



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

**<<ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΣΤΗ
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ>>**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Αμφίφιλα Συμπολυμερή κατά Συστάδες P(MMA-co-
HPMA)-b-POEGMA: Σύνθεση, Χαρακτηρισμός, Αυτο-
οργάνωση σε Υδατικά Διαλύματα και Εγκλωβισμός
Φαρμάκων**

ΣΕΛΙΑΝΙΤΗΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΠΤΥΧΙΟΥΧΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΩΝ ΥΛΙΚΩΝ

ΑΘΗΝΑ

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2020

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Αμφίφιλα Κατά Συστάδες Συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-
ΡΟΕΓΜΑ: Σύνθεση, Χαρακτηρισμός, Αυτο-οργάνωση σε Υδατικά
Διαλύματα και Εγκλωβισμός Φαρμάκων**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΣΕΛΙΑΝΙΤΗΣ

A.M.: 181012

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Ερμόλαος Ιατρού, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας,
ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ερμόλαος Ιατρού, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

Μαρίνος Πιτσικάλης, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ

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

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 17/2/2020

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι η σύνθεση καινοτόμων πολυμερικών συστημάτων με εφαρμογές στον τομέα μεταφοράς φαρμάκων. Τα αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες λόγω της ικανότητάς τους να αυτο-οργανώνονται σε νανοσωματίδια όταν εισέρχονται σε υδατικά διαλύματα καθίστανται ιδιαίτερα χρήσιμα ως νανοφορείς υδρόφοβων φαρμάκων.

Μελετήθηκε η σύνθεση αμφίφιλων δισυσταδικών συμπολυμερών πολυ(μεθακρυλικού μεθυλεστέρα - co – μεθακρυλικού υδροξυπροπυλεστέρα) -b- πολυ(μεθακρυλικού εστέρα της ολιγοαιθυνελογλυκόλης) ([poly(methyl methacrylate) - co - hydroxy propyl methacrylate) - b – poly[oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate)] με τη μέθοδο RAFT. Στη συνέχεια ακολούθησε ο μοριακός χαρακτηρισμός των συμπολυμερών με χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (size exclusion chromatography, SEC) για τον προσδιορισμό των μοριακών βαρών και των κατανομών μοριακών βαρών καθώς και με φασματοσκοπικές μεθόδους όπως πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό πρωτονίου ($^1\text{H-NMR}$) για τον προσδιορισμό της σύστασης του συμπολυμερούς και τέλος με φασματοσκοπία υπέρυθρης ακτινοβολίας (FT-IR) προκειμένου να γίνει η ταυτοποίηση χαρακτηριστικών ομάδων του συμπολυμερούς. Μελετήθηκαν οι ιδιότητες αυτο-οργάνωσής τους σε υδατικά διαλύματα με χρήση των μεθόδων σκέδασης φωτός (DLS, SLS, ELS) και φασματοσκοπίας φθορισμού (FS).

Τέλος, έγινε η παρασκευή υδατικών διαλυμάτων των συμπολυμερών και έγινε εγκλωβισμός των φαρμάκων κουρκουμίνης και ινδομεθακίνης στα μικκύλια που σχηματίζονται και τα κολλοειδή συστήματα μελετήθηκαν διεξοδικά ως προς τη δομή και τη σταθερότητά τους.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Σύνθεση και χαρακτηρισμός πολυμερών

ΛΕΞΕΙΣ-ΚΛΕΙΔΙΑ: αμφίφιλα κατά συστάδες συμπολυμερή, πολυμερισμός RAFT, μικκύλια, εγκλωβισμός φαρμάκου

ABSTRACT

The purpose of this research work is to synthesize innovative polymer systems with applications in the field of drug delivery. Amphiphilic block copolymers due to their capability to self-assemble into nanoparticles when inserted in aqueous media are particularly useful as drug vectors.

We studied the synthesis of amphiphilic block copolymers ([poly (methyl methacrylate) - co - hydroxy propyl methacrylate) - b – poly [oligo (ethylene glycol) methyl ether methacrylate)] by the RAFT method. The molecular characterization was carried out using size exclusion chromatography (SEC) for the determination of molecular weights and molecular weight distributions and by proton nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$) for the determination of the composition percentage for each block, and finally by infrared spectroscopy (FT-IR) to identify the copolymer functional groups. Their self-assembly properties in aqueous solutions were studied using light scattering methods (DLS, SLS, ELS) and fluorescence spectroscopy.

Finally, aqueous solutions of the copolymers were prepared and two drugs was encapsulated in the micelles formed and the colloidal systems were studied in detail. The polymer nanostructures and drug-loaded nanocarriers were studied by a gamut of physicochemical techniques, including static, dynamic light scattering (SLS, DLS), UV-Vis and FTIR spectroscopy, which gave information on the size and structure of the nanocarriers, and the interactions between the drug and the components of the block copolymers.

SUBJECT AREA: Polymer synthesis and characterization

KEYWORDS: Amphiphilic block copolymers, RAFT polymerization, micelles, drug encapsulation

Αφιερωμένο στην Οικογένειά μου

Σας ευχαριστώ...

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία εκπονήθηκε στο Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών στα πλαίσια απόκτησης του μεταπτυχιακού διπλώματος ειδίκευσης στην Επιστήμη Πολυμερών.

Θα ήθελα να ευχαρίστησω ιδιαίτερα τον επιβλέποντά μου ερευνητή Δρ. Αστέριο Πίσπα, Διευθυντή Ερευνών του Ινστιτούτου Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών για την συνεχή καθοδήγησή σου αλλά και την πολύτιμη βοήθειά του καθώς ήταν πάντα παρών στις δυσκολίες που προέκυπταν κατά την πορεία των πειραμάτων.

Στη συνέχεια, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντά μου, Δρ. Ερμόλαο Ιατρού, Καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και τον Δρ. Μαρίνο Πιτσικάλη, καθώς και όλους του διδάσκοντες του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών <<Επιστήμη Πολυμερών και Εφαρμογές της στη Βιομηχανία>> για τις πολύτιμες γνώσεις που αποκόμισα παρακολουθώντας το μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών.

Επίσης, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στους υποψήφιους διδάκτορες Αθανάσιο Σκανδάλη και Θεόδωρο Σεντούκα για την αμέριστη βοήθειά τους και τις πολύτιμες συμβουλές τους καθ' όλη τη διάρκεια της ερευνητικής μου εργασίας καθώς και στις υποψήφιες διδάκτορες Βαρβάρα Χρυσοστόμου, Μάρθα Καφετζή, Αγγελική Χρόνη και Δέσποινα Γιαούζη για τη βοήθειά τους και το έμπρακτο ενδιαφέρον τους κατά τη διάρκεια εκπόνησης της ερευνητικής μου εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους ερευνητές και τα μέλη του Ινστιτούτου Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών για την ηθική τους υποστήριξη και την διασφάλιση ευχάριστου κλίματος συνεργασίας, που με βοήθησαν σημαντικά στην εξέλιξη και ολοκλήρωση της ερευνητικής μου εργασίας. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την οικογένειά μου και τους ανθρώπους που με στήριξαν με την εμπιστοσύνη και τη συμπαράσταση που μου παρείχαν όλη αυτή την περίοδο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	20
1.1 Αμφίφιλα Συμπολυμερή.....	20
1.1.1 Αμφίφιλα Συμπολυμερή κατά Συστάδες.....	21
1.1.2 Αμφίφιλα Τυχαία Συμπολυμερή.....	22
1.2 Πολυμερισμός Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπασση (RAFT polymerization).....	23
1.2.1 Επιλογή Κατάλληλου CTA.....	28
1.3 Αυτο-οργάνωση Αμφίφιλων Διυσσταδικών Συμπολυμερών.....	28
1.3.1 Αυτο-οργάνωση των Αμφίφιλων Τυχαίων Συμπολυμερών.....	30
1.3.2 Κρίσιμη Μικκυλιακή Συγκέντρωση.....	32
1.3.3 Παράγοντες που Επηρέαζουν τη CMC.....	33
1.3.4 Τρόποι Παρασκευής Μικκυλίων.....	34
1.3.5 Χαρακτηρισμός Μικκυλίων.....	37
1.3.6 Εγκλωβισμός φαρμακευτικών ουσιών σε πολυμερικά μικκύλια.....	39
1.4 Κουρκουμίνη.....	39
1.5 Ινδομεθακίνη.....	40
1.6 Σκοπός της Παρούσας Εργασίας.....	41
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ.....	43
2.1 Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγεθών (Gel Permeation Chromatography, GPC).....	43
2.2 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR).....	47
2.3 Φασματοσκοπία Υπερύθρου (Infrared Spectroscopy, ATR-FTIR).....	49

2.3.1	Πειραματική Διάταξη Φασματοσκοπίας Υπερύθρου	51
2.4	Φασματοκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους - Ορατού (UV-Vis Spectroscopy)	52
2.5	Φασματοσκοπία Φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy, FS)...	56
2.6	Σκέδαση Φωτός (Light Scattering).....	58
2.6.1	Στατική Σκέδαση Φωτός (Static Light Scattering, SLS).....	59
2.6.2	Δυναμική Σκέδαση Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS)..	63
2.6.3	Ηλεκτροφορητική Σκέδαση Φωτός (Electrophoretic Light Scattering, ELS – ζ-δυναμικό)	66
2.7	Θερμοσταθμική Ανάλυση (TGA).....	69
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....		70
3.1	Υλικά και Αντιδραστήρια	70
3.2	Οργανολογία και Μέθοδοι Χαρακτηρισμού	71
3.3	Σύνθεση P(MMA-co-HPMA) και P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA .	73
3.3.1	Σύνθεση Τυχαίου Συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)	74
3.3.2	Σύνθεση Συμπολυμερούς Κατά Συστάδες P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	74
3.4	Αυτο-οργάνωση των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA σε μικκύλια	75
3.5	Εγκλωβισμός Κουρκουμίνης στα Μικκύλια των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	76
3.6	Εγκλωβισμός Ινδομεθακίνης στα Μικκύλια των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	77
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....		78
4.1	Σύνθεση Συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	78
4.2	Μοριακός Χαρακτηρισμός των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA ...	80
4.3	Χαρακτηρισμός Μικκυλίων P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	87

4.4	Εγκλωβισμός Υδρόφοβων Φαρμάκων στα Πολυμερικά Μικκύλια των Συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	92
4.4.1	Εγκλωβισμός Κουρκουμίνης	92
4.4.2	Εγκλωβισμός Ινδομεθακίνης	101
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ		112
ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ.....		114
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ		115
ΑΝΑΦΟΡΕΣ		117

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1: Δομικά χαρακτηριστικά των thiocarbonylthio CTAs και το ενδιάμεσο προϊόν που σχηματίζεται κατά την προσθήκη ριζών.....	25
Σχήμα 1.2: Μηχανισμός Πολυμερισμού Αντιστρεπτής Προσθήκης – Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση (RAFT).....	27
Σχήμα 1.3: Σχηματική αναπαράσταση των κυριότερων παραμέτρων που καθορίζουν τη δομή των μικκυλίων ενός δισυσταδικού συμπολυμερούς AB, όπου A η αδιάλυτη και B η διαλυτή συστάδα που σχηματίζουν τον πυρήνα και την κορώνα του μικκυλίου, αντίστοιχα.....	38
Σχήμα 1.4: Διαμόρφωση των μικκυλίων ενός κατά συστάδες συμπολυμερούς συναρτήσει της σύστασης του πολυμερούς: α) αστεροειδή μικκύλια και β) μικκύλια με μεγάλο πυρήνα και κοντή κορώνα.....	38
Σχήμα 1.5: Χημική Δομή Κουρκουμίνης.....	40
Σχήμα 1.6 Χημική Δομή Ινδομεθακίνης.....	41
Σχήμα 2.1: Σχηματικό διάγραμμα συσκευής SEC: α) δοχείο διαλύτη, b) αντλία διαλύτη, c) σύστημα ένεσης δείγματος, d) στήλη με το πορώδες υλικό, e) ανιχνευτής, f) απόβλητα και g) ηλεκτρονικός υπολογιστής.....	44
Σχήμα 2.2: Προσδιορισμός μοριακού βάρους πολυμερούς χρησιμοποιώντας την κατάλληλη καμπύλη αναφοράς. Στο σχήμα επίσης δίνονται ο κενός όγκος V_0 και ο εσωτερικός όγκος των πόρων V_i	47
Σχήμα 2.3: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης φασματοσκοπίας υπερύθρου.....	53

Σχήμα 2.4: Ακτινοβολία διερχόμενη μέσα από τη κυψελίδα η οποία περιέχει κάποιο διάλυμα χημικής ουσίας.....	54
Σχήμα 2.5: Χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας.....	56
Σχήμα 2.6: Ενεργειακές στάθμες και μεταπτώσεις μορίου φθορίζουσας ένωσης. S_0 , S_1 , S_2 : Θεμελιώδης, πρώτη και δεύτερη διεγερμένη ηλεκτρονιακή απλή κατάσταση. T_1 : πρώτη τριπλή διεγερμένη ηλεκτρονιακή κατάσταση → διέγερση που οφείλεται σε απορρόφηση ακτινοβολίας μετάπτωση → λόγω δονητικής επαναφοράς και εσωτερικής μετατροπής που συνεπάγεται → έκλυση θερμότητας εκπομπή φθορισμού → εκπομπή φωσφορισμού και → διασυστηματική διασταύρωση.....	58
Σχήμα 2.7: Διάγραμμα Zimm.....	63
Σχήμα 4.1: Συνθετική πορεία για την παρασκευή τυχαίου πολυμερούς P(MMA-co-HPMA).....	80
Σχήμα 4.2 : Γενική συνθετική πορεία παρασκευής συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	80
Σχήμα 4.3: Χρωματογράφημα SEC τυχαίου συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-1.....	82
Σχήμα 4.4: Χρωματογράφημα SEC δισυσταδικού συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA) ₁ -b-POEGMA-1.....	82
Σχήμα 4.5: Φάσμα ¹ H-NMR του τυχαίου πολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-2 σε CDCL ₃	83
Σχήμα 4.6: Φάσμα ¹ H-NMR του δισυσταδικού συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)- b-POEGMA-2.....	83
Σχήμα 4.7: Φάσμα ATR-FTIR τυχαίου συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-2.....	85

Σχήμα 4.8: Συγκριτικό φάσμα ATR-FTIR των συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-2 και P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2.....	86
Σχήμα 4.9: Συγκριτικά θερμογραφήματα (TGA) για τα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	87
Σχήμα 4.10: : Διάγραμμα της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1/I_3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1.....	89
Σχήμα 4.11: Διάγραμμα της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1/I_3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2.....	90
Σχήμα 4.12: : Καμπύλη κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1. a) σε H ₂ O, b) Acetone in H ₂ O, c) Thin Film.....	91
Σχήμα 4.13: : Καμπύλη κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2. a) σε H ₂ O, b) Acetone in H ₂ O, c) Thin Film	92
Σχήμα 4.14: Σχηματική απεικόνιση του εγκλωβισμού της κουρκουμίνης και των χημικών δομών της κουρκουμίνης και του πολυμερούς.....	94
Σχήμα 4.15: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1 πριν και μετά τον εγκλωβισμό (10% και 20%) κουρκουμίνης. a), b) πρωτόκολλο εξάτμισης / c), d) πρωτόκολλο Thin Film.....	95
Σχήμα 4.16: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 πριν και μετά τον εγκλωβισμό (10% και 20%) κουρκουμίνης. a), b) πρωτόκολλο εξάτμισης / c), d) πρωτόκολλο Thin Film	96
Σχήμα 4.17: Καμπύλη αναφοράς της κουρκουμίνης σε Ακετόνη.....	99

Σχήμα 4.18: Φάσμα απορρόφησης UV-Vis για τα πολυμερικά μικκύλια P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1/CURCUMIN σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου με το πρωτόκολλο (ACETONE).....	100
Σχήμα 4.19: Φάσμα απορρόφησης UV-Vis για τα πολυμερικά μικκύλια P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2/CURCUMIN σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου με το πρωτόκολλο (ACETONE).....	100
Σχήμα 4.20: Φάσμα απορρόφησης FTIR/ATR για τα πολυμερικά μικκύλια P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1 σε ποσοστό 10% κουρκουμίνης.....	102
Σχήμα 4.21: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 πριν και μετά τον εγκλωβισμό (10% και 20%) ινδομεθακίνης. a), b) πρωτόκολλο εξάτμισης / c), d) πρωτόκολλο Thin Film.....	104
Σχήμα 4.22: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 πριν και μετά τον εγκλωβισμό (10% και 20%) ινδομεθακίνης. a), b) πρωτόκολλο εξάτμισης / c), d) πρωτόκολλο Thin Film.....	105
Σχήμα 4.23: Φάσμα απορρόφησης UV-Vis για τα πολυμερικά μικκύλια P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1/IND σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου με το πρωτόκολλο (CHCl ₃).....	108
Σχήμα 4.24: Φάσμα απορρόφησης UV-Vis για τα πολυμερικά μικκύλια P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2/IND σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου με το πρωτόκολλο (CHCl ₃).....	109
Σχήμα 4.25: Καμπύλη αναφοράς της Ινδομεθακίνης σε CHCl ₃	110
Σχήμα 4.26: Φάσμα απορρόφησης FTIR/ATR για τα πολυμερικά μικκύλια P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 σε ποσοστό 10% ινδομεθακίνης.....	111

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Σχηματική απεικόνιση ενός δισυσταδικού (a) και ενός στατιστικού συμπολυμερούς (b).....	21
Εικόνα 1.2: Αυτο-οργάνωση σε μικκύλια ενός αμφίφιλου δισυσταδικού συμπολυμερούς.....	30
Εικόνα 1.3: Σχηματική αναπαράσταση αμφίφιλου δισυσταδικού συμπολυμερούς και ο εγκλωβισμός φαρμάκου στον πυρήνα του μικκυλίου.....	31
Εικόνα 2.1: Σχηματική αναπαράσταση του διαχωρισμού ενός αραιού πολυμερικού διαλύματος με χρήση της χρωματογραφίας GPC.....	46
Εικόνα 2.2: Σχηματικό διάγραμμα NMR φασματοφωτομέτρου.....	50
Εικόνα 2.3: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης στατικής και δυναμικής σκέδασης φωτός.....	67
Εικόνα 2.4: Σχηματική παράσταση μιας πειραματικής διάταξης μέτρησης του ζ-δυναμικού. Τα σωματίδια κινούνται προς τα αντίθετα φορτισμένα ηλεκτρόδια και με μια δέσμη laser μετράται η ταχύτητά τους.....	69

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1: Μοριακά Χαρακτηριστικά Συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	88
Πίνακας 2: Αποτελέσματα από DLS και FS για τα μικκύλια των συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	93
Πίνακας 3: Συγκριτικός πίνακας αποτελεσμάτων DLS/SLS πριν και μετά τον εγκλωβισμό της κουρκουμίνης στα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	98
Πίνακας 4: Αποτελέσματα υπολογισμού απόδοσης εγκλωβισμού της κουρκουμίνης για τα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	101
Πίνακας 5: Συγκριτικός πίνακας αποτελεσμάτων DLS/SLS πριν και μετά τον εγκλωβισμό της ινδομεθακίνης στα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	107
Πίνακας 6: Αποτελέσματα υπολογισμού απόδοσης εγκλωβισμού της ινδομεθακίνης για τα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.....	110

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματεύεται τη σύνθεση καινοτόμων αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες με τη χρήση της τεχνικής πολυμερισμού RAFT, το χαρακτηρισμό και τη μελέτη της αυτο-οργάνωσής τους όταν εισέρχονται σε υδατικά διαλύματα. Στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται μια εισαγωγή για τα αμφίφιλα 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 των τεχνικών που χρησιμοποιήθηκαν για τον χαρακτηρισμό των υλικών που παρασκευάστηκαν.

Στο τρίτο κεφάλαιο περιγράφεται η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε για την παρασκευή 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 σχετική ανάλυσή τους. Το τελευταίο κεφάλαιο αναφέρεται στα συμπεράσματα που αποκομίστηκαν 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 μονομερή, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με ομοιοπολικούς δεσμούς. Πολυμερή τα οποία αποτελούνται από δύο διαφορετικά είδη μονομερών ονομάζονται συμπολυμερή, ενώ αυτά που αποτελούνται από τρία διαφορετικά είδη μονομερών ονομάζονται τριπολυμερή. Όταν τα διαφορετικά είδη των επαναλαμβανόμενων μονάδων εντοπίζονται σε διακριτές συστάδες (blocks) κατά μήκος της πολυμερικής αλυσίδας το συμπολυμερές ονομάζεται δισυσταδικό συμπολυμερές (diblock copolymer), ενώ το αντίστοιχο τριπολυμερές κατά συστάδες τριπολυμερές (triblock terpolymer). Στην περίπτωση όπου οι δομικές μονάδες του πολυμερούς είναι τυχαία κατανομημένες κατά μήκος της πολυμερικής αλυσίδας το πολυμερές λέγεται τυχαίο ή στατιστικό (random or statistical). Τα κατά συστάδες συμπολυμερή διατηρούν τις ιδιότητες των συστατικών ομοπολυμερικών συστάδων πολύ καλύτερα από τα αντίστοιχα στατιστικά συμπολυμερή, όπου τα δύο ή τρία είδη μονομερών είναι τυχαία κατανομημένα κατά μήκος της πολυμερικής αλυσίδας. Άλλες κατηγορίες συμπολυμερών είναι τα εμβολιασμένα και αστεροειδή. Στην εικόνα 1.1 αναπαρίστανται σχηματικά ένα δισυσταδικό και ένα τυχαίο συμπολυμερές.



Εικόνα 1.1 : Σχηματική απεικόνιση ενός δισυσταδικού (a) και ενός στατιστικού συμπολυμερούς (b)

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 δυσκολίας εύρεσης κοινών διαλυτών. Το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για αυτά τα πολυμερή οφείλεται στις ενδιαφέρουσες ιδιότητές τους που καθορίζονται από τη μοριακή δομή τους, και τα καθιστούν ελκυστικά τόσο στον τομέα της νανοεπιστήμης όσο και στον τομέα της βιομηχανίας. Η ασυμβατότητα των διαφορετικών ομάδων έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενδιαφέρουσων μορφολογιών σε στερεά κατάσταση και σε διαλύματα. Όσο αφορά τα διαλύματα η πιο χαρακτηριστική και ενδιαφέρουσα ιδιότητά τους είναι αυτή της αυτο-οργάνωσης η οποία οδηγεί και στο σχηματισμό οργανωμένων δομών, συνήθως μικκυλίων, διαφορετικών μορφολογιών, ανάλογα με τη σύσταση και τον διαλύτη στον οποίο είναι διαλυμένα.

1.1.1 Αμφίφιλα Συμπολυμερή κατά Συστάδες

Τα αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες (amphiphilic block copolymers-AmBC), παραμένουν στο προσκήνιο της έρευνας στην επιστήμη των πολυμερών για παραπάνω από δύο δεκαετίες [1-3]. Το ενδιαφέρον για την σύνθεση και τον χαρακτηρισμό τέτοιων συστημάτων οφείλεται στην μοναδική μοριακή δομή τους η οποία αποτελείται από τουλάχιστον δύο τμήματα με διαφορετική χημική φύση και είναι ο λόγος για τον οποίο χρησιμοποιείται ο όρος αμφίφιλο. Αμφίφιλο συμπολυμερές κατά συστάδες λοιπόν, είναι το πολυμερές το οποίο αποτελείται από μια λυόφιλη και μια λυόφοβη συστάδα. Η λυόφιλη συστάδα αρέσκεται στο να βρίσκεται σε επαφή με το διαλύτη, ενώ οι αλληλεπιδράσεις των λυόφοβων συστάδων με το διαλύτη δεν ευνοούνται [4]. Όταν ο διαλύτης είναι νερό, τότε οι συστάδες καλούνται υδρόφιλες και υδρόφοβες. Η ασυμβατότητα μεταξύ των διαφορετικών τους τμημάτων έχει σαν συνέπεια την αυτο-οργάνωσή τους σε διαλύματα σχηματίζοντας μικκύλια (micelles) [5]. Συγκεκριμένα, οι υδρόφοβες συστάδες συσσωματώνονται και σχηματίζουν τον πυρήνα του μικκυλίου και υδρόφιλες συστάδες εκτίνονται προς το διάλυμα και σχηματίζουν την κορώνα του μικκυλίου που περιβάλλει

τον υδρόφοβο πυρήνα. Έτσι η μικκυλιοποίηση των συσταδικών συμπολυμερών σε ένα εκλεκτικό για τη μία συστάδα διαλύτη είναι η αιτία των κολλοειδών ιδιοτήτων τους. Τα αμφίφιλα κατά συστάδες συμπολυμερή έχουν ποικίλες εφαρμογές. Συνήθως χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές και ως τροποποιητές του ιξώδους σε πολλές βιομηχανικές και φαρμακευτικές εφαρμογές [6]. Οι κολλοειδείς διασπορές που δημιουργούν βρίσκουν επίσης εφαρμογή στον τομέα της ελεγχόμενης μεταφοράς και αποδέσμευσης φαρμακευτικών ουσιών. Η αυτο-οργάνωση των αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες σε υδατικά διαλύματα συγκεντρώνει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, όχι μόνο λόγω των μοναδικών ιδιοτήτων τους, αλλά και λόγω των ευρέων δυνατοτήτων τους για εφαρμογές στον τεχνολογικό τομέα και κυρίως στον τομέα της βιοϊατρικής.

1.1.2 Αμφίφιλα Τυχαία Συμπολυμερή

Καλά καθορισμένα συμπολυμερή κατά συστάδες που φέρουν καθαρά ομοπολυμερή και τυχαία συμπολυμερή ως δομικά στοιχεία/συστάδες, έχουν μια αυξανόμενη προσοχή την πρόσφατη δεκαετία χάρη στην ταχεία ανάπτυξη ελεγχόμενων μεθόδων πολυμερισμού ριζών που επιτρέπουν το σχεδιασμό τυχαίων συμπολυμερών ελέγχοντας τα μοριακά τους χαρακτηριστικά (μήκος αλυσίδας, πολυδιασπορά). Έτσι αντικαθιστώντας ένα ομοπολυμερές με ένα δομικό συγκρότημα τυχαίων συμπολυμερών, μπορεί να επιτευχθεί ρύθμιση των ιδιοτήτων του συνολικού συμπολυμερούς [7]. Τα μικκύλια από τυχαία συμπολυμερή δημιουργούνται από την αυτο-οργάνωση σε έναν εκλεκτικό διαλύτη τα οποία έχουν ορισμένα πλεονεκτήματα σε σύγκριση με τα μικκύλια που προέρχονται από συμπολυμερή κατά συστάδες. Τα μικκύλια από τυχαία συμπολυμερή μπορούν να επωφεληθούν περισσότερο από μια ασθενή αλληλεπίδραση παράγοντας έτσι περισσότερο δυναμικά αναστρέψιμες δομές σε αντίθεση με τις συνήθως κινητικά παγωμένες δομές από τα συμβατικά συμπολυμερή κατά συστάδες. Σε αντίθεση με τα συσταδικά συμπολυμερή που προκειμένου να συντεθούν απαιτούν πολυμερισμό μέσω πολλών σταδίων, τα τυχαία συμπολυμερή μπορούν να παρασκευαστούν με τον συμπολυμερισμό δύο διαφορετικών μονομερών σε ένα μόνο στάδιο. Ο γρήγορος και εύκολος τρόπος πολυμερισμού των αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών τα κάνει

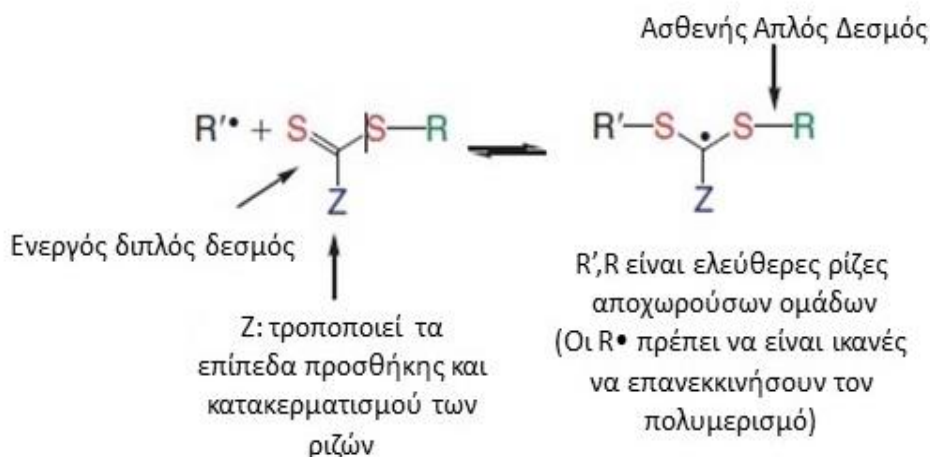
ιδιαίτερα ελκυστικά για την παραγωγή τους στον τομέα της βιομηχανίας. Επίσης, τα αμφίφιλα τυχαία συμπολυμερή όταν αυτο-οργανώνονται σε υδατικά διαλύματα σχηματίζουν ιδιαίτερες νανο-δομές που αξίζει να μελετηθούν εκτενέστερα [8].

Αυτό το είδος συμπολυμερούς συντίθεται με δυο τρόπους: α) με μερική χημική τροποποίηση μιας συστάδας ομοπολυμερούς [9-14] και β) με συμπολυμερισμό ενός μίγματος μονομερών. Στη δεύτερη περίπτωση έχει παρατηρηθεί μικρός έλεγχος στα μακρομοριακά χαρακτηριστικά του πολυμερούς, όπως το μοριακό βάρος και η κατανομή μοριακών βαρών [15 – 17]. Μετά από μια αξιοσημείωτη πρόοδο στις μεθόδους “ζωντανού” ριζικού πολυμερισμού έγινε δυνατός ο σχεδιασμός των στατιστικών συμπολυμερών και ο έλεγχος των μοριακών χαρακτηριστικών τους. Τα κατά συστάδες συμπολυμερή, που ενσωματώνουν στατιστικά συμπολυμερή στη μια συστάδα, μπορούν να παραχθούν μέσω της μακρομοριακής χημείας [18 – 20].

1.2 Πολυμερισμός Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση (RAFT polymerization) [21-25]

Ο πολυμερισμός αντιστρεπτής προσθήκης μεταφοράς αλυσίδας με απόσπαση (Reversible Addition – Fragmentation Chain Transfer, RAFT) ανήκει στην οικογένεια των ζωντανών/ελεγχόμενων ριζικών πολυμερισμών. Οι πρώτες ερευνητικές αναφορές εμφανίστηκαν στο τομέα της συνθετικής οργανικής χημείας στις αρχές της δεκαετίας του 1970 και από τότε έχει εξελιχθεί σε μια πολυχρηστική τεχνική για τη σύνθεση πολύπλοκων πολυμερικών αρχιτεκτονικών. Πιο συγκεκριμένα, τα υδατοδιαλυτά, εμβολιασμένα και αστεροειδή πολυμερή είναι ιδιαίτερα σημαντικά για την στοχευμένη χορήγηση διαγνωστικών και θεραπευτικών μέσων. Ο πολυμερισμός RAFT επιτρέπει τη σύνθεση όχι μόνο συμπολυμερών με καθορισμένη αρχιτεκτονική όπως τα κατά συστάδες, εμβολιασμένα, διακλαδισμένα και αστεροειδή, αλλά και πολυμερών αποκρίσιμων σε χημικά και φυσικά ερεθίσματα τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως σε βιολογικές εφαρμογές. Με τη χρήση της τεχνικής RAFT συντίθεται σύνθετες πολυμερικές αρχιτεκτονικές με προβλεπόμενο μοριακό βάρος, στενές κατανομές μοριακών βαρών, ακραίες ομάδες υψηλής πιστότητας και δυνατότητα για συνεχιζόμενη αύξηση της αλυσίδας. Ο πολυμερισμός μπορεί

να πραγματοποιηθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και να χρησιμοποιηθεί ως διαλύτης νερό, επίσης η διαδικασία διεξαγωγής του δεν είναι τόσο σύνθετη και απαιτητική σε αντίθεση πχ. με τον ανιοντικό πολυμερισμό. Επίσης, 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 των thiocarbonylthio CTAs και το ενδιάμεσο προϊόν που σχηματίζεται κατά την προσθήκη ριζών

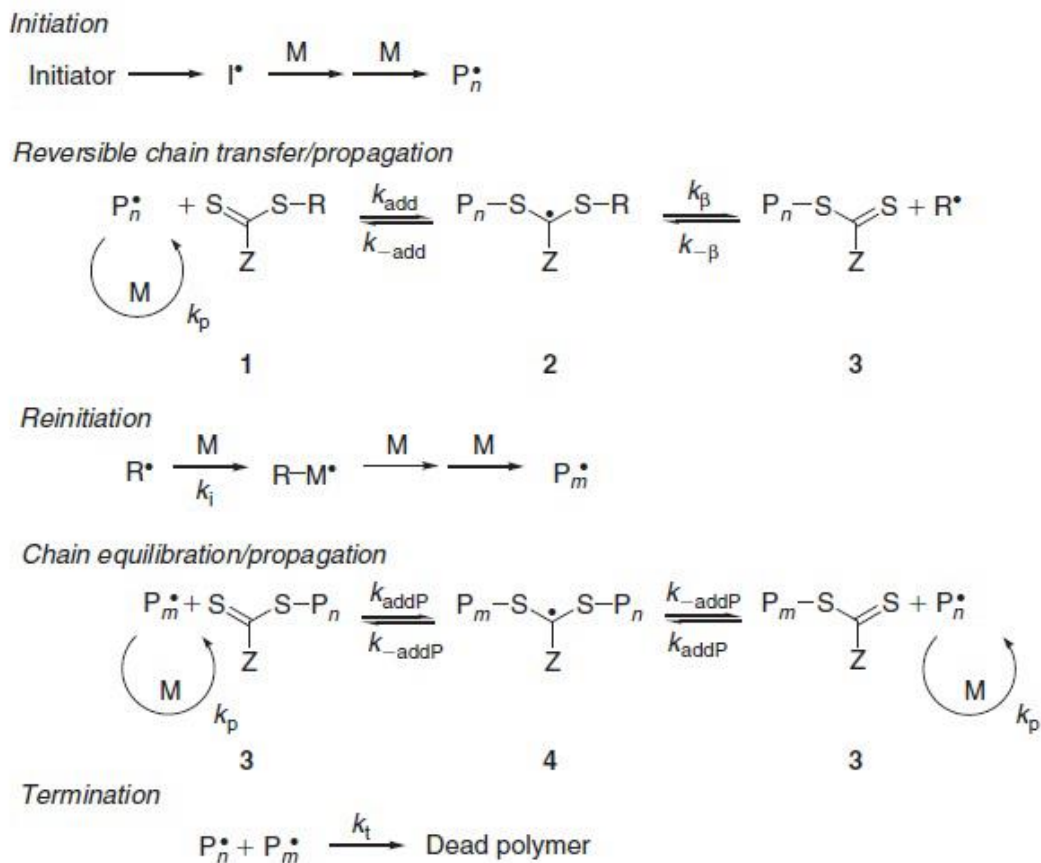
Ο RAFT βασίζεται στην ισορροπία μεταξύ ενεργών και αδρανών αλυσίδων και επιτυγχάνεται μέσω εκφυλιστικής μεταφοράς. Σε ένα σύστημα εκφυλιστικής μεταφοράς ο συνολικός αριθμός ριζών κατά τη διαδικασία ενεργοποίησης-απενεργοποίησης δεν μεταβάλλεται και ως εκ τούτου απαιτείται μια πηγή παραγωγής ριζών, συνήθως ένας ριζικός απαρχήτης. Καθώς ο RAFT αποτελεί ουσιαστικά ριζικό πολυμερισμό που διεξάγεται με την παρουσία ενός CTA, το στάδιο της εκκίνησης μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση παραδοσιακών ριζικών απαρχητών, όπως αζωενώσεις, υπεροξειδία, οξειδοαναγωγικά συστήματα έναρξης, φωτοαπαρχητές και ακτινοβολία-γ.

Ο μηχανισμός RAFT (σχήμα 1.2) είναι αποτέλεσμα της ισορροπίας μεταξύ προσθήκης και απόσπασης. Η έναρξη και ο τερματισμός πραγματοποιείται όπως και στον κλασικό ριζικό πολυμερισμό. Η πρόδρομη ρίζα I• πιστεύεται γενικά ότι προστίθεται στο μονομερές 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^\bullet), επειδή οι αλυσίδες που συμπληρώνονται από τον απαρχητή έχουν αρνητικές επιπτώσεις στον έλεγχο του μοριακού βάρους του τελικού πολυμερούς.

Οι συμβατικοί θερμικοί απαρχητές λόγω της εκθετικής τους αποσύνθεσης συμβάλλουν στο να 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 της 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 κατάλληλη 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_β και $k_{-\beta}$. Επίσης για να επιτευχθούν στενές κατανομές μοριακών βαρών θα πρέπει το στάδιο της προ-ισορροπίας να ολοκληρωθεί νωρίς για όλες τις αλυσίδες προκειμένου να περάσουν την ίδια χρονική στιγμή στο στάδιο της κυρίως ισορροπίας.



Σχήμα 1.2: Μηχανισμός Πολυμερισμού Αντιστρεπτής Προσθήκης - Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση (RAFT)

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. Όπως σε όλες τις τεχνικές ζωντανού πολυμερισμού, ο RAFT στοχεύει στον περιορισμένο αριθμό

των μη αντιστρεπτών αντιδράσεων τερματισμού, ελαχιστοποιώντας την συγκέντρωση ριζών που είναι διαθέσιμες για τερματισμό κάθε στιγμή. Ωστόσο, οι 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 ανακατανομή (disproportionation) είναι ο κυρίαρχος τρόπος τερματισμού, ο αριθμός των νεκρών αλυσίδων δημιουργείται με τον συνολικό αριθμό των αλυσίδων που προέρχονται από τον απαρχητή.

Τα δύο πιο σημαντικά κριτήρια ώστε να υπάρχει έλεγχος του μοριακού βάρους σε έναν πολυμερισμό RAFT 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 ($R\bullet$).

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, ρ 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 η σταθερά ρυθμού αποσύνθεσης του απαρχητή και CTA_{MW} είναι το μοριακό βάρος του αντιδραστηρίου μεταφοράς.

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 και η εξίσωση να πάρει τη μορφή:

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

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.

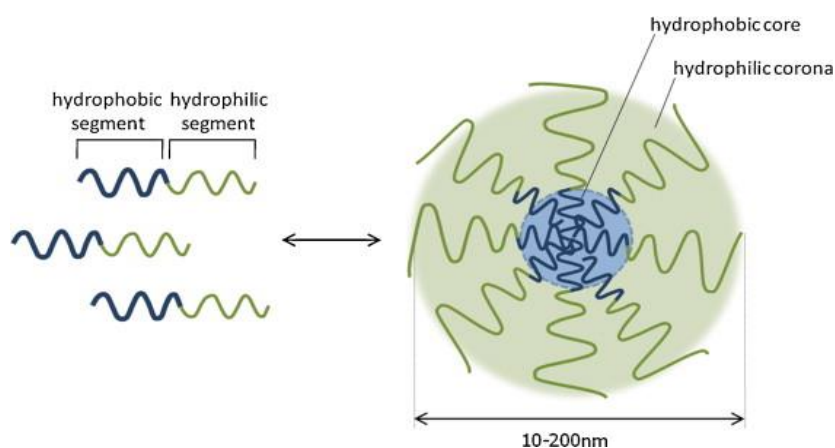
1.2.1 Επιλογή Κατάλληλου CTA

Η αποτελεσματικότητα του CTA εξαρτάται από το επιλεγμένο μονομερές και καθορίζεται από τις ιδιότητες της αποχωρούσας ομάδας R καθώς και της ομάδας Z η οποία καθορίζει την ενεργοποίηση και απενεργοποίηση του διπλού δεσμού του CTA με αποτέλεσμα την τροποποίηση της σταθερότητας των ενδιάμεσων ριζών. Προκειμένου να θεωρείται κατάλληλο το CTA πρέπει να περιέχεται σε αυτόν ένας ενεργός διπλός δεσμός C=S ώστε η k_{add} να παραμένει υψηλή ενώ οι ενδιάμεσες ρίζες πρέπει να αποσπώνται εύκολα. Αυτό σημαίνει πως η σταθερά k_{β} πρέπει να είναι υψηλή, ο δεσμός S-R ασθενής στο ενδιάμεσο στάδιο και να μην πραγματοποιούνται παράπλευρες αντιδράσεις. Τέλος οι ελεύθερες ρίζες που έχουν αποσπαστεί πρέπει να είναι ικανές να επανεκκινήσουν τον πολυμερισμό, δηλαδή η k_i να είναι επαρκώς μεγαλύτερη από την k_p .

1.3 Αυτο-οργάνωση Αμφίφιλων Δισυσταδικών Συμπολυμερών

Τα πολυμερικά μικκύλια από αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες σχηματίζονται από την αυθόρμητη αυτο-οργάνωση των ξεχωριστών πολυμερικών μακρομοριακών συστάδων σε υδατικά μέσα. Όταν ένα δισυσταδικό πολυμερές διαλύεται σε ένα διαλύτη, ο οποίος είναι θερμοδυναμικά καλός για τη μία συστάδα και κακός για την άλλη, οι πολυμερικές αλυσίδες οργανώνονται προς σχηματισμό μικκυλίων. Ο διαλύτης αυτός ονομάζεται εκλεκτικός [26]. Οι αδιάλυτες συστάδες συσσωματώνονται σχηματίζοντας έναν πυρήνα ο οποίος περιβάλλεται από τις διαλυτές συστάδες που αποτελούν την κορώνα, η οποία αποτρέπει την καθίζηση των

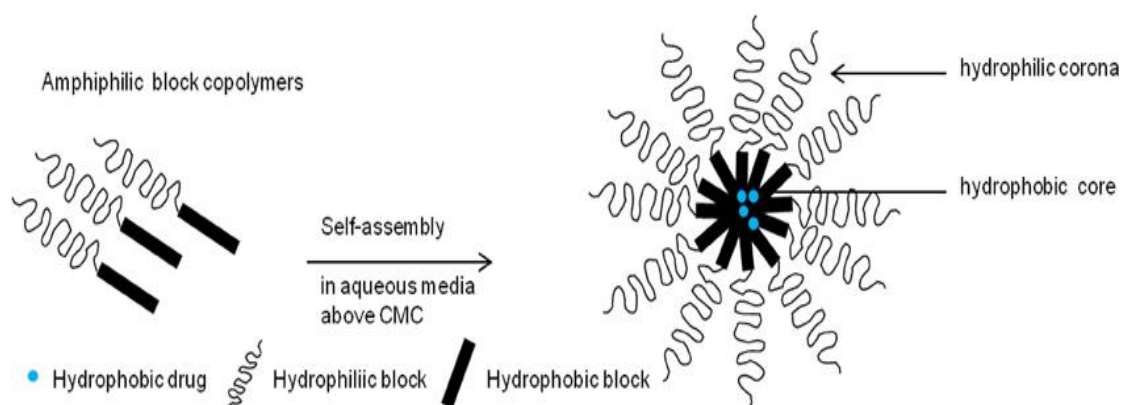
συσσωμάτων και σταθεροποιεί το σχηματιζόμενο νανοσωματίδιο στο διάλυμα [27]. Οι δομές που δημιουργούνται ονομάζονται μικκύλια.



Εικόνα 1.2: Αυτο-οργάνωση σε μικκύλια ενός αμφίφιλου δισυσταδικού συμπολυμερούς [28]

Συνήθως έχουν σφαιρικό σχήμα με δομή “πυρήνα-κελύφους”, (core-shell micelles). Στην περίπτωση αυτή οι αδιάλυτες συστάδες που αποτελούν τον πυρήνα είναι μικρότερες από τις διαλυτές, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται μικκυλιακές δομές που αποτελούνται από ένα μικρό σε μέγεθος συμπαγή πυρήνα και μια μεγάλη σε μέγεθος κορώνα. Στην αντίθετη περίπτωση που οι αδιάλυτες συστάδες είναι μεγαλύτερες των διαλυτών σχηματίζονται μικκύλια που διαθέτουν μεγάλο και συμπαγή πυρήνα και μια μικρή και εκτεταμένη κορώνα. Αυτά αναφέρονται ως “crew cut micelles” [29,30,31]. Έχουν παρατηρηθεί και άλλες δομές όπως τα ραβδόμορφα μικκύλια (rod-like micelles) [32,33]. Τα υδατοδιαλυτά αμφίφιλα συσταδικά συμπολυμερή μπορεί να αποτελούνται από μια υδρόφοβη και μια υδρόφιλη συστάδα. Στην περίπτωση λοιπόν που ο διαλύτης είναι νερό, ο πυρήνας σχηματίζεται από την αυτο-οργάνωση των υδρόφοβων συσταδών και η κορώνα που τον περιβάλλει από τις υδρόφιλες συστάδες. Η συμπεριφορά κατά την αυτο-οργάνωση σε διαλύματα ελέγχεται από τη στενή κατανομή μοριακών βαρών και το μήκος της συστάδας. Συνεπώς οι τροποποιήσεις στη δομή των νανοδομών μπορούν να επιτευχθούν ρυθμίζοντας τις κατάλληλες παραμέτρους (σύσταση και μοριακό βάρος) κατά τη σύνθεση του συμπολυμερούς [32,33,34]. Η αυτο-οργάνωση

των αμφίφιλων συμπολυμερών προς το σχηματισμό μικκυλίων σε υδατικό διάλυμα έχει μελετηθεί λεπτομερώς. Μια από τις πιο χρήσιμες ιδιότητες των μικκυλίων που σχηματίζουν τα υδατοδιαλυτά συσταδικά συμπολυμερή είναι η ικανότητα να διαλυτοποιούν στο νερό υδρόφοβα μόρια. Ο υδρόφοβος πυρήνας του μικκυλίου μπορεί να λειτουργήσει ως αποθηκευτικός χώρος για φάρμακα που εμφανίζουν μειωμένη διαλυτότητα σε υδατικό μέσο. Αυτό γίνεται διότι ο υδρόφοβος πυρήνας του μικκυλίου αποτελεί ένα συμβατό και φιλόξενο μικροπεριβάλλον για υδρόφοβα μόρια είτε αυτά είναι μικρού μοριακού βάρους είτε μακρομόρια. Το γεγονός αυτό υπόσχεται πολλές περιβαλλοντικές φιλικές εφαρμογές αφού το νερό μπορεί να αντικαταστήσει τους οργανικούς διαλύτες σε πολλούς τομείς.



Εικόνα 1.3: Σχηματική αναπαράσταση αμφίφιλου δισυσταδικού συμπολυμερούς και ο εγκλωβισμός φαρμάκου στον πυρήνα του μικκυλίου. [35]

1.3.1 Αυτο-οργάνωση των Αμφίφιλων Τυχαίων Συμπολυμερών

Η αυτο-οργάνωση των πολυμερών θεωρείται μια ελκυστική μέθοδος για την παραγωγή δομών σε νανοκλίμακα με διαφορετικές μορφολογίες, όπως σφαίρες, ράβδοι, κυστίδια και κύλινδροι. Στην περίπτωση των τυχαίων συμπολυμερών διαφορετικές μονάδες μονομερών είναι τυχαία διευθετημένα κατά μήκος της πολυμερικής αλυσίδας όπου η πιθανότητα να βρεθεί μια μονομερική μονάδα σε οποιαδήποτε δεδομένη θέση είναι ανεξάρτητη από τη φύση των παρακείμενων μονάδων [36]. Τα τυχαία συμπολυμερή δεν προτιμούνταν λόγω των μη καλά καθορισμένων ιδιοτήτων τους και των ευρέων

κατανομών μοριακού βάρους που επιτυγχάνονται με τις παραδοσιακές τεχνικές πολυμερισμού. Κάθε αλυσίδα του τυχαίου αμφίφιλου συμπολυμερούς αποτελείται από υδρόφιλα και υδρόφοβα 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 αυτο-οργανώνονται συνήθως σε πολυμοριακά μικκύλια. Η αναλογία υδρόφοβου/υδρόφιλου τμήματος και το μήκος της αλυσίδας (βαθμός πολυμερισμού , DP) καθορίζουν την αυτο-οργάνωση των τυχαίων συμπολυμερών [8,37]. Όταν το υδρόφοβο ποσοστό είναι αρκετά μικρότερο σε σχέση με το υδρόφιλο, τα τυχαία συμπολυμερή αυτο-αναδιπλώνονται ενδομοριακά σχηματίζοντας μονομοριακά μικκύλια (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. Αύξηση του υδρόφοβου τμήματος έχει σαν αποτέλεσμα την διαμοριακή αυτο-οργάνωση του τυχαίου συμπολυμερούς σε νερό, σχηματίζοντας συσσωματώματα πολλαπλών αλυσίδων (multichain aggregates) [8,37]. Για κάθε σύστημα τυχαίου συμπολυμερούς υπάρχει ένας συγκεκριμένος βαθμός πολυμερισμού που εξαρτάται από τη σύσταση και θεωρείται ως κατώφλι για τη μετάβαση αυτή στην αυτο-οργάνωση των τυχαίων συμπολυμερών (composition-dependent threshold degree of polymerization, $D_{p_{th}}$). Τυχαία συμπολυμερή με μικρότερο DP του $D_{p_{th}}$ αυτο-οργανώνονται διαμοριακά σχηματίζοντας συσσωματώματα, με το μέγεθος τους να αυξάνεται όσο αυξάνεται το υδρόφοβο ποσοστό [37]. Λόγω της εξάρτησης του μοριακού βάρους από τη σύσταση 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 $D_{p_{th}}$ και της διαμοριακής αυτο-οργάνωσης των πολυμερικών αλυσίδων με DP μικρότερο του $D_{p_{th}}$ [8].

1.3.2 Κρίσιμη Μικκυλιακή Συγκέντρωση

Η τιμή της κρίσιμης μικκυλιακής συγκέντρωσης (Critical Micelle Concentration), δηλαδή της συγκέντρωσης του συμπολυμερούς στο διάλυμα πάνω από την οποία σχηματίζονται μικκύλια, μπορεί να προσδιοριστεί από την αλλαγή των φυσικοχημικών παραμέτρων της επιφανειοδραστικής ουσίας όταν η επιφανειοδραστική συγκέντρωση αυξάνεται. Πειραματικά, η CMC υπολογίζεται συχνά από διαγράμματα επιφανειακής τάσης σε συνάρτηση με τον λογάριθμο της συγκέντρωσης και προσδιορίζεται στην συγκέντρωση στην οποία η επιφανειακή τάση σταματάει να μειώνεται και φτάνει σε ένα πλατώ. Μια απότομη αλλαγή κλίσης σηματοδοτεί τη CMC. Η επιλογή της CMC δεν είναι ποτέ ξεκάθαρη, δεδομένου ότι η αλλαγή σε κλίση εμφανίζεται σε ένα περισσότερο ή λιγότερο στενό εύρος συγκεντρώσεων, του οποίου το μέγεθος εξαρτάται από τη μέτρηση της φυσικής ιδιότητας που μετρείται και μερικές φορές από τη φύση των δεδομένων και τον τρόπο με τον οποίο απεικονίζονται. Όταν οι αλυσίδες των αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες διαλύονται σε έναν εκλεκτικό για τη μία συστάδα διαλύτη, αυτο-οργανώνονται και σχηματίζουν μικκύλια, όμοια με επιφανειοδραστικές ουσίες χαμηλού μοριακού βάρους. Καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση των πολυμερικών αλυσίδων στο διάλυμα, σχηματίζονται περισσότερα μικκύλια, ενώ η συγκέντρωση των μη οργανωμένων αλυσίδων παραμένει σταθερή και ίση με την CMC [38,39].

Η τεχνική ιχνηθέτησης, είτε με ελεύθερους φθορίζοντες ιχνηθέτες, όπως είναι το πυρένιο, είτε με ομοιοπολικά συνδεδεμένες φθορίζουσες ομάδες, είναι μία από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες τεχνικές για τον προσδιορισμό της CMC. Το πυρένιο είναι έντονα υδρόφοβο και έχει πολύ μικρή διαλυτότητα στο νερό. Είναι ένας φθορίζων ιχνηθέτης, αποτελούμενος από τέσσερις συμπυκνωμένους δακτυλίους, με υψηλή συμμετρία χημικής δομής. Εκπέμπει φως με φωτοδιέγερση στα 335 nm και χρησιμοποιείται ευρέως για την ανίχνευση της πολικότητας του περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκεται διαλυμένο. Η διαλυτότητα του πυρενίου στο νερό είναι αρκετά περιορισμένη, αλλά μπορεί να αυξηθεί σημαντικά σε λιγότερο πολικό περιβάλλον, όπως σε υδατικά διαλύματα μικκυλίων, αφού, όντας υδρόφοβο, μπορεί να εισχωρήσει στο υδρόφοβο εσωτερικό τους. Έτσι στην περίπτωση σχηματισμού μικκυλίων, το πυρένιο διαλύεται εκλεκτικά στον υδρόφοβο πυρήνα. Στο φάσμα εκπομπής του

πυρενίου εμφανίζονται πέντε δονητικές κορυφές. Τα μήκη κύματος στα οποία εμφανίζονται οι κορυφές αυτές διαφοροποιούνται σημαντικά, καθώς η πολικότητα του περιβάλλοντος του πυρενίου μεταβάλλεται. Ωστόσο, ο λόγος I_1/I_3 της έντασης της πρώτης προς την ένταση της τρίτης κατά σειρά ενέργειας δονητικής κορυφής, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος στις μεταβολές της πολικότητας του διαλύτη/περιβάλλοντος που αισθάνεται το μόριο του πυρενίου. Στις μελέτες ιχνηθέτησης με πυρένιο, ο λόγος I_1/I_3 χρησιμοποιείται με σκοπό να ανιχνευθεί η ύπαρξη υδρόφοβου μικροπεριβάλλοντος, όπως π.χ στην περίπτωση ανάπτυξης μικκυλίων ή μικτών συσσωμάτων πολυμερούς-επιφανειοδραστικής ένωσης. Σε τέτοιες περιπτώσεις μια μείωση του λόγου I_1/I_3 από μια τιμή 1.8-1.9 που αντιστοιχεί σε πολύ πολικό για τον ιχνηθέτη μικροπεριβάλλον (σε διαλύτη νερό), σε μια τιμή 1.2-1.3 που αντιπροσωπεύει υδρόφοβο μικροπεριβάλλον [40,41,42].

1.3.3 Παράγοντες που Επηρέαζουν τη CMC

Στον σχηματισμό των μικκυλίων αντιτίθεται η θερμική κίνηση των μορίων. Επιπλέον στην περίπτωση των ιονικών τασενεργών αντιτίθενται και οι ηλεκτροστατικές απώσεις μεταξύ των ομώνυμα φορτισμένων ιονικών ομάδων στην επιφάνεια του μικκυλίου. Έτσι η επίδραση διαφόρων παραγόντων στη CMC είναι:

1. Το μέγεθος της υδρόφιλης ομάδας: όσο μεγαλύτερο είναι το μέγεθος της πολικής ομάδας τόσο μεγαλύτερη θα είναι η άπωση μεταξύ των ομάδων αυτών λόγω ομώνυμων φορτίων και κατά συνέπεια τόσο μεγαλύτερη θα είναι η CMC. Έτσι ένα μόριο με μια ισχυρά πολική ομάδα θα έχει υψηλότερη CMC από ένα άλλο με μια λιγότερο πολική.
2. Το μήκος της υδρογονανθρακικής υδρόφοβης αλυσίδας: όσο αυξάνεται το μήκος τόσο μειώνεται η CMC. Σε υδατικά διαλύματα η CMC των ιονικών τασενεργών ουσιών περίπου υποδιπλασιάζεται με την προσθήκη κάθε μεθυλενομάδας $-CH_2-$.
3. Η θερμοκρασία: Η μείωση της θερμοκρασίας οδηγεί σε μείωση της CMC μιας και η μικκυλιοποίηση είναι εξώθερμη.

Τα παραπάνω συμπεράσματα μπορούν να επεκταθούν και στην περίπτωση αμφίφιλων δισυσταδικών συμπολυμερών με υδρόφοβες/υδρόφιλες συστάδες σε υδατικό περιβάλλον [43].

1.3.4 Τρόποι Παρασκευής Μικκυλίων

Η παρασκευή μικκυλίων σε αμφίφιλα κατά συστάδες συμπολυμερή πραγματοποιείται σε αραιά διαλύματα εκλεκτικού διαλύτη (καλός) για τη μία συστάδα, όταν η συγκέντρωση του διαλύματος υπερβαίνει την κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση (critical micelle concentration, cmc), η οποία αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα του εκάστοτε συστήματος συμπολυμερούς-διαλύτη. Γνωρίζουμε ότι σε συγκεντρώσεις μικρότερες της cmc υπάρχουν μόνο μοριακά διαλυμένες μεμονομένες αλυσίδες (unimer chains) του συμπολυμερούς, ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις συνυπάρχουν πολυμοριακά μικκύλια σε θερμοδυναμική ισορροπία μεταξύ τους [44].

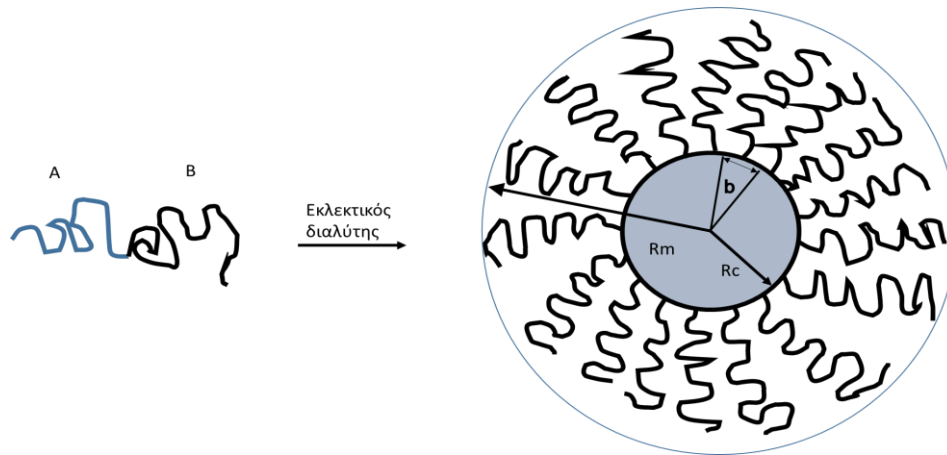
Γενικά, όταν το μοριακό βάρος της υδρόφιλης συστάδας υπερβαίνει εκείνο της υδρόφοβης συστάδας, το συμπολυμερές διασπείρεται εύκολα στο νερό και αυτο-οργανώνεται σε σχετικά μικρά, σχεδόν μονοδιάσπαρτα μικκύλια, μέσω της απευθείας διάλυσης του πολυμερούς στο υδατικό μέσο. Όμως όταν το μοριακό βάρος της υδρόφοβης συστάδας πλησιάζει ή υπερβαίνει αυτό της υδρόφιλης συστάδας, το πολυμερές, γίνεται σταδιακά, περισσότερο αδιάλυτο στο νερό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην μπορεί να αυτο-οργανωθεί το συμπολυμερές σε νανοσωματίδια με την απευθείας διάλυσή του σε υδάτινο περιβάλλον ή με την προσθήκη νερού στην πολυμερική μήτρα που έχει προκύψει από τη διάλυση του συμπολυμερούς σε έναν κατάλληλο και για τις δύο συστάδες οργανικό διαλύτη και στη συνέχεια εξάτμισής του (common solvent method, μέθοδος κοινού διαλύτη). Θα ήταν προτιμότερο σε αυτή την περίπτωση να χρησιμοποιηθεί η τεχνική της διαπίδυσης (dialysis). Για την παρασκευή των μικκυλιακών δομών η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εξαρτάται σημαντικά από τη σχετική υδροφιλικότητα ή υδροφοβικότητα που εμφανίζει κάθε συστάδα του αμφίφιλου συμπολυμερούς, όπως και από τη φυσική κατάσταση στην οποία βρίσκεται το συμπολυμερές σε στερεά κατάσταση (κρυσταλλικό ή άμορφο), αλλά και τη θερμοκρασία υαλώδους μετάβασης, T_g , του υδρόφοβου συστατικού.

Γενικά υπάρχουν δύο μέθοδοι παρασκευής μικκυλίων από αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες. Στην πρώτη περίπτωση έχουμε την αρχική κατ' ευθείαν διάλυση του συμπολυμερούς σε έναν εκλεκτικό διαλύτη, δηλαδή έναν καλό διαλύτη για τη μία από τις δύο συστάδες. Το διάλυμα προκειμένου να διαλυτοποιηθεί πλήρως αναδεύεται για μεγάλο χρονικό διάστημα, θερμαίνεται ή υπόκειται σε κατεργασία εντός λουτρού υπερήχων. Η θερμοκρασία ή/και η σύσταση του διαλύτη μεταβάλλονται, έτσι ώστε να προκληθεί σχηματισμός μικκυλίων [45]. Η μέθοδος βρίσκει εφαρμογή συνήθως σε συμπολυμερή σχετικά μικρού μοριακού βάρους και με μικρή σχετικά περιεκτικότητα στο αδιάλυτο συστατικό του συμπολυμερούς. Έχει παρατηρηθεί ότι ανάλογα με τις ιδιότητες του συστήματος συμπολυμερούς-διαλύτη, είναι πιθανόν οι διαδικασίες αυτές να μην οδηγούν σε συνθήκες θερμοδυναμικής ισορροπίας στο διάλυμα. Αντιπροσωπευτικό παράδειγμα αποτελούν τα αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες για τα οποία η συστάδα που σχηματίζει τον πυρήνα των μικκυλίων χαρακτηρίζεται από υψηλή θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g), π.χ. πολυστυρένιο [46]. Σε αυτή την περίπτωση τα χαρακτηριστικά των μικκυλίων, που θα ληφθούν θα αντανακλούν τη μορφολογία του συμπολυμερούς στη στερεά κατάσταση. Δηλαδή, το διάλυμα θα είναι μια διασπορά σωματιδίων με μορφολογία όμοια με αυτή του αρχικού στερεού δείγματος, παρά μία πραγματική ισορροπία μεταξύ ελεύθερων αλυσίδων συμπολυμερούς και μικκυλίων.

Η άλλη μέθοδος παρασκευής μικκυλίων είναι η διάλυση του συμπολυμερούς σε ένα κοινό καλό διαλύτη για τις δύο συστάδες, του συμπολυμερούς και στη συνέχεια μεταβολή των συνθηκών, όπως θερμοκρασία ή με σταδιακή προσθήκη του εκλεκτικού διαλύτη. Στην τελευταία περίπτωση θα πρέπει με κάποιο τρόπο να εκδιωχθεί ο κοινός καλός διαλύτης. Αυτό γίνεται με την εξάτμιση του διαλύτη, εφόσον αυτός είναι πτητικός και ο εκλεκτικός διαλύτης έχει πολύ μεγαλύτερο σημείο ζέσεως. Παρόλα αυτά η πιο συνήθης διαδικασία που χρησιμοποιείται είναι αυτή της σταδιακής αντικατάστασης του καλού διαλύτη με τον εκλεκτικό χρησιμοποιώντας μεμβράνες διαπίδωσης. Αυτή η τεχνική γενικά θεωρείται η προτιμώμενη μέθοδος για την παρασκευή μικκυλιακών νανοδομών, κυρίως σε υδατικά διαλύματα, αφού εμποδίζει το σχηματισμό μεγάλων συσσωματωμάτων και επιτρέπει το σχηματισμό

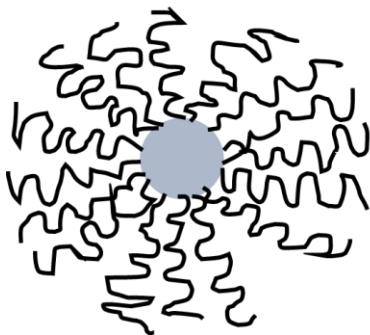
μικκυλίων από ασύμμετρα συμπολυμερή, δηλαδή συμπολυμερή που έχουν πολύ μεγάλο ποσοστό ως προς το αδιάλυτο συστατικό [44].

Η μορφολογία των μικκυλίων ενός δισυσταδικού συμπολυμερούς του τύπου AB θεωρείται στην απλούστερη περίπτωση σφαιρική, ενώ η δομή τους χαρακτηρίζεται από πλήθος παραμέτρων όπως ο αριθμός συσσωμάτωσης του μικκυλίου, N_{agg} , ο οποίος εκφράζει τον αριθμό των μεμονομένων αλυσίδων που αποτελούν το μικκύλιο, η ακτίνα του πυρήνα, R_c , η ακτίνα του μικκυλίου, R_m , το πάχος της κορώνας, L ($L=R_m - R_c$), καθώς και η απόσταση μεταξύ των γειτονικών συστάδων της κορώνας στη μεσεπιφάνεια πυρήνα/κορώνας, b , με b^2 το εμβαδόν που καταλαμβάνει κάθε αλυσίδα της κορώνας στην επιφάνεια του πυρήνα. Οι παράμετροι αυτές (Σχήμα 1.3) καθορίζονται κυρίως από το βαθμό πολυμερισμού των επιμέρους συστάδων N_A και N_B και την παράμετρο αλληλεπίδρασης Flory – Huggins μεταξύ των δύο συστάδων, χ . Η ελεύθερη ενέργεια του μικκυλίου εξαρτάται από τη διεπιφανειακή ενέργεια πυρήνα/κορώνας, την ενέργεια έκτασης των δισυσταδικών αλυσίδων και την άπωση μεταξύ των αλυσίδων της κορώνας. Η ελαχιστοποίηση της ελεύθερης ενέργειας του συστήματος ισοδυναμεί με κατάσταση θερμοδυναμικής ισορροπίας και οδηγεί στο σχηματισμό σταθερών μικκυλίων. Σε κάθε περίπτωση, η διαμόρφωση των μικκυλίων είναι απόρροια της σύστασης του συμπολυμερούς. Δισυσταδικά πολυμερή με μεγάλο μήκος διαλυτών συστάδων και μικρό μήκος αδιάλυτων συστάδων σχηματίζουν αστεροειδή μικκύλια (“star – like” micelles) ενώ στην αντίθετη περίπτωση τα σχηματιζόμενα μικκύλια αποτελούνται από μεγάλο πυρήνα και κοντή κορώνα (“crew – cut” micelles) όπως φαίνεται στο (Σχήμα 1.4). Τέλος, εκτός από τη σφαιρική μορφολογία, η αυτο-οργάνωση των αμφιφιλικών συμπολυμερών κατά συστάδες ενδέχεται να οδηγήσει στο σχηματισμό ραβδοειδών μικκυλίων (“rod – like” micelles) και κυστιδίων (vesicles) [52].

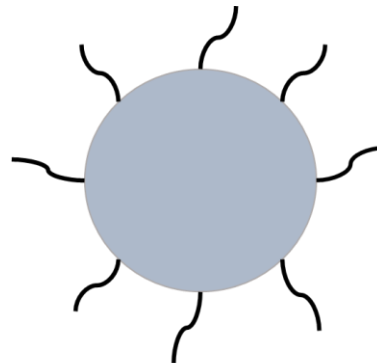


Σχήμα 1.3: Σχηματική αναπαράσταση των κυριότερων παραμέτρων που καθορίζουν τη δομή των μικκυλίων ενός δισυσταδίου συμπολυμερούς AB, όπου A η αδιάλυτη και B η διαλυτή συστάδα που σχηματίζουν τον πυρήνα και την κορώνα του μικκυλίου, αντίστοιχα

α)



β)



Σχήμα 1.4: Διαμόρφωση των μικκυλίων ενός κατά συστάδες συμπολυμερούς συναρτήσει της σύστασης του πολυμερούς: α)αστεροειδή μικκύλια και β) μικκύλια με μεγάλο πυρήνα και κοντή κορώνα

1.3.5 Χαρακτηρισμός Μικκυλίων [36,38]

Ο χαρακτηρισμός μικκυλίων πραγματοποιείται με τις εξής παραμέτρους:

- Κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση, CMC
- Κρίσιμη μικκυλιακή θερμοκρασία, CMT

- Ολικό μέγεθος του μικκυλίου (γυροσκοπική ακτίνα του μικκυλίου – R_g)
- Διαστάσεις του πυρήνα (R_c – η ακτίνα του πυρήνα του μικκυλίου) και του κελύφους (L – το πάχος του κελύφους του μικκυλίου)
- Υδροδυναμική ακτίνα του μικκυλίου – R_h
- Λόγος R_g/R_h που δίνει πληροφορίες για το σχήμα του μικκυλίου
- Φαινόμενο (apparent) μοριακό βάρος κατά βάρος του μικκυλίου $M_{w,app}$
- Αριθμός συσσωμάτωσης (N_w : ο αριθμός των πολυμερικών αλυσίδων ανά μικκύλιο)

Ο χαρακτηρισμός των μικκυλιακών αμφίφιλων νανοδομών μπορεί να γίνει με διάφορες πειραματικές τεχνικές. Τεχνικές μικροσκοπίας, όπως η ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (Transmission Electron Microscopy-TEM) [47], η κρυογονική ηλεκτρονική μικροσκοπία διαπερατότητας (cryo- TEM) [48], η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM) [49] και η μικροσκοπία ατομικής δύναμης (Atomic Force Microscopy, AFM) [50] παρέχουν σημαντικές πληροφορίες τόσο για το σχήμα όσο και για το μέγεθος των μικκυλίων στον πραγματικό χώρο.

Τεχνικές όπως η δυναμική και στατική σκέδαση φωτός (DLS, SLS), αποτελούν χρήσιμες πειραματικές μεθόδους για τη μέτρηση σκέδασης φωτός. Μέσω των τεχνικών αυτών μπορούν να εξαχθούν σημαντικές παράμετροι, συμπεριλαμβανομένων του μοριακού βάρους του μικκυλίου, μέσω του οποίου υπολογίζεται ο αριθμός συσσωμάτωσης, καθώς και της υδροδυναμικής και της γυροσκοπικής ακτίνας του μικκυλίου, αλλά και της ακτίνας του πυρήνα του εύρους της κορώνας υπό ορισμένες συνθήκες για σφαιρικά μικκύλια. Επίσης, με την χρήση της τεχνικής της ιξωδομετρίας μπορεί να υπολογιστεί η υδροδυναμική ακτίνα χρησιμοποιώντας το εσωτερικό ιξώδες του συστήματος [51].

Φασματοσκοπικές τεχνικές όπως η φασματοσκοπία φθορισμού χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της κρίσιμης μικκυλιακής συγκέντρωσης και την διερεύνηση της δυναμικής των αλυσίδων. Άλλη μία φασματοσκοπική μέθοδος χαρακτηρισμού μικκυλιακών νανο-δομών είναι η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance

Spectroscopy $^1\text{H-NMR}$), η οποία χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της σύστασης και την ταυτοποίηση της χημικής δομής του συμπολυμερούς και της κινητικής/ισοροπίας των αλυσίδων [52].

Τέλος, τεχνικές όπως η υπερφυγοκέντρωση και η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (Size Exclusion Chromatography-SEC) παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την κατανομή του μεγέθους και του βάρους των μικκυλίων καθώς και με την ισοροπία των μεμονωμένων αλυσίδων στο διάλυμα [52].

1.3.6 Εγκλωβισμός φαρμακευτικών ουσιών σε πολυμερικά μικκύλια

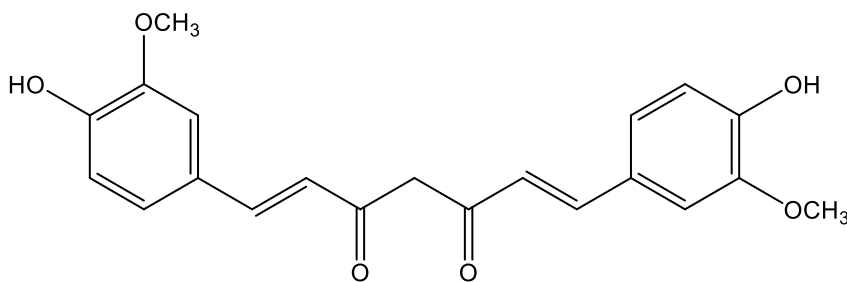
Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η ικανότητα των αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες να αυτο-οργανώνονται σε νανοσωματίδια όταν εισέρχονται σε υδατικά διαλύματα τα καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμα ως νανοφορείς φαρμάκων. Αρχικά, τα υδρόφοβα φάρμακα μπορούν να εγκλωβιστούν στον πυρήνα των μικκυλίων των συσταδικών πολυμερών και να μεταφερθούν σε συγκεντρώσεις που ξεπερνούν την εγγενή διαλυτότητά τους στο νερό. Οι διαλυτές συστάδες που συχνά αποτελούνται από πολυαιθυλενοξείδιο (PEO) περικλείουν τον πυρήνα του μικκυλίου με το σχηματισμό δεσμών υδρογόνου με τα υδατικά μέσα με αποτέλεσμα τα συστατικά του πυρήνα να προστατεύονται από την υδρόλυση και την ενζυματική αποικοδόμηση. Ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας της χρήσης των συγκεκριμένων νανοφορέων είναι ότι η PEO κορώνα εξασφαλίζει την μη αναγνώριση του φαρμάκου που έχει εγκλωβιστεί στον πυρήνα του μικκυλίου από το ανοσοποιητικό σύστημα και συνεπώς αποφεύγεται η εξάλειψη των μικκυλίων από την κυκλοφορία του αίματος.

1.4 Κουρκουμίνη [53]

Η κουρκουμίνη είναι μια χρωστική φυτοπολυφαινόλη που απομονώνεται απ' το φυτό *curcumin longa* κοινώς γνωστό ως κουρκούμη, με ποικίλες φαρμακολογικές εφαρμογές. Έχει αποδειχθεί ότι στοχεύει πολλαπλά μόρια σηματοδότησης ενώ ταυτόχρονα επιδεικνύει δραστηριότητα στο κυτταρικό επίπεδο, γεγονός που βοήθησε να υποστηριχτούν τα πολλαπλά οφέλη της για την υγεία. Έχει αποδειχθεί ότι ωφελεί τις φλεγμονώδεις καταστάσεις, το μεταβολικό σύνδρομο, τον πόνο και βοηθά στη διαχείριση φλεγμονωδών και

εκφυλιστικών οφθαλμικών καταστάσεων. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι ωφελεί τα νεφρά. Παρόλο που φαίνεται ότι υπάρχουν αμέτρητα θεραπευτικά οφέλη για τη συμπλήρωση της κουρκουμίνης τα περισσότερα απ' αυτά τα οφέλη οφείλονται στις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις της.

Οι αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες είναι οι δύο κύριοι μηχανισμοί που εξηγούν την πλειοψηφία των επιδράσεων της κουρκουμίνης. Η κουρκουμίνη έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει συστηματικούς δείκτες οξειδωτικού στρες. Υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να αυξήσει τις δραστηριότητες των αντιοξειδωτικών στον ορό, όπως η δισμουτάση υπεροξειδίου (SOD). Επίσης, οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες έχουν ως αποτέλεσμα την αναστολή των κυκλοξυγενώσεων (COX) και άλλων ενζύμων που εμπλέκονται στη φλεγμονή και διαταράσσει τη μεταγωγή κυτταρικού σήματος με διάφορους μηχανισμούς συμπεριλαμβανομένης της αναστολής της πρωτεϊνικής κινάσης C. Αυτές οι επιδράσεις μπορεί να παίζουν ρόλο στις παρατηρούμενες αντινεοπλασματικές ιδιότητες του παράγοντα, οι οποίες περιλαμβάνουν την αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων των όγκων και την καταστολή της χημικώς επαγόμενης καρκινογένεσης και της ανάπτυξης όγκου σε ζωικά μοντέλα καρκίνου.

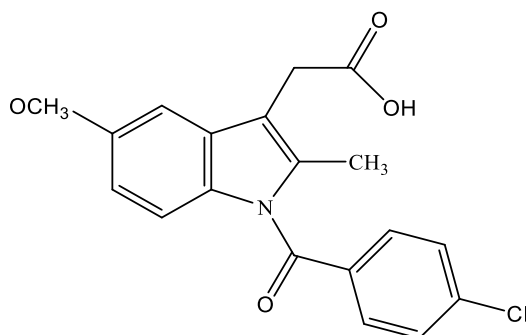


Σχήμα 1.5: Χημική δομή κουρκουμίνης

1.5 Ινδομεθακίνη

Η ινδομεθακίνη είναι ένα μη στεροειδές φάρμακο, το οποίο παρουσιάζει αναλγητικές, αντιπυρετικές ιδιότητες. Οι αναλγητικές ιδιότητες είναι αποτέλεσμα της περιφερειακής και κεντρικής δράσης και διακρίνονται από τις αντιφλεγμονώδεις. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης της δεν είναι γνωστός, αλλά

φαίνεται ότι οφείλεται κυρίως σε αναστολή της σύνθεσης των προσταγλανδινών. Η ινδομεθακίνη είναι ένας από τους ισχυρότερους αναστολείς της κυκλοξυγενάσης, μειώνοντας σημαντικά την σύνθεση των προσταγλανδινών στους ιστούς μέσω αναστολής των COX-1 και COX-2



Σχήμα 1.6: Χημική δομή Ινδομεθακίνης

Η ινδομεθακίνη έχει εξαιρετές αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες στα ρευματικά νοσήματα, ιδιαίτερα στις οροαρνητικές σπονδυλαρθροπάθειες. Ωστόσο, λόγω των παρενεργειών που εμφανίζονται από τη χρήση της, ιδιαίτερα σε ασθενείς με νεανική ρευματοειδή αρθρίτιδα, η χρήση της έχει περιορισθεί τα τελευταία χρόνια. Παρ' όλα αυτά, η ινδομεθακίνη είναι μια υδρόφοβη φαρμακευτική ουσία, η οποία μπορεί να εξυπηρετήσει με επιτυχία ερευνητικές μελέτες εγκλωβισμού φαρμάκου από αμφίφιλα συμπολυμερή και τα προκύπτοντα νανοσυστήματα μεταφοράς μπορεί να οδηγήσουν στην αποδοτικότερη χρήση του συγκεκριμένου φαρμάκου για θεραπεία [54,55].

1.6 Σκοπός της Παρούσας Εργασίας

Πρωταρχικός σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας ήταν η σύνθεση καινοτόμων αμφίφιλων δισυσταδικών συμπολυμερών, του τύπου πολυ(μεθακρυλικού μεθυλεστέρα-co-μεθακρυλικού υδροξυπροπυλεστέρα)-b-πολυ(μεθακρυλικού εστέρα της ολιγοαιθυνολογλυκόλης) ([poly(methyl methacrylate) - co - hydroxy propyl methacrylate) - b - poly[oligo(ethylene glycol) methyl ether methacrylate)] (P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA). Αρχικά έγινε η σύνθεση του τυχαίου συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA), το οποίο

χρησιμοποιήθηκε ως παράγοντας μεταφοράς αλυσίδας για τη σύνθεση του δυσσταδικού συμπολυμερούς.

Μετά την επίτευξη του πρωταρχικού στόχου, το ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώθηκε στην μελέτη της αυτο-οργάνωσης των συμπολυμερών σε υδατικά διαλύματα. Ακολούθως μελετήθηκε η δυνατότητα χρήσης των πολυμερικών μικκυλίων που δημιουργήθηκαν ως φαρμακευτικών νανοφορέων για τον εγκλωβισμό φαρμάκων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

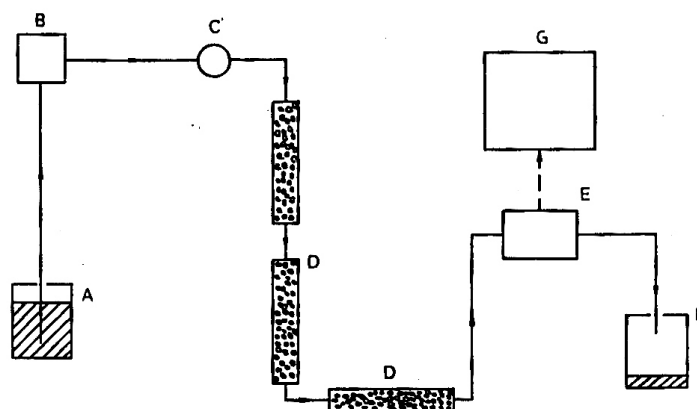
ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΥ

2.1 Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγεθών (Gel Permeation Chromatography, GPC)

Η μοριακή δομή των πολυμερών επηρεάζει τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, όπως σκληρότητα, μέτρο ελαστικότητας, ιξώδες τήγματος, κλπ. Τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά τα οποία προσδιορίζουν τη μοριακή αρχιτεκτονική είναι τα εξής:

1. Η χημική δομή των επαναλαμβανόμενων μονάδων
2. Σε διακλαδισμένα συμπολυμερή ο αριθμός των κλάδων και σύσταση
3. Η μοριακή τοπολογία όπως τακτικότητα, κλπ.

Μετά τις πρώτες προσπάθειες του Moore στη χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (SEC), η μέθοδος αναπτύχθηκε σημαντικά όχι μόνο για το προσδιορισμό μοριακών βαρών πολυμερών αλλά και για τον προσδιορισμό της αρχιτεκτονικής μακρομορίων. Όπως οι περισσότερες αναλυτικές μέθοδοι η SEC προϋποθέτει ότι το δείγμα είναι διαλυτό σε ένα διαλύτη. Το πλεονέκτημα της μεθόδου είναι η μικρή ποσότητα δείγματος καθώς επίσης και η ευκολία μέτρησης και ο αυτοματισμός [56].



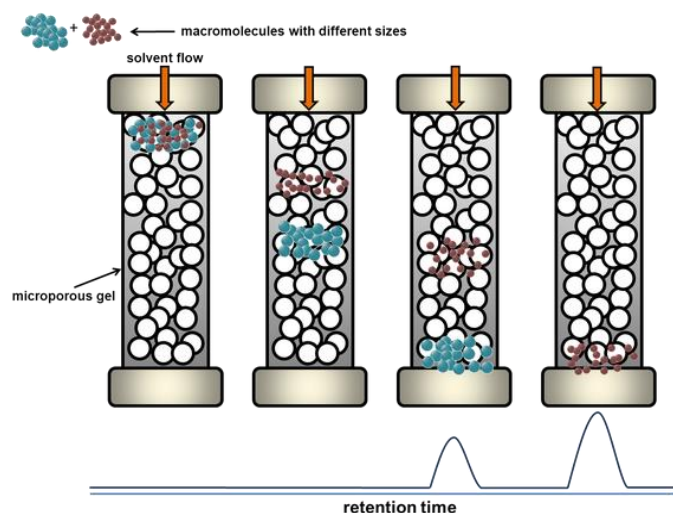
Σχήμα 2.1: Σχηματικό διάγραμμα συσκευής SEC: α) δοχείο διαλύτη, β) αντλία διαλύτη, γ) σύστημα ένεσης δείγματος, δ) στήλη με το πορώδες υλικό, ε) ανιχνευτής, ς) απόβλητα και ζ) ηλεκτρονικός υπολογιστής [56]

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 με τη μέθοδο του κοσκινίσματος [56]. Η διαδικασία βασίζεται στο γεγονός ότι ένα αραιό πολυμερικό διάλυμα, το οποίο μπορεί να περιέχει μια πλατειά κατανομή MW πολυμερικών αλυσίδων, ολιγομερών 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 [57]. Το πληρωτικό αυτό υλικό μπορεί να είναι οργανικής φύσεως, όπως για παράδειγμα πολυστυρένιο δικτυωμένο με διβινυλοβενζόλιο, ή ανόργανο όπως σίλικα ή πορώδες γυαλί. Συνήθως προτιμάται πακεταριστικό υλικό από πολυστυρένιο, και όχι ανόργανες ύλες επειδή δεν δημιουργούνται δευτερογενείς αλληλεπιδράσεις με τα πολυμερή που θα οδηγούσαν σε δευτερογενείς διαδικασίες κατανομής. Οι λόγοι για τέτοιες δευτερογενείς διαδικασίες είναι προσρόφηση, κατανομή, ασυμβατότητα κ.α. Γενικά τέτοιες διαδικασίες αυξάνουν το χρόνο έκλουσης δίνοντας έτσι μειωμένο μοριακό βάρος για το άγνωστο δείγμα [58].

Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στο γεγονός ότι τα μικρά μόρια μπορούν να διεισδύσουν βαθύτερα μέσα στους πόρους του πληρωτικού υλικού, ενώ τα μεγαλύτερα μόρια, επειδή δεν μπορούν εισχωρήσουν μέσα στους μικρότερους πόρους, εκκλούνται πρώτα [59]. Ο τρόπος με τον οποίο διαχωρίζονται τα μόρια αναλόγως του μεγέθους τους φαίνεται στην Εικόνα 2.1. Όταν τα μόρια εξέλθουν της στήλης κατευθύνονται στον αναλυτή, ο οποίος μετρά τη συγκέντρωση του πολυμερούς σαν συνάρτηση του χρόνου ή του όγκου έκλουσης (V_e) [60]. Ο όγκος έκλουσης δίνεται από τις εξισώσεις 2.1 και 2.2. Για πολύ μεγάλα μόρια, τα οποία δεν εισέρχονται καθόλου στο εσωτερικό του πληρωτικού υλικού της στήλης, ισχύει η εξίσωση 2.1:

$$V_e = V_o \quad (2.1)$$

όπου V_o είναι ο λεγόμενος αποκλειόμενος όγκος, ο οποίος είναι ο συνολικός όγκος των διάκενων μεταξύ των σφαιρικών σωματιδίων.



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

Για μικρότερα μόρια, τα οποία εισχωρούν στους πόρους του πληρωτικού υλικού της στήλης ισχύει η εξίσωση 2.2

$$V_e = V_o + k_{SEC} V_i \quad (2.2)$$

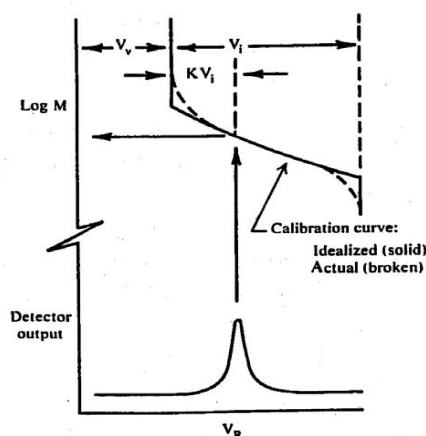
όπου V_i είναι ο συνολικός όγκος των πόρων και k_{SEC} είναι ο συντελεστής κατανομής του δείγματος μεταξύ του εσωτερικού και του εξωτερικού των πόρων (δηλαδή του όγκου των διάκενων μεταξύ των σωματιδίων)

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

1. Ανιχνευτές μάζας (διαφορικό διαθλασίμετρο, πυκνόμετρο)
2. Ειδικοί Ανιχνευτές(ανιχνευτές απορρόφησης)
3. Ανιχνευτές ευαίσθητοι σε μοριακή μάζα (φωτόμετρο σκέδασης φωτός λέιζερ σε μικρές γωνίες)

Η χρωματογραφία SEC είναι μια σχετική μέθοδος προσδιορισμού ΜΒ διότι απαιτεί βαθμονόμηση για μετατροπή της κατανομής όγκων έκλουσης σε κατανομή ΜΒ. Πειραματικά έχει αποδειχθεί ότι η σχέση μεταξύ $\log M$ και V_e είναι γραμμική. Έτσι χρησιμοποιώντας δείγματα γνωστού μοριακού βάρους και μετρώντας τον όγκο έκλουσής τους μπορεί να κατασκευαστεί η καμπύλη αναφοράς. Η καμπύλη αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό του

μοριακού βάρους ενός αγνώστου δείγματος, όταν είναι γνωστός ο όγκος έκλουσής του. Επειδή όμως ο όγκος έκλουσης δεν εξαρτάται άμεσα από το μοριακό βάρος, αλλά από το μέγεθος των μακρομορίων, θα πρέπει τα δείγματα που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς και τα αγνώστου μοριακού βάρους δείγματα να έχουν την ίδια χημική σύσταση και την ίδια αρχιτεκτονική (π.χ. γραμμικά ή κυκλικά ή αστεροειδή με ίδιο αριθμό κλάδων κλπ.) και οι μετρήσεις των όγκων έκλουσης σε όλα τα δείγματα να γίνονται υπό τις ίδιες ακριβώς πειραματικές συνθήκες (ροή διαλύτη, θερμοκρασία κλπ) [56]. Σε μία τέτοια περίπτωση η διαδικασία μέτρησης του μοριακού βάρους ενός δείγματος φαίνεται σχηματικά στο Σχήμα 2.2.



Σχήμα 2.2: Προσδιορισμός μοριακού βάρους πολυμερούς χρησιμοποιώντας την κατάλληλη καμπύλη αναφοράς. Στο σχήμα επίσης δίνονται ο κενός όγκος V_o και ο εσωτερικός όγκος των πόρων V_i

Εάν δεν συμμετέχει κάποιος δευτερογενής παράγοντας διαχωρισμού, τότε θεωρητικά προβλέπεται ότι ο χρόνος έκλουσης όλων των πολυμερών εξαρτάται από μια παγκόσμια σταθερά. Μελέτες ιξωδομετρίας σε αραιά διαλύματα έδειξαν ότι μπορούμε να αντιστοιχίσουμε το πολυμερικό μόριο με μια σφαίρα υδροδυναμικού όγκου V_h . Εάν υποθεθεί ότι ο μόνος μηχανισμός διαχωρισμού είναι λόγω μοριακού μεγέθους και όχι κάποιος άλλος δευτερογενής παράγοντας που προαναφέρθηκε, τότε ο χρόνος ή όγκος έκλουσης μπορεί να μετατραπεί σε υδροδυναμικό όγκο του μακρομορίου και

κατ' επέκταση σε μοριακό βάρος. Με τον τρόπο αυτό γίνεται η βαθμονόμηση του οργάνου. Στην περίπτωση των γραμμικών μονομοριακών πολυμερών, η μετατροπή του υδροδυναμικού όγκου σε μοριακό βάρος, για συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες, είναι εύκολη. Στην περίπτωση όμως μειγμάτων ομοπολυμερών, συμπολυμερών και διακλαδισμένων ομοπολυμερών ή συμπολυμερών αυτή η μετατροπή είναι δύσκολη για τους εξής λόγους: για δεδομένο μοριακό βάρος ο όγκος ενός διακλαδισμένου ομοπολυμερούς είναι μικρότερος από του αντίστοιχου γραμμικού και σε ένα συμπολυμερές ο μερικός μοριακός όγκος M_i/V_h είναι διαφορετικός για κάθε μία από τις επαναλαμβανόμενες μονάδες.

2.2 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR)

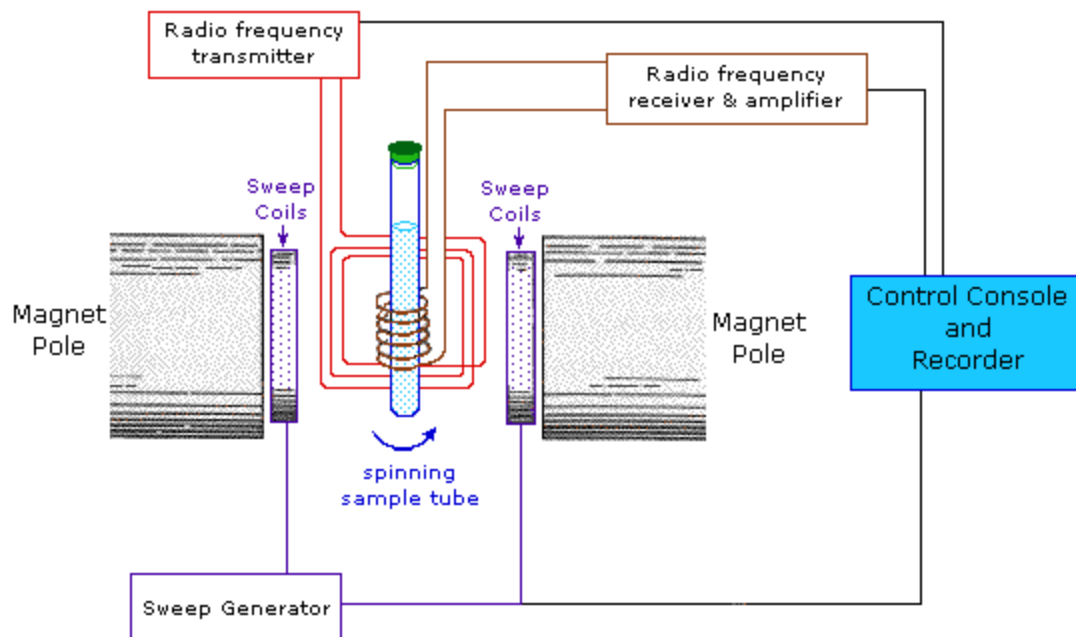
Η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance, NMR)) αποτελεί την πιο χρήσιμη τεχνική ταυτοποίησης μορίων στην χημεία, καθώς προσδιορίζει τον αριθμό και το είδος των ατόμων σε ένα μόριο, καθώς και τον τρόπο σύνδεσής τους [61,62]. Το 1946 δυο ανεξάρτητες ομάδες στα πανεπιστήμια Harvard και Stanford ανακοίνωσαν μια νέα ανακάλυψη για τη συμπεριφορά των ατομικών πυρήνων. Βρήκαν ότι, παρουσία ενός ισχυρού μαγνητικού πεδίου, οι πυρήνες μπορούν να καταλάβουν διάφορες στάθμες δυναμικής ενέργειας και ανέπτυξαν τεχνικές για την ανίχνευση του ελάχιστου ποσού ενέργειας που εκπέμπεται ή απορροφάται, καθώς ο πυρήνας μεταβαίνει από μια ενεργειακή στάθμη σε άλλη [61]. Η φασματοσκοπία NMR παρέχει ένα μεγάλο όγκο πληροφοριών σχετικά με τη δομή της ένωσης, ενώ μπορούμε να προσδιορίσουμε πολλές δομές χρησιμοποιώντας μόνο τη φασματοσκοπία NMR. Για τον προσδιορισμό δομών πολύπλοκων οργανικών ενώσεων η φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται συνήθως σε συνδυασμό με άλλα είδη φασματοσκοπίας και χημικής ανάλυσης. 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 το αντίστοιχο σήμα.

Η φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται για την μελέτη μιας μεγάλης ποικιλίας πυρήνων, όπως ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F και ^{31}P . Οι πυρήνες πρωτονίου (^1H) και άνθρακα (^{13}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 και γι αυτό το λόγο χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα ερευνητική εργασία. 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 μέρη όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.2:

- 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
- Έναν καταγραφέα/υπολογιστή για τη σχεδίαση του γραφήματος των ευρημάτων του ανιχνευτή συναρτήσει του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου.

Ο καταγραφέας καταγράφει το γράφημα της απορρόφησης (άξονας y) σε σχέση με το εφαρμοζόμενο μαγνητικό πεδίο (άξονας x). Οι μεγαλύτερες τιμές του μαγνητικού πεδίου εντοπίζονται προς τα δεξιά, δηλαδή προς την πλευρά υψηλού πεδίου (upfield), ενώ οι μικρότερες προς τα αριστερά, προς την πλευρά χαμηλού πεδίου (downfield). Οι απορροφήσεις των περισσότερων προστατευμένων πρωτονίων εμφανίζονται προς το υψηλότερο πεδίο, ενώ των περισσότερο αποπροστατευμένων, προς το χαμηλότερο πεδίο [63].



Εικόνα 2.2: Σχηματικό διάγραμμα NMR φασματοφωτομέτρου

2.3 Φασματοσκοπία Υπερύθρου (Infrared Spectroscopy, ATR-FTIR)

Η φασματοσκοπία υπερύθρου (Infrared Spectroscopy, IR) είναι μια εύκολη και γρήγορη μέθοδος προκειμένου να ταυτοποιήσουμε χαρακτηριστικές ομάδες σε ένα μόριο. Είναι μια μέθοδος που απαιτεί ελάχιστη ποσότητα δείγματος και σε συνδυασμό με την ταχύτητα λήψης των δεδομένων την καθιστούν ιδιαίτερα χρήσιμη και εύχρηστη στην ταυτοποίηση ενός δείγματος. Η τεχνική της φασματοσκοπίας υπερύθρου μελετά την αλληλεπίδραση της υπέρυθρης ακτινοβολίας με την ύλη και εξάγει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την δονητική κατάσταση των μορίων, μιας και η ενέργεια που απαιτείται για να πραγματοποιηθούν δονητικές μεταβάσεις στο μόριο αντιστοιχεί στην περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος [64,65].

Η υπέρυθρη περιοχή του φάσματος περιλαμβάνει ακτινοβολία στην περιοχή από 14000 cm^{-1} μέχρι 10 cm^{-1} . Το φάσμα της υπέρυθρης ακτινοβολίας υποδιαιρείται συμβατικά σε τρεις περιοχές: την εγγύς, μέση και άπω περιοχή, (εγγύς περιοχή: $14000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$, μέση περιοχή $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$, άπω περιοχή $400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$). 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 ένα σαφή προσδιορισμό (ποιοτική ανάλυση) των διαφορετικών ειδών του υλικού. 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 τη 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. Οι δονήσεις που λαμβάνουν χώρα διακρίνονται σε δονήσεις τάσης και κάμψης.

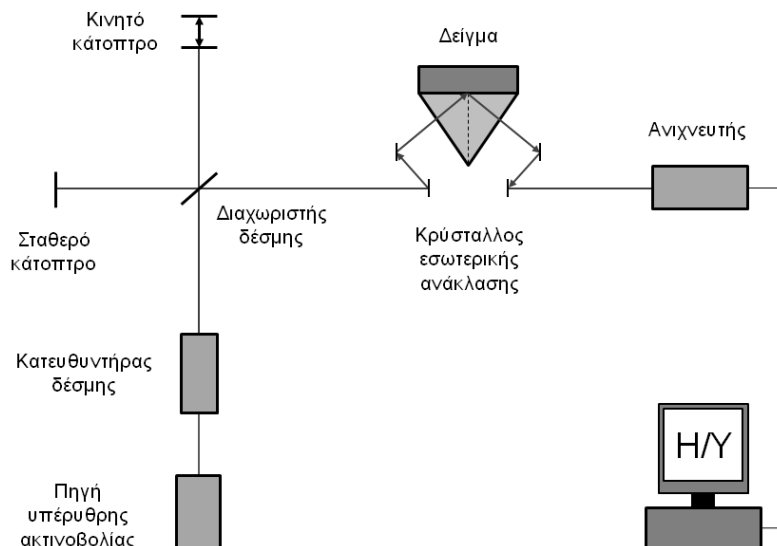
- Δονήσεις τάσης: Τα άτομα δονούνται με ένα συγκεκριμένο τρόπο, πλησιάζουν ή απομακρύνονται μεταξύ τους κινούμενα κατά μήκος του δεσμού. Αυτό χαρακτηρίζεται ως τάση δεσμού. Υπάρχουν δύο είδη τάσης: η συμμετρική όπου και τα άτομα πλησιάζουν ή απομακρύνονται συγχρόνως και η αντισυμμετρική όπου το ένα μόριο πλησιάζει όταν το άλλο απομακρύνεται.
- Δονήσεις κάμψης: Μόρια με περισσότερα από δύο άτομα σχηματίζουν γωνίες που μεταβάλλονται συνεχώς.

Εκτός από τις δονήσεις και τις κάμψεις υπάρχουν και άλλα είδη παραμόρφωσης της δομής των μορίων όπως αιωρήσεις (rocks), σείσεις (wags), συστροφές (twists). Μόνο οι δονήσεις που προκαλούν μεταβολή της διπολικής ροπής οδηγούν σε ταινίες απορρόφησης [66]. Η τεχνική εξασθενημένης ολικής ανάκλασης (Attenuated Total Reflectance, ATR)

χρησιμοποιείται για τη λήψη φασμάτων υπερύθρου πολλών ουσιών όπως πολυμερή, ελαστικά και άλλα στερεά [67].

2.3.1 Πειραματική Διάταξη Φασματοσκοπίας Υπερύθρου

Η πειραματική διάταξη του φωτομέτρου υπερύθρου μετασχηματισμού Fourier που χρησιμοποιήθηκε (Bruker, μοντέλο Equinox 55), διαθέτει πηγή υπέρυθρης ακτινοβολίας η οποία εκπέμπει στην περιοχή του μέσου υπερύθρου. Η πολυχρωματική ακτινοβολία της πηγής διέρχεται από έναν κατευθυντήρα δέσμης και κατευθύνεται σε ένα συμβολόμετρο Michelson, αποτελούμενο από ένα διαχωριστή δέσμης, ένα σταθερό και ένα κινητό κάτοπτρο, το οποίο χρησιμοποιείται για την διαμόρφωση της συχνότητας της ακτινοβολίας. Στη συνέχεια η ακτινοβολία κατευθύνεται στη διάταξη της εσωτερικής ανάκλασης (SENSIR Technologiew, μοντέλο Dura SamplIR II), η οποία αποτελείται από τα κατάλληλα κάτοπτρα, μία βάση που φέρει κρύσταλλο διαμαντιού με διάμετρο 1 mm, δείκτη διάθλασης $n_c = 2.41$ και κυματοδηγό ZnSe. Τέλος η ανακλώμενη ακτινοβολία οδηγείται σε κατάλληλο θερμοηλεκτρικό ανιχνευτή, ο οποίος παρέχει τα δεδομένα σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, όπου πραγματοποιείται ο μετασχηματισμός Fourier του σήματος και εξάγεται το φάσμα υπερύθρου. Στην περίπτωση της συγκεκριμένης διάταξης η χρήσιμη φασματική περιοχή είναι από 5000 έως 525 cm^{-1} . Η συλλογή των δεδομένων γίνεται υπό ροή αζώτου στην οπτική διαδρομή των εξαρτημάτων ATR, έτσι ώστε να απομακρύνονται οι υδρατμοί και το διοξείδιο του άνθρακα της ατμόσφαιρας. Η σχηματική αναπαράσταση της διάταξης παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.3



Σχήμα 2.3: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης φασματοσκοπίας υπερύθρου

2.4 Φασματοκοπία Απορρόφησης Υπεριώδους - Ορατού (UV-Vis Spectroscopy) [66,68]

Η φασματοσκοπία μοριακής απορρόφησης είναι και αυτή μια χρήσιμη αναλυτική μέθοδος της χημείας. Οι περισσότερες από τις φασματοσκοπικές μεθόδους βασίζονται στην επίδραση κατάλληλης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε μια ουσία, που δεσμεύεται από τα άτομα, ή τα μόρια της ύλης και προκαλεί ηλεκτρονιακές διεγέρσεις, διεγέρσεις πυρήνων, αλλαγές στην περιστροφή και τη δόνηση των μορίων. Στη συνέχεια τα άτομα και τα μόρια επιστρέφουν συνήθως στην αρχική τους κατάσταση, αφού αποβάλλουν το ποσό της ενέργειας που απορρόφησαν. Η καταγραφή της απορρόφησης της ακτινοβολίας σε συνάρτηση με το μήκος κύματος, ή τη συχνότητα της ακτινοβολίας αποτελεί το φάσμα απορρόφησης, που είναι γραμμικό στα άτομα και ταινίες στα μόρια.

Η απορρόφηση της ακτινοβολίας στην υπεριώδη περιοχή (ενέργεια περίπου 100Kcal/mole) προκαλεί μεταβολές ηλεκτρονιακές, δόνησης και περιστροφής. Ο διαχωρισμός των ηλεκτρονιακών και των γειτονικών ταινιών δόνησης και περιστροφής δεν είναι δυνατός, το τελικό αποτέλεσμα είναι η λήψη ευρείων κορυφών. Στο υπεριώδες διακρίνουμε δύο περιοχές: α) το εγγύς υπεριώδες (400 με 190 nm) και β) το άπω υπεριώδες (190 με 100 nm). Η συνήθης οργανολογία περιορίζεται στο εγγύς υπεριώδες, διότι η απορρόφηση κάτω από

τα 190 nm α) από το διοξείδιο του πυριτίου (χαλαζία), υλικό από το οποίο είναι κατασκευασμένα τα οπτικά εξαρτήματα (κυψελίδες) και β) από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο, δεν επιτρέπει μετρήσεις στο άπω υπεριώδες.

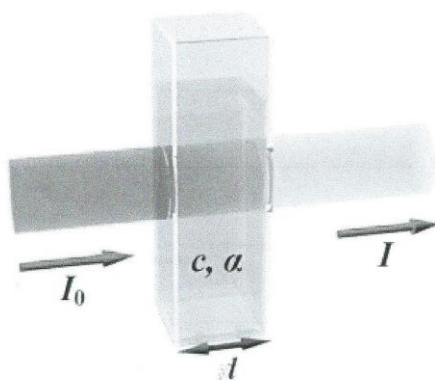
Για να πραγματοποιηθεί απορρόφηση ακτινοβολίας, τα φωτόνια που προσκρούουν στο δείγμα πρέπει να έχουν ενέργεια ίση με αυτή που χρειάζεται για να προκληθεί μια κβαντισμένη ενεργειακή μεταβολή.

Η ενέργεια των ηλεκτρονιακών μεταπτώσεων είναι της τάξης μερικών eV, δίνεται από τον τύπο:

$$E = E_1 - E_2 = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad (2.3)$$

Όπου E η ενέργεια, h η σταθερά του Planck, ν συχνότητα της ακτινοβολίας και λ το μήκος κύματος.

Οι ποσοτικές μετρήσεις που δίνει η φασματοσκοπία UV-Vis στηρίζονται στο ότι η απορρόφηση της ακτινοβολίας εξαρτάται από την ποσότητα της ουσίας που απορροφά την ακτινοβολία. Η ποσοτική σχέση δίνεται από το νόμο Beer-Lambert. Στο Σχήμα 2.4 απεικονίζεται μια κυψελίδα η οποία περιέχει διάλυμα μιας ουσίας, μέσα από την οποία διέρχεται ακτινοβολία αρχικής έντασης I_0 και εξέρχεται ακτινοβολία έντασης I.



Σχήμα 2.4: Ακτινοβολία διερχόμενη μέσα από τη κυψελίδα η οποία περιέχει κάποιο διάλυμα χημικής ουσίας

Σύμφωνα με το νόμο Beer-Lambert ισχύει:

$$I = I_0 e^{-\alpha C l} \quad (2.4)$$

Όπου c η συγκέντρωση του διαλύματος, l η διαδρομή που κάνει η ακτινοβολία μέσα στο διάλυμα και α ο συντελεστής απορρόφησης, ο οποίος εξαρτάται από το μόριο ή ιόν που απορροφά σε ορισμένο διαλύτη και από τη συχνότητα της ακτινοβολίας.

Η σχέση (2.4) μετασχηματίζεται σε λογαριθμική μορφή:

$$\log \frac{I}{I_0} = -\epsilon C l \quad (2.5)$$

Το ϵ είναι ο μοριακός συντελεστής απορρόφησης (molar absorption coefficient) και συνδέεται με το συντελεστή απορρόφησης α με τη σχέση:

$$\epsilon = \frac{\alpha}{2.303} \quad (2.6)$$

Το γινόμενο $\epsilon C l$ ονομάζεται απορρόφηση A , absorbance.

$$A = \epsilon C l \quad (2.7)$$

Ο λόγος $\frac{I}{I_0}$ ονομάζεται διαπερατότητα T .

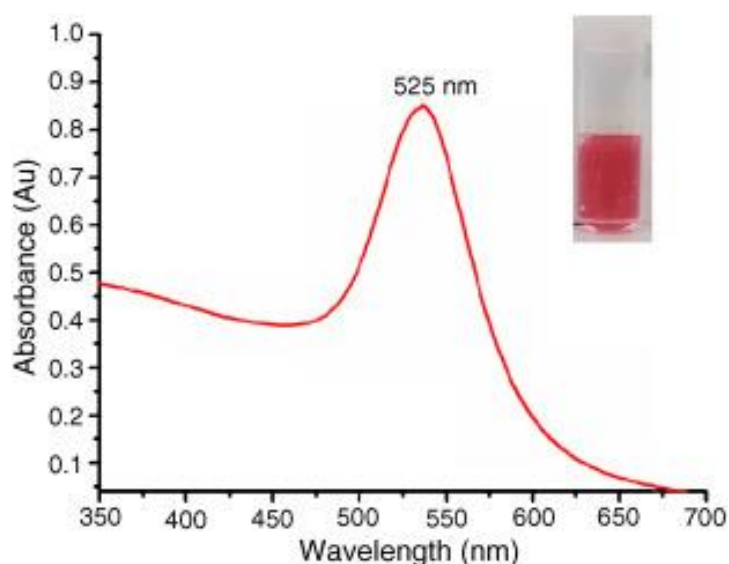
$$T = \frac{I}{I_0} \quad (2.8)$$

Από τις σχέσεις (2.5) και (2.8) ισχύει

$$A = -\log T \quad (2.9)$$

Ο νόμος του Beer ισχύει όταν: 1) η προσπίπτουσα ακτινοβολία είναι μονοχρωματική, 2) τα χημικά είδη που απορροφούν δρουν ανεξάρτητα στη διαδικασία απορρόφησης, 3) η απορρόφηση συμβαίνει σε έναν όγκο ομοιόμορφης διατομής, 4) η ενεργειακή υποβάθμιση είναι γρήγορη (όχι φθορισμός). Γενικά ισχύει για αραιά διαλύματα.

Η γραφική απεικόνιση της απορρόφησης ενός διαλύματος σε σχέση με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας δίνει το φάσμα απορρόφησης της διαλυμένης ουσίας. Το μήκος κύματος στο οποίο παρατηρείται το μεγαλύτερο ποσοστό απορρόφησης, ονομάζεται μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης και συμβολίζεται με λ_{\max} . Η τιμή του λ_{\max} είναι χαρακτηριστική της ουσίας, άρα μας δίνει ποιοτική πληροφορία. Το εμβαδόν της κορυφής του φάσματος σχετίζεται με τη ποσότητα της ουσίας, άρα δίνει ποσοτική πληροφορία.



Σχήμα 2.5: Χαρακτηριστικό φάσμα απορρόφησης UV-Vis ακτινοβολίας

2.5 Φασματοσκοπία Φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy, FS)

Μέσω της φασματοσκοπίας φθορισμού είναι εύκολο να ανιχνευθούν συγκεκριμένα μόρια με πολύ καλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα. Η φασματοσκοπία φθορισμού αποτελεί μια πολύ σημαντική τεχνική, κυρίως στη βιολογία, αλλά τελευταία χρησιμοποιείται ευρέως και στην επιστήμη των πολυμερών [69,70].

Ο φθορισμός είναι αποτέλεσμα μιας διαδικασίας τριών σταδίων: Στο 1^ο στάδιο, ένα φωτόνιο ενέργειας $h\nu_{EX}$ προερχόμενο από εξωτερική πηγή (laser) απορροφάται από το φθορίζον μόριο και έτσι δημιουργείται μια διεγερμένη ηλεκτρονική κατάσταση (S_1).

Στη συνέχεια στο 2^ο δεύτερο στάδιο, η διεγερμένη κατάσταση υπάρχει για περιορισμένο χρονικό διάστημα (1-10 ns). Κατά την χρονική περίοδο αυτή το φθορίζον μόριο αλλάζει διαμόρφωση και μπορεί να αλληλεπιδράσει με πολλούς διαφορετικούς τρόπους με το περιβάλλον του. Όλες αυτές οι διαδικασίες έχουν ως αποτέλεσμα η κατάσταση S_1 να δώσει μια καινούργια διεγερμένη την S_2 από την οποία προέρχεται ο φθορισμός.

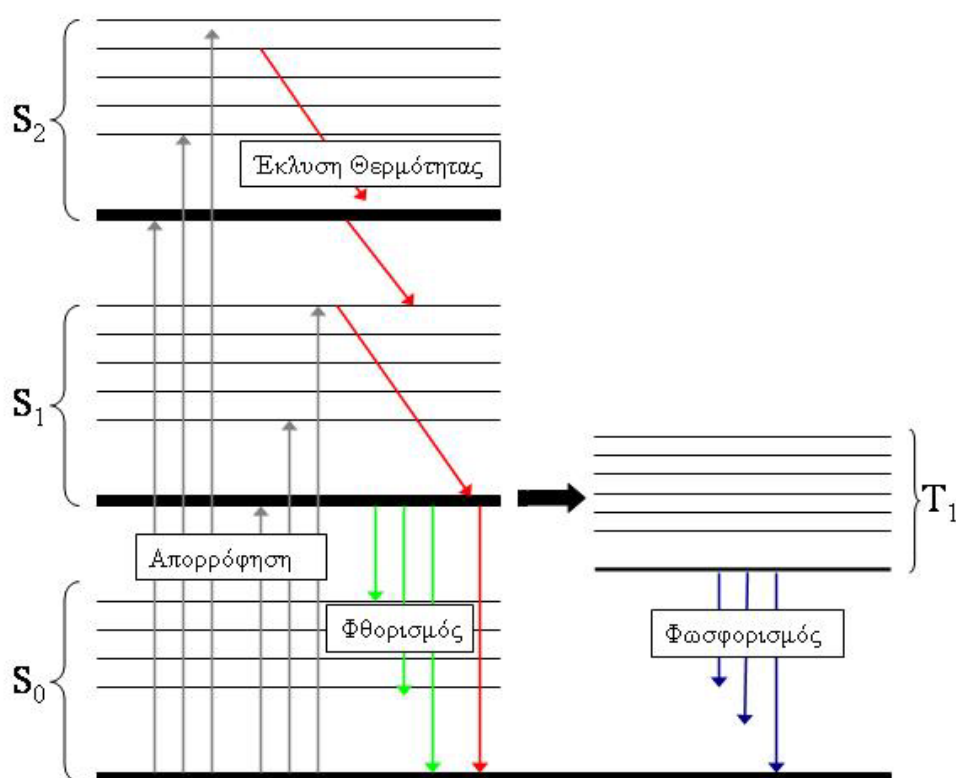
Τελικά στο 3^ο στάδιο, ένα φωτόνιο $h\nu_{EM}$ εκπέμπεται με αποτέλεσμα το φθορίζον μόριο να επιστρέψει στη βασική κατάσταση S_0 . Λόγω της ενέργειας που απελευθερώθηκε κατά την διάρκεια της διεγερμένης κατάστασης, η ενέργεια του φωτονίου $h\nu_{EX}$ είναι μικρότερη και άρα μεγαλύτερου μήκους κύματος από την $h\nu_{EX}$.

Η διαφορά αυτή στην ενέργεια ή στο μήκος κύματος ($h\nu_{EX}-h\nu_{EM}$) λέγεται μετατόπιση Stokes. Αυτή η μετατόπιση Stokes είναι πολύ βασική για την ευαισθησία της τεχνικής επειδή επιτρέπει στην εκπομπή των φωτονίων να ανιχνευθεί σε πολύ χαμηλό υπόβαθρο, απομονωμένη από φωτόνια που χρησιμοποιούνται για διέγερση.

Γενικά η διαδικασία φθορισμού είναι επαναλαμβανόμενη εκτός και εάν συντρέχουν κάποιοι λόγοι (π.χ. το φθορίζον μόριο καταστρέφεται όταν διεγείρεται), όμως γενικά το ίδιο μόριο μπορεί να διεγείρεται και να ανιχνεύεται επαναλαμβανόμενα.

Το γεγονός ότι το φθορίζον μόριο μπορεί να εκπέμπει αρκετά ανιχνεύσιμα φωτόνια είναι ένας από τους βασικούς λόγους για την υψηλή ευαισθησία της

φθορισμομετρίας. Για πολυατομικά μόρια σε διάλυμα οι ηλεκτρονικές μεταβάσεις ($h\nu_{EX}, h\nu_{EM}$) μετατρέπονται σε ενεργειακά φάσματα τα οποία λέγονται φάσματα φθορισμού διέγερσης και εκπομπής αντίστοιχα. Τα φάσματα φθορισμού διέγερσης ενός φθορίζοντος μορίου σε διάλυμα είναι ακριβώς τα ίδια με αυτά των φασμάτων απορρόφησης αυτού, κάτι που ισχύει στις περισσότερες περιπτώσεις. Το φάσμα εκπομπής του φθορίζοντος μορίου είναι ανεξάρτητο από το μήκος κύματος του φωτονίου που το διεγείρει λόγω της αποβολής ενέργειας που συμβαίνει μεταξύ των καταστάσεων S_1 και S_2 αρκεί οι συνθήκες του πειράματος να παραμένουν ίδιες.



Σχήμα 2.6: Ενεργειακές στάθμες και μεταπτώσεις μορίου φθορίζουσας ένωσης. S_0 , S_1 , S_2 : Θεμελιώδης, πρώτη και δεύτερη διεγερμένη ηλεκτρονική απλή κατάσταση. T_1 : Πρώτη τριπλή διεγερμένη ηλεκτρονική κατάσταση. \rightarrow διέγερση που οφείλεται σε απορρόφηση ακτινοβολίας, \rightarrow μεταπτώση λόγω δονητικής επαναφοράς και εσωτερικής μετατροπής που συνεπάγεται έκλυση θερμότητας, \rightarrow εκπομπή φθορισμού, \rightarrow εκπομπή φωσφορισμού και \rightarrow διασυστηματική διασταύρωση [71]

Ακόμα και όταν το μόριο δεν είναι φθορίζον υπάρχει η δυνατότητα να προστεθεί στο διάλυμα αυτού κάποιο φθορίζον μόριο, το οποίο μέσω μιας αλληλεπίδρασης (χημικής ή φυσικής) να μεταφέρει πληροφορία για το μελετώμενο σύστημα. Στην επιστήμη πολυμερών μια από τις πλέον χρησιμοποιούμενες ενώσεις-ανιχνευτές είναι το πυρένιο.

Το συγκεκριμένο φθορίζον μόριο, έχει βρεθεί ότι είναι ευαίσθητο στην αλλαγή της πολικότητας του περιβάλλοντός του. Ο λόγος των εντάσεων της πρώτης και της τρίτης δονητικής μπάντας I_1/I_3 μεταβάλλεται με την μεταβολή της πολικότητας του περιβάλλοντος του πυρενίου. Πιο συγκεκριμένα η μπάντα I_1 είναι ευαίσθητη στην μεταβολή της πολικότητας και η έντασή της μειώνεται όσο το περιβάλλον μετατρέπεται από πολικό σε άπολο. Αντίθετα η μπάντα I_3 παραμένει αμετάβλητη στις αλλαγές πολικότητας. Μέσω του λόγου I_1/I_3 , δηλαδή της μεταβολής αυτού, είναι δυνατό να εξαχθούν συμπεράσματα για το μικροπεριβάλλον που βρίσκεται το πυρένιο και εμμέσως για την κατάσταση που βρίσκεται το πολυμερές στο διάλυμα. Όταν σχηματίζονται μικκύλια με υδρόφοβο πυρήνα, τα μόρια πυρενίου μεταφέρονται σε αυτόν οπότε έμμεσα μπορεί να ανιχνευθεί η κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση (CMC) του συστήματος, δηλαδή η συγκέντρωση στην οποία παρατηρείται για πρώτη φορά σχηματισμός μικκυλίων.

2.6 Σκέδαση Φωτός (Light Scattering)

Οι τεχνικές σκέδασης φωτός χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μελέτη πολυμερικών διαλυμάτων και παρέχουν σημαντικές πληροφορίες αναφορικά με τις στατικές, υδροδυναμικές και θερμοδυναμικές ιδιότητες των πολυμερικών μορίων στο διάλυμα. Η σκέδαση φωτός επιτρέπει τον προσδιορισμό του απόλυτου $\langle M_w \rangle$ και της γυροσκοπικής ακτίνας, $\langle R_g^2 \rangle$ (στατική σκέδαση φωτός), καθώς και της υδροδυναμικής ακτίνας R_h (δυναμική σκέδαση φωτός).

Οι πρώτες μελέτες σκέδασης του φωτός από διαλύματα έγιναν από τον Faraday τον περασμένο αιώνα κατά την μελέτη κolloειδών διασπορών του χρυσού. Οι μελέτες αυτές συνεχίστηκαν από τον Tyndall και ολοκληρώθηκαν από τον λόρδο Rayleigh, όταν το 1871 θεμελίωσε τη θεωρία σκέδασης φωτός από σωματίδια που έχουν μέγεθος πολύ μικρότερο σε σχέση με το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.

Η βασική αρχή λειτουργίας των τεχνικών αυτών έγκειται στη μέτρηση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας από το διάλυμα σε διάφορες κατευθύνσεις σε σχέση με την προσπίπτουσα ακτινοβολία. Όταν μια δέσμη φωτός προσπέσει σ' 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 είναι πολύ μεγαλύτερη από εκείνη των διαλυμάτων των “μικρών” μορίων. 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 [71].

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 θα πρέπει να έχει καθόλου σκόνη γιατί τα σωματίδια σκόνης αποτελούν και αυτά με τη σειρά τους κέντρα σκέδασης και δεν θα πρέπει να είναι πολύ πυκνό για να μην γίνεται πολλαπλή σκέδαση.

2.6.1 Στατική Σκέδαση Φωτός (Static Light Scattering, SLS)

Στην περίπτωση της στατικής σκέδασης φωτός [72 – 75] η μέση χρονική τιμή της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, μετράται συναρτήσει της γωνίας θ και της συγκέντρωσης του διαλύματος c και εκφράζεται μέσω του λόγου Rayleigh, R_θ , ο οποίος ορίζεται ως:

$$R_{\theta} = \frac{d^2}{V f I_0} I_s \quad (2.10)$$

όπου d είναι η απόσταση μεταξύ δείγματος και ανιχνευτή, V ο όγκος σκέδασης, 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 ή/και από διακυμάνσεις συγκέντρωσης σε ένα διάλυμα. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, η συνεισφορά των διακυμάνσεων συγκέντρωσης στη σκέδαση εκφράζεται μέσω της σχέσης:

$$\Delta R_{\theta} = R_{\theta, \text{διαλύματος}} - R_{\theta, \text{διαλύτη}} \quad (2.11)$$

Όπως φαίνεται στη σχέση (2.10), ο λόγος R_{θ} εξαρτάται από τη γεωμετρία της πειραματικής διάταξης. Για το λόγο αυτό στην πράξη υπολογίζεται ο απόλυτος λόγος R_{θ} , ο οποίος κανονικοποιείται ως προς πρότυπους διαλύτες όπως το τολουόλιο ως εξής:

$$R_{\theta} = R_T \frac{n_0^2}{n_T^2} \frac{I_S}{I_{S,T}} \quad (2.12)$$

όπου R_T ο λόγος Rayleigh του τολουολίου, n_0 και n_T 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 ΔR_θ συνδέεται με τα μοριακά χαρακτηριστικά του πολυμερούς και τις θερμοδυναμικές ιδιότητες του διαλύματος μέσω της εξίσωσης Zimm:

$$\frac{Kc}{\Delta R_\theta} = \frac{1}{M_w} \left(1 + \frac{1}{3} R_g^2 q^2 \right) + 2A_2c \quad (2.13)$$

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

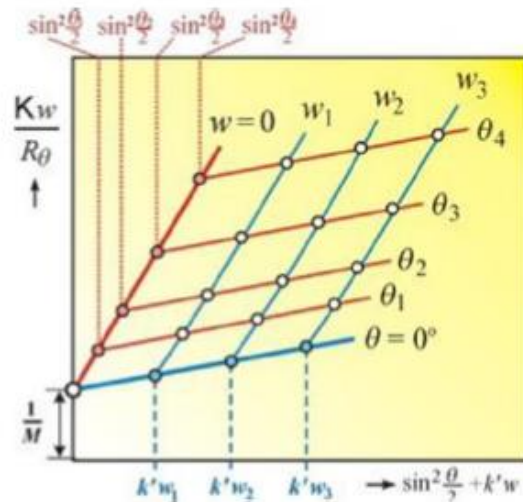
$$q = \frac{4\pi n_0}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.14)$$

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

$$K = \frac{4\pi^2 n_0^2}{\lambda^4 N_A} \left(\frac{\partial n}{\partial c} \right)^2 \quad (2.15)$$

όπου N_A ο αριθμός του Avogadro και $\partial n / \partial c$ ο διαφορικός δείκτης διάθλασης.

Μέσω της εξίσωσης (2.13) και με βάση μετρήσεις σε πολλαπλές γωνίες θ και συγκεντρώσεις c , προκύπτει το διάγραμμα Zimm. 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 υπολογίζεται από τις κλίσεις των ευθειών για $\theta=0$ και $c=0$, αντίστοιχα.



Σχήμα 2.7: Διάγραμμα Zimm

Μέσω της σχέσης (2.13) διαπιστώνεται ότι ο διαφορικός δείκτης διάθλασης $\partial n/\partial c$ του πολυμερικού διαλύματος, είναι παράμετρος απαραίτητη για την ανάλυση των μετρήσεων στατικής σκέδασης φωτός. Η παράμετρος αυτή αποτελεί το μέτρο της μεταβολής του δείκτη διάθλασης του διαλύματος συναρτήσει της αύξησης της συγκέντρωσης του πολυμερούς, είναι χαρακτηριστική του κάθε συστήματος πολυμερούς-διαλύτη και μετράται με τη χρήση διαφορικών διαθλασιμέτρων. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην περίπτωση συμπολυμερών κατά συστάδες και διαλυμάτων που περιέχουν δύο ή περισσότερα μόρια τα οποία δεν παρουσιάζουν ειδική αλληλεπίδραση μεταξύ τους, ο διαφορικός δείκτης διάθλασης του διαλύματος $(\partial n/\partial c)_{ολικό}$ μπορεί να υπολογιστεί ως ο σταθμισμένος μέσος όρος των διαφορικών δεικτών διάθλασης $(\partial n/\partial c)_1$ και $(\partial n/\partial c)_2$ των επιμέρους συστατικών, ως εξής:

$$\left(\frac{\partial n}{\partial c}\right)_{ολικό} = w_1 \left(\frac{\partial n}{\partial c}\right)_1 + w_2 \left(\frac{\partial n}{\partial c}\right)_2 \quad (2.16)$$

όπου w_1 και w_2 τα κλάσματα βάρους των δύο συστατικών.

2.6.2 Δυναμική Σκέδαση Φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS) [57,72,77,78]

Η τεχνική της δυναμικής σκέδασης φωτός [73-75] στηρίζεται στο γεγονός ότι η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας ενός συστήματος, είτε πρόκειται για καθαρό υγρό είτε για πολυμερικό διάλυμα, παρουσιάζει διακυμάνσεις συναρτήσει του χρόνου. Οι διακυμάνσεις αυτές οφείλονται στο ότι τα μόρια του συστήματος βρίσκονται σε κίνηση Brown και οι μεταξύ τους αποστάσεις διαρκώς μεταβάλλονται. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η σκεδαζόμενη ακτινοβολία να υπόκειται σε ενισχυτική ή καταστρεπτική συμβολή και οι διακυμάνσεις της έντασης που προκύπτουν να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τη χρονική κλίμακα της κίνησης των μορίων.

Οι διακυμάνσεις της έντασης I της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας συναρτήσει του t , εκφράζονται μέσω της συνάρτησης αυτοσυσχέτισης:

$$g_2(q, \tau) = \frac{\langle I(t)I(t+\tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \quad (2.17)$$

όπου q το διάνυσμα σκέδασης και τ ο χρόνος υστέρησης ή ο χρόνος δειγματοληψίας. Για μικρούς χρόνους υστέρησης η συσχέτιση είναι ισχυρή, ενώ για μεγαλύτερους χρόνους υστέρησης η συσχέτιση φθίνει εκθετικά, υποδηλώνοντας την απώλεια συσχέτισης μεταξύ της αρχικής και τελικής κατάστασης του συστήματος κατά την πάροδο μεγάλων χρονικών διαστημάτων, συγκριτικά με τους χαρακτηριστικούς χρόνους της διαδικασίας διάχυσης. Η εκθετική αυτή μείωση της συσχέτισης συνδέεται με την κίνηση των μορίων του συστήματος και συγκεκριμένα με τον συντελεστή διάχυσης D .

Η μετρούμενη συνάρτηση αυτοσυσχέτισης της σκεδαζόμενης έντασης $g_2(q, \tau)$, συνδέεται με την συνάρτηση αυτοσυσχέτισης του σκεδαζόμενου ηλεκτρικού πεδίου $g_1(q, \tau)$, μέσω της εξίσωσης Siegert:

$$g_2(q, \tau) = 1 + \beta g_1^2(q, \tau) \quad (2.18)$$

όπου β είναι ένας συντελεστής διόρθωσης, ο οποίος εξαρτάται από την πειραματική διάταξη.

Στην απλή περίπτωση διάχυσης μονοδιάσπαρτων μη αλληλεπιδρώντων σωματιδίων η $g_1(q, \tau)$ δίνεται από τη σχέση:

$$g_1(q, \tau) = \exp(-\Gamma \tau) \quad (2.19)$$

όπου Γ ο ρυθμός υστέρησης ή σταθερά χαλάρωσης του συστήματος, ο οποίος συνδέεται με το συντελεστή διάχυσης D και το διάνυσμα σκέδασης q , ως εξής:

$$\Gamma = D q^2 \quad (2.20)$$

Μέσω του συντελεστή διάχυσης D μπορεί να υπολογιστεί η υδροδυναμική ακτίνα R_h των σωματιδίων, με χρήση της σχέσης Stokes-Einstein:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} \quad (2.21)$$

όπου k_B η σταθερά Boltzmann, T η απόλυτη θερμοκρασία και η το ιξώδες του διαλύματος.

Στις περισσότερες περιπτώσεις τα συστήματα είναι πολυδιάσπαρτα και η $g_1(q, \tau)$ εκφράζεται ως άθροισμα των εκθετικών μειώσεων που αντιστοιχούν σε κάθε ένα είδος σωματιδίων του συστήματος, οπότε:

$$g_1(q, \tau) = \sum_{i=1}^n G_i(\Gamma_i) \exp(-\Gamma_i \tau) = \int G(\Gamma) \exp(-\Gamma \tau) d\Gamma \quad (2.22)$$

όπου $G(\Gamma)$ η συνάρτηση κατανομής των χρόνων χαλάρωσης, η οποία εξαρτάται από την κατανομή μεγεθών των σωματιδίων του συστήματος.

Για την ανάλυση της συνάρτησης αυτοσυσχέτισης $g_1(q, \tau)$ έχουν αναπτυχθεί διάφορες μαθηματικές διαδικασίες. Δύο από τις πλέον διαδεδομένες διαδικασίες αυτές, είναι η μέθοδος των αθροισμάτων (cumulant method) [78]

και οι τεχνικές κανονικοποίησης (regularization method), οι οποίες εφαρμόζονται μέσω του προγράμματος CONTIN [79].

Σύμφωνα με τη μέθοδο των αθροισμάτων, η $g_1(q, \tau)$ εκφράζεται ως ένα πολυώνυμο 2^{ης} ή 3^{ης} τάξης ως προς το χρόνο τ , μέσω της σχέσης :

$$\ln g_1(q, \tau) = -\bar{\Gamma} \tau + \frac{\mu_2}{2!} \tau^2 - \frac{\mu_3}{3!} \tau^3 \quad (2.23)$$

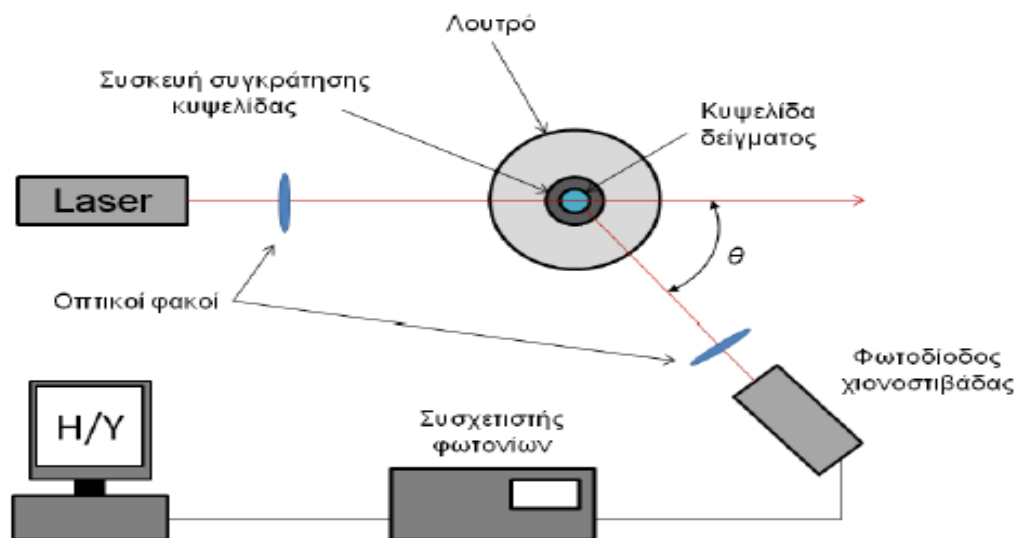
όπου $\bar{\Gamma}$ η μέση τιμή της σταθεράς χαλάρωσης και μ_2, μ_3 οι 2^{ης} και 3^{ης} τάξης συντελεστές του πολυωνύμου. Μέσω του υπολογισμού του $\bar{\Gamma}$ μπορεί να εξαχθεί η z-μέση τιμή του συντελεστή D σε μία ή περισσότερες γωνίες, μέσω της σχέσης (2.20) η οποία μετασχηματίζεται σε :

$$\bar{\Gamma} = D_z q^2 \quad (2.24)$$

Επιπροσθέτως, μέσω του συντελεστή μ_2 υπολογίζεται ο δείκτης πολυδιασποράς (polydispersity index) του συστήματος, PDI ο οποίος ορίζεται ως:

$$PDI = \frac{\mu_2}{\bar{\Gamma}^2} \quad (2.25)$$

Με χρήση του προγράμματος CONTIN υπολογίζονται οι πιθανές λύσεις της εξίσωσης (2.22) για την συνάρτηση $G(\Gamma)$, μέσω ενός αντιστρόφου μετασχηματισμού Laplace. Εν συνεχεία, το πρόγραμμα επιλέγει τη βέλτιστη δυνατή λύση για την $G(\Gamma)$, απορρίπτοντας λύσεις που παρουσιάζουν πολυπλοκότητα, υποθέτωντας είτε ότι αυτές είναι λιγότερο πιθανές από φυσική άποψη, είτε ότι οφείλονται σε πειραματικές απροσδιοριστίες. Με τον τρόπο αυτό εξάγεται η συνάρτηση κατανομής των χρόνων χαλάρωσης του συστήματος, η οποία μπορεί να μετασχηματιστεί σε συνάρτηση κατανομής της υδροδυναμικής ακτίνας των σωματιδίων του συστήματος, μέσω των σχέσεων (2.20) και (2.21)



Εικόνα 2.3: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης στατικής και δυναμικής σκέδασης φωτός.

2.6.3 Ηλεκτροφορητική Σκέδαση Φωτός (Electrophoretic Light Scattering, ELS – ζ-δυναμικό)

Όταν ένα φορτισμένο σωματίδιο ή μακρομόριο βρεθεί σε περιβάλλον πολικού διαλύτη, τα επιφανειακά φορτία του σωματιδίου αλληλεπιδρούν με τα ιόντα του διαλύτη μέσω ηλεκτροστατικών δυνάμεων, με αποτέλεσμα το σχηματισμό γύρω από το σωματίδιο μίας ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας (Electrical Double Layer, EDL), η οποία καλείται και στοιβάδα Debye. Η διπλοστοιβάδα αυτή αποτελείται κυρίως από ιόντα αντίθετου φορτίου ως προς το επιφανειακό φορτίο του σωματιδίου, των οποίων η συγκέντρωση μειώνεται καθώς αυξάνεται η απόσταση από την επιφάνεια του φορτίου. Ως, αποτέλεσμα το δυναμικό της διπλοστοιβάδας παρουσιάζει εκθετική μείωση συναρτήσει της απόστασης από την επιφάνεια του σωματιδίου [80-82].

Η διπλή στοιβάδα μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελείται από δύο τμήματα: μια εσωτερική περιοχή, η οποία περιλαμβάνει ιόντα δεσμευμένα σχετικά ισχυρά με τη φορτισμένη επιφάνεια και ονομάζεται στοιβάδα Stern, και μια εξωτερική (διάχυτη) περιοχή, στην οποία η κατανομή των αντισταθμιστικών ιόντων καθορίζεται από μια ισορροπία μεταξύ ηλεκτροστατικών δυνάμεων και τυχαίας

θερμικής κίνησης [83]. Η εξωτερική περιοχή ονομάζεται στοιβάδα Gouy-Chapman.

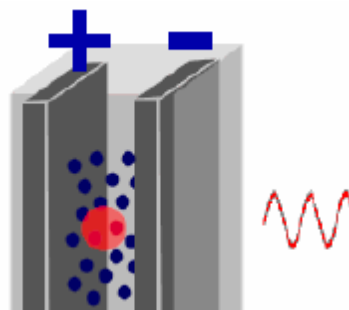
Στη στοιβάδα Stern η μείωση της τιμής του ηλεκτρικού δυναμικού είναι γραμμική ενώ στην εξωτερική στοιβάδα η μείωση είναι εκθετική.

Το δυναμικό που αναπτύσσεται μεταξύ της εσωτερικής στοιβάδας Stern και της εξωτερικής διάχυτης στοιβάδας ονομάζεται ζ-δυναμικό. Το ζ-δυναμικό συνήθως, αλλά όχι απαραίτητα, έχει το ίδιο πρόσημο με το δυναμικό της επιφάνειας του φορτισμένου σωματιδίου, αλλά σε αντίθεση με το δυναμικό της επιφάνειας είναι πολύ εύκολο να μετρηθεί πειραματικά. Επιπλέον, επειδή αντανakλά το φαινόμενο (δραστικό) φορτίο πάνω στα σωματίδια, το ζ-δυναμικό έχει αποδειχθεί εξαιρετικά αξιόπιστο σε πρακτικές μελέτες και ελέγχους της σταθερότητας κolloειδών συστημάτων.

Ένα κolloειδές σύστημα παραμένει σταθερό αν και μόνο αν οι ηλεκτροστατικές απωστικές δυνάμεις μεταξύ των σωματιδίων (οι οποίες προέρχονται από το καθαρό φορτίο στην επιφάνεια των σωματιδίων), είναι ισχυρότερες από τις ελκτικές δυνάμεις Van der Waals μεταξύ των όμοιων σωματιδίων. Έτσι όταν η απόλυτη τιμή του ζ-δυναμικού είναι μεγάλη ($>30\text{mV}$) τα διεσπαρμένα σωματίδια είναι πολύ σταθερά λόγω των αμοιβαίων ηλεκτροστατικών απώσεων, ενώ όταν το ζ-δυναμικό είναι κοντά στο μηδέν η συσσωμάτωση είναι πολύ γρήγορη και προκαλείται καταβύθιση. Συνεπώς το ζ-δυναμικό είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος για τον χαρακτηρισμό των κolloειδών συστημάτων διασποράς.

Η αρχή για τον προσδιορισμό του ζ-δυναμικού είναι πολύ απλή. Με ηλεκτρόδια εμβαπτισμένα στο δείγμα του κolloειδούς εφαρμόζεται ένα σταθερό ηλεκτρικό πεδίο και αυτό προκαλεί την κίνηση των σωματιδίων προς το ηλεκτρόδιο με αντίθετη πολικότητα. Οι ιξώδεις δυνάμεις που δρουν πάνω στο κινούμενο σωματίδιο τείνουν να αντισταθούν σε αυτή την κίνηση και έτσι αναπτύσσεται γρήγορα μια ισορροπία μεταξύ των φαινομένων της ηλεκτροστατικής έλξης και του ιξώδους μέσου. Συνεπώς, τα σωματίδια φτάνουν σε μια σταθερή τελική ταχύτητα. Η ταχύτητα αυτή εξαρτάται από την ένταση του ηλεκτρικού πεδίου, τη διηλεκτρική σταθερά και το ιξώδες του μέσου, καθώς και το ζ-δυναμικό του σωματιδίου.

Επειδή σε ένα υδατικό αιώρημα το ιξώδες και η διηλεκτρική σταθερά είναι γνωστά, αυτό που χρειάζεται για να υπολογιστεί το ζ-δυναμικό των σωματιδίων είναι η ταχύτητα με την οποία κινούνται. Σε μια τυπική μέτρηση ζ-δυναμικού ή ηλεκτροφορητικής σκέδασης του φωτός, όπως αλλιώς λέγεται, ένα μέρος του δείγματος τοποθετείται σε μια κυψελίδα και υπόκειται σε ηλεκτροφόρηση μέσω δύο ηλεκτροδίων. Στο δείγμα προσπίπτει μια δέσμη μονοχρωματικής ακτινοβολίας (laser) και η σκεδαζόμενη από το διάλυμα ακτινοβολία συλλέγεται από έναν ανιχνευτή (εικόνα 2.4). Όσο μεγαλύτερη είναι η ταχύτητα των σωματιδίων του κolloειδούς (εξαρτάται από το φορτίο τους) τόσο μεγαλύτερη θα είναι η μεταβολή στη συχνότητα της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας (φαινόμενο Doppler) [84] Ένας διαχωριστής (splitter) χρησιμοποιείται ώστε ένα μέρος της ακτινοβολίας που εκπέμπει το laser να φτάνει απευθείας στον ανιχνευτή χωρίς να προσπίπτει πάνω στο δείγμα. Συσχετίζοντας τις δύο διαφορετικές ακτινοβολίες που φτάνουν στον ανιχνευτή (προσπίπτουσα και σκεδαζόμενη) είναι εύκολο να προσδιοριστεί η μετατόπιση Doppler, η οποία χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της ταχύτητας των σωματιδίων.



Εικόνα 2.4: Σχηματική παράσταση μιας πειραματικής διάταξης μέτρησης του ζ-δυναμικού. Τα σωματίδια κινούνται προς τα αντίθετα φορτισμένα ηλεκτρόδια και με μια δέσμη laser μετράται η ταχύτητά τους

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

$$\zeta = \frac{\eta}{\varepsilon} U_e \quad (2.26)$$

όπου η είναι το ιξώδες, ε η διηλεκτρική σταθερά του μέσου και U_e η ηλεκτροφορητική κινητικότητα (electrophoretic mobility) των σωματιδίων, που εκφράζεται ως:

$$U_e = \frac{v}{V/L} \quad (2.27)$$

όπου, v , η ταχύτητα των σωματιδίων, V , η εφαρμοζόμενη τάση και L η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων. Εφόσον όλα τα μεγέθη των σχέσεων 2.26 και 2.27 είναι γνωστά, είναι πολύ εύκολο να προσδιοριστεί το ζ-δυναμικό των σωματιδίων.

2.7 Θερμοσταθμική Ανάλυση (TGA)

Η θερμική ανάλυση στην ευρύτερή της έννοια μελετά φυσικές ή χημικές αλλαγές σε ένα δείγμα που είναι συνέπειες μεταβολής της θερμοκρασίας. Ειδικότερα η θερμοσταθμική ανάλυση βασίζεται στη συνεχή παρακολούθηση της μάζας του δείγματος ως συνάρτηση της θερμοκρασίας. Η μάζα του δείγματος προσδιορίζεται με τη βοήθεια ζυγού, ο οποίος τοποθετείται σε φούρνο ελεγχόμενης θερμοκρασίας. Η μεταβολή της μάζας καταγράφεται ως συνάρτηση της θερμοκρασίας που το αποτέλεσμα δίνεται με τη μορφή διαγράμματος (θερμογράφημα).

Οι μεταβολές που καταγράφονται κατά τη θερμοσταθμική ανάλυση είναι σχετικές με την αλλαγή στο βάρος του δείγματος. Έτσι μπορούν να μελετηθούν χημικές αντιδράσεις, καθώς και η θερμική σταθερότητα του δείγματος. Αντίθετα μεταβολές χωρίς αλλαγή βάρους, όπως αλλαγή φάσης, δεν μπορούν να μελετηθούν με τη μέθοδο αυτή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 Υλικά και Αντιδραστήρια

Τα υλικά και αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας είναι τα εξής:

Μονομερή: Μεθακρυλικός μεθυλεστέρας (methyl methacrylate, MMA), Μεθακρυλικός υδροξυπροπυλεστέρας (hydroxy propyl methacrylate,HPMA), Μεθακρυλικός εστέρας της ολιγοαιθυνελογλυκόλης με $M_w=475$ (oligo (ethylene glycol) methyl ether methacrylate, OEGMA)

Μέσο μεταφοράς αλυσίδας (CTA): 4-κυανο-4-(φαινυλοκαρβονυλοθειο) πεντανοϊκό οξύ (4-cyano-4-(phenylcarbonothioylthio) pentanoic acid, CPAD) (Sigma Aldrich)

Απαρχητής: Αζωδισισοβουτυρονιτρίλιο (azobisisobutyronitrile, AIBN) (Sigma Aldrich)

Ρητίνες: απομάκρυνσης σταθεροποιητών 311340 και 311332 (Sigma Aldrich)

Κουρκουμίνη: (Curcumin), κετονική μορφή (Merck)

Ινδομεθακίνη: (Indomethacin) (Fluka)

Διαλύτες: Τετραϋδροφουράνιο (tetrahydrofuran, THF), Κανονικό εξάνιο (n-Hexane), 1-4-Διοξάνιο (1,4dioxane), Δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (deuterated chloroform, $CDCl_3$), Ακετόνη (acetone, CH_3COCH_3) (Sigma Aldrich)

3.2 Οργανολογία και Μέθοδοι Χαρακτηρισμού

Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγεθών

Τα μοριακά βάρη και οι κατανομές μοριακών βαρών των πολυμερών που συντέθηκαν 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 10^2 - 10^6 Å), έναν ανιχνευτή δείκτη διάθλασης Waters 2414 (ισορροπημένος στους 40°C) και ελεγχόμενο από το λογισμικό Breeze. Η κινητή φάση είναι τετραϋδροφουράνιο, το οποίο περιέχει 5%v/v 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 2.500 έως 123.000 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 από ένα φασματόμετρο Bruker AC 600 FT-NMR. Οι χημικές μετατοπίσεις παρουσιάζονται σε ppm με σημείο αναφοράς το τετραμεθυλοδιλάνιο (TMS). Η προετοιμασία των δειγμάτων για τις μετρήσεις $^1\text{H-NMR}$ ήταν η εξής: διάλυση 10 mg δείγματος σε 0.7ml δευτεριωμένο χλωροφόρμιο και εισαγωγή του διαλύματος στα σωληνάκια NMR (NMR tubes). Η ανάλυση των φασμάτων έγινε με χρήση του λογισμικού MestReNova της εταιρίας MestRelabs.

Φασματοσκοπία ATR-FTIR

Οι μετρήσεις στην περιοχή του εγγύς υπερύθρου (550 - 4000 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).

Θερμοσταθμική Ανάλυση TGA

Οι μετρήσεις θερμοσταθμικής ανάλυσης πραγματοποιήθηκαν σε όργανο θερμοσταθμικής ανάλυσης της TA Instruments, το TGA-Q500 σε περιβάλλον αζώτου, με ρυθμό θέρμανσης 10°C/λεπτό, από τους 25 έως τους 500°C. Τα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν σε στερεή μορφή. Το κάθε δείγμα τοποθετήθηκε στο ειδικό δισκίο (pan) από πλατίνα για να πραγματοποιηθεί η μέτρηση

Φασματοσκοπία UV-Vis-NIR

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

Φασματοσκοπία Φθορισμού

Τα φάσματα καταγράφηκαν με φθορισμόμετρο NanoLog (Horiba Jobin Yvon), χρησιμοποιώντας μία δίοδο λέιζερ 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 μικκυλιακών διαλυμάτων σε εύρος συγκεντρώσεων από 10^{-3} - 10^{-9} g/mL και ιχνηθέτηση των διαλυμάτων αυτών με πυρένιο σε αναλογία 1μL / mL. Τα δείγματα παρέμειναν σε ηρεμία για 24 ώρες, ώστε να γίνει εγκλωβισμός του πυρενίου στον υδρόφοβο πυρήνα των μικκυλίων και έπειτα μετρήθηκαν και έγινε αποτίμηση του λόγου I_1 / I_3 σε σχέση με τη συγκέντρωση.

Δυναμική και Στατική Σκέδαση Φωτός

Οι μετρήσεις δυναμικής σκέδαση 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 συσχέτισης καταγράφηκαν πέντε φορές και αναλύθηκαν με τη μέθοδο των αθροισμάτων (cumulants) και τον αλγόριθμο CONTIN, ο οποίος παρέχει τις κατανομές για την φαινόμενη υδροδυναμική ακτίνα με χρήση αντιστρόφου 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 και χρησιμοποιώντας τολουόλιο σαν πρότυπο. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων για τον υπολογισμό του γυροσκοπικού λόγου έγιναν με τη χρήση της προσέγγισης Guinier 2^{ης} τάξης. Έγιναν μετρήσεις σε διαφορετικές συγκεντρώσεις πολυμερούς οι οποίες προέκυψαν με αραιώση ενός αρχικού διαλύματος υψηλότερης συγκέντρωσης. Όλα τα διαλύματα διηθήθηκαν με υδρόφιλο φίλτρο PVDF πορώδους 0.45μm πριν τη μέτρηση.

Ηλεκτροφορετική 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_p των κολλοειδών, πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση της τεχνικής LDV (Laser Doppler Velocimetry) και με την προσέγγιση κατά Smoluchowski. Οι αναφερόμενες τιμές ζ_p είναι η μέση τιμή 100 μετρήσεων.

3.3 Σύνθεση P(MMA-co-HPMA) και P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

Οι συνθέσεις των αμφίφιλων τυχαίων συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA) και των αμφίφιλων δισυσταδικών συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA έγιναν με τη χρήση της τεχνικής αντιστρεπτής προσθήκης – μεταφοράς αλυσίδας με απόσπαση (RAFT). Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε προκειμένου να συντεθούν και οι δύο κατηγορίες συμπολυμερών περιγράφεται παρακάτω.

3.3.1 Σύνθεση Τυχαίου Συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)

Αρχικά, τα μονομερή MMA και HPMA καθαρίστηκαν από τους παρεμποδιστές τους οποίους περιείχαν (μονομεθυλαιθέρας της υδροκινόνης), διαπερνώντας τα από στήλη, πληρωμένη με την κατάλληλη ρητίνη.

Στη συνέχεια σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν 0,056g (0,2mmol) 4-κυανο-4-(φαινυλοκαρβονυλοθειο) πεντανοϊκού οξέος (CPAD) (ως αντιδραστήριο μεταφοράς αλυσίδας), 0,011g (0,067mmol) αζωδισισοβουτυρονιτρίλιο (AIBN) (ως απαρχητής), 0,7g (6,98 mmol) MMA και 0,3g (2,08 mmol) HPMA και 3,5ml 1,4διοξάνιο. Στη συνέχεια έγινε απαέρωση του διαλύματος με συνεχή ροή αζώτου, διαδικασία που διήρκησε για 20 λεπτά. Μετά το τέλος της απαέρωσης η σφαιρική φιάλη τοποθετήθηκε σε ελαιόλουτρο στη θερμοκρασία των 70°C. Η αντίδραση πολυμερισμού είχε διάρκεια 17 ώρες. Μετά το πέρας των 17 ωρών, το διάλυμα ψύχθηκε για περίπου 20 λεπτά στο ψυγείο και ανοίχθηκε η φιάλη στην ατμόσφαιρα προκειμένου να επέλθει τερματισμός. Έπειτα έγινε καταβύθιση του προϊόντος της αντίδρασης σε δεκαπλάσια περίσσεια κρού κανονικού εξανίου, απόχυση του υπερκείμενου, επαναδιασπορά του ιζήματος σε μικρή ποσότητα τετραϋδροφουρανίου και δεύτερη καταβύθισή του σε πενταπλάσια περίσσεια κανονικού εξανίου. Ακολούθησε απόχυση του υπερκείμενου, συλλογή του ιζήματος και τοποθέτηση του στον φούρνο κενού για 48 ώρες προκειμένου να ξηρανθεί.

3.3.2 Σύνθεση Συμπολυμερούς Κατά Συστάδες P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

Το τυχαίο συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA) χρησιμοποιήθηκε σαν μακροCTA για την έναρξη του πολυμερισμού της δεύτερης συστάδας του δισυσταδικού συμπολυμερούς, η οποία αποτελείται από μεθακρυλικό εστέρα της ολιγοαιθυνελογλυκόλης. Παρασκευάστηκαν δύο διαφορετικά συμπολυμερή κατά συστάδες πολυ(μεθακρυλικού μεθυλεστέρα -co- μεθακρυλικού υδροξυπροπυλεστέρα) -b- πολυ(μεθακρυλικού εστέρα της ολιγοαιθυνελογλυκόλης) (P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA) με διαφορετικό τυχαίο πολυμέρες P(MMA-co-HPMA) κάθε φορά. Η γενική συνθετική πορεία που ακολουθήθηκε για τη σύνθεση των συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-

POEGMA περιλαμβάνει την τεχνική πολυμερισμού RAFT και παρουσιάζεται παρακάτω.

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε ο καθαρισμός του μονομερούς OEGMA από τους παρεμποδιστές τους οποίους περιείχε (μονομεθυλαιθέρας της υδροκινόνης και τριτοταγής βουτυλική κατεχόλη), διαπερνώντας το από στήλη πληρωμένη με τις κατάλληλες ρητίνες.

Έπειτα σε σφαιρική φιάλη προστέθηκαν κατάλληλες ποσότητες από P(MMA-co-HPMA) (ως αντιδραστήριο μεταφοράς αλυσίδας), αζωδισοσβουτυρονιτρίλιο (AIBN) (ως απαρχητής), μεθακρυλικό εστέρα της ολιγοαιθυλενογλυκόλης OEGMA (ως μονομερές) και 1,4 διοξάνιο (ως διαλύτης πολυμερισμού). Η αναλογία CTA/απαρχητή (σε mol) που χρησιμοποιήθηκε είναι μακροCTA / AIBN= 5. Στη συνέχεια έγινε απαέρωση του διαλύματος με τη χρήση αερίου αζώτου, διαδικασία που διήρκησε για περίπου 15 λεπτά. Μετά το τέλος της απαέρωσης η σφαιρική φιάλη τοποθετήθηκε σε ελαιόλουτρο στη θερμοκρασία των 70°C. Η αντίδραση του πολυμερισμού είχε διάρκεια 24 ωρών. Μετά το πέρας των 24 ωρών, η αντίδραση πολυμερισμού τερματίστηκε ψύχοντας το διάλυμα για 20 λεπτά. Το προϊόν της αντίδρασης καταβυθίστηκε σε δεκαπλάσια περίσσεια κανονικού εξανίου σε σχέση με τον αρχικό όγκο του διαλύματος. Έπειτα το υπερκείμενο αποχύθηκε και το πολυμερές, απαλλαγμένο πλέον από το OEGMA που δεν αντέδρασε, συλλέχθηκε και ξηράνθηκε σε φούρνο κενού για 48 ώρες.

3.4 Αυτο-οργάνωση των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA σε μικκύλια

Τα αμφίφιλα συμπολυμερή που παρασκευάστηκαν μελετήθηκαν τόσο σε μοριακό επίπεδο όσο και βάσει της ικανότητάς τους να αυτο-οργανώνονται σε υδατικά διαλύματα σχηματίζοντας μικκύλια. Έγινε χρήση τριών διαφορετικών πρωτοκόλλων για την παρασκευή πολυμερικών νανοσωματιδίων. Τα τρία πρωτόκολλα παρουσιάζονται αναλυτικά στη συνέχεια.

1^ο Πρωτόκολλο: Απευθείας διαλυτοποίηση του πολυμερούς σε υδατικό μέσο (απιονισμένο νερό). Το απιονισμένο νερό τοποθετείται σε φιαλίδιο (vial) στο οποίο προστίθεται μικρή ποσότητα πολυμερούς (10mg) και αναδεύεται έως ότου να διαλυτοποιηθεί πλήρως.

2° Πρωτόκολλο: Το πολυμερές διαλύθηκε σε μικρή ποσότητα ακετόνης και στη συνέχεια προστέθηκε με μεγάλη ταχύτητα σε ποσότητα νερού, το οποίο βρισκόταν υπό έντονη ανάδευση. Το διάλυμα παρέμεινε 5-6 λεπτά υπό έντονη ανάδευση και στη συνέχεια έρχεται σε ισορροπία και θερμαίνοντάς το ο κοινός διαλύτης εξατμίζεται, εφόσον αυτός είναι πτητικός και ο εκλεκτικός διαλύτης (νερό) έχει πολύ μεγαλύτερο σημείο ζέσεως. Με την θέρμανση και την εξάτμιση του διαλύτη παρατηρήθηκε θολότητα στο διάλυμα που καταδεικνύει τη δημιουργία μικκυλίων

3° Πρωτόκολλο: Ενυδάτωση λεπτού υμενίου (Thin Film Hydration Method). Αρχικά ζυγίζεται σε φιαλίδιο μικρή ποσότητα στερεού πολυμερούς, διαλύεται σε οργανικό διαλύτη (Acetone) και εν συνεχεία τοποθετείται σε μια σφαιρική φιάλη. Με τη χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα ο διαλύτης εξατμίζεται και στα τοιχώματα της σφαιρικής φιάλης σχηματίζεται ένα λεπτό υμένιο (thin film) περιμετρικά της επιφάνειάς της. Έπειτα, προστίθεται απιονισμένο νερό και με ήπια ανάδευση διαλύεται το υμένιο οπότε δημιουργούνται αυτο-οργανούμενες δομές στο υδατικό διάλυμα.

3.5 Εγκλωβισμός Κουρκουμίνης στα Μικκύλια των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για να επιτευχθεί ο εγκλωβισμός της κουρκουμίνης στα μικκύλια των αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA είναι παρόμοια με αυτή που περιγράφηκε παραπάνω για τον σχηματισμό μικκυλίων. Αρχικά γίνεται παρασκευή δύο ξεχωριστών διαλυμάτων, πολυμερούς σε ακετόνη και κουρκουμίνης επίσης σε ακετόνη. Τα διαλύματα αφέθηκαν σε ηρεμία για λίγο χρονικό διάστημα περίπου 2 ωρών έτσι ώστε να διαλυθούν μοριακά το πολυμερές και το φάρμακο. Στη συνέχεια γίνεται ανάμειξη των δύο αυτών διαλυμάτων και ακολουθεί η ένεση αυτών με μεγάλη ταχύτητα στο υδατικό διάλυμα που βρίσκεται υπό έντονη ανάδευση. Στο τέλος έχοντας σε ισορροπία το διάλυμα, θερμαίνοντάς το η ακετόνη εξατμίζεται. Επίσης, ακολουθήθηκε η διαδικασία της ενυδάτωσης λεπτού υμενίου (Thin Film Hydration Method). Αρχικά γίνεται παρασκευή δύο ξεχωριστών διαλυμάτων, πολυμερούς σε ακετόνη και κουρκουμίνης σε ακετόνη. Έπειτα τοποθετούνται και τα δύο διαλύματα σε μια σφαιρική φιάλη και

με τη χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα ο διαλύτης εξατμίζεται και στα τοιχώματα της σφαιρικής φιάλης σχηματίζεται ένα λεπτό υμένιο (thin film) περιμετρικά της επιφάνειάς της. Έπειτα, προστίθεται H₂O και με ήπια ανάδευση προκύπτει η δημιουργία αυτοοργανούμενων δομών στο υδατικό διάλυμα.

Οι υπολογισμοί των ποσοτήτων πραγματοποιήθηκαν με βάση:

- το % κ.β. ποσοστό (%wt) του P(MMA-co-HPMA), 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 και στατική σκέδαση φωτός καθώς και με φασματοσκοπία υπεριώθρου. Κατασκευάστηκε επίσης η πρότυπη καμπύλη αναφοράς της κουρκουμίνης, μετρώντας την απορρόφηση σε $\lambda_{max}=420$ nm εννέα διαφορετικών συγκεντρώσεων κουρκουμίνης σε ακετόνη 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 μικκύλια.

3.6 Εγκλωβισμός Ινδομεθακίνης στα Μικκύλια των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

Για τον εγκλωβισμό της ινδομεθακίνης στα μικκύλια των κατά συστάδες συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA ακολουθήθηκαν τα πρωτόκολλα εγκλωβισμού της κουρκουμίνης. Κατασκευάστηκε επίσης η πρότυπη καμπύλη αναφοράς της ινδομεθακίνης, μετρώντας την απορρόφηση σε $\lambda_{max}=320$ nm έξι διαφορετικών συγκεντρώσεων ινδομεθακίνης σε χλωροφόρμιο με φασματοσκοπία UV-Vis. Με βάση την καμπύλη αναφοράς και την τιμή απορρόφησης κάθε δείγματος, κατέστη δυνατό να υπολογιστεί το πραγματικό ποσοστό ινδομεθακίνης που εγκλωβίστηκε στα πολυμερικά μικκύλια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

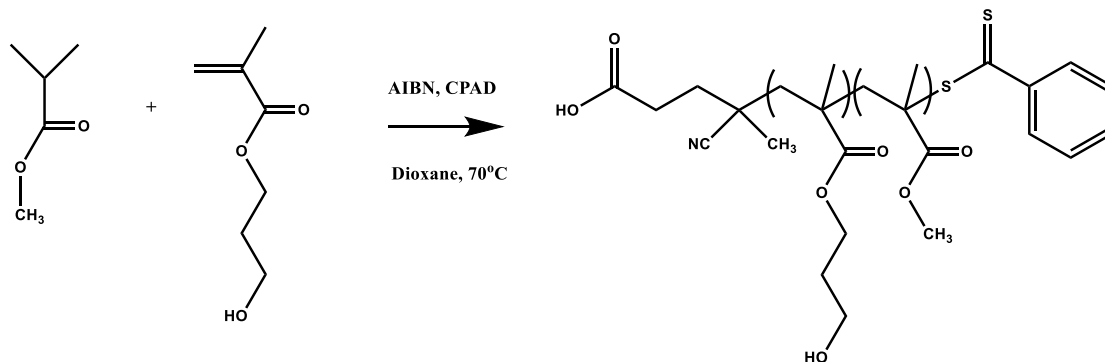
Στο παρόν κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα από την σύνθεση, τον μοριακό – φυσικοχημικό χαρακτηρισμό των συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA, αλλά και των συστημάτων τους με εγκλωβισμένα φάρμακα.

Ο χαρακτηρισμός, πραγματοποιήθηκε με διάφορες τεχνικές φασματοσκοπίας. Στη συνέχεια αναλύονται τα αποτελέσματα του χαρακτηρισμού των υδατικών μικκυλιακών διαλυμάτων, καθώς και τα αποτελέσματα εγκλωβισμού της κουρκουμίνης και της ινδομεθακίνης σε αυτά.

Οι τεχνικές ενόργανης ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν για τον χαρακτηρισμό των συμπολυμερών αποτελούν αυτές της Χρωματογραφίας Αποκλεισμού Μεγεθών (SEC), Φασματοσκοπίας Υπερύθρου (FT-IR), Φασματοσκοπίας Φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy), Φασματοσκοπίας Υπεριώδους-Ορατού Ακτινοβολίας (Uv-Vis Spectroscopy), Στατικής (SLS), Δυναμικής (DLS), και Ηλεκτροφορετικής (ζ-δυναμικό) Σκέδασης Φωτός (ELS)

4.1 Σύνθεση Συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

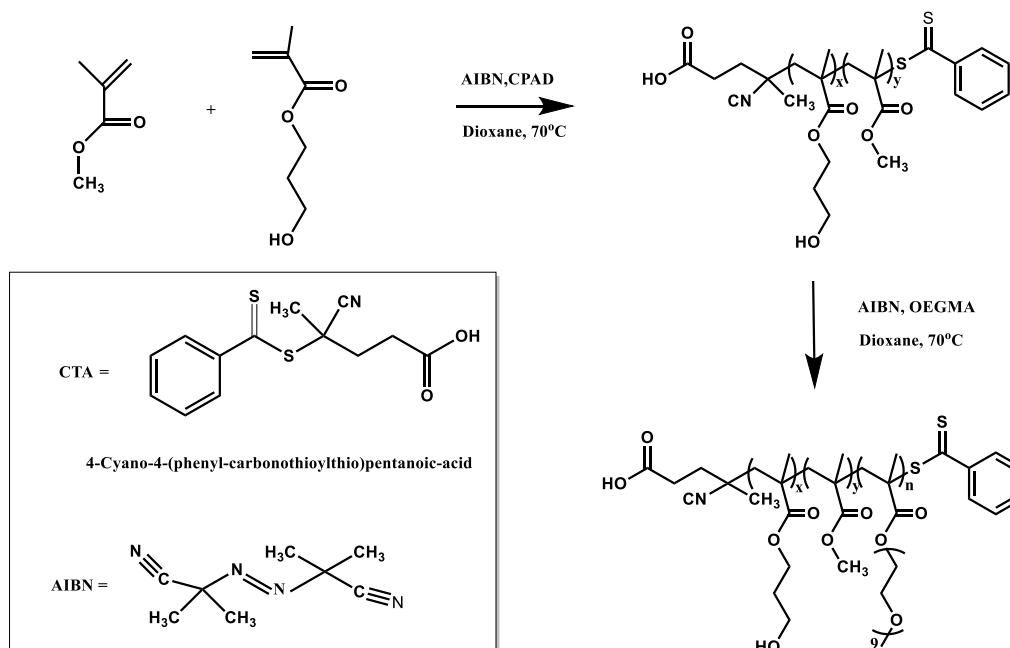
Για τη σύνθεση των συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA πραγματοποιήθηκε αρχικά η σύνθεση της πρώτης συστάδας του P(MMA-co-HPMA). Η σύνθεση του τυχαίου πολυμερούς έγινε με την τεχνική πολυμερισμού RAFT. Χρησιμοποιώντας τα μονομερή του μεθακρυλικού μεθυλεστέρα (MMA) και του μεθακρυλικού υδροξυπροπυλεστέρα (HPMA), ως CTA το 4-κυανο-4-(φαινυλοκαρβονυλοθειο) πεντανοϊκό οξύ, τον απαραίτητο AIBN και τον διαλύτη 1,4-διοξάνιο. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 70°C για 17 ώρες και περιγράφεται σχηματικά παρακάτω (Σχήμα 4.1).



Σχήμα 4.1: Συνθετική πορεία για την παρασκευή τυχαίου πολυμερούς P(MMA-co-HPMA)

Συντέθηκαν δύο τυχαία συμπολυμερή με διαφορετικό μοριακό βάρος και παρόμοια κατά βάρος αναλογία PMMA/HPMA Πίνακας 4.1

Η σύνθεση όλων των αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA πραγματοποιήθηκε επίσης με την τεχνική πολυμερισμού RAFT και με τη χρήση του τυχαίου συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA) ως μακρο-CTA, AIBN ως απαρχηγή και διαλύτη 1,4-διοξάνιο. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία 70°C για 24 ώρες και περιγράφεται στο Σχήμα 4.2



Σχήμα 4.2: Γενική συνθετική πορεία παρασκευής συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA.

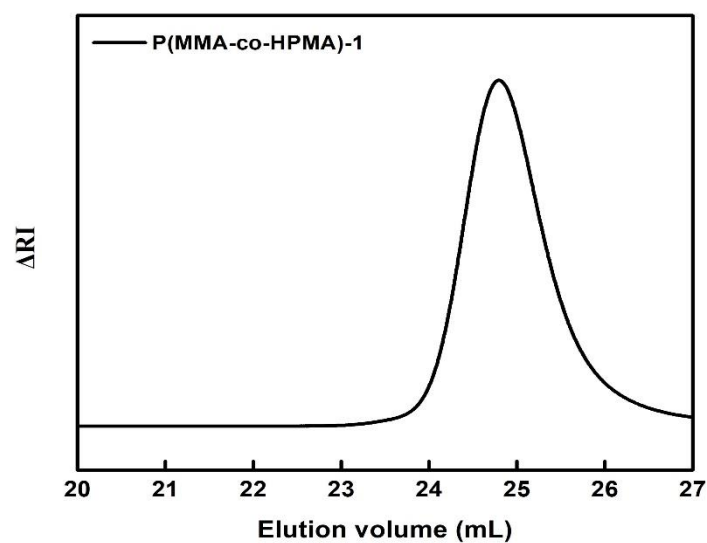
Τελικά συντέθηκαν δύο δισυσταδικά συμπολυμερή διαφορετικού μοριακού βάρους, τα οποία διέθεταν σαν πρώτη συστάδα διαφορετικό τυχαίο συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA). Τα μοριακά χαρακτηριστικά τόσο των τυχαίων συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA) όσο και των δισυσταδικών συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA περιγράφονται στον Πίνακα 1. Τα δισυσταδικά συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA μετά τον καθαρισμό τους από μονομερή που μπορεί να μην είχαν αντιδράσει και την ξήρανσή τους παραλήφθηκαν σε μορφή γέλης.

4.2 Μοριακός Χαρακτηρισμός των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

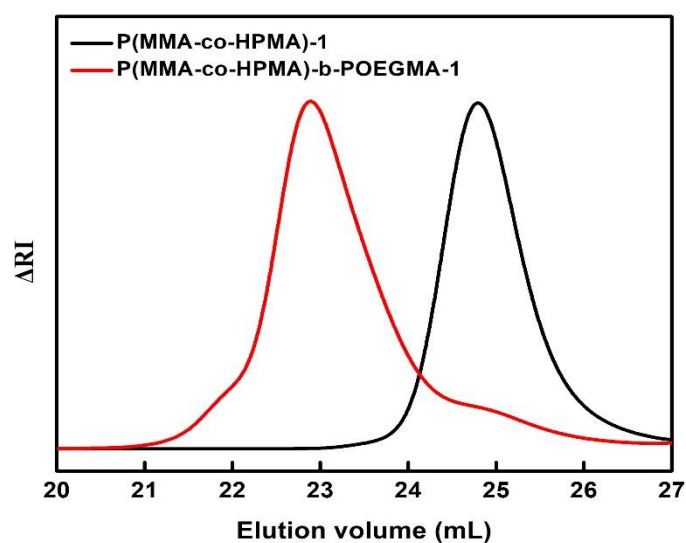
Τα μοριακά βάρη και οι κατανομές μοριακών βαρών τόσο του τυχαίου όσο και του δισυσταδικού συμπολυμερούς που συντέθηκαν προσδιορίστηκαν με χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (SEC) και παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Χαρακτηριστικά χρωματογραφήματα των P(MMA-co-HPMA) και P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA παρουσιάζονται παρακάτω. Μέσα από την ανάλυση των χρωματογραφημάτων διαπιστώθηκε ο επιτυχής έλεγχος των μοριακών βαρών των συμπολυμερών που συντέθηκαν ο οποίος επιτεύχθηκε εφαρμόζοντας την τεχνική του ελεγχόμενου πολυμερισμού RAFT και επιλέγοντας τις κατάλληλες συνθήκες πολυμερισμού. Επίσης πάρθηκαν τα επιθυμητά αποτελέσματα όσον αφορά την καθαρότητα των τελικών συμπολυμερών και τις κατανομές μοριακών βαρών. Οι τιμές των κατανομών των μοριακών βαρών είναι μικρές και ικανοποιητικές όπως επιβάλει το θεωρητικό υπόβαθρο της τεχνικής πολυμερισμού RAFT.

Χαρακτηριστικά χρωματογραφήματα τυχαίου συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA) και δισυσταδικού συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA παρουσιάζονται στα παρακάτω σχήματα.

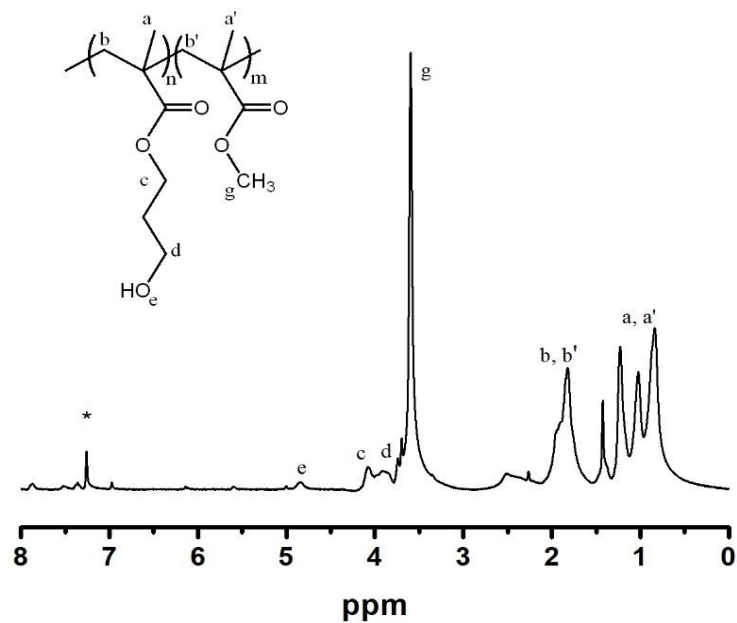


Σχήμα 4.3: Χρωματογράφημα SEC τυχαίου συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-1

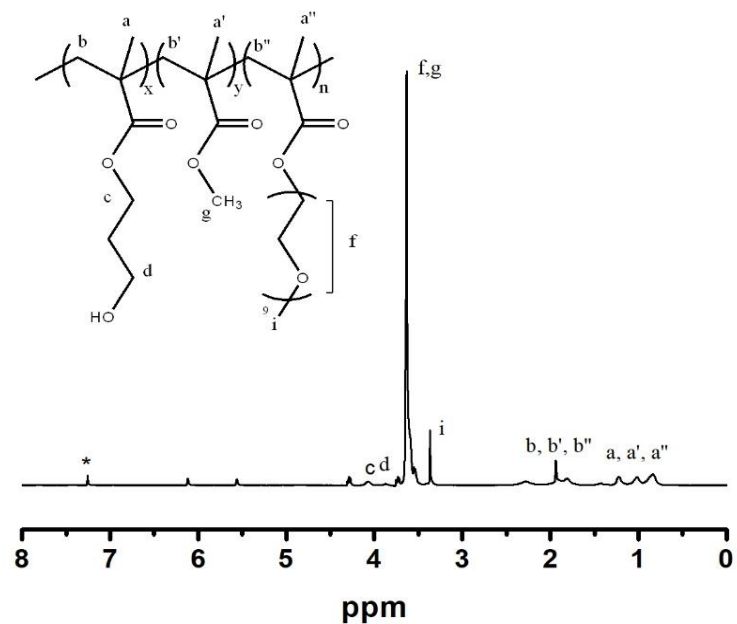


Σχήμα 4.4: Χρωματογράφημα SEC δισυσταδικού συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)₁-b-POEGMA-1

Η ταυτοποίηση της χημικής δομής και ο προσδιορισμός της σύστασης των συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA) και P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA πραγματοποιήθηκαν με φασματοσκοπία ¹H-NMR. Χαρακτηριστικά παραδείγματα δίνονται στα Σχήματα 4.5 και 4.6.



Σχήμα 4.5: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του τυχαίου πολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-2 σε CDCl_3

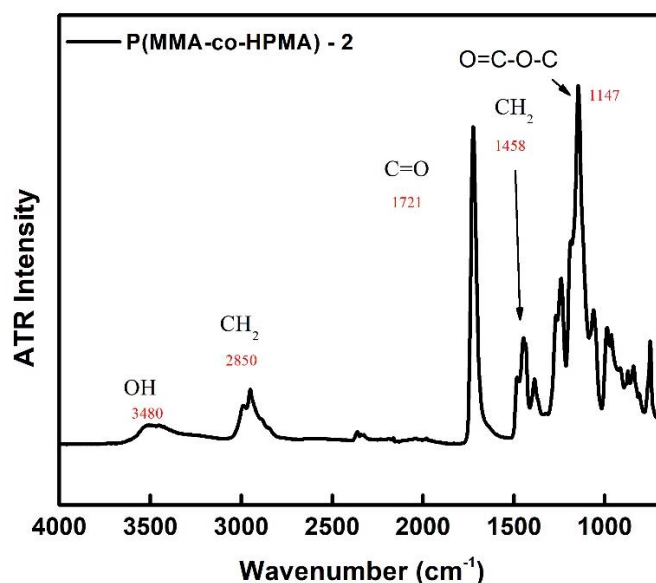


Σχήμα 4.6: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του δισυσταδικού συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 σε CDCl_3

Με βάση τα παραπάνω ενδεικτικά φάσματα $^1\text{H-NMR}$, παρατηρούμε την εμφάνιση νέων κορυφών οι οποίες οφείλονται στη συστάδα του POEGMA, αλλά και αλληλεπικάλυψη κορυφών μεταξύ του PMMA και του POEGMA στα 3.64 ppm (Σχήμα 4.6). Επιπλέον στο Σχήμα 4.6 παρατηρείται διαφορά στην ένταση και στο πλάτος των ήδη υπάρχουσων κορυφών που οφείλονται στο PMMA και PHPMA σε σχέση με το Σχήμα 4.5, η οποία οφείλεται στη διαφοροποίηση της σύστασής του στο δισυσταδικό συμπολυμερές. Για τον υπολογισμό της σύστασης του τυχαίου συμπολυμερούς (Σχήμα 4.5) επιλέχθηκαν τα $-\text{CH}_3$ υδρογόνα του μεθυλίου που αντιστοιχούν στο τμήμα του PMMA (κορυφή g) και εμφανίζονται στα 3.6 ppm και τα $-\text{CH}_2$ υδρογόνα (κορυφή c) που αντιστοιχούν στο τμήμα PHPMA και εμφανίζονται στα 4.08 ppm. Στη συνέχεια έγινε διαίρεση του εμβαδού κάθε κορυφής με τον αριθμό των υδρογόνων που αντιστοιχούν σε αυτή και στη συνέχεια πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό που προκύπτει με το μοριακό βάρος της αντίστοιχης μονομερικής μονάδας. Τέλος η κατά βάρος σύσταση κάθε τμήματος διαιρώντας τον παραπάνω αριθμό με το άθροισμα αυτού και για τις δύο κορυφές. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την εύρεση της σύστασης στα δισυσταδικά συμπολυμερή (Σχήμα 4.6) ήταν διαφορετική λόγω της αλληλεπικάλυψης των κορυφών από τις συστάδες του PMMA και POEGMA (κορυφές f,g στα 3.64 ppm). Επιλέχθηκε ως χαρακτηριστική κορυφή της συστάδας του POEGMA η κορυφή i που εμφανίζεται στα 3.36 ppm και ως χαρακτηριστική κορυφή συστάδας του PHPMA η κορυφή c που εμφανίζεται στα 4.08 ppm. Επιλέχθηκαν τα $-\text{CH}_2$ του backbone τα οποία αντιστοιχούν (ανήκουν) στα τρία μονομερή. Ύστερα θεωρήθηκαν x, y και z οι μεταβλητές για το MMA, HPMA και OEGMA αντίστοιχα, τα οποία ισούνται με το εμβαδό των $-\text{CH}_2$ του backbone. Από τις γνωστές κορυφές (i,c) έγινε διαίρεση του εμβαδού της κάθε κορυφής με τον αριθμό των υδρογόνων που αντιστοιχούν σε αυτή και στη συνέχεια έγινε αντικατάσταση των μεταβλητών y και z. Κάνοντας τους υπολογισμούς βρέθηκε ο άγνωστος x και πολλαπλασιάστηκε με το μοριακό βάρος της μονομερικής μονάδας MMA. Στη συνέχεια από τις κορυφές (i,c) έχοντας γίνει η διαίρεση του εμβαδού κάθε κορυφής με τα υδρογόνα που αντιστοιχούν σε αυτές, πολλαπλασιάστηκε ο αριθμός που προκύπτει με το μοριακό βάρος της αντίστοιχης μονομερικής μονάδας. Τέλος η κατά βάρος σύσταση κάθε τμήματος διαιρώντας τους αριθμούς που έχουν προκύψει από

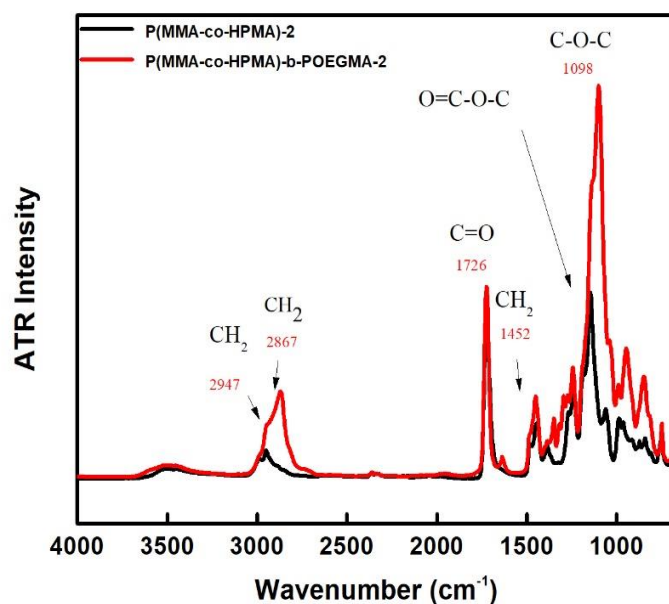
τους παραπάνω υπολογισμούς (x, y, z) με το άθροισμα αυτών και για τις τρεις κορυφές.

Για την χημική ταυτοποίηση των συμπολυμερών χρησιμοποιήθηκε επίσης φασματοσκοπία ATR-FTIR. Χαρακτηριστικά φάσματα παρουσιάζονται παρακάτω μαζί με την αποτίμηση κορυφών για τις χαρακτηριστικές χημικές ομάδες που αναμένεται να αποτελούν τμήματα των συμπολυμερών.



Σχήμα 4.7: Φάσμα ATR-FTIR τυχαίου συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-2

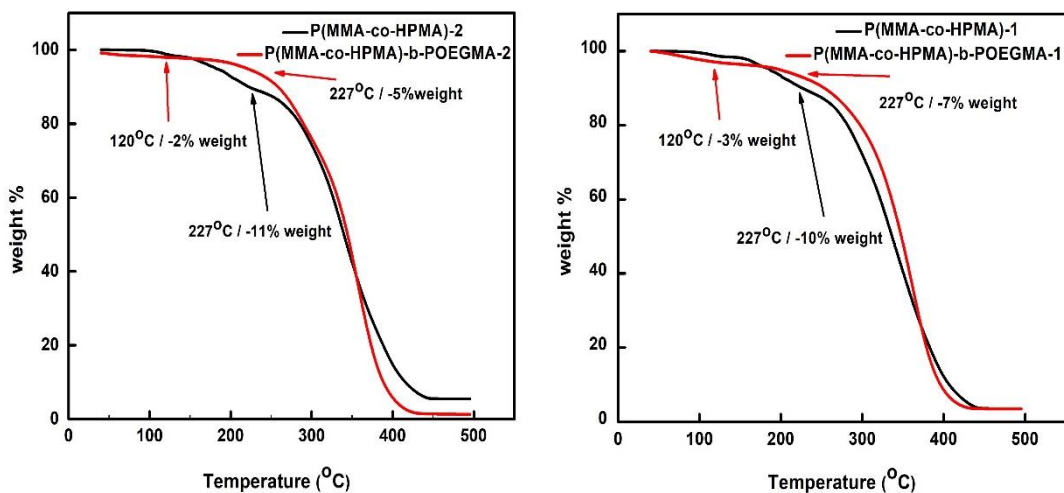
Στο Σχήμα 4.7 παρουσιάζεται το φάσμα ATR-FTIR του P(MMA-co-HPMA) -2. Από την αποτίμηση των κορυφών, οι μπάντες απορρόφησης στα 2850 cm⁻¹ αντιστοιχούν σε δονήσεις έκτασης δεσμών C-H των ομάδων -CH₂ (συμμετρική έκταση του δεσμού). Οι δονήσεις αυτές είναι αποτέλεσμα των -CH₂ του PMMA και του PHPMA. Η κορυφή που εμφανίζεται στα 1721 cm⁻¹ αντιστοιχεί σε δονήσεις έκτασης του καρβονυλίου της εστερικής ομάδας τόσο του PMMA όσο και του PHPMA. Στα 1458 cm⁻¹ παρατηρείται μια ασύμμετρη κάμψη που αντιστοιχεί στους δεσμούς C-H των CH₂. Στα 1147 παρατηρείται μια δόνηση έκτασης δεσμών της ομάδας O=C-O-C.



Σχήμα 4.8: Συγκριτικό φάσμα ATR-FTIR των συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-2 και P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2

Στο Σχήμα 4.8 παρουσιάζονται συγκριτικά τα φάσματα ATR-FTIR του P(MMA-co-HPMA)-2 και του P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2. Οι διαφορές που παρατηρούνται στα δύο φάσματα δεν είναι μεγάλες καθώς ορισμένες χημικές ομάδες είναι κοινές και για τα τρία μονομερή. Παρόλα αυτά υπάρχουν ορισμένες διαφοροποιήσεις μεταξύ των φασμάτων που επιδεικνύουν ότι πρόκειται για διαφορετικά πολυμερή. Αρχικά στο φάσμα του P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 παρατηρείται αλλαγή στην μορφή των κορυφών στα 2947 cm^{-1} και στα 2867 cm^{-1} σε σχέση με το φάσμα του τυχαίου συμπολυμερούς αφού τώρα υπάρχουν τρία διαφορετικά είδη ομάδων -CH_2 από τις τρεις διαφορετικές πλευρικές αλυσίδες. Η κύρια διαφορά εντοπίζεται στην εμφάνιση της έντονης κορυφής στα 1098 cm^{-1} που αντιστοιχεί στην δόνηση έκτασης των αιθερικών δεσμών C-O-C της πλευρικής ομάδας των μονομερικών στοιχείων OEGMA που υπάρχουν στο συμπολυμερές [85].

Για τον προσδιορισμό της θερμικής αποικοδόμησης και κατ' επέκταση της θερμικής σταθερότητας και αντοχής των υλικών πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις θερμοσταθμικής ανάλυσης. Παρακάτω παρατίθενται τα συγκριτικά θερμογραφήματα για τα συμπολυμερή που συντέθηκαν (Σχήμα 4.9).



Σχήμα 4.9: Συγκριτικά θερμογραφήματα (TGA) για τα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

Οι μετρήσεις θερμοσταθμικής ανάλυσης στα τυχαία συμπολυμερή φέρουν τα ίδια αποτελέσματα εφόσον έχουν συντεθεί και έχουν την ίδια σύσταση σε PMMA και PHPMA. Στους 130°C εμφανίζεται η πρώτη απώλεια μάζας του πολυμερούς με την αύξηση της θερμοκρασίας η οποία οφείλεται από την απορρόφηση υγρασίας λόγω του PHPMA. Όπως φαίνεται και στο θερμογράφημα το πολυμερές δείχνει να έχει μια θερμική αντοχή μέχρι τους 260°C όπου στο σημείο αυτό έρχεται η απότομη πτώση της απώλειας μάζας του υλικού. Αξίζει να αναφερθεί, σε αυτό το σημείο της θερμοκρασίας το πολυμερές έχει μικρότερη θερμική αντοχή σε σχέση με ένα ομοπολυμερές PMMA, λόγω του PHPMA. Γενικότερα παρατηρείται ότι με την προσθήκη του μονομερούς OEGMA υπάρχει αύξηση της θερμικής αντοχής του υλικού [86,87]. Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 1) δίνονται συγκεντρωτικά όλα τα αποτελέσματα από τον μοριακό χαρακτηρισμό όλων των συμπολυμερών που συντέθηκαν με τη μεθοδολογία που αναπτύχθηκε παραπάνω.

Πίνακας 1: Μοριακά Χαρακτηριστικά Συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

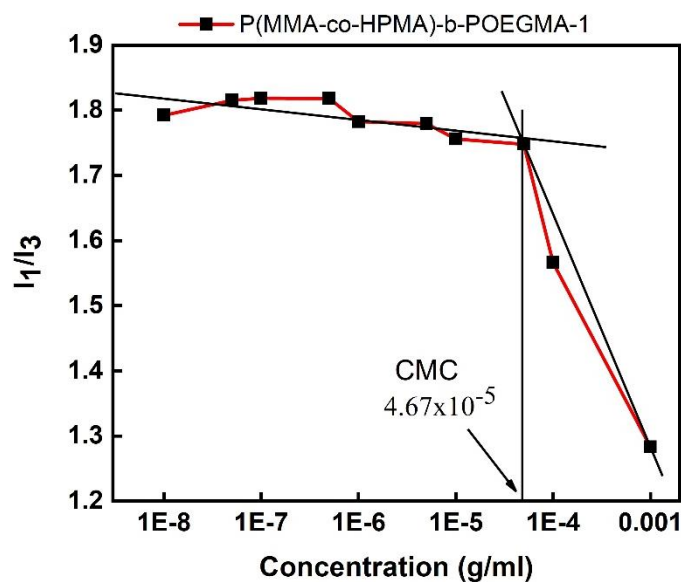
Δείγμα Συμπολυμερούς	M_w ($\times 10^4$) (g/mol) (SEC)	M_w/M_n (SEC)	M_w^{random} ($\times 10^4$) (g/mol) block (SEC)	Σύσταση %wt PMMA (1H -NMR)	Σύσταση %wt HPMA (1H -NMR)	Σύσταση %wt POEGMA (1H -NMR)
P(MMA-co-HPMA)-1	0.51	1.12	-	85	15	-
P(MMA-co-HPMA)-2	0.6	1.13	-	83	17	-
P(MMA-co-HPMA)- b-POEGMA-1	1.74	1.34	0.51	17	8	75
P(MMA-co-HPMA)- b-POEGMA-2	1.2	1.23	0.6	28	15	57

4.3 Χαρακτηρισμός Μικκυλίων P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

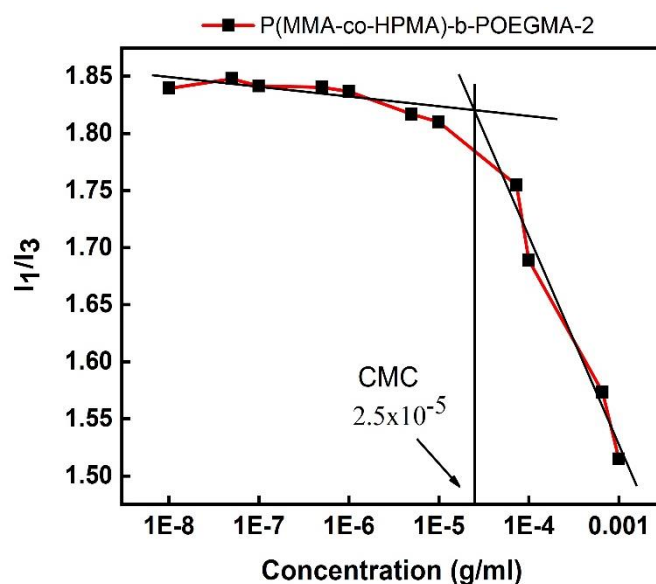
Η αυτο-οργάνωση των αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες σε υδατικά μέσα πραγματοποιήθηκε με τρεις τρόπους. Ο πρώτος τρόπος ήταν η απευθείας διάλυση των πολυμερών σε νερό, ο δεύτερος τρόπος περιλάμβανε τη διαλυτοποίηση του πολυμερούς σε μικρή ποσότητα ακετόνης η οποία είναι καλός διαλύτης και για τις δύο συστάδες, στη συνέχεια προστέθηκε το διάλυμα με μεγάλη ταχύτητα σε ποσότητα νερού, το οποίο βρισκόταν υπό έντονη ανάδευση. Το διάλυμα παρέμεινε 5-6 λεπτά υπό έντονη ανάδευση και στη συνέχεια έρχεται σε ισορροπία και θερμαίνοντάς το η ακετόνη εξατμίζεται και ο τρίτος τρόπος ήταν αυτός της ενυδάτωσης του λεπτού υμενίου (Thin Film Hydration). Τα τρία πρωτόκολλα σχηματισμού μικκυλίων ήταν κοινά και για τα δύο αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες. Τα διαλύματα μετρήθηκαν την επόμενη από την παρασκευή τους ημέρα με σκοπό την επίτευξη ισορροπίας. Τα υδατικά διαλύματα των αμφίφιλων δισυσταδικών συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA διερευνήθηκαν μέσω της φασματοσκοπίας φθορισμού

(FS) με σκοπό τον προσδιορισμό της κρίσιμης μικκυλιακής συγκέντρωσης (CMC).

Για τον προσδιορισμό της CMC χρησιμοποιείται ως ιχνηθέτης το πυρένιο γιατί αποτελεί υδρόφοβη ένωση με μικρή διαλυτότητα στο νερό που μπορεί να αυξηθεί σημαντικά σε λιγότερο πολικό περιβάλλον, αφού ως υδρόφοβη ουσία μπορεί να εισχωρήσει στο εσωτερικό των υδρόφοβων περιοχών των μικκυλίων. Ο λόγος I_1/I_3 είναι πολύ ευαίσθητος στις μεταβολές πολικότητας του διαλύτη. Αύξηση του υδρόφοβου συστατικού σημαίνει ότι μεγαλύτερο ποσοστό πυρενίου θα εγκλωβιστεί στα μικκύλια καθώς ανιχνεύει την ύπαρξη υδρόφοβου μικροπεριβάλλοντος και άρα αναμένεται ο λόγος I_1/I_3 να έχει την τιμή 1.0-1.3 που αντιπροσωπεύει υδρόφοβο μικροπεριβάλλον. Τα διαγράμματα συγκέντρωσης συναρτήσεως της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1/I_3 του πυρενίου για τα δύο συμπολυμερή παρουσιάζονται παρακάτω. Με βάση τα αποτελέσματα των μετρήσεων, αποδείχθηκε ο σχηματισμός μικκυλίων όταν τα δισυσταδικά συμπολυμερή εισέρχονται σε υδατικό μέσο.



Σχήμα 4.10: Διάγραμμα του λόγου των εντάσεων των σχετικών κορυφών I_1/I_3 του πυρενίου συναρτήσεως της συγκέντρωσης για το συμπολυμερές $P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1$ σε νερό.

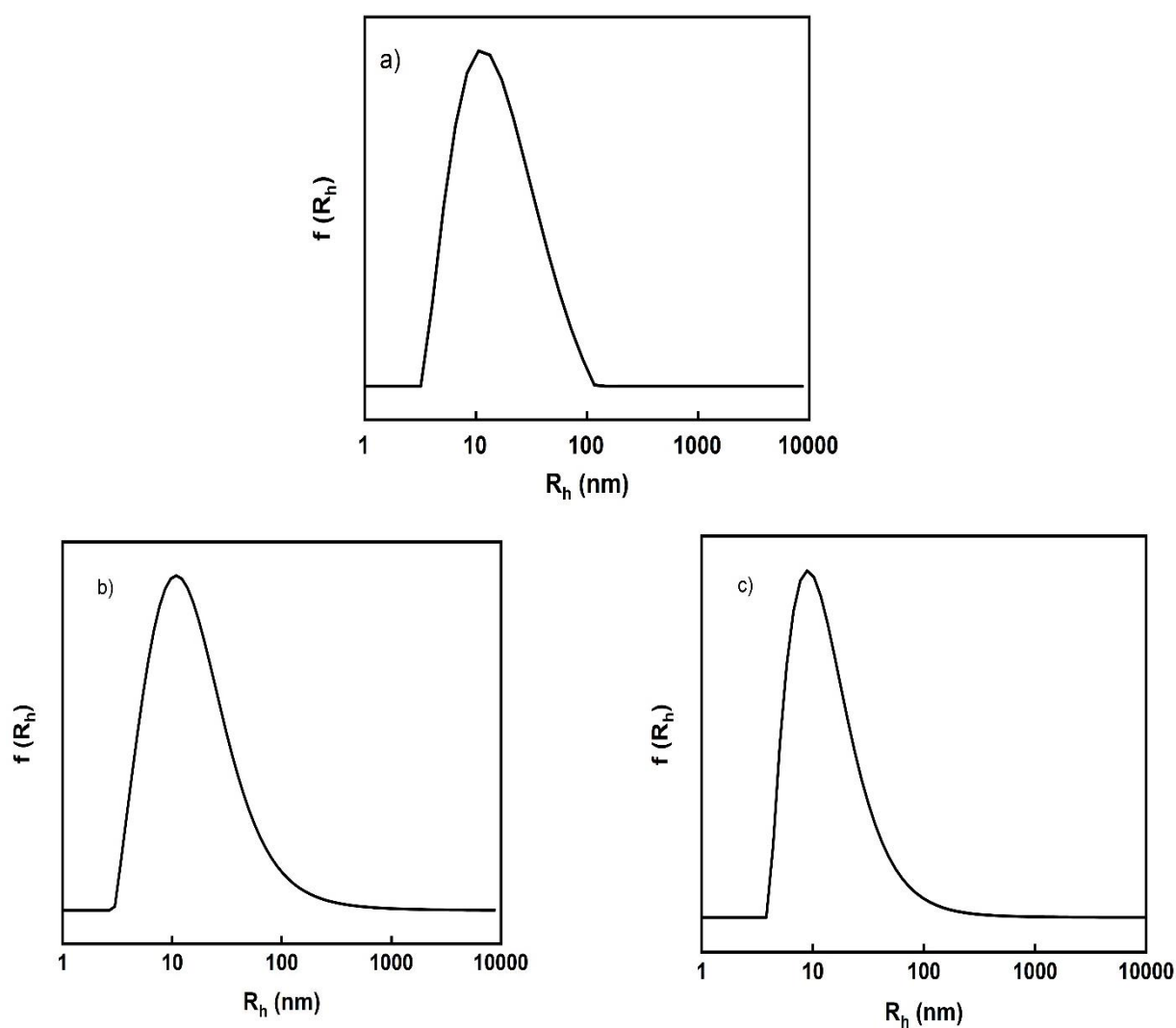


Σχήμα 4.11: Διάγραμμα του λόγου των εντάσεων των σχετικών κορυφών I_1/I_3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 σε νερό.

Παρατηρούνται καθαρά τα πλατώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις όπου δεν εμφανίζονται μικκύλια καθώς και οι περιοχές μετάβασης σε ενδιάμεσες συγκεντρώσεις όπου ξεκινάει ο σχηματισμός μικκυλιακών δομών. Η CMC προσδιορίζεται από το πρώτο σημείο καμπής των νοητών ευθειών, όπως φαίνεται στα διαγράμματα των σχημάτων. Επίσης, στο συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 η τιμή του λόγου $I_1/I_3 \sim 1.52$ στη μεγαλύτερη συγκέντρωση υποδηλώνει την ύπαρξη περισσότερου πολικού περιβάλλοντος στον πυρήνα των συγκεκριμένων μικκυλίων λόγω και του μεγαλύτερου ποσοστού PHPMA στο συμπολυμερές γεγονός που αποδεικνύεται και από τα αποτελέσματα του Πίνακα 1.

Από τα δύο διαγράμματα των σχημάτων 4.10 και 4.11, παρατηρούμε ότι τα διαλύματα των συμπολυμερών εμφάνισαν πλατιά περιοχή μετάβασης της CMC, με αποτέλεσμα να είναι πιο δύσκολη και η εύρεση της ακριβούς τιμής της. Οι τιμές CMC των διαλυμάτων δίνονται στον συγκεντρωτικό Πίνακα 2. Η τιμή CMC είναι μικρότερη για το κατά συστάδες συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 με τη μεγαλύτερη αναλογία σε υδρόφοβα συστατικά, όπως και αναμένεται.

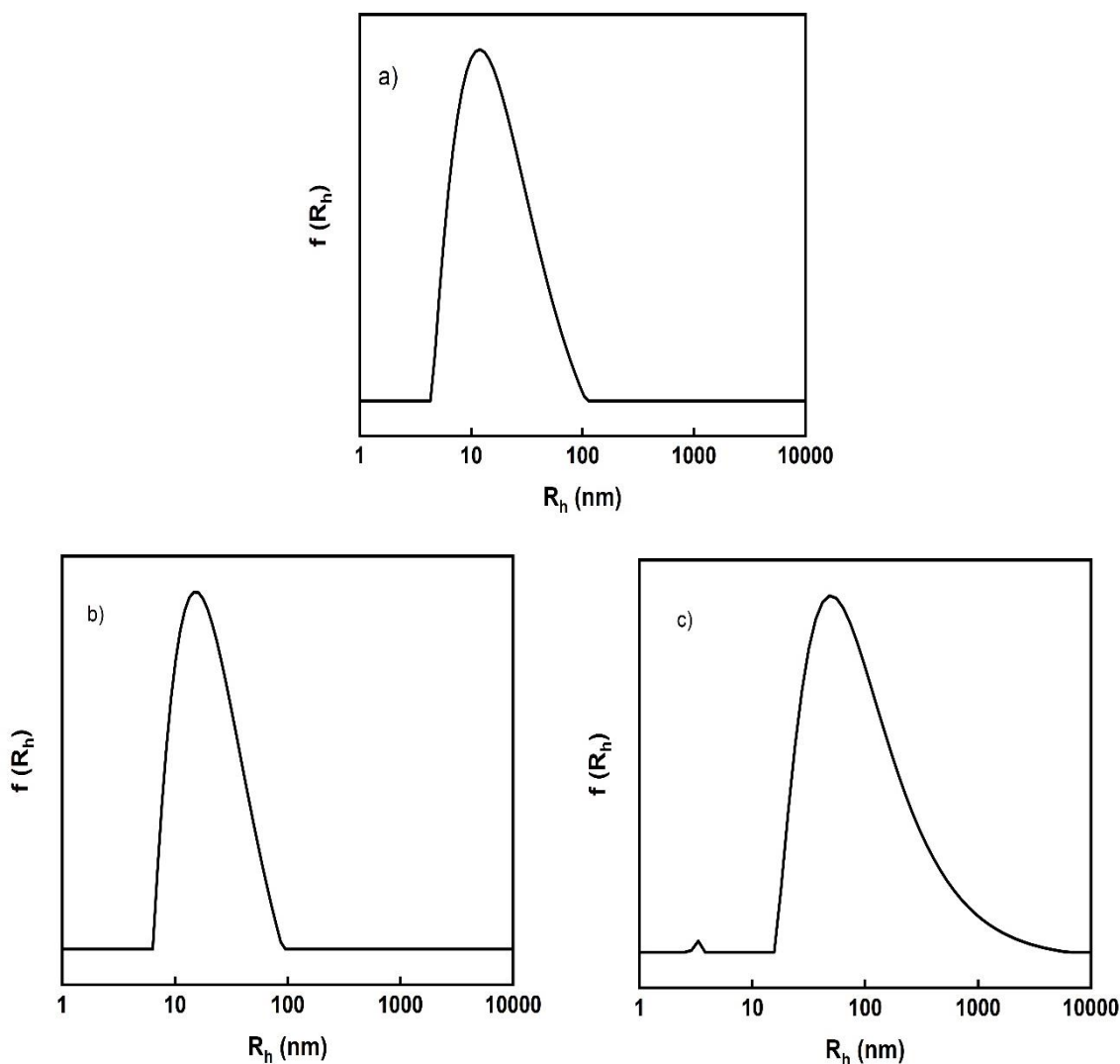
Για τον προσδιορισμό της φαινόμενης υδροδυναμικής ακτίνας (R_h) και του δείκτη πολυδιασποράς μεγεθών (PDI) των πολυμερικών μικκυλίων έγιναν μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός και τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με τη χρήση του αλγορίθμου CONTIN και τη μέθοδο των αθροισμάτων. Παρακάτω παρατίθενται ενδεικτικά διαγράμματα κατανομής μεγεθών των πολυμερικών μικκυλίων (CONTIN) για τα δύο συμπολυμερή κατά συστάδες που συντέθηκαν.



Σχήμα 4.12: Καμπύλη κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1. a) σε H_2O , b) ακετόνη, c) λεπτό υμένιο

Με βάση τα παραπάνω διαγράμματα για τα τρία πρωτόκολλα παρασκευής μικκυλίων, παρατηρούνται σχετικά πλατιές κατανομές και η ύπαρξη μίας κορυφής, δίνοντας έναν καλά καθορισμένο πληθυσμό και στις τρεις περιπτώσεις. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι όλες οι αλυσίδες συμμετέχουν στα

μικκύλια αλλά αυτά εμφανίζουν σχετική πολυδιασπορά στο μέγεθος, γεγονός που πρέπει να συνδέεται με την ύπαρξη ΗΡΜΑ πολικών μονομερών στον πυρήνα.



Σχήμα 4.13: Καμπύλη κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2. a) σε H₂O, b) ακετόνη, c) λεπτό υμένιο

Στο συγκεκριμένο δισυσταδικό συμπολυμερές αξίζει να σημειωθεί ότι το πρωτόκολλο του Thin Film δίνει μια πιο ευρεία κατανομή με $R_h=92$ nm σε σχέση με τα άλλα δύο πρωτόκολλα που δίνουν διαστάσεις νανοσωματιδίων με $R_h=14-16$ nm. Επίσης, παρατηρείται ότι η τιμή της έντασης στο δισυσταδικό συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 είναι μεγαλύτερη σημαντικά

από αυτή του P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1, άρα τα μικκύλια που σχηματίζονται είναι μεγαλύτερα σε μάζα.

Μέσω της ηλεκτροφορετικής σκέδασης φωτός (ELS) προσδιορίστηκε το ζ-δυναμικό. Για όλα τα διαλύματα πολυμερών η τιμή του είναι αρνητική, αλλά σχετικά μικρή στις περισσότερες περιπτώσεις και αποδίδεται στην καρβοξυλική ομάδα του μέσου μεταφοράς αλυσίδας που βρίσκεται στο άκρο των πολυμερικών αλυσίδων. Οι τιμές του ζ-δυναμικού παρατίθενται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Αποτελέσματα από DLS και FS για τα μικκύλια των συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

Δείγμα Συμπολυμερούς	Πρωτόκολλα	Intensity ¹	R _h (nm) (DLS)	PDI (DLS)	CMC (FS)	ζ-δυναμικό (mv)
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1	H ₂ O	64	14	0.38	4.67x10 ⁻⁵	-3.65
	Ακετόνη	39	16	0.51	1.51x10 ⁻⁵	-13.7
	Λεπτό υμένιο	78	14	0.39	-	-9.5
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2	H ₂ O	127	16	0.31	2.5x10 ⁻⁵	-12.1
	Ακετόνη	189	19	0.23	1.43x10 ⁻⁵	-20
	Λεπτό υμένιο	1603	92	0.37	-	-13.5

¹ determined by Dynamic Light Scattering

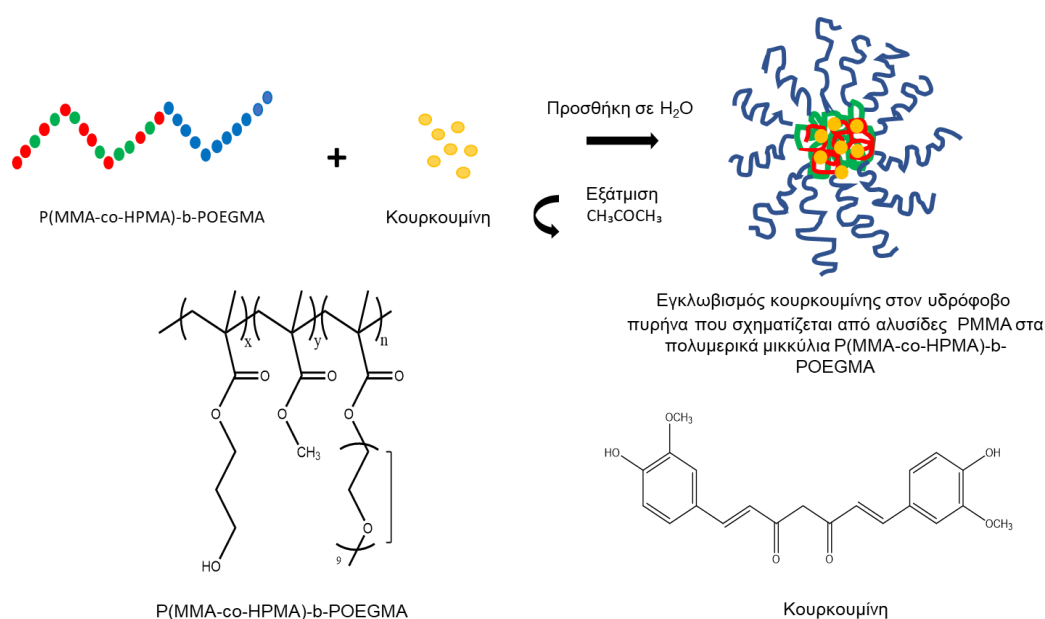
4.4 Εγκλωβισμός Υδρόφοβων Φαρμάκων στα Πολυμερικά Μικκύλια των Συμπολυμερών P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

4.4.1 Εγκλωβισμός Κουρκουμίνης

Η κουρκουμίνη αποτελεί μια φαρμακευτική ουσία με αυξημένη υδροφοβικότητα και έχει αντικαρκινικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ικανότητες. Λόγω

της υδροφοβικότητας που παρουσιάζει χρησιμοποιείται για μελέτες εγκλωβισμού στους υδρόφobους πυρήνες των πολυμερικών μικκυλίων.

Προκειμένου να μελετήσουμε την ικανότητα των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA συμπολυμερών ως φορείς φαρμακευτικών ουσιών εγκλωβίστηκε κουρκουμίνη στο υδρόφοβο τμήμα των συμπολυμερών και μελετήθηκαν οι ιδιότητες που προκύπτουν μέσω τεχνικών σκέδασης φωτός με φασματοσκοπικές μεθόδους απορρόφησης ορατού-υπεριώδους και υπέρυθρου. Η διαδικασία παρασκευής των δειγμάτων έγινε μέσω της πειραματικής διαδικασίας που περιγράφεται στο υποκεφάλαιο 3.5 χρησιμοποιώντας και τα δύο πρωτόκολλα παρασκευής μικκυλίων. Παρακάτω παρατίθεται η σχηματική απεικόνιση του εγκλωβισμού της κουρκουμίνης στα μικκύλια των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA συμπολυμερών με το πρωτόκολλο της εξάτμισης του οργανικού διαλύτη καθώς και η χημική δομή της κουρκουμίνης και του πολυμερούς. (Σχήμα 4.14)

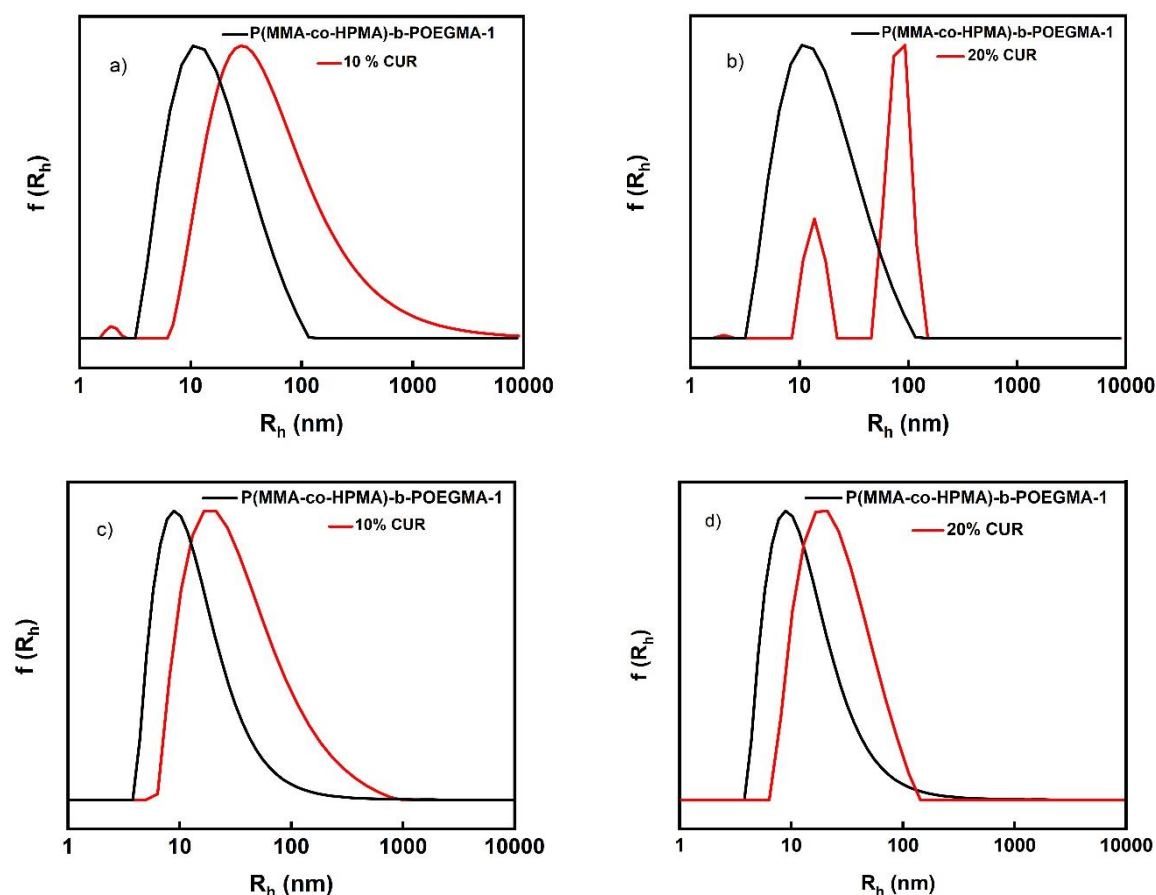


Σχήμα 4.14: Σχηματική απεικόνιση του εγκλωβισμού της κουρκουμίνης στα πολυμερικά μικκύλια και των χημικών δομών της κουρκουμίνης και του πολυμερούς

Το ποσοστό της κουρκουμίνης που εγκλωβίστηκε υπολογίστηκε με βάση την κατά βάρος χημική σύσταση των συμπολυμερών σε P(MMA-co-HPMA) και το ποσοστό κατά βάρος της κουρκουμίνης που θέλουμε να εγκλωβίσουμε. Παρασκευάστηκαν δείγματα με ποσοστό εγκλωβισμού 10% και 20% w/w και για τα δύο συμπολυμερή. Η τελική συγκέντρωση των διαλυμάτων ως προς το

συμπολυμερές μετά την εξάτμιση της ακετόνης ήταν 1×10^{-3} g/ml. Τα δείγματα μετρήθηκαν μέσω δυναμικής σκέδασης φωτός σε θερμοκρασία 25°C και υπό γωνία 90°.

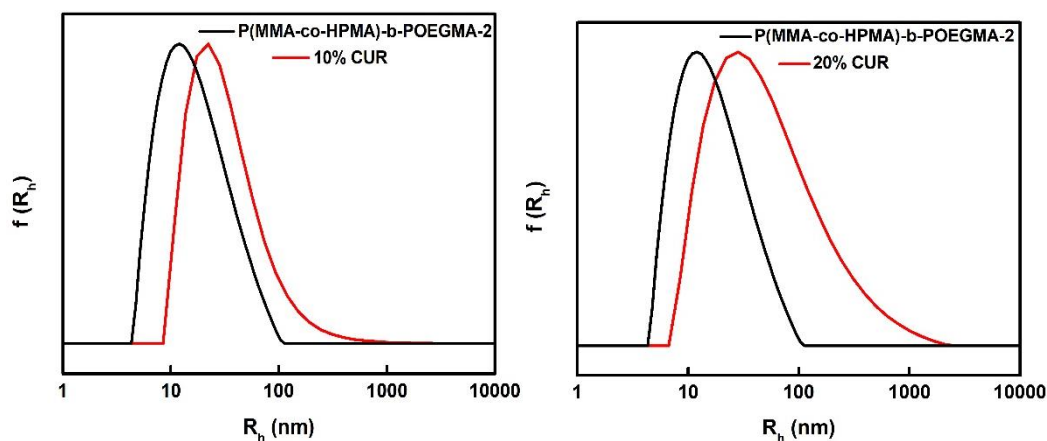
Παρακάτω παρουσιάζονται ενδεικτικά, συγκριτικά διαγράμματα κατανομής μεγεθών των μικκυλίων πριν και μετά τον εγκλωβισμό της κουρκουμίνης.



Σχήμα 4.15: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1 πριν και μετά τον εγκλωβισμό (10% και 20%) κουρκουμίνης. a), b) πρωτόκολλο εξάτμισης / c), d) πρωτόκολλο Thin Film

Με βάση τα παραπάνω διαγράμματα για τα δύο πρωτόκολλα εγκλωβισμού της κουρκουμίνης, παρατηρείται ότι στο συγκεκριμένο συμπολυμερές το πρωτόκολλο του οργανικού διαλύτη με την προσθήκη της κουρκουμίνης σε ποσοστό 10% δίνει μια κορυφή με ευρεία κατανομή μεγεθών η οποία μετακινείται σε μεγαλύτερα μεγέθη και αποδεικνύει τον εγκλωβισμό της φαρμακευτικής ουσίας. Είναι προφανές ότι στην περίπτωση αυτή θα υπάρχουν

μικτά συσσωματώματα συμπολυμερούς φαρμάκου με διαφορετικά δομικά χαρακτηριστικά από τα κενά μικκύλια συμπολυμερούς. Σε αντίθεση με την αύξηση του ποσοστού του φαρμάκου (20% κουρκουμίνη) όπου παρατηρείται η εμφάνιση δύο οξείων κορυφών με διαφορετικές διαστάσεις συσσωματωμάτων και στένες κατανομές μεγεθών για την κάθε μία χωριστά. Η μικρή κορυφή θα μπορούσε να υποδηλώνει την ύπαρξη πολυμερικών μικκυλίων του συμπολυμερούς χωρίς να έχουν εγκλωβίσει την κουρκουμίνη στον πυρήνα τους, αλλά και ενδεχομένως μικρή ποσότητα εγκλωβισμένης κουρκουμίνης και με διαστάσεις κοντά στα αρχικά μικκύλια του συμπολυμερούς, ενώ η μεγάλη κορυφή είναι προφανές ότι έχει διαστάσεις πολύ μεγαλύτερες και μπορεί να αντιστοιχεί σε μεγαλύτερα μικτά μικκύλια ή σε υπερσυσσωματώματα μικκυλίων που περιέχουν φάρμακο και ανήκει σε μεικτά συσσωματώματα πολυμερούς, παρατηρώντας την αύξηση των διαστάσεων τους με την προσθήκη της κουρκουμίνης. Σε αντίθεση με το πρωτόκολλο του Thin Film, παρατηρείται η ύπαρξη μιας κορυφής και για τα δύο ποσοστά εγκλωβισμένης κουρκουμίνης με στενότερες κατανομές μεγεθών και πιο καλά καθορισμένους πληθυσμούς, ειδικά στο ποσοστό με 20% κουρκουμίνη.



Σχήμα 4.16: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 πριν και μετά τον εγκλωβισμό (10% και 20%) κουρκουμίνης

Στην περίπτωση του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 έχοντας μεγαλύτερο ποσοστό υδρόφοβου πυρήνα οι κατανομές των μεγεθών διαφέρουν και στις δύο περιπτώσεις όπως και το μέγεθος των συσσωματωμάτων. Το συγκεκριμένο συμπολυμερές έχοντας περισσότερο PHPMA στους πυρήνες των μικκυλίων του το κάνει πιο πολικό δημιουργώντας περισσότερους δεσμούς υδρογόνου με την κουρκουμίνη και αυτό έχει ως

αποτέλεσμα το φάρμακο να εγκλωβίζεται καλύτερα. Μάλιστα η διατήρηση μίας κορυφής δείχνει ότι τα πολυμερικά συσσωματώματα που έχουν εγκλωβίσει το φάρμακο παρουσιάζουν κολλοειδή σταθερότητα, χωρίς να αποδιατάσσονται σε υπερσυσσωματώματα. Αυτό φαίνεται και από τα αποτελέσματα στον Πίνακα 3 ότι τα συγκεκριμένα συσσωματώματα έχουν στενότερες κατανομές μεγεθών σε αντίθεση με το P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1 και αφορά το πρωτόκολλο του οργανικού διαλύτη. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι γίνεται σύγκριση με πολυμερικά μικκύλια που έχουν παρασκευαστεί με πρωτόκολλο ανάλογο με αυτό που χρησιμοποιήθηκε για τον εγκλωβισμό της κουρκουμίνης (ώστε να είναι δυνατή η κατευθείαν σύγκριση των νανοσυστημάτων). Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Συγκριτικός πίνακας αποτελεσμάτων DLS/SLS πριν και μετά τον εγκλωβισμό της κουρκουμίνης στα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

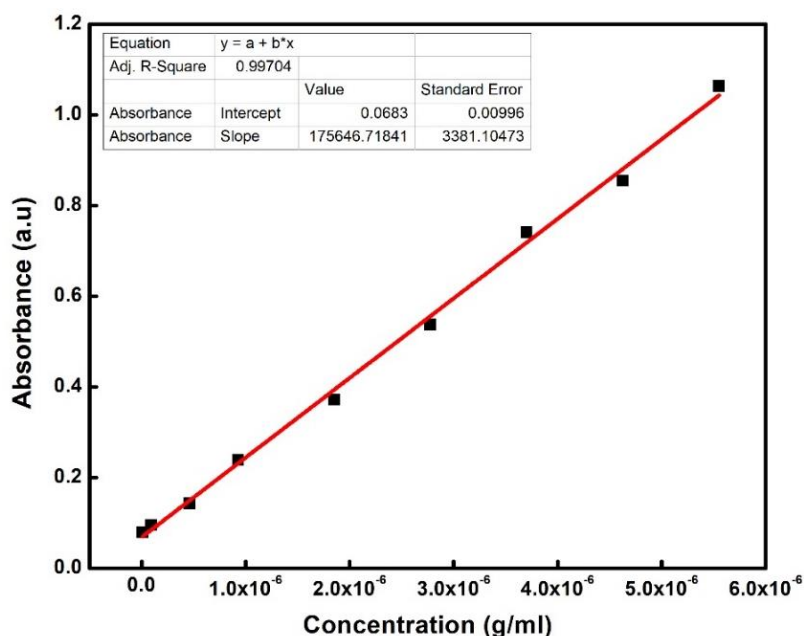
Δείγμα Συμπολυμερούς*	Πρωτόκολλα	%CUR	R _h (nm) χωρίς CUR	R _h (nm) με CUR	P.D.I. με CUR	R _g /R _{h0}
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1	Ακετόνη	10	16	54	0.5	1.25
	Λεπτό υμένιο	10	14	32	0.39	1.1
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1	Ακετόνη	20	16	14-82	0.48	-
	Λεπτό υμένιο	20	14	24	0.3	-
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2	Ακετόνη	10	19	32	0.41	-
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2	Ακετόνη	20	19	48	0.43	1.32

* Για κάθε παρασκευή χρησιμοποιήθηκαν 10mg συμπολυμερούς

Από τον Πίνακα 3 παρατηρείται ότι η μέση υδροδυναμική ακτίνα των πολυμερικών μικκυλίων αυξάνεται μετά τον εγκλωβισμό της κουρκουμίνης σε αυτά και για τα δύο πρωτόκολλα. Μέσω της στατικής σκέδασης φωτός υπολογίστηκε η γυροσκοπική ακτίνα (R_g) και κατ' επέκταση ο λόγος R_g/R_{h0}. Ο λόγος της γυροσκοπικής ακτίνας προς την υδροδυναμική ακτίνα στις 0° δίνει σημαντικά συμπεράσματα για την μορφολογία των αυτο-οργανούμενων νανοσωματιδίων που έχουν σχηματιστεί. Από τα δείγματα των συμπολυμερών λαμβάνονται οι τιμές του λόγου R_g/R_{h0} οι οποίες έχουν εύρος από 1.1 έως 1.32. Από την βιβλιογραφία στο εύρος των τιμών αυτών ανήκουν μορφολογίες κυστιδίων [88]. Επίσης, δεν πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός, αλλά ούτε και φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού, για το

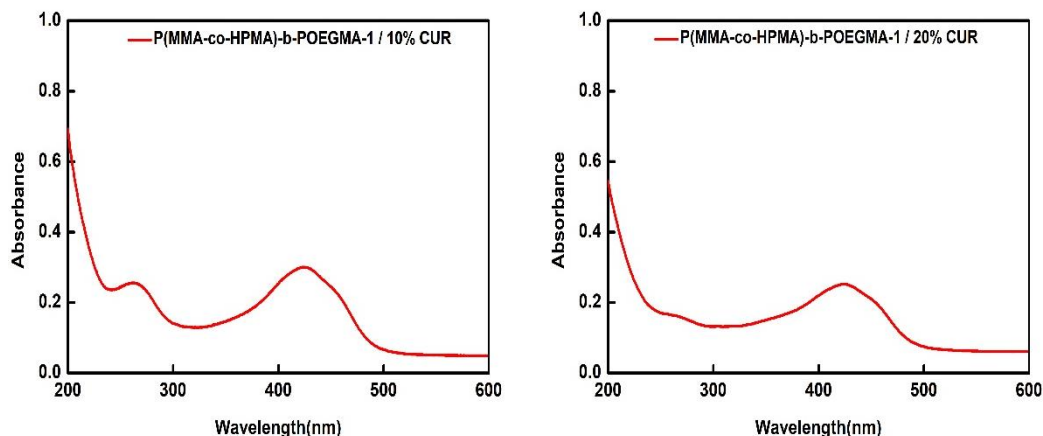
συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 με το πρωτόκολλο του Thin Film λόγω του ότι δεν ήταν σταθερά τα διαλύματα με το φάρμακο.

Ακόμα μια μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να διαπιστωθεί ο επιτυχής έλεγχος εγκλωβισμού της φαρμακευτικής ουσίας στα πολυμερικά μικκύλια ήταν η φασματοσκοπία υπεριώδους ορατού. Γνωρίζοντας βιβλιογραφικά ότι η κουρκουμίνη απορροφά στα 420nm [89] ενώ το πολυμερές δεν απορροφά στη UV-Vis περιοχή κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη αναφοράς της κουρκουμίνης, αποτελούμενης από εννέα διαφορετικές συγκεντρώσεις κουρκουμίνης σε ακετόνη με σκοπό τον υπολογισμό του ποσοστού εγκλωβισμού του φαρμάκου (Σχήμα 4.17).

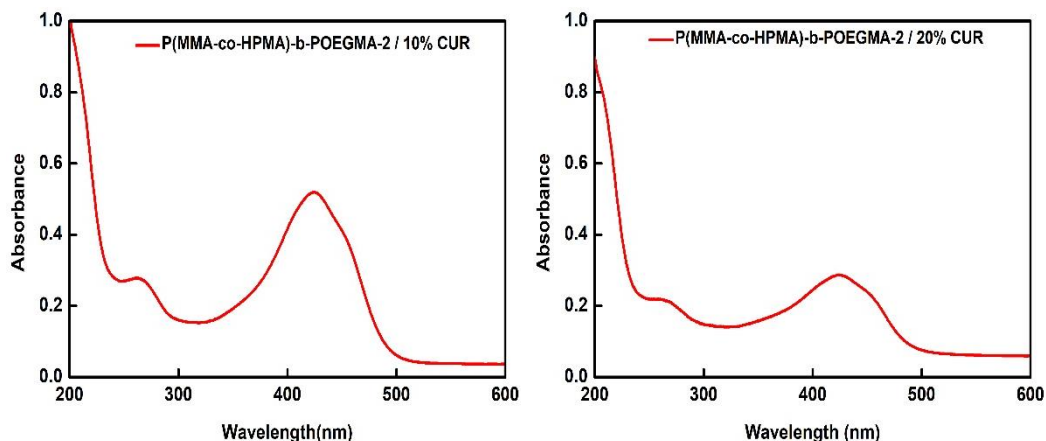


Σχήμα 4.17: Καμπύλη αναφοράς κουρκουμίνης σε Ακετόνη

Παρακάτω παρατίθενται ενδεικτικά φάσματα UV-Vis για τα δύο αμφίφιλα δισυσταδικά συμπολυμερή στις ίδιες συγκεντρώσεις σε νερό, αλλά σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου.



Σχήμα 4.18: Φάσματα απορρόφησης UV-Vis για τα μικτά συσσωματώματα P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1/CURCUMIN σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου με το πρωτόκολλο (ACETONE)



Σχήμα 4.19: Φάσματα απορρόφησης UV-Vis για μικτά συσσωματώματα P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2/CURCUMIN σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου με το πρωτόκολλο (ACETONE)

Παρατηρείται και στα δύο συστήματα ότι στις διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου, η απορρόφηση μειώνεται όσο αυξάνεται το ποσοστό του φαρμάκου. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 παρατηρείται μεγαλύτερη απορρόφηση και για τις δύο αναλογίες κουρκουμίνης διότι ο πυρήνας των μικκυλίων του συμπολυμερούς περιέχει περισσότερο PHPMA, που όπως προαναφέρθηκε παραπάνω το PHPMA κάνει περισσότερο πολικό τον πυρήνα του μικκυλίου δημιουργώντας δεσμούς υδρογόνου με τις υδροξυλομάδες της κουρκουμίνης εγκλωβίζοντας

περισσότερη ποσότητα κουρκουμίνης σε αυτόν σε αναλογία φαρμάκου 10% w/w.

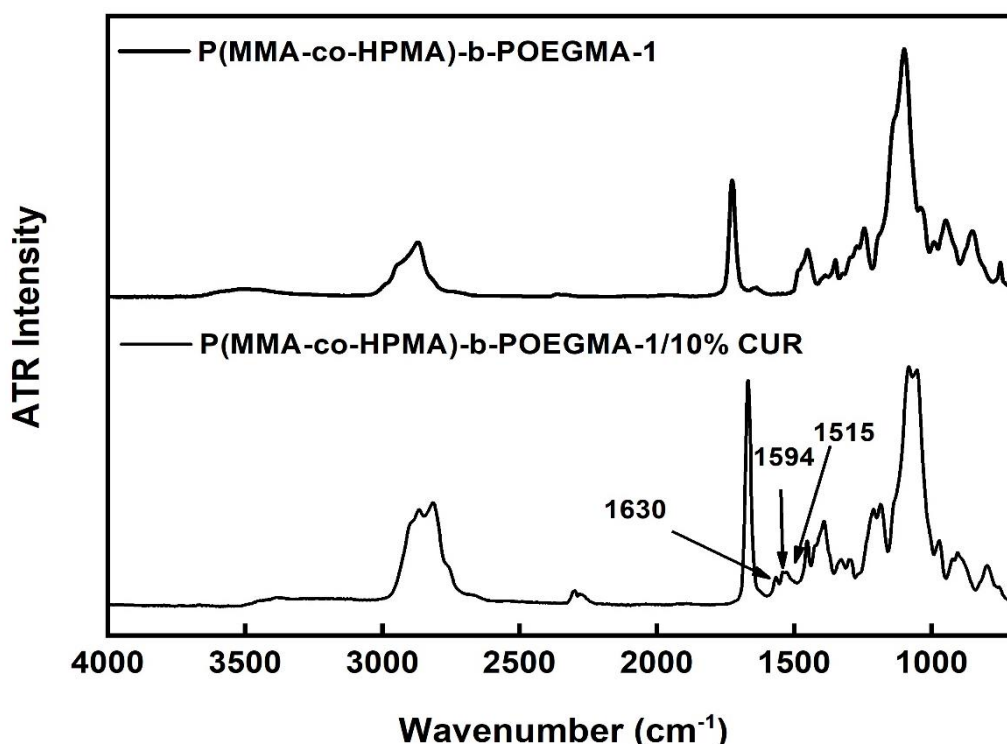
Πίνακας 4: Αποτελέσματα υπολογισμού απόδοσης εγκλωβισμού της κουρκουμίνης για τα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

Δείγμα Συμπολυμερούς	Πρωτόκολλα	Ποσότητα Κουρκουμίνης που χρησιμοποιήθηκε σε (mg)	Μέγιστο Ποσοστό εγκλωβισμού (%w/w)	% απόδοση εγκλωβισμού
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1	Ακετόνη	0.5	20	2.9
	Λεπτό υμένιο	0.5	20	4.5
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1	Ακετόνη	0.25	10	7.4
	Λεπτό υμένιο	0.25	10	3.88
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2	Ακετόνη	0.86	20	2
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2	Ακετόνη	0.43	10	8.4

Τα αποτελέσματα της % απόδοσης εγκλωβισμού του φαρμάκου διαφέρουν αρκετά από το μέγιστο αναμενόμενο ποσοστό εγκλωβισμού. Εικάζεται ότι αυτό συμβαίνει κυρίως λόγω της αρχιτεκτονικής του πολυμερούς καθώς δεν υπάρχει μια καθαρά υδρόφοβη συστάδα που θα αποτελέσει τον πυρήνα στον οποίο θα εγκλωβιστεί το φάρμακο. Επίσης στα δύο συμπολυμερή στο μεγαλύτερο ποσοστό εγκλωβισμού κουρκουμίνης παρατηρείται μικρότερη απόδοση, το γεγονός αυτό δείχνει ότι και τα δύο συστήματα εγκλωβίζουν σε πιο ικανοποιητικό βαθμό μικρότερα ποσοστά φαρμάκου.

Η συμβατότητα πολυμερούς/φαρμάκου, είναι εξαιρετικής σημασίας για τον σχεδιασμό φαρμακευτικών σκευασμάτων. Για το σκοπό αυτό η τεχνική ATR-FTIR χρησιμοποιείται ευρέως για την μελέτη των αλληλεπιδράσεων πολυμερούς/φαρμάκου, καθώς καθένα απορροφά σε συγκεκριμένες συχνότητες, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές για την δομή τους. Παρακάτω

παρατίθενται συγκριτικά φάσματα ATR-FTIR των πολυμερών καθώς και των μεικτών συσσωματωμάτων με την κourkouμίνη. Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε στερεά κατάσταση μετά από εξάτμιση του διαλύτη υπό ροή αζώτου.



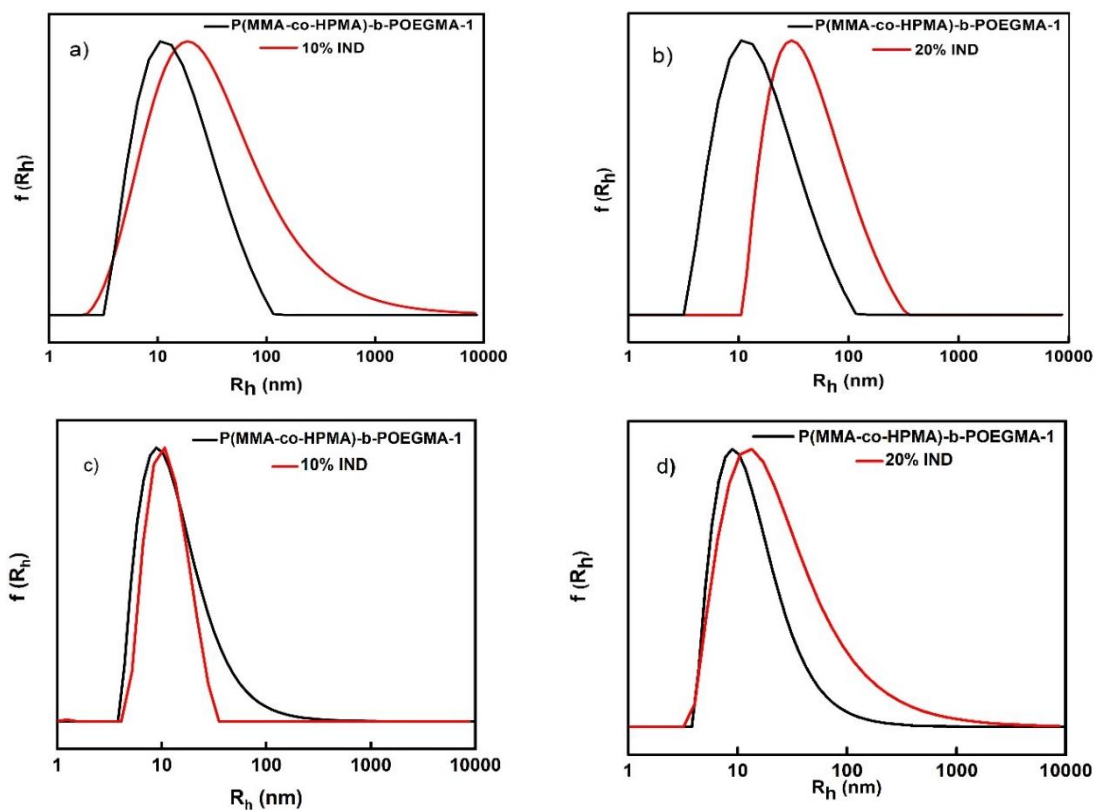
Σχήμα 4.20: Φάσμα απορρόφησης ATR-FTIR για τα πολυμερικά μικκύλια P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1 σε ποσοστό 10% κourkouμίνης

Από το φάσμα απορρόφησης Σχήμα 4.20, παρατηρείται ότι εγκλωβίζοντας την κourkouμίνη εμφανίζονται τρεις νέες κορυφές. Ειδικότερα, η μπάντα απορρόφησης στα 1630cm⁻¹ αποδίδεται στις δονήσεις C=C, η μπάντα απορρόφησης στα 1594cm⁻¹ στους βενζολικούς δακτυλίους και η μπάντα απορρόφησης στα 1515cm⁻¹ στους C=C και στο C=O. Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν τον επιτυχή εγκλωβισμό της κourkouμίνης στα μικκύλια των συμπολυμερών [90].

4.4.2 Εγκλωβισμός Ινδομεθακίνης

Ο εγκλωβισμός της ινδομεθακίνης (IND) στα πολυμερικά μικκύλια πραγματοποιήθηκε με το ίδιο πρωτόκολλα που χρησιμοποιήθηκε και για την κourkouμίνη και τα οποία περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 3.5. Με βάση

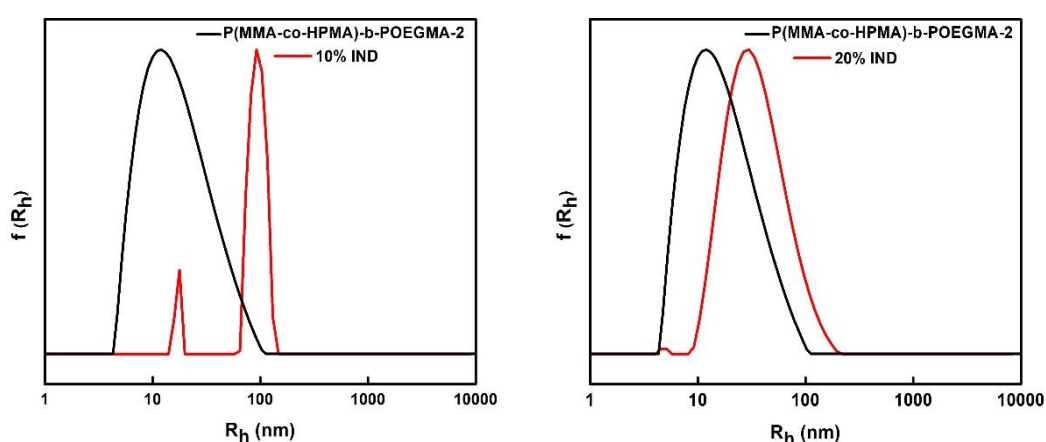
το πρώτο πρωτόκολλο το πολυμερές και η ινδομεθακίνη διαλύονται μαζί με τη χρήση του οργανικού διαλύτη (CHCl_3). Έπειτα πραγματοποιήθηκε ένεση του διαλύματος του μίγματος πολυμερούς/IND σε νερό υπό έντονη ανάδευση με μεγάλη ταχύτητα. Ακολούθησε η εξάτμιση του οργανικού διαλύτη για περίπου 2 ώρες. Με βάση το δεύτερο πρωτόκολλο γίνεται παρασκευή δύο ξεχωριστών διαλυμάτων, πολυμερούς σε χλωροφόρμιο και ινδομεθακίνης σε χλωροφόρμιο. Ύστερα τοποθετούνται και τα δύο διαλύματα σε μια σφαιρική φιάλη και με τη χρήση του περιστροφικού εξατμιστήρα ο διαλύτης εξατμίζεται και στα τοιχώματα της σφαιρικής φιάλης σχηματίζεται ένα λεπτό υμένιο (thin film) περιμετρικά της επιφάνειάς της. Έπειτα, προστίθεται H_2O και με ήπια ανάδευση προκύπτει η δημιουργία αυτοοργανούμενων δομών στο υδατικό διάλυμα. Το ποσοστό της ινδομεθακίνης που εγκλωβίστηκε υπολογίστηκε με βάση την κατά βάρος χημική σύσταση των συμπολυμερών σε $\text{P}(\text{MMA-co-HPMA})$ και το ποσοστό κατά βάρος της ινδομεθακίνης που θέλουμε να εγκλωβίσουμε. Παρασκευάστηκαν δείγματα με ποσοστό εγκλωβισμού 10% και 20% w/w και για τα δύο συμπολυμερή. Η τελική συγκέντρωση των διαλυμάτων ως προς το συμπολυμερές μετά την εξάτμιση της ακετόνης ήταν 1×10^{-3} g/ml. Τα δείγματα μετρήθηκαν με δυναμική σκέδαση φωτός σε θερμοκρασία 25°C και υπό γωνία 90° . Παρακάτω παρουσιάζονται ενδεικτικά, συγκριτικά διαγράμματα κατανομής μεγεθών των μικκυλίων πριν και μετά τον εγκλωβισμό της ινδομεθακίνης.



Σχήμα 4.21: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1 πριν και μετά τον εγκλωβισμό (10% και 20%) ινδομεθακίνης.
 a), b) πρωτόκολλο εξάτμισης / c), d) πρωτόκολλο Thin Film

Από τα παραπάνω διαγράμματα είναι φανερό ότι με την προσθήκη ινδομεθακίνης οι διαστάσεις των μικκυλίων αυξάνονται και στις δύο περιπτώσεις, γεγονός που καταδεικνύει τον επιτυχή εγκλωβισμό του φαρμάκου στα πολυμερικά μικκύλια. Στο συγκεκριμένο συμπολυμερές και για το πρωτόκολλο του οργανικού διαλύτη, με την προσθήκη του φαρμάκου σε ποσοστό 10%, παρατηρείται η ύπαρξη μιας κορύφης με αρκετά πλατιά κατανομή μεγεθών και αυτό θα μπορούσε να οδηγή στο συμπέρασμα ότι ίσως δημιουργούνται και συσσωματώματα μεταξύ φαρμάκου και πολυμερούς. Σε αντίθεση τώρα με την προσθήκη ινδομεθακίνης σε μεγαλύτερο ποσοστό 20%, παρατηρείται η ύπαρξη μιας κορύφης με λιγότερο πλατιά κατανομή μεγεθών σε σχέση με το ποσοστό εγκλωβισμού 10%, γεγονός που δείχνει ότι σε μεγαλύτερα ποσοστά εγκλωβισμού η κατανομή των μεγεθών μειώνεται σημαντικά και αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι κυριαρχούν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ πολυμερούς και φαρμάκου με συνέπεια τον καλύτερο εγκλωβισμό του. Με βάση τα διαγράμματα με το πρωτόκολλο του Thin Film στο μικρότερο

ποσοστό ινδομεθακίνης, παρατηρείται μία κορυφή με αρκετά πιο στενές κατανομές μεγεθών σε σχέση με το πρωτόκολλο του οργανικού διαλύτη και αυτό οδηγεί στο σχηματισμό των καλύτερα δομικά καθορισμένων συσσωματωμάτων. Σε αντίθεση, με μεγαλύτερο ποσοστό εγκλωβισμού της φαρμακευτικής ουσίας παρατηρείται η ύπαρξη μιας κορυφή με αρκετά ευρεία κατανομή μεγεθών, μεγαλύτερη και από το πρωτόκολλο του οργανικού διαλύτη όπου τα όρια της υδροδυναμικής ακτίνας (R_h) δεν είναι πλήρως καθορισμένα λόγω ύπαρξης ουράς σε υψηλότερες τιμές R_h .



Σχήμα 4.22: Σύγκριση διαγραμμάτων κατανομής μεγεθών του συμπολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 πριν και μετά τον εγκλωβισμό (10% και 20%) ινδομεθακίνης

Από τα παραπάνω διαγράμματα εγκλωβίζοντας το φάρμακο στο συμπολυμερές το οποίο έχει περισσότερο PHPMA στους πυρήνες των μικκυλίων του, παρατηρείται και για τα δύο ποσοστά εγκλωβισμού φαρμακού στενότερες κατανομές μεγεθών σε σχέση με τα πολυμερικά μικκύλια χωρίς την ινδομεθακίνη. Ειδικότερα στο ποσοστό 10% ινδομεθακίνης παρατηρούνται δύο στενές κορυφές από τις οποίες η μικρή σε μέγεθος κορυφή ανήκει σε πολυμερικά μικκύλια χωρίς τον εγκλωβισμό φαρμάκου ή μικκύλια με μικρό ποσοστό ινδομεθακίνης, ενώ η μεγαλύτερη σε μέγεθος κορυφή οφείλεται στον επιτυχή εγκλωβισμό της ινδομεθακίνης στα μικκύλια του συμπολυμερούς και λόγω δημιουργίας συσσωματωμάτων. Αντίθετα, αυξάνοντας το ποσοστό του εγκλωβισμού παρατηρείται η ύπαρξη μίας μόνο κορυφής με στενότερη κατανομή μεγεθών σε σχέση χωρίς το φάρμακο εγκλωβισμένο στα μικκύλια.

Στην περίπτωση του συγκεκριμένου συμπολυμερούς είναι φανερό ότι παρουσιάζονται στενότερες κατανομές μεγεθών σε σχέση με το P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1, όπως φαίνεται και από τα αποτελέσματα του Πίνακα 5. Αυτό ίσως οφείλεται στην μεγαλύτερη αναλογία PHPMA στο συμπολυμερές, γεγονός που το κάνει πιο πολικό απέναντι στην ινδομεθακίνη και αυτό έχει ως αποτέλεσμα καλύτερες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δύο συστατικών και σε καλύτερες κατανομές μεγεθών.

Συμπερασματικά από τις μελέτες στα δύο φάρμακα που εγκλωβίστηκαν επιτυχώς στα μικκύλια των P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA παρατηρήθηκε ότι η ινδομεθακίνη χάρη στο ότι είναι λιγότερο υδρόφοβο μόριο σε σχέση με την κουρκουμίνη, δίνει καλύτερα αποτελέσματα εγκλωβισμού. Η κουρκουμίνη είναι πιο υδρόφοβο μόριο, εξαιτίας του ότι περιέχει λιγότερες πολικές ομάδες. Εδώ χρειάζεται να σημειωθεί ότι γίνεται σύγκριση με πολυμερικά μικκύλια που έχουν παρασκευαστεί με πρωτόκολλο ανάλογο με αυτό που χρησιμοποιήθηκε για τον εγκλωβισμό της ινδομεθακίνης (ώστε να είναι δυνατή η κατευθείαν σύγκριση των νανοσυστημάτων).

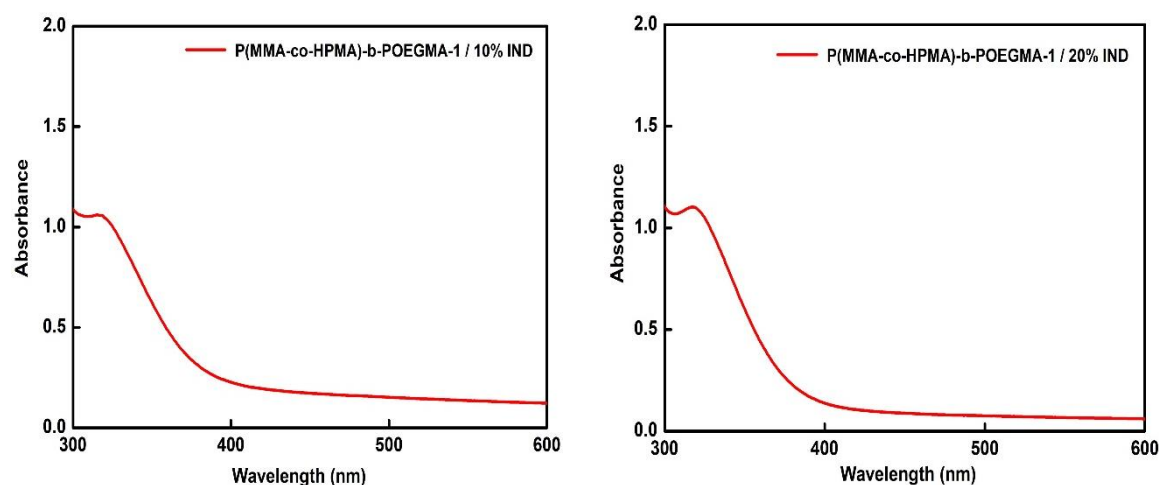
Πίνακας 5: Συγκριτικός πίνακας αποτελεσμάτων DLS/SLS πριν και μετά τον εγκλωβισμό της ινδομεθακίνης στα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

Δείγμα Συμπολυμερούς	Πρωτόκολλα	%IND	R_h (nm) χωρίς IND	R_h (nm) με IND	P.D.I. με IND	R_g/R_{h0}
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1	CHCl ₃	10	16	30	0.45	1
	Λεπτό υμένιο	10	14	18	0.33	-
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1	CHCl ₃	20	16	43	0.3	1
	Λεπτό υμένιο	20	14	24	0.49	-
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2	CHCl ₃	10	19	7.5/94	0.29	0.83
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2	CHCl ₃	20	19	34	0.29	1

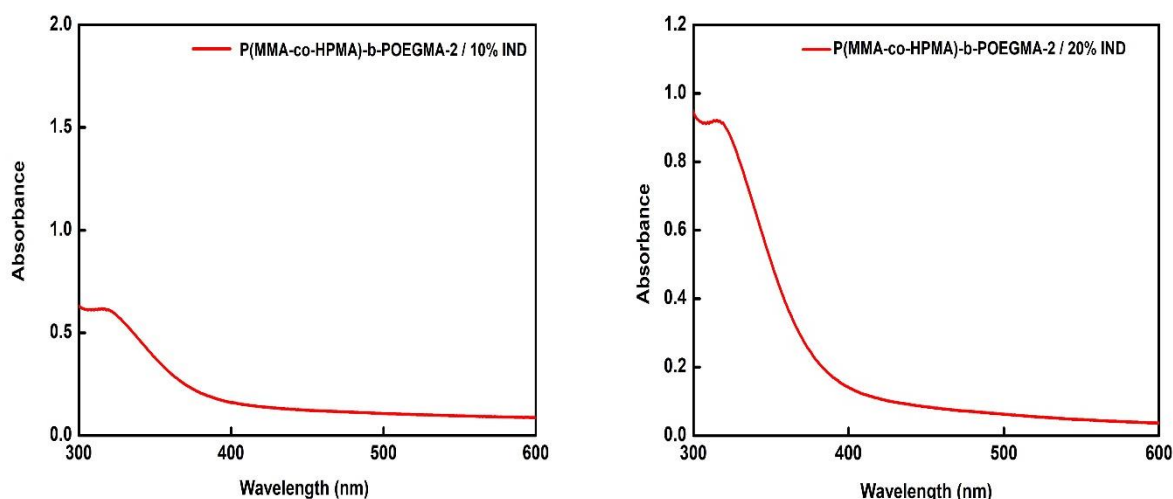
Από τον Πίνακα 5 παρατηρείται ότι η μέση υδροδυναμική ακτίνα των πολυμερικών μικκυλίων αυξάνεται μετά τον εγκλωβισμό της ινδομεθακίνης σε αυτά και για τα δύο πρωτόκολλα. Μέσω της στατικής σκέδασης φωτός υπολογίστηκε η γυροσκοπική ακτίνα (R_g) και κατ' επέκταση ο λόγος R_g/R_{h0} . Ο λόγος της γυροσκοπικής ακτίνας προς την υδροδυναμική ακτίνα στις 0° δίνει σημαντικά συμπεράσματα για την μορφολογία των αυτο-οργανούμενων νανοσωματιδίων που έχουν σχηματιστεί. Από τα δείγματα των συμπολυμερών λαμβάνονται οι τιμές του λόγου R_g/R_{h0} οι οποίες έχουν εύρος από 0.83 έως 1. Από την βιβλιογραφία στο εύρος των τιμών αυτών ανήκουν μορφολογίες κυστιδίων [88]. Επίσης, δεν ήταν εφικτό να πραγματοποιηθούν μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός αλλά και φασματοσκοπίας υπεριώδους-ορατού για

το συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 με το πρωτόκολλο του Thin Film λόγω του ότι δεν ήταν σταθερά τα διαλύματα με το φάρμακο.

Για τον έλεγχο του επιτυχούς εγκλωβισμού της ινδομεθακίνης στα πολυμερικά μικκύλια πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις φασματοσκοπίας UV-Vis όπως έγινε και με την κουρκουμίνη. Γνωρίζοντας βιβλιογραφικά ότι η ινδομεθακίνη απορροφά στα 320nm [91] ενώ το πολυμερές δεν απορροφά στη UV-Vis περιοχή, επίσης κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη αναφοράς της ινδομεθακίνης, αποτελούμενης από έξι διαφορετικές συγκεντρώσεις ινδομεθακίνης σε χλωροφόρμιο με σκοπό τον υπολογισμό του ποσοστού εγκλωβισμού του φαρμάκου. Παρακάτω παρατίθενται ενδεικτικά φάσματα UV-Vis για τα δύο αμφίφιλα δισυσταδικά συμπολυμερή στις ίδιες συγκεντρώσεις σε νερό αλλά σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου.

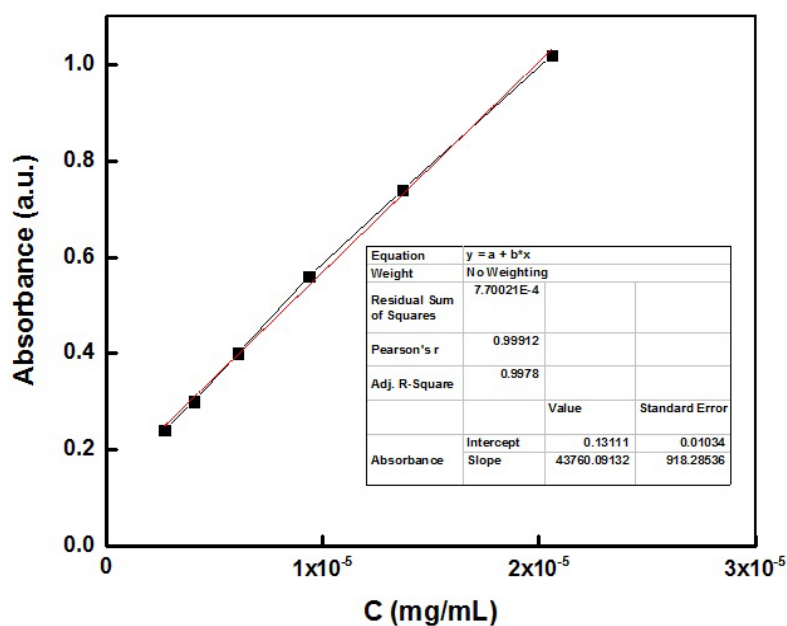


Σχήμα 4.23: Φάσμα απορρόφησης UV-Vis για τα μικτά συσσωματώματα P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1/INDOMETHACIN σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου με το πρωτόκολλο (CHCl₃)



Σχήμα 4.24: Φάσμα απορρόφησης UV-Vis για τα μικτά συσσωματώματα P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2/INDOMETHACIN σε διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου με το πρωτόκολλο (CHCl₃)

Παρατηρείται και στα δύο αμφίφιλα συμπολυμερή ότι στις διαφορετικές αναλογίες φαρμάκου, η απορρόφηση αυξάνεται όσο αυξάνεται το ποσοστό του φαρμάκου. Αξίζει να αναφερθεί ότι στα διαφορετικά συστήματα τα οποία διαφέρουν ως προς τη σύσταση, το δείγμα P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1 εμφανίζει μεγαλύτερες απορροφήσεις και για τα δύο ποσοστά φαρμάκου. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί με το γεγονός ότι στο συγκεκριμένο σύστημα το ποσοστό της υδρόφοβης συστάδας είναι μικρότερο και έτσι εγκλωβίζεται περισσότερη ινδομεθακίνη στον πυρήνα των μικκυλίων. Επίσης, βάση των αποτελεσμάτων που παρατίθενται στον Πίνακα 6, για το συμπολυμερές P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1 φαίνεται ότι με το ποσοστό 10% σε ινδομεθακίνη και για τα δύο πρωτόκολλα, εγκλωβίζεται περισσότερο φάρμακο στους πυρήνες των μικκυλίων.

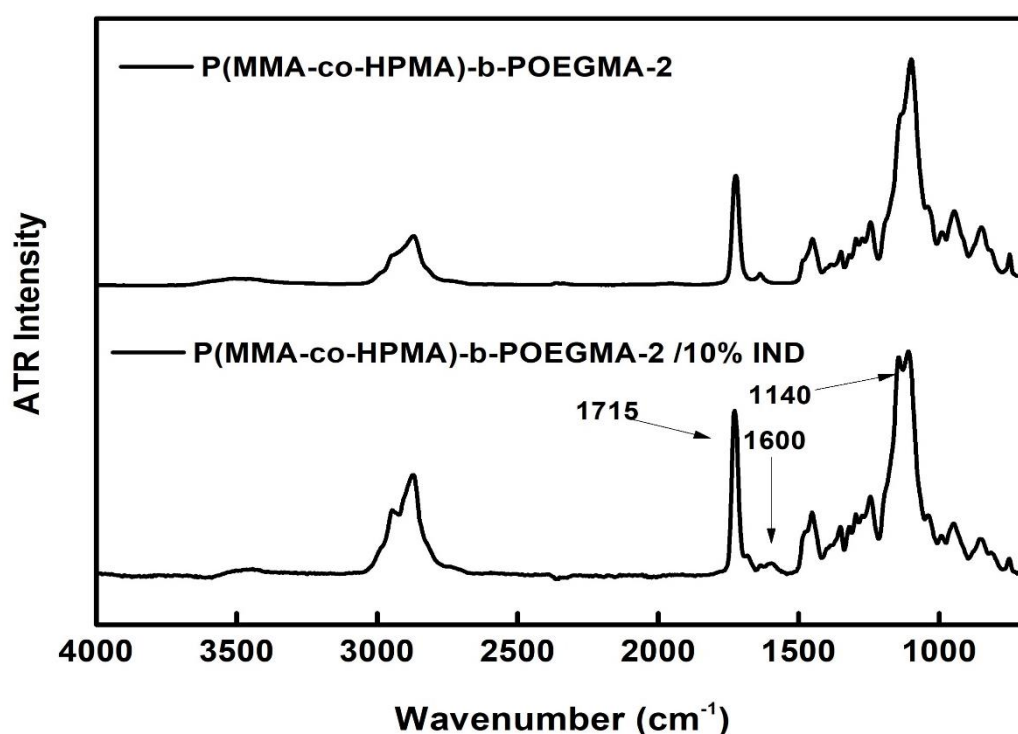


Σχήμα 4.25: Καμπύλη αναφοράς Ινδομεθακίνης σε CHCl₃

Πίνακας 6: Αποτελέσματα υπολογισμού απόδοσης εγκλωβισμού της ινδομεθακίνης για τα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA

Δείγμα Συμπολυμερούς	Πρωτόκολλα	Ποσότητα Ινδομεθακίνης που χρησιμοποιήθηκε σε (mg)	Μέγιστο Ποσοστό Εγκλωβισμού (%w/w)	% απόδοση εγκλωβισμού
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1	CHCl ₃	0.5	20	4.4
	Λεπτό υμένιο	0.5	20	4.7
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-1	CHCl ₃	0.25	10	8.4
	Λεπτό υμένιο	0.25	10	8.1
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2	CHCl ₃	0.86	20	1.5
P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2	CHCl ₃	0.43	10	2.5

Επίσης η τεχνική ATR-FTIR όπως και με την κουρκουμίνη έτσι και για την ινδομεθακίνη χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη των αλληλεπιδράσεων πολυμερούς/φαρμάκου, καθώς καθένα απορροφά σε συγκεκριμένες συχνότητες, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές για τη δομή τους. Για τον σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις φασματοσκοπίας ATR-FTIR. Παρακάτω παρατίθενται ενδεικτικά φάσματα ATR-FTIR του πολυμερούς P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 καθώς και του μίγματος πολυμερούς/φαρμάκου. Όλες οι μετρήσεις έγιναν σε στερεή κατάσταση μετά από εξάτμιση του διαλύτη υπό ροή αζώτου [92].



Σχήμα 4.26: Φάσμα απορρόφησης ATR-FTIR για τα πολυμερικά μικκύλια P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA-2 σε ποσοστό 10%ινδομεθακίνης

Από το φάσμα απορρόφησης παρατηρείται η εμφάνιση μιας νέας κορυφής στα 1600cm⁻¹, η οποία βιβλιογραφικά συνδέεται με τους βενζολικούς δακτυλίους της ινδομεθακίνης. Επίσης, ο επιτυχής εγκωβισμός του φαρμάκου μπορεί να καθοριστεί και από την αύξηση της έντασης στα 1715cm⁻¹ η οποία ανήκει και στο καρβονύλιο της ινδομεθακίνης. Μια ακόμα διαφορά παρατηρείται και στα 1140cm⁻¹ η οποία πιθανόν να οφείλεται στην ανάπτυξη δεσμών υδρογόνου

μεταξύ των πολικών ομάδων της ινδομεθακίνης και της υδροξυλομάδας του ΡΗΡΜΑ.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Επιτεύχθηκε η σύνθεση αμφίφιλων κατά συστάδες συμπολυμερών του τύπου P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA, έχοντας το καθένα διαφορετική σύσταση της υδρόφοβης συστάδας, με τη χρήση της τεχνικής πολυμερισμού RAFT. Για τον μοριακό χαρακτηρισμό των πολυμερών χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές χρωματογραφίας, φασματοσκοπικές και θερμικές τεχνικές. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν την επιτυχή σύνθεση των επιδιωκόμενων αμφίφιλων συμπολυμερών.

Στη δεύτερη φάση παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα μικκυλίων των αμφίφιλων συμπολυμερών. Η παρασκευή των διαλυμάτων αυτών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της διάλυσης του πολυμερούς σε κοινό και για τις δύο συστάδες οργανικό διαλύτη και την εξάτμιση αυτού μετά την προσθήκη σε υδατικό διάλυμα, έτσι ώστε να γίνει αυτο-οργάνωση των πολυμερών σε μικκυλιακές δομές. Για τον χαρακτηρισμό των μικκυλίων χρησιμοποιήθηκαν οι τεχνικές σκέδασης όπως DLS και ELS καθώς και φασματοσκοπία φθορισμού (FS), τα αποτελέσματα των οποίων τείνουν στο συμπέρασμα ότι τα συμπολυμερή αυτο-οργανώνονται στο νερό σχηματίζοντας πολυμερικά μικκύλια.

Τα αμφίφιλα συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA χρησιμοποιήθηκαν ως νανοφορείς για τον εγκλωβισμό της κουρκουμίνης και της ινδομεθακίνης. Παρασκευάστηκαν διαλύματα πολυμερούς με μέγιστο ποσοστό εγκλωβισμένης κουρκουμίνης και ινδομεθακίνης 20% w/w. Οι μικτές νανοδομές που προέκυψαν μελετήθηκαν μέσω τεχνικών DLS, SLS και φασματοσκοπικών μεθόδων UV—Vis και ATR-FTIR. Μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός εξήχθη το συμπέρασμα ότι η σταθερότητα των κολλοειδών διαλυμάτων εξαρτάται από την κατά βάρος σύσταση της POEGMA συστάδας. Μέσω της φασματοσκοπίας UV-Vis υπολογίστηκε το ποσοστό εγκλωβισμού της κουρκουμίνης, καθώς και από τη φασματοσκοπία ATR-FTIR ταυτοποιήθηκαν οι χαρακτηριστικές χημικές ομάδες των δύο φαρμάκων στο πολυμερές.

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από τις μελέτες που διεξήχθησαν κατά την παρούσα ερευνητική εργασία είναι πως τα αμφίφιλα κατά συστάδες συμπολυμερή P(MMA-co-HPMA)-b-POEGMA μπορούν να αυτο-οργανωθούν σε μικκύλια τα οποία στη συνέχεια δύναται να χρησιμοποιηθούν επιτυχώς ως νανοφορείς για τον εγκλωβισμό υδρόφοβων φαρμακευτικών ουσιών, μιας και επιπροσθέτως περιβάλλονται από αλυσίδες POEGMA με δυνατότητες απόκρισης ανάλογες του PEG.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Ξενόγλωσσος Όρος	Ελληνικός Όρος
Poly (methyl-methacrylate)	Πολυ (μεθακρυλικός-μεθυλεστέρας)
Poly (hydroxy propyl - methacrylate)	Πολυ (μεθακρυλικός - υδροξυπροπυλεστέρας)
Poly [oligo (ethylene glycol) - methyl ether methacrylate]	Πολυ (μεθακρυλικός - εστέρας της ολιγοαιθυνελογλυκόλης)
Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer	Πολυμερισμός Αντιστρεπτής Προσθήκης – Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση
Chain Transfer Agent	Μέσο Μεταφοράς Αλυσίδας
Critical Micelles Concentration	Κρίσιμη Μικκυλιακή Συγκέντρωση
Gel Permeation Chromatography	Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγεθών
Nuclear Magnetic Resonance	Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός
Dynamic Light Scattering	Δυναμική Σκέδαση Φωτός
Static Light Scattering	Στατική Σκέδαση Φωτός
Fluorescence Spectroscopy	Φασματοσκοπία Φθορισμού
Infrared Spectroscopy	Φασματοσκοπία Υπερύθρου

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

PMMA	Poly (methyl - methacrylate)
PHPMA	Poly (hydroxy propyl – methacrylate)
POEGMA	Poly [oligo (ethylene glycol) - methyl ether methacrylate]
RAFT	Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer
AIBN	Azo-bisisobutyrylnitrile
GPC	Gel Permeation Chromatography
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
¹ H-NMR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
CDCl ₃	Deuterium Chloroform
FTIR-ATR	Fourier Transmission Infra Red – Attenuated Total Reflection
DLS	Dynamic Light Scattering
SLS	Static Light Scattering
FS	Fluorescence Spectroscopy

ELS	Electrophoretic Light Scattering
R_h	Hydrodynamic radius
R_g	Radius of gyration
THF	Tetrahydrofuran
CMC	Critical Micelle Concentration
SEC	Size exclusion chromatography

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. P. Alexandridis, B. Lindman, Amphiphilic Block Copolymers. Self-Assembly and Applications. Amsterdam: Elsevier; 2000.
2. S. Forster, M. Antonietti, Amphiphilic block copolymers in structure-controlled nanomaterials hybrids. *Advanced Materials* 1998, (10), 195–217.
3. A. Blanazs, S.P. Armes, A.J. Ryan, Self-assembled block copolymer aggregates: from micelles to vesicles and their biological applications. *Macromolecules Rapid Communications* 2009, (30), 237–66.
4. Dicker, I.B., Cohen, G. M, Farnham, W.B., Hertler, W.R, Laganis, E.D., Sogah, D.Y., Oxyanions catalyse group-transfer polymerization to give living polymers, *Macromolecules*, vol.23, pp. 4034-4041, 1990
5. Πιτσικάλης Μαρίνος, Ειδικά θέματα επιστήμης πολυμερών, Σημειώσεις Μαθήματος, Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2010
6. J.F. Gohy, Block copolymer micelles. *Advances in Polymer Science*, 2005, vol. 190, 2005 pp. 65–136
7. Constantinos Tsitsilianis, George Gotzamanis, Zacharoula Iatridi Design of “smart” segmented polymers by incorporating random copolymers as building blocks, Feature Article, *European Polymer Journal* 47 (2011) 497-510
8. Li, L., Raghupathi, K., Song, C., Prasad, P., Thayumanavan, S., Self-assembly of random copolymers, *Chemical Communications*, vol.50, pp. 13417-13432, 2014
9. Y. Yuya, O. Masahiko, H. Masahir, *Angew. Makromol. Chemie* **1969**, 9, 136.

10. C. M. Boussias, R. H. Peters, R. H. Still, *Journal of Applied. Polymer Science* **1980**, 25, 855.
11. Q. X. Yu, R. Wilhelm, H. Walter, *Angew. Makromol. Chemie* **1984**, 125,69
12. C. Francois, S. Alain, B. Georges, *Journal of Polymer Science, Part B: Polym. Phys.* **1990**, 28, 647.
13. R. Bongiovanni, G. Malucelli, M. Messori, F. Pilati, A. Priola, C. Tonelli, M. Toselli, *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **2005**, 43, 3588.
14. J.-T. Hong, N.-S. Cho, H.-S. Yoon, T.-H. Kim, D.-H. Lee, W.-G. Kim, *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* **2005**, 43, 2790.
15. Y. Ren, T. P. Lodge, M. A. Hillmyer, *Macromolecules* **2000**, 33, 866.
16. T. Otsu, A. Kuriyama, *Polymer Journal* **1985**, 17, 97.
17. R. B. Grubbs, J. M. Dean, F. S. Bates, *Macromolecules* **2001**, 34, 8593.
18. Y. Li, B. S. Lokitz, C. L. Mc Cormick, *Macromolecules*, **2006**, 39, 81.
19. Matyjaszewski, K.; Xia, J. J. *Chemical Reviews* **2001**, 101, 2921.
20. Hawker, C. J.; Bosman, A. W.; Harth, E. *Chemical Review* **2001**, 101, 3661.
21. E. L. Madruga, *Progress in Polymer Science* **2002**, 27, 1879.
22. G. Moad, RAFT polymerization to form stimuli-responsive polymers, *Polymer Chemistry*, vol. 8, no. 1, 2017, pp. 177-219.

23. G. Moad, E. Rizzardo, and S. H. Thang, Living radical polymerization by the RAFT process—a first update, *Australian Journal of Chemistry*, vol. 59, no. 10, 2006, pp. 669-692.
24. A. E. Smith, X. Xu, and C. L. McCormick, Stimuli-responsive amphiphilic (co) polymers via RAFT polymerization, *Progress in polymer science*, vol. 35, no. 1-2, 2010, pp. 45-93.
25. S. b. Perrier, 50th Anniversary Perspective: RAFT Polymerization A User Guide, *Macromolecules*, vol. 50, no. 19, 2017, pp. 7433-7447.
26. A. B. Lowe, and C. L. McCormick, Reversible addition–fragmentation chain transfer (RAFT) radical polymerization and the synthesis of water-soluble (co) polymers under homogeneous conditions in organic and aqueous media, *Progress in Polymer Science*, vol. 32, no. 3, 2007, pp. 283-351.
27. Mai, Y., Eisenberg, A., Self-assembly of block copolymers, *Chemical Communications*, vol.41, pp. 5969-5985, 2012
28. Blanazs, A., Armes, S. P., & Ryan, A. J., Self-assembled block copolymer aggregates: from micelles to vesicles and their biological applications, *Macromolecular Rapid Communications*, vol.30, pp.267-277, 2009
29. Shawn C. Owen, Dianna P.Y. Chan, Molly S. Shoichet, Polymeric micelle stability, *Nano Today review* (2012) 7, 53-65
30. Kataoka, K., Harada, A., Nagasaki, Y., *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol.47, pp.113, 2001
31. Kabanov, A., Alakhof, V., *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, vol.19, pp. 1, 2002

32. Kabanov, A., Batrakova, E., Bronich, T., Vetro, J., M., Nanoparticulates as Drug Carriers, vol.57, 2006
33. Kwon, G., Adams, A., Lavasanifae, A., *Amphiphilic block copolymers for drug delivery, Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol.92, pp.1343-1355, 2003
34. Gohy, J.F, Block copolymer micelles, *Advances in Polymer Science*.
35. Aditi M. Jhaveri and Vladimir P. Torchilin, Multifunctional polymeric micelles for delivery of drugs and siRNA, *frontiers in Pharmacology*, review article.
36. Longyu Li, Kishore Raghupathi, Cunfeng Song, Priyaa Prasad and S Thayumanavan, Self-assembly of random copolymers, *Royal Society Of Chemistry, Chem. Commun.*, 2014, 50 13417
37. 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
38. Ana Dominguez, Aurora Fernandez, Noemí Gonzalez, Emilia Iglesias, and Luis Montenegro, Determination of Critical Micelle Concentration of Some Surfactant by Three Techniques, *Journal of Chemical Education*, Vol. 74 No, October 1997
39. J.F. Gohy, Block copolymer micelles, *Advances in Polymer Science*, 2005, 190, 65–136
40. 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

41. 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
42. F. M. Winnik, Interactions of surfactants with hydrophobically modified poly(N-isopropylacrylamides). 1. Fluorescence probe studies, *Langmuir*, vol. 7, 1991, pp. 905-911
43. Παναγιώτου Κ. Διεπιφανειακά φαινόμενα και κολλοειδή συστήματα, Ζήτη, Θεσσαλονίκη, 1998
44. Karayianni, M., & Pispas, S. "Self-Assembly of Amphiphilic Block Copolymers in Selective Solvents", Chapter in: Fluorescence Studies of Polymer Containing Systems, pp.27-63, Springer International Publishing, (2016).
45. Gohy, J. F., "Block copolymer micelles", Chapter in: Block copolymers II, *Advances in Polymer Science*, vol.190, pp.65-136, (2005).
46. Munk, P. "Equilibrium and nonequilibrium polymer micelles". Chapter: Solvents and Self-organization of Polymers, pp.19-32, Springer Netherlands, (1996).
47. J. Kuo, ed., *Electron microscopy: methods and protocols*, Springer Science & Business Media, 2007.
48. J. Kuntsche, J. C. Horst, and H. Bunjes, Cryogenic transmission electron microscopy (cryo-TEM) for studying the morphology of colloidal drug delivery systems, *International journal of pharmaceutics*, vol. 417, no. 1-2, 2011, pp. 120-137.

- 49.W. Zhou, and Z. L. Wang, eds., *Scanning microscopy for nanotechnology: techniques and applications*, Springer science & business media, 2007.
- 50.V. Nadtochenko, A. Rincon, S. Stanca, and J. Kiwi, Dynamics of E. coli membrane cell peroxidation during TiO₂ photocatalysis studied by ATR-FTIR spectroscopy and AFM microscopy, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 169, no. 2, 2005, pp. 131-137.
- 51.W. Schärtl, ed., *Light scattering from polymer solutions and nanoparticle dispersions*, Springer Science & Business Media, 2007.
- 52.M. Καραγιάννη, *Αυτοοργάνωση πολυμερών: πολυηλεκτρολύτες και σύμπλοκά τους με πρωτεΐνες*, Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 2012.
53. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5664031/>
- 54.R. Vane, Document Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs, *Nature*, vol. 2, 1971
- 55.S. A. Surwase, J.P. Boetker, D. Saville, B. J.Boyd, K. C. Gordon, L. Peltonen, C. J. Strachan, Indomethacin: New polymorphs of an old drug, *Molecular Pharmaceutics*, vol.10, 2013, pp. 4472-4480
- 56.Ιατρού Ε, Πίσπας Α, Πιτσικάλης Μ, Σημειώσεις μεταπτυχιακού μαθήματος: Μέθοδοι χαρακτηρισμού πολυμερών, Μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών: Επιστήμη πολυμερών και εφαρμογές της, Πανεπιστήμιο Αθηνών
- 57.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 Hiemenz, P., Polymer Chemistry: The Basic Concepts, New York, Chap. 1, pp. 642-652, 1984
58. Hiemenz, P., Polymer Chemistry: The Basic Concepts, New York, Chap. 1, pp. 642-652, 1984
59. Gedde, U. W., Polymer Physics, Chapman and Hall: UK, Chap. 1, pp. 1-18, 1995
60. Παναγιώτου Κ., Επιστήμη και Τεχνολογία Πολυμερών, Κεφ. 8, Σελ. 255-258, 2η εκδ., Εκδόσεις Πήγασος, Αθήνα, 2000
61. Παρουσίαση μαθήματος, Τμήμα φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ, http://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/PHARM110/ir_nmr_presentation.pdf
62. Pecsok R. L., Shields L. D., Cairns T., McWilliam I. G., Σύγχρονες Μέθοδοι στη Χημική Ανάλυση, 2η εκδ., Μετάφραση: Βολιώτης Σ., Εκδόσεις Πνευματικός, Αθήνα, 1980, Κεφ. 15, 316-346.
63. L.G. Wade, JR Withman College, Οργανική χημεία, 7η έκδοση, Εκδόσεις Τζιόλα.
64. Ε. Ι. Καμίτσος, *Σημειώσεις Φασματοσκοπίας Υπερύθρου*, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών “Επιστήμη Πολυμερών και Εφαρμογές της”, (2002).
65. N. J. Harrick, “Internal Reflection Spectroscopy”, John Wiley & Sons, (1967).
66. Βαλαβανίδης, Α., Βασικές Αρχές Μοριακής Φασματοσκοπίας και Εφαρμογές στην Οργανική Χημεία, Εκδόσεις Σύγχρονα Θέματα, Αθήνα, 2008

67. Schander, B., *Infrared and Raman Spectroscopy*, New York: VCH Press, 1995
68. Σογομών Μπογιασιάν, Αλέξανδρος Κατσαούνης, Σωτηροπούλου Δ., *Σημειώσεις Φασματοφωτομετρία Υπεριώδους – Ορατού, UV – Vis*, Έργο <<Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Πατρών>>
69. S. Sheiko, *Advances in Polymer Science*, 2000, (15), 61.
70. Θ. Π. Χατζηγιάννου, Μ. Α. Κουππάρης, *Ενόργανη ανάλυση*, Πανεπιστήμιο Αθηνών, 1997
71. Cowie J.M.G., *Polymers: Chemistry & Physics of Modern Materials*, 2nd ed, Stanley Thornes Ltd: UK, 1998, Chap. 9, 196-202
72. B. J. Berne, R. Pecora, *Dynamic Light Scattering*, John Wiley & Sons, 1976.
73. P. Kratochvil, *Classical Light Scattering from Polymer Solutions*, Elsevier, 1987.
74. Chu, *Laser Light Scattering: Basic Principles and Practice*, 2nd ed., Academic Press, 1991.
75. Ν. Χατζηχρηστίδης, Κ. Βύρας, Ε. Ιατρού, Σ. Πίσπας, Μ. Πιτσικάλης, Π. Πίσσης, Μέθοδοι Χαρακτηρισμού Πολυμερών, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών “Επιστήμη Πολυμερών και Εφαρμογές της”, 1998.
76. Pecora, R., *Dynamic light scattering: Applications of photon correlation spectroscopy*, Plenum Press, 1985
77. 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
78. D. E. Koppel, Analysis of Macromolecular Polydispersity in Intensity Correlation Spectroscopy: The Method of Cumulants, *Journal of Chemical Physics*, 1972, 57 (11), 4814-4820
79. S. W. Provencher, Inverse problems in polymer characterization: Direct analysis of polydispersity with photon correlation spectroscopy, *Macromolecular Chemistry and Physics*, 1979, 180 (1), 201-209
80. R. J. Hunter, *Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Application*, Academic Press, 1981
81. R. Xu, *Particle Characterization: Light Scattering Methods, Chap. 6: Electrophoretic Light Scattering*, Springer, 2001
82. A. V. Delgado, F. Gonzalez-Caballero, R. J. Hunter, L. K. Koopal, J. Lyklema, Measurement and Interpretation of Electrokinetic Phenomena, *Pure and Applied Chemistry*, 2005, 77 (10), 1753-1850.
83. <http://www.brookheaven.co.uk/zeta-potential.html>
84. <http://www.pssnicomp.com/zetattheory.htm>
85. Skandalis, A., Pispas, S., PLMA-b-POEGMA amphiphilic block copolymers: Synthesis and self-assembly in aqueous media, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, vol.55. pp. 155-163, 2017
86. Ζαχαροπούλου Β. Επίδραση διαφόρων καταλυτών στην πυρολυτική αποικοδόμηση πολυμερών με στόχο την παραγωγή προϊόντων προστιθέμενης αξίας, Θεσσαλονίκη, 2018

87. Ulu Ahmet, Ates Burhan, Synthesis and characterization of PMMA composites activated with starch for immobilization of L-asparaginase, *Journal of Applied Polymer Science*, Vol.133, 2016
88. B. M.Tande, and N. J.Wagner, Viscosimetric, Hydrodynamic, and Conformational Properties of Dendrimers and Dendrons, *Macromolecules*, vol. 34, 2001, pp. 8580–8585.
89. Y.Wang, M.Pin, A-L Jeng, Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products, *Journal of Pharmaceutical and Biometical Analysis*, vol. 15, 1997, pp. 1867-1876
90. N. Zs. Nagy, Z.Varga, J. Mihaly, Gy. Kasza, B. Ivan, E. Kiss, Highly efficient encapsulation of curcumin into and pH-controlled drug release from poly (ϵ -caprolactone) nanoparticles stabilized with a novel amphiphilic hyperbranched polyglycerol, *eXPRESS Polymer Letters*, Vol. 14 No.1 (2020) 90-101
91. D.Depeyron, M.Kowakami, A.Ferreira, Design of indomethacin-loaded nanoparticles: effect of polymer matrix and surfactant, *International Journal of Nanomedicine*, vol.8,2013,pp. 3464-3477
92. Dinesh Kumar Jain , Gajanan Darwhekar, Shailendra Singh Solanki, Ravi Sharma, Osmotically regulated assymmetric capsular system for sustained delivery of indomethacin, vol.43,2013,pp27-35