενο επιφανειακό φορτίο και μέσω αυτού να εξαχθούν συμπεράσματα για την σταθερότητα και την επιφανειακή δομή των συστημάτων.

Στην επόμενη σελίδα παρατίθενται οι τιμές ζ-δυναμικού για όλα τα συμπολυμερή σε διαφορετικά pH. (Πίνακας 4.5)

**Πίνακας 4.5: Αποτελέσματα ζ-δυναμικού μέσω ELS**

Συμπολυμερές	pH	ζ-δυναμικό (mV)
<i>P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58</i>	3	29.8
	10	-36.7
<i>P(OEGMA(500)- co-DIPAEMA)-62/38</i>	3	27.8
	10	-44.5
<i>P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63</i>	3	30.8
	10	-33.9
<i>P(OEGMA(950)- co-DIPAEMA)-58/42</i>	3	20.7
	10	-25.2

Το ζ-δυναμικό που παρατηρείται είναι θετικό σε pH 3 με σχεδόν όλες τις τιμές να προσεγγίζουν τα 30 mV και αρνητικό σε pH 10 με ένα μεγαλύτερο εύρος τιμών από -25 μέχρι -45 mV. Η θετική τιμή του ζ-δυναμικού οφείλεται στη πρωτονίωση της αμινομάδας σε όξινο pH, ενώ η μείωση της τιμής του ζ-δυναμικού σε pH 10 αποδίδονται μάλλον στην προσρόφηση των OH<sup>-</sup> ιόντων στην επιφάνεια των σωματιδίων και στην ακραία καρβοξυλική ομάδα των αλυσίδων των συμπολυμερών που προέρχεται από το μέσο μεταφοράς αλυσίδας. Γενικότερα η ύπαρξη σημαντικού αρνητικού φορτίου έχει θετική επίπτωση και στην κολλοειδή σταθερότητα των συστημάτων αλλά και στις διαφαινόμενες βιοϊατρικές εφαρμογές τους.

Για μόρια και σωματίδια που είναι μικρά όπως στην περίπτωση μας, ένα δυναμικό zeta μεσαίου εύρους 30-40 mV κατά απόλυτη τιμή δηλώνει καλή κολλοειδή σταθερότητα. Όταν το δυναμικό είναι μικρό, οι ελκτικές δυνάμεις μεταξύ των σωματιδίων μπορεί να υπερβούν τις απωστικές και να έχουμε κατάρρευση του συστήματος και καταβύθιση του. Έτσι, τα κολλοειδή με υψηλό δυναμικό zeta (αρνητικό ή θετικό) είναι ηλεκτρικά σταθεροποιημένα ενώ τα κολλοειδή με χαμηλά δυναμικά zeta τείνουν να συσσωματώνονται ή να υπόκεινται κροκίδωση.

#### 4.4 Εγκλωβισμός κουρκουμίνης στα συσσωματώματα των P(OEGMA-co-DIPAEMA) τυχαίων συμπολυμερών

Η κουρκουμίνη (CUR) είναι μια πολυφαινολική ένωση και προέρχεται από το φυτό *Curcuma longa*. Αποτελεί φαρμακευτική ουσία με αυξημένη υδροφοβικότητα και έχει αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ικανότητες. Λόγω της υδροφοβικότητας που παρουσιάζει χρησιμοποιείται για μελέτες εγκλωβισμού στους υδρόφοβους πυρήνες των πολυμερικών μικκυλίων με σκοπό την ανάπτυξη συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων για θεραπεία, μεταξύ άλλων, του καρκίνου.

Προκειμένου να μελετήσουμε την ικανότητα των P(OEGMA-co-DIPAEMA) συμπολυμερών να δράσουν ως νανοφορείς φαρμακευτικών ουσιών εγκλωβίστηκε κουρκουμίνη στο υδρόφοβο τμήμα των αυτο-οργανωμένων συσσωματωμάτων των τυχαίων συμπολυμερών και μελετήθηκαν οι ιδιότητες των μικτών νανοδομών που προκύπτουν μέσω των τεχνικών σκέδασης φωτός (DLS) και φασματοσκοπίας απορρόφησης ορατού-υπεριώδους (UV-Vis). Οι μετρήσεις έγιναν την επόμενη μέρα από την παρασκευή των δειγμάτων.

Η διαδικασία παρασκευής των δειγμάτων έγινε μέσω της πειραματικής διαδικασίας που περιγράφεται στο υποκεφάλαιο 3.5. Το ποσοστό της κουρκουμίνης που εγκλωβίστηκε υπολογίστηκε με βάση την κατά βάρος χημική σύσταση των συμπολυμερών σε DIPAEMA καθώς αυτό δημιουργεί τον πυρήνα και το ποσοστό κατά βάρος της κουρκουμίνης που θέλουμε να εγκλωβίσουμε. Οι δοκιμές εγκλωβισμού έγιναν και στα τέσσερα συμπολυμερή για να δούμε αν παρατηρούνται διαφορές από το ένα σύστημα στο άλλο, στην επίδραση της δομής και της σύστασης των συμπολυμερών στα σχηματιζόμενα μικτά νανοσυστήματα. Παρασκευάστηκαν δείγματα με ποσοστό εγκλωβισμού από 10 μέχρι 70% w/w. Η τελική συγκέντρωση των διαλυμάτων ως προς το συμπολυμερές μετά την εξάτμιση της ακετόνης ήταν  $1 \times 10^{-3}$  g/ml.

Από τις δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν διαπιστώθηκε πως τα συστήματα είχαν διαφορετική αντοχή στα ποσοστά εγκλωβισμού κουρκουμίνης και παρουσίασαν κολλοειδή σταθερότητα για διαφορετική χρονική περίοδο. Παρακάτω παρατίθεται πίνακας με τις δοκιμές εγκλωβισμού για όλες τις

αναλογίες.(Πίνακας 4.6) Ο εγκλωβισμός θεωρούνταν επιτυχής στις περιπτώσεις όπου το σύστημα παρέμεινε σταθερό για τουλάχιστον μια μέρα.

**Πίνακας 4.6: Αποτελέσματα ποσοστών εγκλωβισμού κουρκουμίνης (%w/w) στα δείγματα P(OEGMA-co-DIPAEMA)**

Συμπολυμερές	Εγκλωβισμός κουρκουμίνης (% w/w )			
	10	30	50	70
<i>P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58</i>	✓	X	-	-
<i>P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38</i>	✓	✓	X	-
<i>P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63</i>	✓	✓	✓	✓
<i>P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42</i>	✓	✓	✓	X

Παρατηρώντας μόνο τα αποτελέσματα του παραπάνω πίνακα πριν προχωρήσουμε στον χαρακτηρισμό των σωματιδίων με σκέδαση φωτός διακρίνουμε διαφορετική συμπεριφορά των συστημάτων ως προς τα ποσοστά εγκλωβισμού κουρκουμίνης.

Από εδώ μπορούμε να εξάγουμε κάποια συμπεράσματα για τον σημαντικό ρόλο που φαίνεται να παίζει η σύσταση των τυχαίων πολυμερών σε OEGMA/DIPAEMA καθώς και το μήκος της πλευρικής αλυσίδας του OEGMA στο εγκλωβισμό του φαρμάκου. Ξεκινώντας, εύκολα παρατηρούμε ότι τα συμπολυμερή με την μακρύτερη αλυσίδα OEGMA είναι αυτά που ήταν δυνατόν να εγκλωβίσουν μεγαλύτερα ποσοστά φαρμάκου παραμένοντας σταθερά. Αυτό εξηγείται από την μεγαλύτερη σταθερότητα που προσδίδει στα μικκύλια η μεγάλη αλυσίδα αιθυλενοξειδίου λόγω του εντονότερου υδρόφιλου χαρακτήρα της, αλλά και του μεγέθους της, με αποτέλεσμα να μπορεί να συγκρατήσει μεγαλύτερες ποσότητες υδρόφοβου φαρμάκου χωρίς να έχουμε καταβύθιση των έμφορτων μικκυλίων. Μετά την γενική αυτή παρατήρηση θα συγκρίνουμε τα συμπολυμερή με τις ίδιου μήκους αλυσίδες OEGMA.

Μεταξύ των συμπολυμερών P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58 και P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38, το συμπολυμερές με την μικρότερη αναλογία DIPAEMA ήταν αυτό που έφτασε σε μεγαλύτερα επίπεδα εγκλωβισμού. Αυτό δηλώνει πως το P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58 έχοντας ήδη μεγάλο ποσοστό από ένα υδρόφοβο συστατικό, το DIPAEMA, δεν είχε την δυνατότητα να κρατήσει σταθερούς τους ακόμα περισσότερο υδρόφοβους πυρήνες που δημιουργούνται λόγω του εγκλωβισμού της CUR. Στην περίπτωση του P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38 το OEGMA είναι η κυρίαρχη δομική ομάδα του συμπολυμερούς. Υπάρχει όπως φαίνεται λοιπόν η δυνατότητα εγκλωβισμού μεγαλύτερου ποσοστού CUR λόγω μεγαλύτερης ποσότητας OEGMA στις πολυμερικές αλυσίδες άρα μεγαλύτερη σταθεροποίηση των έμφορτων νανοσωματιδίων.

Για τα συμπολυμερή P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 και P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 παρατηρούμε μια πλήρως αντεστραμμένη συμπεριφορά. Το συμπολυμερές με την μεγαλύτερη ποσότητα DIPAEMA στις πολυμερικές αλυσίδες του είναι αυτό που συγκρατεί μεγαλύτερα ποσοστά CUR. Στο πρώτο σύστημα συμπολυμερών ο ανασταλτικός παράγοντας εγκλωβισμού περισσότερης CUR ήταν το OEGMA και η αδυναμία του να συγκρατήσει τον υδρόφοβο πυρήνα. Τα συμπολυμερή που εξετάζουμε τώρα δεν ανήκουν στην κατηγορία αυτή. Οι μεγάλες αλυσίδες OEGMA όπως είπαμε είναι πιο υδρόφιλες και παρέχουν αρκετά καλύτερη σταθερότητα στα συμπολυμερή. Ο πιο πιθανός λόγος καθίζησης εδώ θα μπορούσαμε να πούμε πως είναι η ποσότητα του DIPAEMA. Στο P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 οι υδρόφοβοι πυρήνες που σχηματίζονται φτάνουν σε σημείο κορεσμού και δεν μπορούν να συγκρατήσουν άλλη ποσότητα φαρμάκου με αποτέλεσμα την εμφάνιση ιζήματος, ενώ για το P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 εξ' αιτίας του μεγάλου ποσοστού DIPAEMA αλλά ταυτόχρονα και τις μεγάλες αλυσίδες του OEGMA έχουμε έναν πολύ καλό συνδυασμό μιας πολύ υδρόφιλης εξωτερικής πολυμερικής κορώνας ικανής να συγκρατήσει μεγάλες ποσότητες υδρόφοβων ομάδων στο εσωτερικό της και ενός υδρόφοβου πυρήνα αρκετά μεγάλου ώστε να μπορεί να εγκλωβίσει όσο το δυνατόν περισσότερη ποσότητα υδρόφοβης

ουσίας.



**Εικόνα 4.1:** Ενδεικτικά σταθερά δείγματα για τα διάφορα ποσοστά εγκλωβισμού. Αριστερά δύο δείγματα P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 (10-30%), δεξιά δείγματα P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 (50-70%)

Όλα τα συστήματα με ποσοστό εγκλωβισμού μέχρι 30% w/w και το σύστημα παρέμειναν σταθερά για χρονικό διάστημα πάνω 45 ημέρες, με εξαίρεση μόνο το διάλυμα 70% w/w CUR που παρέμεινε σταθερό για οκτώ ημέρες και το διάλυμα P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 με 50% w/w CUR που παρέμεινε σταθερό για μόνο τρεις ημέρες.



**Εικόνα 4.2:** Κολλοειδώς σταθερά διάλυμα (αριστερά, μέση) P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 (10-30%), διάλυμα χωρίς κολλοειδή σταθερότητα P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42 (50%) (δεξιά)

Στην συνέχεια έγιναν μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός σε όλα τα

έμφορτα νανοσυστήματα για να μελετηθούν η αλλαγές που επιφέρει η προσθήκη της CUR στα συσσωματώματα. Τα δείγματα μετρήθηκαν μέσω δυναμικής σκέδασης σε pH 7.4, θερμοκρασία 25°C και υπό γωνία 90°. (Πίνακας 4.7)

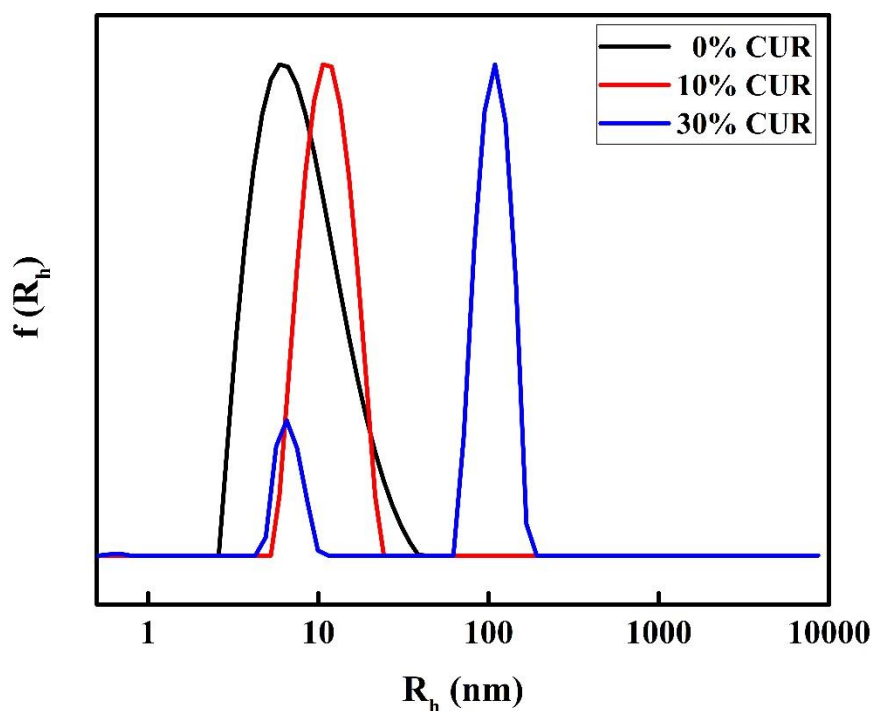
**Πίνακας 4.7: Αποτελέσματα μετρήσεων δυναμικής σκέδασης φωτός σε δείγματα με κουρκουμίνη**

Συμπολυμερές	CUR (%w/w)	I (kHz)	R <sub>h</sub> (nm)	PDI
<i>P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58</i>	0	90	23.8	0.418
	10	224	10.9	0.262
	30	270	43.7	0.519
<i>P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38</i>	0	25	31.3	0.572
	10	48	28.9	0.519
	30	1135	40.7	0.168
<i>P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63</i>	0	230	29.1	0.461
	10	337	11.5	0.187
	30	2238	16.4	0.174
	50	4700	19.3	0.21
	70	18290	34.4	0.314
<i>P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42</i>	0	50	26.1	0.425
	10	166	16.9	0.488
	30	205	21.3	0.502
	50	26900	59.6	0.15

Όπως αναμενόταν η ένταση παρουσίασε αύξηση καθώς αυξανόταν το ποσοστό της CUR σε όλα τα διαλύματα, προφανώς λόγω αύξησης της μάζας των νανοδομών που σχηματίζονται. Η ένταση άρχισε να παίρνει πολύ μεγάλες τιμές όταν το ποσοστό εγκλωβισμού έφτανε στα όρια σταθερότητας του κάθε συστήματος. Στα δείγματα *P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63* 70% CUR και *P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42* 50% CUR παρατηρούνται πάρα πολύ

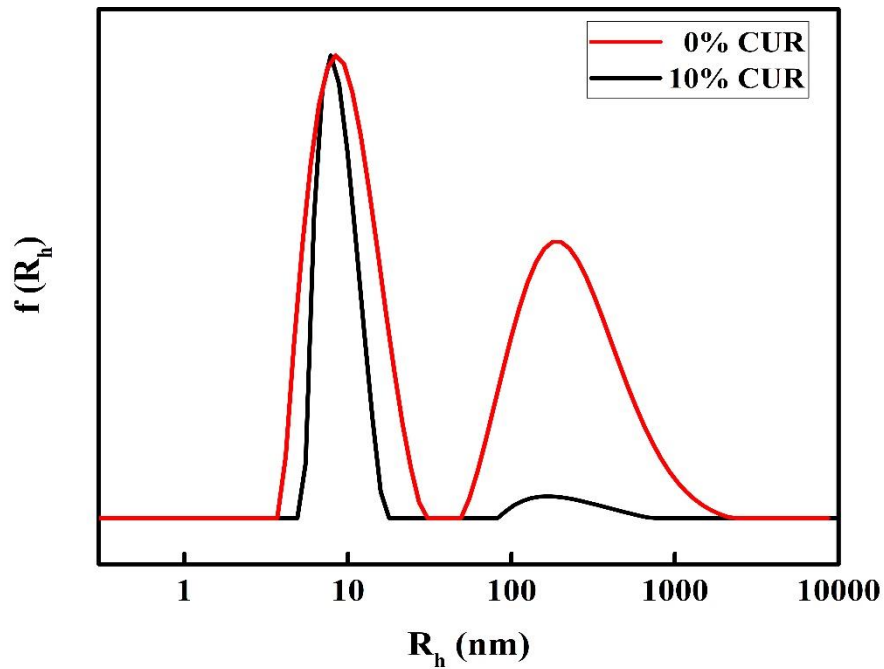
μεγάλες εντάσεις σκέδασης. Σε όλα τα δείγματα έχουμε μια αρχική πτώση της υδροδυναμικής ακτίνας στην πρώτη προσθήκη CUR, η οποία στα δύο συστήματα με μεγάλη αναλογία DIPAEMA συνοδεύεται και από μεγάλη πτώση της πολυδιασποράς. Αντιθέτως στα άλλα δύο συμπολυμερή με μικρότερη ποσότητα DIPAEMA η πολυδιασπορά αρχίζει να μειώνεται όταν φτάνουμε στο τελευταίο ποσοστό προσθήκης φαρμάκου. Παρατηρούμε για ακόμα μια φορά πόσο σημαντική είναι η επίδραση της σύστασης των συμπολυμερών σε υδρόφοβα και υδρόφιλα μονομερή στις ιδιότητες και την αυτο-οργάνωση των συστημάτων παρουσία ενός υδρόφοβου φαρμάκου όπως η CUR. Μετά την μείωση της  $R_h$  στην πρώτη προσθήκη έχουμε αύξηση αυτής για τα μεγαλύτερα ποσοστά λόγω μεγαλύτερου εγκλωβισμού στον υδρόφοβο πυρήνα με αποτέλεσμα την διόγκωσή του.

Παρακάτω παρουσιάζονται ενδεικτικά, συγκριτικά διαγράμματα της κατανομής μεγεθών των μικκυλίων πριν και μετά τον εγκλωβισμό της CUR για μερικά από τα συμπολυμερή.

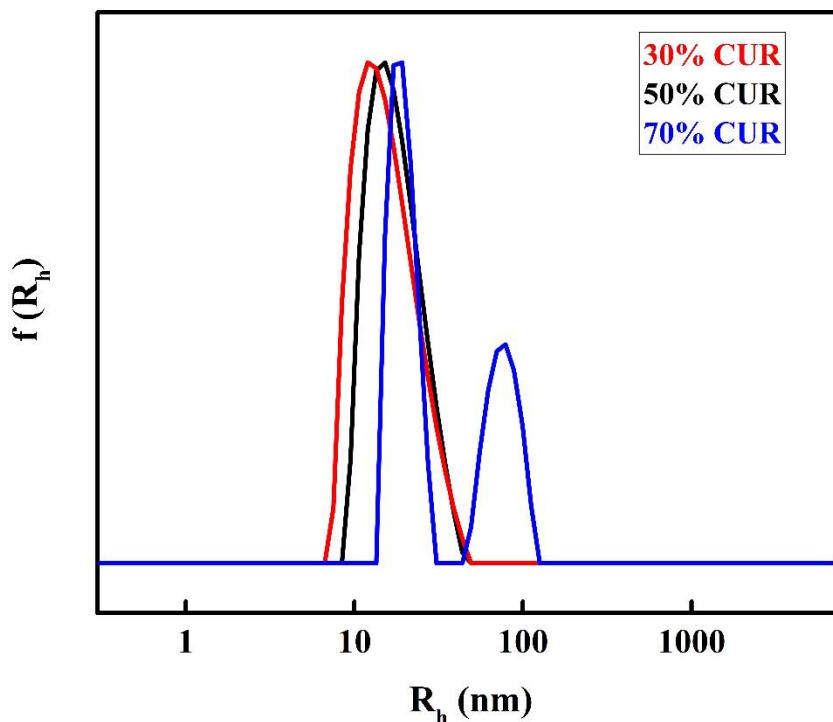


**Σχήμα 4.25:** Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς  $P(\text{OEGMA}(500)\text{-co-DIPAEMA})\text{-}42/58$  πριν και μετά τον εγκλωβισμό CUR





Σχήμα 4.26: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 πριν και μετά τον εγκλωβισμό CUR



Σχήμα 4.27: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63 παρουσία διαφορετικών ποσοστών εγκλωβισμένης CUR.

Από τα παραπάνω διαγράμματα είναι προφανές ότι με την προσθήκη της CUR οι κατανομές μεγεθών γίνονται στενότερες, κάτι που σημαίνει πως ο εγκλωβισμός του φαρμάκου, πιθανότατα βοηθά στην καλύτερη αυτοοργάνωση

των πολυμερικών νανοσωματιδίων.

Στο *Σχήμα 4.25* βλέπουμε πως από μια υδροδυναμική ακτίνα 5.3nm η οποία ανήκει σε μονομοριακά μικκύλια, η ακτίνα ανεβαίνει στα 12.1nm όταν γίνει προσθήκη CUR και η κατανομή μεγεθών μειώνεται. Το δείγμα με 30% CUR παρέμεινε σταθερό για λιγότερο από μια ημέρα. Ο λόγος που χρησιμοποιήθηκε στο παραπάνω διάγραμμα είναι για να φανεί η συμπεριφορά του συστήματος όταν έχουμε ξεπεράσει το όριο φαρμάκου που μπορεί να αντέξει το πολυμερές. Παρατηρούμε πως λόγω του πλέον πολύ έντονου υδρόφοβου χαρακτήρα, έχουμε μονομοριακά μικκύλια (~5nm) που πιθανόν δεν έχουν εγκλωβίσει κουρκουμίνη αλλά ο αριθμός τους είναι πολύ μικρός σε σχέση με τα νέα πολύ μεγαλύτερα συσσωματώματα ακτίνας 110nm που εμφανίζονται ως αποτέλεσμα συσσωμάτωσης μικκυλίων. Η δημιουργία των σωματιδίων αυτών οδηγεί σύντομα το σύστημα σε κολλοειδή αστάθεια.

Στο *Σχήμα 4.26* παρατηρούμε την μεγάλη διαφορά που κάνει η παρουσία της κουρκουμίνης στο διάλυμα. Πριν την προσθήκη της εντοπίζουμε δύο πληθυσμούς έναν από μικρά μικκύλια ακτίνας 9nm και μια πλατειά κατανομή μεγάλων σωματιδίων. Με την προσθήκη έστω και μικρής ποσότητας φαρμάκου έχουμε σχεδόν ολοκληρωτική εξαφάνιση των μεγάλων σωματιδίων, στενότερη κατανομή των μικκυλίων και αμελητέα αλλαγή της  $R_h$ . Στο *Σχήμα 4.27* φαίνεται πως με την αύξηση της CUR έχουμε αύξηση του μεγέθους των σωματιδίων ώσπου φτάνοντας στην μεγαλύτερη ποσότητα φαρμάκου παρατηρούμε και εδώ, όπως και πριν, δημιουργία μεγάλων συσσωματωμάτων ( $R_h$  98 nm) λόγω πλήρωσης των υδρόφοβων πυρήνων.

Σε αυτές τις περιπτώσεις κατέστη δυνατή η μελέτη της μορφολογίας των έμφορτων νανοσωματιδίων μέσω στατικής σκέδασης σε δύο δείγματα καθώς με την προσθήκη του φαρμάκου δημιουργήθηκαν μονοδιάσπαρτοι πληθυσμοί σωματιδίων και το μέγεθος τους ήταν εντός του εύρους ανίχνευσης της τεχνικής. (*Πίνακας 4.8*)

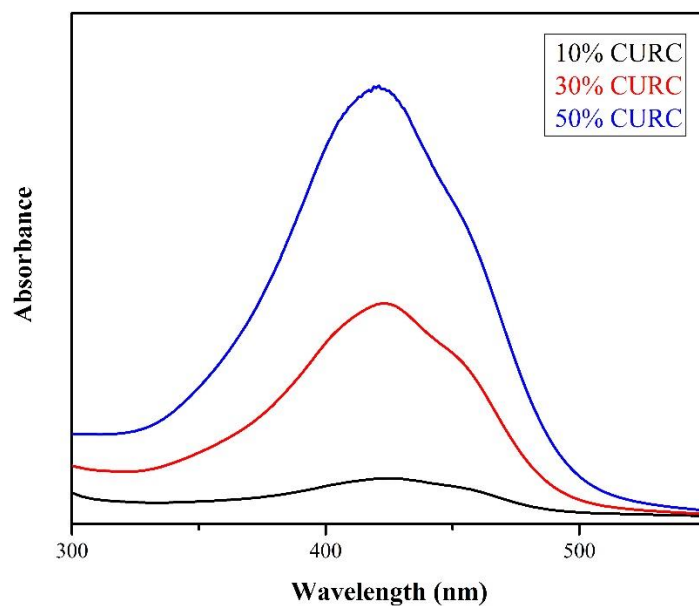
**Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα λόγου  $R_g/R_h$  από μετρήσεις στατικής-δυναμικής σκέδασης φωτός σε δείγματα με κουρκουμίνη**

Συμπολυμερές	Ποσοστό εγκλωβισμού (% w/w)	$R_g/R_h$ (SLS/DLS)
<i>P(OEGMA(500)- co-DIPAEMA)-62/38</i>	30	1.12
<i>P(OEGMA(950)- co-DIPAEMA)-58/42</i>	50	0.95

Οι τιμές του λόγου  $R_g/R_h$  που λαμβάνονται ανήκουν στο εύρος τιμών 0.9-1.2. Από τη βιβλιογραφία [81], γνωρίζουμε ότι αυτό το εύρος τιμών αντιστοιχεί σε μορφολογία κυστιδίων, αλλά μπορεί να οφείλεται και σε σφαιρική γεωμετρία σωματιδίων με σχετικά χαλαρή εσωτερική δομή.

Είναι σημαντικό να τονίσουμε το γεγονός ότι τα σωματίδια που δημιουργούνται από όλα τα συμπολυμερή είναι μικρά σε μέγεθος (διάμετρος 20 – 80 nm). Το γεγονός αυτό είναι ευεργετικό για την παραπέρα χρήση του συγκεκριμένου συστήματος σαν νανοφορέα μιας και σε αυτές τις εφαρμογές το μικρό μέγεθος του νανοφορέα παίζει σημαντικό ρόλο για την αποδοτική μεταφορά φαρμάκων στη περιοχή στόχευσης. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι γίνεται σύγκριση με πολυμερικά μικκύλια που έχουν παρασκευαστεί με πρωτόκολλο ανάλογο με αυτό που χρησιμοποιήθηκε για τον εγκλωβισμό της CUR (ώστε να είναι δυνατή η κατευθείαν σύγκριση των νανοσυστημάτων).

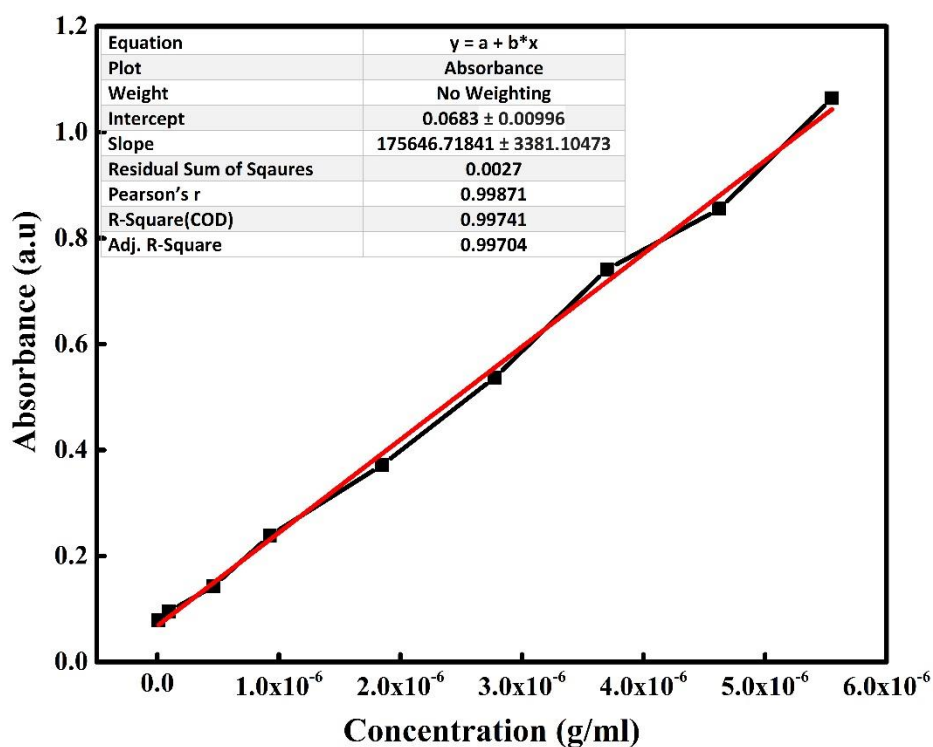
Για τον έλεγχο του επιτυχούς εγκλωβισμού της κουρκουμίνης στα πολυμερικά μικκύλια πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις φασματοσκοπίας UV-VIS στα συσσωματώματα με ίδια αραιώση σε νερό για όλα τα δείγματα, γνωρίζοντας βιβλιογραφικά ότι η κουρκουμίνη απορροφά στα 421nm [82] ενώ το πολυμερές δεν απορροφά στη UV-VIS περιοχή. Παρακάτω παρουσιάζεται ενδεικτικό φάσμα UV-VIS για το δείγμα *P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63*. (Σχήμα 4.28)



**Σχήμα 4.28: Φάσματα απορρόφησης UV-VIS για τα μικτά συσσωματώματα P(OEGMA-co-DIPAEMA) 37/63-CUR**

Παρατηρείται ότι με αύξηση του ποσοστού της κουρκουμίνης, αυξάνεται και η απορρόφηση της κουρκουμίνης στα πολυμερικά συσσωματώματα όπως αναμένεται.

Τέλος μέσω της φασματοσκοπίας ορατού-υπεριώδους υπολογίστηκε το ποσοστό μέγιστου εγκλωβισμού φαρμάκου όλων των δειγμάτων. Κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη αναφοράς της κουρκουμίνης, μετρώντας την απόρροφηση σε  $\lambda_{\max} = 420$  nm, έξι διαφορετικών συγκεντρώσεων κουρκουμίνης σε ακετόνη με φασματοσκοπία Uv-Vis (Σχήμα 4.29).



Σχήμα 4.29: Καμπύλη αναφοράς της κουρκουμίνης σε ακετόνη

Τα αποτελέσματα του % εγκλωβισμού συνοψίζονται στον Πίνακα 4.9.

Πίνακας 4.9: Αποτελέσματα υπολογισμού απόδοσης εγκλωβισμού της κουρκουμίνης για τα δείγματα P(OEGMA-co-DIPAEMA)

Συμπολυμερές	Μέγιστο (θεωρητικό) ποσοστό εγκλωβισμού (% w/w)	Ποσότητα κουρκουμίνης που χρησιμοποιήθηκε (mg)	% Απόδοση εγκλωβισμού
P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-42/58	10	0.58	6.11
P(OEGMA(500)-co-DIPAEMA)-62/38	30	1.14	7.55
P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-37/63	70	4.1	31.24
P(OEGMA(950)-co-DIPAEMA)-58/42	50	2.1	10.32

Τα αποτελέσματα της % απόδοσης εγκλωβισμού διαφέρουν αρκετά από το μέγιστο αναμενόμενο ποσοστό εγκλωβισμού. Παρατηρούμε όμως πως τα συμπολυμερή με το OEGMA  $M_w=950$  που παρέμεναν σταθερά σε μεγαλύτερα ποσοστά εγκλωβισμού μπορούν να είναι περισσότερο αποδοτικά. Εικάζεται

ότι αυτό συμβαίνει κυρίως λόγω της αρχιτεκτονικής του πολυμερούς καθώς δεν υπάρχει μια καθαρά υδρόφοβη συστάδα που θα αποτελέσει συμπαγή πυρήνα στον οποίο θα εγκλωβιστεί το φάρμακο με καλύτερη ίσως απόδοση.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αρχικά πραγματοποιήθηκε η σύνθεση τεσσάρων αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών P(OEGMA-co-DIPAEMA) με τη χρήση της τεχνικής πολυμερισμού RAFT. Τα συμπολυμερή διέφεραν ως προς την κατά βάρος σύσταση τους σε OEGMA/DIPAEMA, αλλά και στο μοριακό βάρος των μονομερών OEGMA που χρησιμοποιήθηκαν. Τα μοριακά τους χαρακτηριστικά προσδιορίστηκαν μέσω της χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγεθών (SEC), της φασματοσκοπίας  $^1\text{H-NMR}$  και της φασματοσκοπίας FT-IR. Τα αποτελέσματα των εν λόγω τεχνικών χαρακτηρισμού συγκλίνουν στο συμπέρασμα ότι η σύνθεση των πολυμερών ήταν επιτυχής.

Στη συνέχεια μελετήθηκαν οι ιδιότητες αυτο-οργάνωσής τους σε υδατικά διαλύματα και η εξάρτηση των ιδιοτήτων αυτών από τις μεταβολές του pH λόγω της αποκρισιμότητας που παρουσιάζει το DIPAEMA στις αλλαγές αυτού. Το πρωτόκολλο παρασκευής που ακολουθήθηκε προκειμένου να σχηματιστούν νανοσωματίδια ήταν η απευθείας διάλυση των συμπολυμερών σε υδατικό μέσο. Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν με την εφαρμογή των μεθόδων SLS, DLS, ELS και FS, τα αποτελέσματα των οποίων τείνουν στο συμπέρασμα ότι τα συμπολυμερή αυτ-οργανώνονται στο νερό σχηματίζοντας κυρίως συσσωματώματα μικρού μεγέθους των οποίων οι ιδιότητες εξαρτώνται από τις αλλαγές στο pH, την αναλογία μεταξύ υδρόφιλου και υδρόφοβου μονομερούς και το μήκος της ολιγομερικής αλυσίδας OEGMA.

Τέλος τα συμπολυμερή P(OEGMA-co-DIPAEMA) χρησιμοποιήθηκαν ως φαρμακευτικοί ναοφορείς για τον εγκλωβισμό της κουρκουμίνης. Παρασκευάστηκαν δείγματα με διαφορετικό μέγιστο στοιχειομετρικό ποσοστό εγκλωβισμένης κουρκουμίνης ανάλογα το συμπολυμερές, από 10 μέχρι 70%. Οι μικτές νανοδομές που προέκυψαν μελετήθηκαν μέσω των τεχνικών DLS, SLS και φασματοσκοπίας UV-Vis. Μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός εξήχθη το συμπέρασμα ότι η σταθερότητα των κολλοειδών διαλυμάτων εξαρτάται από την κατά βάρος σύσταση OEGMA/DIPAEMA αλλά και μοριακό

βάρος του OEGMA. Ενώ μέσω της φασματοσκοπίας UV-Vis υπολογίστηκε το ποσοστό εγκλωβισμού της κουρκουμίνης, το οποίο διέφερε σημαντικά από το αναμενόμενο, ίσως εξαιτίας της αρχιτεκτονικής του πολυμερούς καθώς δεν υπάρχει μια καθαρά υδρόφοβη συστάδα που θα αποτελέσει τον συμπαγή πυρήνα στον οποίο θα εγκλωβιστεί το φάρμακο.

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις μελέτες που διεξήχθησαν από την παρούσα ερευνητική εργασία είναι πως τα pH-αποκρινόμενα τυχαία συμπολυμερή P(OEGMA-co-DIPAEMA) παρουσιάζουν ενδιαφέρουσα συμπεριφορά αυτο-οργάνωσης υπό διαφορετικές φυσικοχημικές συνθήκες σε υδατικά διαλύματα και μπορούν επιτυχώς να χρησιμοποιηθούν ως νανοφορείς υδρόφοβων φαρμάκων όπως η κουρκουμίνη.



## ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
2-(Diisopropylamino) ethyl methacrylate	Μεθακρυλικός 2-(δισοπροπυλάμινο) αιθυλεστέρας
(Oligo ethylene glycol) methyl ether methacrylate	Μεθακρυλικός μεθυλεστέρας της (όλιγο αιθυλενογλυκόλης)
Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer	Πολυμερισμός Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση
Chain Transfer Agent	Μέσο Μεταφοράς Αλυσίδας
Amphiphilic Random Copolymers	Αμφίφιλα Τυχαία Συμπολυμερή
Dialysis	Διαπίδυση μέσω ημιπερατής μεμβράνης
Critical aggregation concentration	Κρίσιμη Συγκέντρωση Συσσωμάτωσης
Critical Micelle Concentration	Κρίσιμη Συγκέντρωση Μικκυλίωσης
Size Exclusion Chromatography	Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγεθών
Nuclear Magnetic Resonance	Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός
Dynamic Light Scattering	Δυναμική Σκέδαση Φωτός
Static Light Scattering	Στατική Σκέδαση Φωτός
Zeta-Potential	ζ-δυναμικό
Phosphate Buffered Saline	Ρυθμιστικό Διάλυμα Φωσφορικού Άλατος

## ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

### Ακρωνύμια και ανάπτυξη τους

ΟΕΓΜΑ	(Oligo ethylene glycol) methyl ether methacrylate
DIPAEMA	2-(Diisopropylamino) ethyl methacrylate
RAFT	Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer
AIBN	Azodisisobutyronitrile
SEC	Size Exclusion Chromatography
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
<sup>1</sup> HNR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
CDCl <sub>3</sub>	Deuterium Chloroform
FTIR	Fourier Transmission Infra Red
DLS	Dynamic Light Scattering
SLS	Static Light Scattering
FS	Fluorescence Spectroscopy
ELS	Electrophoretic Light Scattering

PDI	Polydispersity Index
$R_h$	Hydrodynamic radius
PBS	Phosphate buffered saline
THF	Tetrahydrofuran
CMC	Critical Micelle Concentration
CAC	Critical Aggregation Concentration
CUR	Curcumin

## ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Förster, S., & Antonietti, M., Amphiphilic Block Copolymers in Structure-Controlled Nanomaterials Hybrids, *Advanced Materials*, vol.10(3), pp. 195-207, 1998
2. Κοτζαμάνης Ιωάννης, Ανάπτυξη νέων "ευφυών" κατά συστάδες συμπολυμερών τύπου ομοπολυμερές – στατιστικό συμπολυμερές, Πανεπιστήμιο Πατρών, 2007
3. Ιατρίδη Ζαχαρούλα, Μελέτη αποδέσμευσης δισθενών ιόντων χαλκού από πολυμερή τύπου κτένας, Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών, 2009
4. Li, L., Raghupathi, K., Song, C., Prasad, P., Thayumanavan, S., Self-assembly of random copolymers, *Chemical Communications*, vol.50, pp. 13417-13432, 2014
5. Hadjichristidis, N., Pispas, S., & Floudas, G., Block copolymers: synthetic strategies, physical properties, and applications, Wiley Interscience, 2003
6. Kimura, Y., Terashima, T., Sawamoto., M., Self-Assembly of Amphiphilic Random Copolyacrylamides into Uniform and Necklace Micelles in Water, *Macromolecular Chemistry and Physics*, vol.208(18), pp.1700230, 2017
7. Terashima T., Sugita T., Fukae K., Sawamoto M., Synthesis and Single-Chain Folding of Amphiphilic Random Copolymers in Water, *Macromolecules*, vol.47, pp.589-600, 2014.
8. Πιτσικάλης Μαρίνος, Ειδικά θέματα επιστήμης πολυμερών, Σημειώσεις Μαθήματος, Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2010
9. Καραγιάννη Μαρία, Αυτοοργάνωση Πολυμερών: Πολυηλεκτρολύτες και Σύμπλοκά τους με Πρωτεΐνες, Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ, 2012
10. Radeva, T., Physical Chemistry of Polyelectrolytes, Marcel & Dekker, 2001
11. Canning, S. L., Neal, T.J, Armes, S.P., pH-Responsive Schizophrenic Diblock Copolymers Prepared by Polymerization-Induces Self Assembly
12. Kopecek, J., Biodegradation of Polymers for Biomedical Use, IUPAC,

- Macromolecules, Pergamon: Oxford, England, pp. 305, 1982
13. Moradi-Araghi, A., Beardmore, D. H., Stahl, G.A, The application of gels in enhanced oil recovery: In *Water Soluble Polymers for Petroleum Recovery*, Plenum: New York, pp. 299-312, Springer US, 1988
  14. *Polymeric Materials Encyclopedia*, vol.17, Water Soluble Polymers,
  15. Van Durme, K., P , Rahier, H., & Van Mele, B., Influence of additives on the thermoresponsive behavior of polymers in aqueous solution”, *Macromolecules*, vol.38(24),pp.10155-10163, 2005
  16. Philippova, O. E., Hourdet, D., Audebert, R., & Khokhlov, A. R., pH-responsive gels of hydrophobically modified poly (acrylic acid), *Macromolecules*, vol.30(26), pp.8278-8285, 1997
  17. Morandi--Araghi, A., Beardmore, D. H., & Stahl, G. A. The application of gels in enhanced oil recovery: theory, polymers and crosslinker systems In *Water-Soluble Polymers for Petroleum Recovery*, pp.299-312, Springer US, 1988
  18. Gupta, P. Gupta, P., Vermani, K., & Garg, S. Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery, *Drug Discovery Today*, vol. 7(10), pp.569-579, 2002
  19. Schmalijonan, D., Thermo-and pH-responsive polymers in drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 58(15),pp.1655-1670, 2006
  20. Gan, L. H., Gan, Y. Y., & Deen, G. R. Poly(N-acryloyl-N '- propylpiperazine): A new stimuli-responsive polymer”, *Macromolecules*, vol.33(21), pp.7893-7897, 2000
  21. Kurisawa, M., M., & Yui, N., Dual-stimuli-responsive drug release from interpenetrating polymer network-structured hydrogels of gelatin and dextran, *Journal of Controlled Release*, vol. 54(2), pp.191-200, 1998
  22. Kocak, G., Tuncer, C., Bütün, V, pH-Responsive Polymers, *Polymer Chemistry*, vol.8, pp. 144-176, 2018
  23. Hoffman, A.S., Stimuli-responsive polymers: Biomedical applications and challenges for clinical translation. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2013. **65**(1): p. 10-16.

24. Schmaljohann, D., Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 2006. **58**(15): p. 1655-70.
25. Bawa, P., et al., Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery.
26. Johnson, R.P., et al., Biocompatible Poly(2-hydroxyethylmethacrylate)-b-poly(L-histidine) Hybrid Materials for pH-Sensitive Intracellular Anticancer Drug Delivery. *Advanced Functional Materials*, 2012. **22**(5): p. 1058-1068.
27. Lee, E.S., K. Na, and Y.H. Bae, Super pH-sensitive multifunctional polymeric micelle. *Nano Letters*, 2005. **5**(2): p. 325-329.
28. Min, K.H., et al., Tumoral acidic pH-responsive MPEG-poly(beta-amino ester)polymeric micelles for cancer targeting therapy. *J Control Release*, 2010. **144**(2): p.259-66.
29. Park, H.S., et al., Hyaluronic Acid/Poly(ss-Amino Ester) Polymer Nanogels for Cancer-Cell-Specific NIR Fluorescence Switch. *Macromolecular Rapid Communications*, 2012. **33**(18): p. 1549-1555.
30. Yessine, M., Characterization of the membrane-destabilizing properties of different pH-sensitive methacrylic acid copolymers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes*, 2003. **1613**(1-2): p. 28-38.
31. Yessine, M.A. and J.C. Leroux, Membrane-destabilizing polyanions: interaction with lipid bilayers and endosomal escape of biomacromolecules. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004. **56**(7): p. 999-1021.
32. Kim, J.O., et al., Polymeric Micelles with Ionic Cores Containing Biodegradable Cross-Links for Delivery of Chemotherapeutic Agents. *Biomacromolecules*, 2010. **11**(4): p. 919-926.
33. Liu, C., X. Gan, and Y. Chen, A novel pH-sensitive hydrogels for potential colon-specific drug delivery: Characterization and in vitro release studies. *Starch - Stärke*, 2011. **63**(8): p. 503-511.
34. Kang, S.I. and Y.H. Bae, pH-induced solubility transition of sulfonamide-based polymers. *Journal of Controlled Release*, 2002. **80**(1-3): p. 145-155.
35. Kim, J.K., et al., Novel pH-sensitive polyacetal-based block copolymers for controlled drug delivery. *Int J Pharm*, 2010. **401**(1-2): p. 79-86.
36. Du, Y., et al., pH-sensitive degradable chimaeric polymersomes for the

- intracellular release of doxorubicin hydrochloride. *Biomaterials*, 2012. **33**(29): p. 7291-9.
37. Lee, S., et al., Hyperbranched double hydrophilic block copolymer micelles of poly(ethylene oxide) and polyglycerol for pH-responsive drug delivery. *Biomacromolecules*, 2012. **13**(4): p. 1190-6. 138
  38. Prabakaran, M., et al., Amphiphilic multi-arm-block copolymer conjugated with doxorubicin via pH-sensitive hydrazone bond for tumor-targeted drug delivery. *Biomaterials*, 2009. **30**(29): p. 5757-66.
  39. Yang, X., et al., Tumor-Targeting, pH-Responsive, and Stable Unimolecular Micelles as Drug Nanocarriers for Targeted Cancer Therapy. *Bioconjugate Chemistry* 2010. **21**(3): p. 496-504.
  40. Esfand, R. and D.A. Tomalia, Poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers: from biomimicry to drug delivery and biomedical applications. *Drug Discovery Today*, 2001. **6**(8): p. 427-436.
  41. Chang, Y., et al., Novel water-soluble and pH-responsive anticancer drug nanocarriers: doxorubicin-PAMAM dendrimer conjugates attached to superparamagnetic iron oxide nanoparticles (IONPs). *J Colloid Interface Sci*, 2011. **363**(1): p. 403-9.
  42. Scomparin, A., et al., Novel folated and non-folated pullulan bioconjugates for anticancer drug delivery. *Eur J Pharm Sci*, 2011. **42**(5): p. 547-58.
  43. Vaupel, P., F. Kallinowski, and P. Okunieff, Blood Flow, Oxygen and Nutrient Supply, and Metabolic Microenvironment of Human Tumors: A Review. *Cancer Research*, 1989. **49**(23): p. 6449-6465.
  44. Wike-Hooley, J.L., J. Haveman, and H.S. Reinhold, The relevance of tumour pH to the treatment of malignant disease. *Radiotherapy and Oncology*, 1984. **2**(4): p. 343-366
  45. Hu, J.M., et al., Stimuli-responsive tertiary amine methacrylate-based block copolymers: Synthesis, supramolecular self-assembly and functional applications. *Progress in Polymer Science*, 2014. **39**(6): p. 1096-1143.
  46. Bawa, P., et al., Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery. *Biomed Mater*, 2009. **4**(2): p. 022001.
  47. Huh, K.M., et al., pH-sensitive polymers for drug delivery. *Macromolecular*

- Research, 2012. **20**(3): p. 224-233.
48. Dai, S., P. Ravi, and K.C. Tam, pH-Responsive polymers: synthesis, properties and applications. *Soft Matter*, 2008. **4**(3): p. 435-449.
49. Meredith, A. Mintzer and Eric E. Simanek, Nonviral Vector for Gene Delivery, *Chemical Reviews*, vol.109, pp. 259-302, 2009
50. H. Hatcher, R. Planalp, J. Cho, F. M. Torti, S. V. Torti, Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials, *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol.65, 2008, pp.1631-1652
51. G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, Radical addition fragmentation chemistry in polymer synthesis, *Polymer*, vol. 49, 2008, pp. 1079-1131
52. G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, Living Radical Polymerization by the RAFT Process—A First Update, *Aust. J. Chem.*, vol. 59, 2006, pp. 669–692
53. E. Smith, X. Xu, C. L. McCormick, Stimuli-responsive amphiphilic (co)polymers via RAFT polymerization, *Prog. Polym. Sci.*, vol. 35, 2010, pp. 45-93
54. Pecsok, R. L., Shields L. D., Cairns T., McWilliam I. G., Σύγχρονες Μέθοδοι στη Χημική Ανάλυση, Κεφ. 5, Σελ. 80-88 2η εκδ., Εκδόσεις Πνευματικός, Αθήνα, 1980
55. Hiemenz, P., *Polymer Chemistry: The Basic Concepts*, New York, Chap. 1, pp. 642-652, 1984
56. Gedde, U. W., *Polymer Physics*, Chapman and Hall: UK, Chap. 1, pp. 1- 18, 1995
57. Ιατρού Ε, Πίσπας Α, Πισικάλης Μ, Σημειώσεις μεταπτυχιακού μαθήματος: Μέθοδοι χαρακτηρισμού πολυμερών, Μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών: Επιστήμη πολυμερών και εφαρμογές της στην Βιομηχανία, Πανεπιστήμιο Αθηνών
58. Παναγιώτου Κ., Επιστήμη και Τεχνολογία Πολυμερών, Κεφ. 8, Σελ. 255- 258, 2η εκδ., Εκδόσεις Πήγασος, Αθήνα, 2000
59. <http://byjus.com/chemistry/nmr-spectroscopy/> 55
60. Abraham, P.J., Fisher, J., Loftus, P., *Introduction to NMR spectroscopy*, New



York: Wiley, 1993

- 61 Wade, L.G., JR Withman College, Οργανική Χημεία, 7η εκδ., Εκδόσεις Τζίοια, 2011
- 62 Καμίτσος, Ε. Ι., Σημειώσεις Φασματοσκοπίας Υπερύθρου, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών: Επιστήμη Πολυμερών και Εφαρμογές της, 2002
- 63 Τσιαντός. Κ. Δ., Μεταπτυχιακή εργασία με τίτλο: Μελέτη της χρωστικής Κυανό των Μάγια, με τεχνικές Δονητικής Φασματοσκοπίας, 2011
- 64 Βαλαβανίδης Αθανάσιος, “Βασικές Αρχές Μοριακής Φασματοσκοπίας και Εφαρμογές στην Οργανική Χημεία”, *Εκδόσεις Σύγχρονα Θέματα*, Αθήνα, (2008).
- 65 Introduction to Fluorescence Techniques, Molecular Probes Handbook, Thermo Fisher Scientific, 2010.
- 66 Χατζηγιάννου, Θ.Π., Κουππάρης, Μ.Α. Ενόργανη Ανάλυση, Εκδόσεις Δ. Μαυρομάτη, Αθήνα, 2000 64
- 67 Bauman, R. P, Absorption Spectroscopy, New York: Wiley, 1962
- 68 Cowie J. M. G., Polymers: Chemistry & Physics of Modern Materials, Chap. 9, pp.196-202, 2nd ed., Stanley Thornes Ltd: UK, 1998
- 69 Pecora, R., Dynamic light scattering: Applications of photon correlation spectroscopy, Plenum Press, 1985
- 70 Provencher, S.W, Inverse problems in polymer characterization: Direct analysis of polydispersity with photon correlation spectroscopy, *Macromolecular Chemistry and Physics*, vol.180, pp.201-209, 1979
- 71 Heimenz, P., Rajagopalan, R., Principles of Colloid and Surface Chemistry, Chap. 5, pp. 193-247, 3rd ed. Rev. & exp., Markel Dekker: New York, 1997
- 72 Van Holde, K. E., Physical Biochemistry, 2nd ed., Chap. 9, pp. 209-224, Prentice Hall: Englewood Cliffs, 1985
- 73 R.J. Hunter, Zeta Potential in Colloids Science, Academic Press, New York 1981.
- 74 Malvern Instruments Ltd, Zetasizer Nano Series, “Zeta Potential Theory”,

## Chapter 16

- 75 Skandalis A., Pispas S., PLMA-b-POEGMA amphiphilic block copolymers: Synthesis and self-assembly in aqueous media, *Polymer Chemistry*, vol.55. pp. 155-163, 2017.
- 76 Góis, J. R., Rocha, N., Popov, A. V., Guliashvili, T., Matyjaszewski, K., Serra, A. C., & Coelho, J. F. J. (2014). Synthesis of well-defined functionalized poly(2-(diisopropylamino)ethyl methacrylate) using ATRP with sodium dithionite as a SARA agent. *Polym. Chem.*, 5(12), 3919–3928. 2014
- 77 Karaman, M., & Çabuk, N. Initiated chemical vapor deposition of pH responsive poly(2-diisopropylamino)ethyl methacrylate thin films. *Thin Solid Films*, 520(21), 6484–6488. 2012
- 78 M. Wilhelm, C. Chao, Y. Wang, R. Xu, M. A. Winnik, Poly(styrene- ethylene oxide) block copolymer micelle formation in water: a fluorescence probe study, *Macromolecules*, vol. 24, 1991, pp.1033- 1040
- 79 C. Chao, M.A. Winnik, Fluorescence probe techniques used to study micelle formation in water soluble block copolymers, *Langmuir*, 1990, vol. 6, 1990, pp.514-516
- 80 F. M. Winnik, Interactions of surfactants with hydrophobically modified poly(N-isopropylacrylamides), Fluorescence probe studies, *Langmuir*, vol. 7, 1991, pp. 905-911
- 81 B. M. Tande and N. J. Wagner, Viscosimetric, Hydrodynamic, and Conformational Properties of Dendrimers and Dendrons, *Macromolecules*, vol. 34, 2001, pp. 8580-8585
- 82 Y. Wang, M. Pin, A-L. Jeng, Stability of curcumin n buffer solutions and characterization of its degradations products, *Journal of Pharmaceutical and Biometical Analysis*, vol. 15, 1997, pp. 1867-1876

