



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΧΗΜΕΙΑΣ»
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ « ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ »**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Αμφίφιλα Συμπολυμερή Κατά Συστάδες πολυ(Μεθακρυλικού
Εστέρα της Διμεθυλοαμινοαιθανόλης) –b–
πολυ(Μεθακρυλικού Εστέρα της Δωδεκανόλης):
Σύνθεση, Χημική Τροποποίηση, Χαρακτηρισμός,
Αυτοοργάνωση σε Διαλύματα και Σύμπλεξη με DNA**

**ΒΑΡΒΑΡΑ ΧΡΥΣΟΣΤΟΜΟΥ
ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΩΝ ΥΛΙΚΩΝ**

ΑΘΗΝΑ

ΜΑΡΤΙΟΣ 2017

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Αμφίφιλα Συμπολυμερή Κατά Συστάδες πολυ(Μεθακρυλικού Εστέρα της Διμεθυλοαμινοαιθανόλης) –b– πολυ(Μεθακρυλικού Εστέρα της Δωδεκανόλης):
Σύνθεση, Χημική Τροποποίηση, Χαρακτηρισμός, Αυτοοργάνωση σε Διαλύματα και
Σύμπλεξη με DNA

ΒΑΡΒΑΡΑ ΧΡΥΣΟΣΤΟΜΟΥ

A.M.: 151013

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 01/03/2017

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα ερευνητική εργασία αφορά τη σύνθεση καινοτόμων πολυμερικών συστημάτων με εφαρμογή στο τομέα της νανοβιοϊατρικής. Η ικανότητα των πολυμερών να αυτό-οργανώνονται σε μικκυλιακές δομές και άλλες μορφολογίες, όταν εισαχθούν σε κατάλληλο διαλύτη, τα καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμα ως φορείς φαρμάκων και γονιδίων με σκοπό τη στοχευμένη θεραπεία.

Η μελέτη της εργασίας αφορά τη σύνθεση αμφίφιλων δισυσταδικών συμπολυμερών πολυ(μεθακρυλικού εστέρα της διμεθυλοαμινοαιθανόλης) –b– πολυ(μεθακρυλικού εστέρα της δωδεκανόλης) ([poly(2-dimethylamino ethyl methacrylate))-b- (poly (lauryl methacrylate))], PDMAEMA-b-PLMA) μέσω της τεχνικής πολυμερισμού RAFT αντιστρεπτής προσθήκης-μεταφοράς αλυσίδας με απόσπαση (*RAFT Polymerization*) και την χημική τους τροποποίηση προς δημιουργία παράγωγων πολυηλεκτρολυτικών συμπολυμερών με νέες ιδιότητες. Επιπροσθέτως, γίνεται μελέτη ως προς το φυσικοχημικό και μοριακό τους χαρακτηρισμό όσο και της αυτοοργάνωσης τους σε υδατικό μέσο. Έγινε χρήση τεχνικών χαρακτηρισμού που περιλαμβάνει φασματοσκοπικές τεχνικές χαρακτηρισμού, τεχνικές σκέδασης φωτός, χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών και ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης. Μελετάται η συμπεριφορά και οι ιδιότητες των μικκυλίων υπό την επίδραση μια σειράς φυσικοχημικών παραμέτρων όπως pH, θερμοκρασία και ιοντική ισχύς. Η απόκριση των συστημάτων σε αυτές τις παραμέτρους τους προσδίδει νέες ιδιότητες για τη χρήση τους ως νανοφορείς. Στη συνέχεια, πραγματοποιείται η σύμπλεξη των πολυηλεκτρολυτικών πολυμερών με DNA. Διερευνάται η διαδικασία της σύμπλεξης, οι ιδιότητες και η συμπεριφορά των σχηματιζόμενων συμπλόκων συμπολυμερούς-DNA.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Σύνθεση, Χαρακτηρισμός, Αυτοοργάνωση πολυμερών

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες, πολυηλεκτρολύτες, μικκύλια πολυηλεκτρολυτικών συμπολυμερών, σύμπλεξη με DNA.

ABSTRACT

This research concerns the synthesis of novel block copolymer systems with application in the field of nanobiomedicine. Their property to self-assemble into micelle structures and other morphologies, when diluted in a proper solvent, make them particularly useful as drug and gene delivery systems for targeted therapy.

The aim of this research is the synthesis of amphiphilic diblock copolymers of poly(2-dimethylaminoethylmethacrylate)-*b*-poly(lauryl methacrylate), PDMAEMA-*b*-PLMA, using the polymerization technique of reversible addition-fragmentation chain transfer (*RAFT* polymerization) and their chemical modification in a way to create derivative polyelectrolyte block copolymers with new properties.

Furthermore, their physicochemical and molecular characterization is performed in order to elucidate their self-assembly in aqueous media. The characterization of the block copolymers was performed by using characterization techniques such as spectroscopic characterization techniques, light scattering techniques, size exclusion chromatography and transmission electron microscopy. We studied the behavior and properties of the micelles under the effect of physical and chemical parameters such as pH, temperature and ionic strength. These stimuli-responsive block copolymers respond to changes of these parameters giving showing interesting new properties for their use as nanocarriers. Subsequently, we studied the complexation of the polyelectrolyte block copolymers with DNA. We focus on the investigation of the complexation process, the properties and the behavior of the formed block copolymer-DNA complexes.

SUBJECT AREA: Polymers Synthesis, Characterization, Self-Assembly

KEYWORDS: Amphiphilic block copolymers, polyelectrolytes, polyelectrolyte block copolymer micelles, complexation with DNA.

**Στην Οικογένεια 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 εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον επιβλέποντα μου Δρ. Πίσπα Αστέριο, Διευθυντή Ερευνών στο Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών για την άψογη συνεργασία, τη πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση που μου προσέφερε σε κάθε στάδιο εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα μου Δρ. Ιατρού Ερμόλαου, Καθηγητή του Τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών καθώς και όλους του διδάσκοντες του προγράμματος μεταπτυχιακών σπουδών «Επιστήμη Πολυμερών και Εφαρμογές της» για τις πολύτιμες γνώσεις που αποκόμισα παρακολουθώντας το πρόγραμμα.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Δρ. Μπακανδρίτσο Αριστείδη, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Επιστήμης των Υλικών του Πανεπιστημίου Πατρών, διότι έθεσε τις βάσεις για να φτάσουμε στο σήμερα και στην υλοποίηση της μεταπτυχιακής μου εργασίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους ερευνητές του Ινστιτούτου Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών και τους φοιτητές για τη βοήθεια, καθοδήγηση και υποστήριξη που μου παρείχαν καθ'όλη τη παραμονή μου στο ΕΙΕ. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υποψήφιο Διδάκτορα Αθανάσιο Σκανδάλη για τη πολύτιμη και συνεχή βοήθεια που μου προσέφερε σε κάθε στάδιο υλοποίησης της εργασίας μου.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στους δικούς μου ανθρώπους που σε κάθε στάδιο της ζωής μου είναι δίπλα μου να με στηρίζουν και να με παρακινούν να συνεχίζω να εκπληρώνω τους στόχους μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	20
1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	21
1.1 Αμφίφιλα Συμπολυμερή	21
1.1.1 Μικκύλια Αμφίφιλων Συμπολυμερών	22
1.1.2 Παρασκευή Μικκυλίων από Αμφίφιλα Συμπολυμερή	23
1.1.3 Μορφολογία Μικκυλίων	24
1.1.3.1 Σφαιρικά Μικκύλια	24
1.1.3.2 Κυλινδρικά Μικκύλια	26
1.1.3.3 Πολυμεροσώματα-Κυστίδια	27
1.1.4 Χαρακτηρισμός Μικκυλίων	29
1.2 Πολυηλεκτρολύτες	30
1.2.1 Αμφίφιλα Συμπολυμερή με Συστάδες Πολυηλεκτρολύτη	33
1.3 Αποκρίσιμα Πολυμερή	34
1.3.1 Πολυμερή Αποκρίσιμα στη Θερμοκρασία	35
1.3.2 pH-Αποκρίσιμα Πολυμερή	36
1.3.3 Επίδραση της Ιοντικής Ισχύος Διαλύματος	37
1.4 Σύμπλεξη Πολυμερών με DNA	38
1.5 Πολυμερισμός Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση (RAFT Polymerization)	39
1.6 Σκοπός της Εργασίας	43
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	44
2.1 Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγεθών (SEC)	44
2.2 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR)	46
2.3 Φασματοσκοπία Υπερύθρου (IR)	47
2.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού (FS)	50
2.5 Σκέδαση Φωτός (LS)	52

2.5.1	Δυναμική Σκέδαση φωτός (DLS).....	53
2.5.2	Στατική Σκέδαση Φωτός (SLS).....	55
2.5.3	Ηλεκτροφορητική Σκέδαση Φωτός (ELS) – ζ δυναμικό.....	59
2.6	Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης (TEM).....	62
3.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ.....	64
3.1	Υλικά και Αντιδραστήρια.....	64
3.2	Οργανολογία και Τεχνικές Χαρακτηρισμού.....	65
3.3	Σύνθεση Πολυμερών μέσω Τεχνικής Πολυμερισμού RAFT	68
3.3.1	Σύνθεση Ομοπολυμερούς Μεθακρυλικού Εστέρα της Διμεθυλοαμινοαιθανόλης (PDMAEMA)	68
3.3.2	Σύνθεση Συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA	70
3.4	Σύνθεση Χημικά Τροποποιημένων Συμπολυμερών.....	71
3.4.1	Σύνθεση Συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA.....	71
3.4.2	Σύνθεση Συμπολυμερών SPDMAEMA-b-PLMA	72
3.5	Μέθοδοι παρασκευής και αυτοοργάνωση μικκυλιακών δομών	73
3.5.1	Αυτοοργάνωση των PDMAEMA-b-PLMA σε μικκύλια.....	73
3.5.2	Αυτοοργάνωση των QPDMAEMA-b-PLMA σε μικκύλια	74
3.5.3	Αυτοοργάνωση των SPDMAEMA-b-PLMA σε μικκύλια	75
3.6	Μελέτη της επίδρασης φυσικοχημικών παραμέτρων στα διαλύματα των συμπολυμερών	75
3.6.1	Μεταβολή του pH των διαλυμάτων των συμπολυμερών.....	76
3.6.2	Μελέτη της θερμοκρασίας	76
3.6.3	Μελέτη της ιοντικής ισχύος.....	76
3.7	Σύμπλεξη των QPDMAEMA-b-PLMA μικκυλίων με DNA.....	76
3.7.1	Μελέτη επίδρασης ιοντικής ισχύος στα σύμπλοκα QPDMAEMA-b-PLMA/DNA.....	77
4.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	78
4.1	Δισυσταδικά Αμφίφιλα Συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA.....	79

4.1.1	Σύνθεση συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA	79
4.1.2	Μοριακός – Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός μικκυλίων συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA	87
4.1.3	Μελέτη επίδρασης φυσικοχημικών παραμέτρων στα διαλύματα πολυμερών PDMAEMA-b-PLMA.....	95
4.1.3.1	Μελέτη επίδρασης του pH	95
4.1.3.2	Μελέτη επίδρασης της θερμοκρασίας.....	98
4.1.3.3	Μελέτη επίδρασης της ιοντικής ισχύος	102
4.2	Διυσταδικά Αμφίφιλα Τροποποιημένα Συμπολυμερή QPDMAEMA-b-PLMA.	106
4.2.1	Σύνθεση συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA.....	106
4.2.2	Μοριακός – Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός μικκυλίων συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA	111
4.2.3	Μελέτη επίδρασης φυσικοχημικών παραμέτρων στα διαλύματα QPDMAEMA-b-PLMA πολυμερών	116
4.2.3.1	Μελέτη επίδρασης της θερμοκρασίας.....	116
4.2.3.2	Μελέτη επίδρασης της ιοντικής ισχύος	118
4.2.4	Σύμπλεξη QPDMAEMA-b-PLMA με DNA	120
4.2.4.1	Μελέτη επίδρασης ιοντικής ισχύος στα σύμπλοκα QPDMAEMA-b-PLMA/DNA	123
4.3	Διυσταδικά Αμφίφιλα Τροποποιημένα Συμπολυμερή SPDMAEMA-b-PLMA.	126
4.3.1	Σύνθεση Συμπολυμερών SPDMAEMA-b-PLMA	126
4.3.2	Μοριακός – Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός μικκυλίων συμπολυμερών SPDMAEMA-b-PLMA.....	129
4.3.2.1	Μελέτη επίδρασης ιοντικής ισχύος στα SPDMAEMA-b-PLMA	133
5.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	135
6.	ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ	137
7.	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ	139
8.	ΑΝΑΦΟΡΕΣ	141

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 3.1: Χημική δομή (α) του μονομερούς DMAEMA, (β) του CTA CDP, (γ) του AIBN.	69
Σχήμα 3.2: Χημική δομή μονομερούς LMA.....	71
Σχήμα 3.3: Τεταρτοταγοποίηση (Quaternization) τριτοταγούς αμίνης PDMAEMA με CH_3I	72
Σχήμα 3.4: Αντίδραση μετατροπής πλευρικής αμίνης της συστάδας PDMAEMA σε ομάδα σουλφοβεταΐνης.....	72
Σχήμα 4.1 Συνθετική πορεία παρασκευής του ομοπολυμερούς PDMAEMA.....	79
Σχήμα 4.2 Συνθετική πορεία παρασκευής των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA. ..	80
Σχήμα 4.3: Χρωματογράφημα SEC ομοπολυμερούς PDMAEMA.	81
Σχήμα 4.4: Χρωματογράφημα SEC ομοπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-3.	82
Σχήμα 4.5: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-1 σε CDCl_3	83
Σχήμα 4.6: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-5 σε CDCl_3	83
Σχήμα 4.7: Φάσμα FT-IR ομοπολυμερούς PDMAEMA.	85
Σχήμα 4.8: Συγκριτικό φάσμα FT-IR ομοπολυμερούς PDMAEMA και συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2.	86
Σχήμα 4.9: Διάγραμμα της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1 / I_3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές PDMAEMA-b-PLMA-2.....	89
Σχήμα 4.10: Διάγραμμα της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1 / I_3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές PDMAEMA-b-PLMA-5. Παράδειγμα πλατιάς περιοχής προσδιορισμού CMC.	89
Σχήμα 4.11: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του PDMAEMA-b-PLMA-2 ($\text{pH}=7, 90^\circ$)..	90
Σχήμα 4.12: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του PDMAEMA-b-PLMA-3 ($\text{pH}=7, 90^\circ$)..	90
Σχήμα 4.13: Μετρήσεις R_h και έντασης I συναρτήσει μεταβολής pH για το συμπολυμερές PDMAEMA-PLMA-1.....	96
Σχήμα 4.14: Μετρήσεις R_h και Z_p συναρτήσει μεταβολής pH για το συμπολυμερές PDMAEMA-PLMA-1.	97

Σχήμα 4.15: Συγκριτικό διάγραμμα μεταβολής R_h συναρτήσει pH για τα διαλύματα των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA.....	98
Σχήμα 4.16: Μεταβολή R_h και έντασης I συναρτήσει θερμοκρασίας για το PDMAEMA-b-PLMA-3.....	100
Σχήμα 4.17: Μεταβολή θερμοκρασίας συναρτήσει R_h και έντασης I για το PDMAEMA-b-PLMA-4.....	101
Σχήμα 4.18: Μεταβολή θερμοκρασίας συναρτήσει R_h και έντασης I για το PDMAEMA-b-PLMA-1.....	102
Σχήμα 4.19: Μεταβολή συγκέντρωσης συναρτήσει R_h και I του PDMAEMA-b-PLMA-2.	103
Σχήμα 4.20: Μεταβολή R_h και I συναρτήσει συγκέντρωσης του PDMAEMA-b-PLMA-3.	104
Σχήμα 4.21: Μεταβολή R_h και I συναρτήσει συγκέντρωσης του PDMAEMA-b-PLMA-1.	105
Σχήμα 4.22: Αντίδραση τεταρτοποίησης αμίνης PDMAEMA και δημιουργία συμπολυμερούς QPDMAEMA-b-PLMA.....	106
Σχήμα 4.23: Συγκριτικά φάσματα FT-IR συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2 και QPDMAEMA-b-PLMA-2.	109
Σχήμα 4.24: Συγκριτικό Φάσμα FT-IR συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-5 και QPDMAEMA-b-PLMA-5.	110
Σχήμα 4.25: Διάγραμμα της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1 / I_3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές QPDMAEMA-b-PLMA-2.	111
Σχήμα 4.26: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του QPDMAEMA-b-PLMA-2 με απ'ευθείας διάλυση σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,01M.	113
Σχήμα 4.27: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του QPDMAEMA-b-PLMA-2 (Dialysis σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,01M).....	113
Σχήμα 4.28: Μεταβολή της θερμοκρασίας συναρτήσει R_h και I για το QPDMAEMA-PLMA-1.....	117
Σχήμα 4.29: Μεταβολή της R_h και I συναρτήσει της θερμοκρασίας για το QPDMAEMA-PLMA-3.....	118

Σχήμα 4.30: Μεταβολή της ιοντικής ισχύος συναρτήσει R_h και I για το QPDMAEMA-PLMA-3.....	119
Σχήμα 4.31: Μεταβολή της R_h , έντασης I και ζ-δυναμικού συναρτήσει του λόγου N/P για το συμπολυμερές QPDMAEMA-b-PLMA-1.....	121
Σχήμα 4.32: Μεταβολή της R_h , έντασης I και ζ-δυναμικού συναρτήσει του λόγου N/P για το QPDMAEMA-b-PLMA-2.....	122
Σχήμα 4.33: Μεταβολή της R_h , έντασης I και ζ-δυναμικού συναρτήσει του λόγου N/P για το QPDMAEMA-b-PLMA-3.....	122
Σχήμα 4.34: Συγκριτικό διάγραμμα μεταβολής της R_h συναρτήσει του λόγου N/P για τα QPDMAEMA-b-PLMA-1,2 και 3.....	123
Σχήμα 4.35: Μεταβολή των R_h και I συναρτήσει της ιοντικής ισχύος για τα σύμπλοκα QPDMAEMA-PLMA-1 /DNA, για λόγους φορτίων $N/P= 0,25$ (αριστερά) και 2 (δεξιά).124	
Σχήμα 4.36: Μεταβολή των R_h και I συναρτήσει της ιοντικής ισχύος για τα σύμπλοκα QPDMAEMA-PLMA-2/ DNA, για λόγους φορτίων $N/P= 1$ (αριστερά) και 2 (δεξιά).	125
Σχήμα 4.37: Μεταβολή των R_h και I συναρτήσει της ιοντικής ισχύος για τα σύμπλοκα QPDMAEMA-PLMA-3/ DNA, για λόγους φορτίων $N/P= 0,6$ (αριστερά) και 1,3 (δεξιά).	125
Σχήμα 4.38: Αντίδραση μετατροπής αμίνης PDMAEMA σε ομάδα σουλφοβεταΐνης και δημιουργία συμπολυμερούς SPDMAEMA-b-PLMA.....	126
Σχήμα 4.39: Συγκριτικά φάσματα FT-IR συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA-2 και SPDMAEMA-b-PLMA-2.....	128
Σχήμα 4.40: Διάγραμμα συγκέντρωσης συναρτήσει της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1 / I_3 του πυρενίου για το συμπολυμερές SPDMAEMA-b-PLMA-2.	130
Σχήμα 4.41: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του SPDMAEMA-b-PLMA-2 σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,15 M.....	131
Σχήμα 4.42: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του SPDMAEMA-b-PLMA-3 σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,15 M.....	131
Σχήμα 4.43: Μείωση (αριστερά) και αύξηση (δεξιά) της ιοντικής ισχύος του διαλύματος πολυμερούς SPDMAEMA-b-PLMA-2.	134

Σχήμα 4.44: Μείωση (αριστερά) και αύξηση (δεξιά) της ιοντικής ισχύος του διαλύματος πολυμερούς SPDMAEMA-b-PLMA-3. 134

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Σχηματική αναπαράσταση ενός σφαιρικού μικκυλίου. Τα λυόφοβα τμήματα (μπλε χρώμα) σχηματίζουν τον πυρήνα, ενώ τα λυόφιλα τμήματα (κόκκινο χρώμα) σχηματίζουν την κορώνα.	22
Εικόνα 1.2: Απεικόνιση σχηματισμού μικκυλίου από δισυσταδικό συμπολυμερές.	24
Εικόνα 1.3: Σχηματική αναπαράσταση σφαιρικών μικκυλίων AB συμπολυμερούς σε έναν εκλεκτικό για την A συστάδα διαλύτη. Όπου R_c η ακτίνα του πυρήνα και L το πάχος της κορώνας. α) Μικκύλια hairy like και β) μικκύλια crew-cut.	25
Εικόνα 1.4: Σχηματική αναπαράσταση ενός "σκωληκοειδούς" μικκυλίου.	27
Εικόνα 1.5: Σχηματική απεικόνιση ενός πολυμερικού κυστιδίου.	28
Εικόνα 1.6: Σχηματική αναπαράσταση ενός πολυηλεκτρολύτη.	31
Εικόνα 1.7: Αναπαράσταση της μετάπτωσης φάσης που συνδέεται με την LCST (αριστερά) και UCST (δεξιά). Η μπλε γραμμή αντιπροσωπεύει το όριο διαχωρισμού φάσεων.	35
Εικόνα 1.8: Μηχανισμός πολυμερισμού Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση (RAFT).	40
Εικόνα 2.1: Σχηματική αναπαράσταση του διαχωρισμού ενός αραιού πολυμερικού	44
Εικόνα 2.2: Ο χρωματογράφος αποτελείται από μία αποθήκη διαλύτη (α), την αντλία (β), τον εισαγωγέα δείγματος (γ), τις στήλες (δ), τους ανιχνευτές που συνδέονται σε σειρά (ε), (στ), και ένα καταγραφικό σύστημα (ζ).	45
Εικόνα 2.3: Σχηματικό διάγραμμα φασματομέτρου NMR.	47
Εικόνα 2.4: Σχηματική διάταξη ενός τυπικού φασματοφωτομέτρου FT-IR και διάταξη των πηγών, καθρεπτών και ανιχνευτή.	50
Εικόνα 2.5: Απλοποιημένο διάγραμμα, το οποίο αναπαριστά σχηματικά τις τρεις επιμέρους διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα κατά το φαινόμενο του φθορισμού.	51
Εικόνα 2.6: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης φασματοσκοπίας φθορισμού.	52
Εικόνα 2.7: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης στατικής σκέδασης φωτός.	58
Εικόνα 2.8: Σχηματική απεικόνιση της ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας και των επιμέρους επιπέδων που την αποτελούν.	60
Εικόνα 2.9: Σχηματική παράσταση μιας πειραματικής διάταξης μέτρησης του ζ -.....	61

Εικόνα 2.10: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης ενός ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης (TEM).....	63
Εικόνα 4.1 Μικρογραφίες TEM της μορφολογίας του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2 σε κλίμακα 100nm και 50nm.....	93
Εικόνα 4.2: Μικρογραφίες TEM της μορφολογίας του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-4 σε κλίμακα 50nm και 20nm.....	93
Εικόνα 4.3: Αλλαγή στην εμφάνιση του διαλύματος μετά την αντίδραση τεταρτοταγοποίησης για το συμπολυμερές QPDMAEMA-b-PLMA-1.....	107

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 4.1: Μοριακά χαρακτηριστικά ομοπολυμερών PDMAEMA μέσω SEC.	82
Πίνακας 4.2: Μοριακά χαρακτηριστικά συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA.....	84
Πίνακας 4.3: Αποτελέσματα SLS, DLS ,ELS και FS για τα μικκύλια των PDMAEMA-b-PLMA σε pH=7.	92
Πίνακας 4.4: Διάμετροι μικκυλίων συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA από DLS και TEM.....	94
Πίνακας 4.5 Μοριακά χαρακτηριστικά συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA.....	108
Πίνακας 4.6: Αποτελέσματα από SLS, DLS ,ELS και FS για τα μικκύλια των QPDMAEMA-b-PLMA.	114
Πίνακας 4.7: Μοριακά χαρακτηριστικά συμπολυμερών SPDMAEMA-b-PLMA.....	127
Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα από SLS, DLS, ELS και FS για τα μικκύλια των SPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών.	132
Πίνακας 6.1: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων.....	137

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα ερευνητική εργασία πραγματεύεται τη σύνθεση αμφίφιλων κατά συστάδες συμπολυμερών με τη χρήση της τεχνικής του πολυμερισμού RAFT, το χαρακτηρισμό και τη μελέτη της αυτο-οργάνωσής τους σε υδατικά διαλύματα. Στο πρώτο κεφάλαιο περιγράφονται βασικές πληροφορίες για τα αμφίφιλα συμπολυμερή και τις μικκυλιακές δομές που σχηματίζουν. Περιγράφεται αναλυτικά η μεθοδολογία του πολυμερισμού RAFT. Στο τέλος του πρώτου κεφαλαίου παρουσιάζεται ο σκοπός της εργασίας.

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

Το τρίτο κεφάλαιο περιλαμβάνει τη πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε για τη παρασκευή των συμπολυμερών καθώς και τον χαρακτηρισμό τους. Έπειτα στο τέταρτο κεφάλαιο ακολουθεί η παρουσίαση και συζήτηση των αποτελεσμάτων που προσκομίστηκαν, παραθέτοντας διαγράμματα, πίνακες, σχήματα και εικόνες για την ορθή τους ανάλυση. Το τελευταίο κεφάλαιο αναφέρεται στα συμπεράσματα που αποκομίστηκαν από τη παρούσα ερευνητική μελέτη, καθώς και τους μελλοντικούς στόχους βασιζόμενους στα αποτελέσματα που συλλέχθηκαν από τη μελέτη.

Ολοκληρώνοντας, όλα τα πειράματα και οι μετρήσεις έλαβαν χώρα στο Ινστιτούτο Θεωρητικής και Φυσικής Χημείας του Εθνικού Ιδρύματος Ερευνών. Εξαίρεση αποτελούν οι μετρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (TEM) που υλοποιήθηκαν από επιστημονικούς συνεργάτες στο Ινστιτούτο Petru Poni της Ρουμανίας (*"Petru Poni" Institute of Macromolecular Chemistry of Romanian Academy Functional Polymers Department*).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Αμφίφιλα Συμπολυμερή

Τα *πολυμερή* είναι μόρια με υψηλό μοριακό βάρος, τα οποία αποτελούνται από πολλές επαναλαμβανόμενες μονάδες, που ονομάζονται *μονομερή*. Ένα γραμμικό ομοπολυμερές περιέχει μόνο ένα είδος επαναλαμβανόμενων μονάδων, με την κάθε μονάδα να συνδέεται με ομοιοπολικό δεσμό με δύο άλλες μονάδες, με εξαίρεση τις δύο τελικές μονάδες της πολυμερικής αλυσίδας. Πολυμερή τα οποία αποτελούνται από δυο διαφορετικά είδη μονομερών ονομάζονται *συμπολυμερή*. Όταν τα διαφορετικά είδη επαναλαμβανόμενων μονάδων εντοπίζονται σε διακριτές συστάδες (*blocks*) κατά μήκος της πολυμερικής αλυσίδας το συμπολυμερές ονομάζεται *δισυσταδικό συμπολυμερές (diblock copolymer)*.

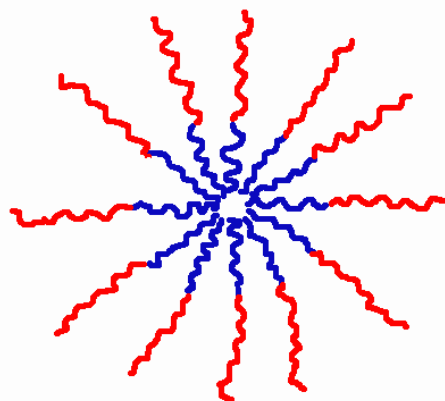
Οι διαφορετικές συστάδες που απαρτίζουν ένα συμπολυμερές είναι συνήθως ασύμβατες μεταξύ τους και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να υπάρχει κάποιου είδους αυτό-οργάνωση σε τήγματα και διαλύματα των πολυμερών αυτών. Τα πολυμερή, που έχουν τουλάχιστον μία λυόφιλη και μία λυόφοβη συστάδα ονομάζονται *αμφίφιλα* κατά συστάδες συμπολυμερή.[1]

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αμφίφιλα συμπολυμερή τα οποία αποτελούνται από υδρόφιλα και υδρόφοβα μονομερή. Το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για αυτά τα πολυμερή οφείλεται στις ενδιαφέρουσες ιδιότητές τους, οι οποίες τα καθιστούν ελκυστικά σε πολλούς τομείς, όχι μόνο της επιστήμης, αλλά και της τεχνολογίας/βιομηχανίας. Η ασυμβατότητα των διαφορετικών ομάδων έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ενδιαφέρουσων μορφολογιών σε στερεά κατάσταση ή σε διαλύματα. Όσο αφορά τα διαλύματα, η πιο χαρακτηριστική και ενδιαφέρουσα ιδιότητά τους είναι αυτή της αυτο-οργάνωσης η οποία οδηγεί στο σχηματισμό οργανωμένων δομών, συνήθως μικκυλίων, ανάλογα με τον διαλύτη στον οποίο είναι διαλυμένα. Τα αμφίφιλα κατά συστάδες συμπολυμερή έχουν ποικίλες εφαρμογές. Συνήθως χρησιμοποιούνται ως γαλακτωματοποιητές και ως τροποποιητές του ιξώδους

σε πολλές βιομηχανικές και φαρμακευτικές εφαρμογές. Οι κολλοειδείς διασπορές που δημιουργούν βρίσκουν επίσης εφαρμογή στον τομέα της ελεγχόμενης μεταφοράς και αποδέσμευσης φαρμακευτικών ουσιών, την ανάπτυξη διαγνωστικών μέσων, την τροποποίηση επιφανειών, καθώς και γονιδιακές θεραπείες.[2]

1.1.1 Μικκύλια Αμφίφιλων Συμπολυμερών

Τα αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες αποτελούν μία εξαιρετικά ενδιαφέρουσα κατηγορία πολυμερικών μακρομορίων, κυρίως λόγω της μοναδικής τους ικανότητας να αυτοοργανώνονται σε διάλυμα.[3] Η ασυμβατότητα μεταξύ των συστάδων έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό μικκυλίων κατά τη διαλυτοποίηση των συγκεκριμένων συμπολυμερών σε εκλεκτικό διαλύτη, δηλαδή ένα μέσο που θεωρείται θερμοδυναμικά καλός διαλύτης για τη μία συστάδα, ενώ παράλληλα προκαλεί την καθίζηση της άλλης. Συγκεκριμένα, οι λυόφοβες συστάδες συσσωματώνονται και σχηματίζουν τον πυρήνα του μικκυλίου, ενώ οι λυόφιλες συστάδες εκτείνονται προς το διάλυμα και σχηματίζουν την κορώνα του μικκυλίου που περιβάλλει τον λυόφοβο πυρήνα. Μια σχηματική αναπαράσταση τέτοιων συσσωματωμάτων δίνεται στην *Εικόνα 1.1*.



Εικόνα 1.1: Σχηματική αναπαράσταση ενός σφαιρικού μικκυλίου. Τα λυόφοβα τμήματα (μπλε χρώμα) σχηματίζουν τον πυρήνα, ενώ τα λυόφιλα τμήματα (κόκκινο χρώμα) σχηματίζουν την κορώνα.

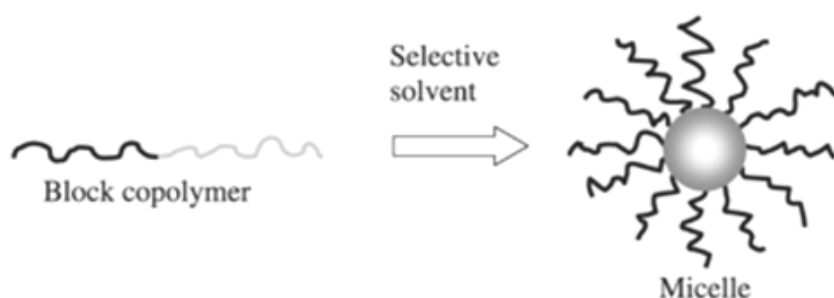
1.1.2 Παρασκευή Μικκυλίων από Αμφίφιλα Συμπολυμερή

Η μικκυλίωση των αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες λαμβάνει χώρα σε αραιά διαλύματα εκλεκτικού διαλύτη 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. Σε συγκεντρώσεις μικρότερες της CMC στο διάλυμα υπάρχουν μόνο μοριακά διαλυμένες μεμονωμένες αλυσίδες (*unimer chains*) του συμπολυμερούς, ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις συνυπάρχουν πολυμοριακά μικκύλια και μεμονωμένες αλυσίδες σε θερμοδυναμική ισορροπία μεταξύ τους.[4]

Για την παρασκευή των μικκυλιακών διαλυμάτων συνήθως χρησιμοποιείται μία εκ των δύο ακόλουθων διαδικασιών. Η πρώτη διαδικασία περιλαμβάνει την αρχική διάλυση του αμφίφιλου συμπολυμερούς σε έναν κοινό διαλύτη, δηλαδή έναν καλό διαλύτη για τη μια από δύο συστάδες (*Εικόνα 1.2*). Για την υποβοήθηση της διαλυτοποίησης το διάλυμα 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 ο σχηματισμός μικκυλίων.[5] Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται συνήθως σε συμπολυμερή με σχετικά μικρό μοριακό βάρος και μικρή σχετικά περιεκτικότητα στο αδιάλυτο συστατικό του συμπολυμερούς. Έχει παρατηρηθεί ότι ανάλογα με τις ιδιότητες του συστήματος συμπολυμερούς-διαλύτη, ενδέχεται οι διαδικασίες αυτές να μην οδηγούν σε συνθήκες θερμοδυναμικής ισορροπίας στο διάλυμα. Αντιπροσωπευτικό παράδειγμα αποτελούν τα 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.[6] Σε αυτή τη περίπτωση τα χαρακτηριστικά των μικκυλίων, που θα ληφθούν θα αντανakλούν τη μορφολογία του συμπολυμερούς στη στερεά κατάσταση. Δηλαδή, το διάλυμα θα είναι μία διασπορά σωματιδίων με μορφολογία όμοια με αυτή του αρχικού στερεού δείγματος, παρά μία πραγματική ισορροπία μεταξύ ελεύθερων αλυσίδων συμπολυμερούς και μικκυλίων.

Η δεύτερη μέθοδος βασίζεται στην διάλυση του συμπολυμερούς σε έναν μη εκλεκτικό διαλύτη, δηλαδή ένα κοινό καλό διαλύτη για τις δυο συστάδες, του

συμπολυμερούς. Στη συνέχεια ο σχηματισμός μικκυλίων πραγματοποιείται με αλλαγή του pH του διαλύματος, με μεταβολή της θερμοκρασίας ή με σταδιακή προσθήκη του εκλεκτικού διαλύτη. Στην τελευταία περίπτωση θα πρέπει με κάποιο τρόπο να εκδιωχθεί ο κοινός καλός διαλύτης. Αυτό μπορεί να γίνει με εξάτμιση του διαλύτη, εφόσον αυτός είναι πτητικός και ο εκλεκτικός διαλύτης έχει πολύ μεγαλύτερο σημείο ζέσεως. Ωστόσο η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι αυτή της σταδιακής αντικατάστασης του καλού διαλύτη με τον εκλεκτικό χρησιμοποιώντας μεμβράνες διαπίδυσης. Αυτή η τεχνική γενικά θεωρείται η προτιμώμενη μέθοδος παρασκευής για μικυλλιακά συστήματα, 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.[4]



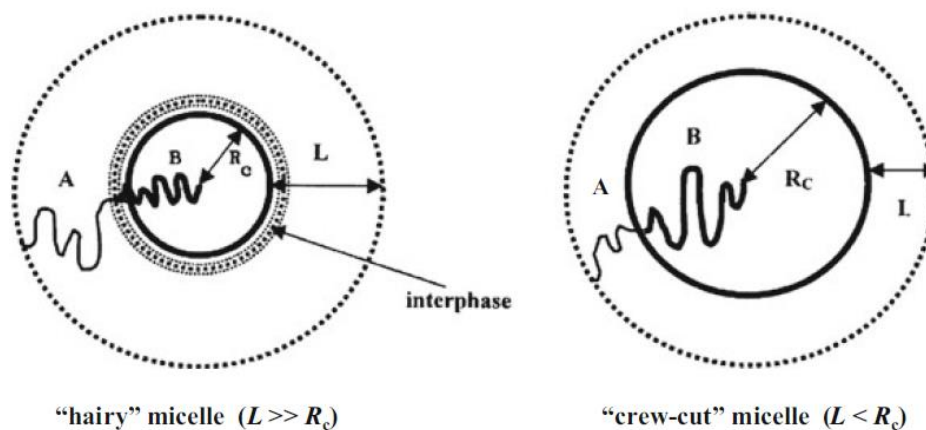
Εικόνα 1.2: Απεικόνιση σχηματισμού μικκυλίου από δισυσταδικό συμπολυμερές.[5]

1.1.3 Μορφολογία Μικκυλίων

1.1.3.1 Σφαιρικά Μικκύλια

Οι πιο συνηθισμένες περιπτώσεις μικκυλίων διαθέτουν μια σφαιρική μορφολογία.[7,2] Η αυτοοργάνωση ενός κλασσικού αμφίφιλου δισυσταδικού συμπολυμερούς AB (όπου A, B υποδηλώνουν τις δυο διαφορετικές συστάδες) οδηγεί σε δυο διαφορετικές μικκυλιακές δομές που παρουσιάζονται σχηματικά στην *Εικόνα 1.3*. Όταν η διαλυτή A συστάδα είναι μεγαλύτερη από την αδιάλυτη, οι μικκυλιακές δομές που προκύπτουν αποτελούνται από ένα μικρό σε μέγεθος και συμπαγή πυρήνα και μια μεγάλη σε μέγεθος κορώνα, δηλαδή

η ακτίνα R_c του κελύφους είναι μικρότερη από το πάχος L της κορώνας. Τα μικκύλια αυτά καλούνται και ως “μαλλιαρά” (*hairy*), “αστεροειδή” (*star-like*) ή “πυρήνα- κελύφους” (*core-shell micelles*) μικκύλια. Αντίθετα, εάν η αδιάλυτη συστάδα B είναι μεγαλύτερη από τη διαλυτή A, τα μικκύλια που σχηματίζονται διαθέτουν ένα μεγάλο και συμπαγή πυρήνα και μια μικρή και εκτεταμένη κορώνα όπου $L > R_c$. Σε αυτή τη περίπτωση χρησιμοποιείται ο όρος “*crew-cut*” *micelles* για να τα περιγράψει.



Εικόνα 1.3: Σχηματική αναπαράσταση σφαιρικών μικκυλίων AB συμπολυμερούς σε έναν εκλεκτικό για την A συστάδα διαλύτη. Όπου R_c η ακτίνα του πυρήνα και L το πάχος της κορώνας. α) Μικκύλια hairy like και β) μικκύλια crew-cut. [2,4]

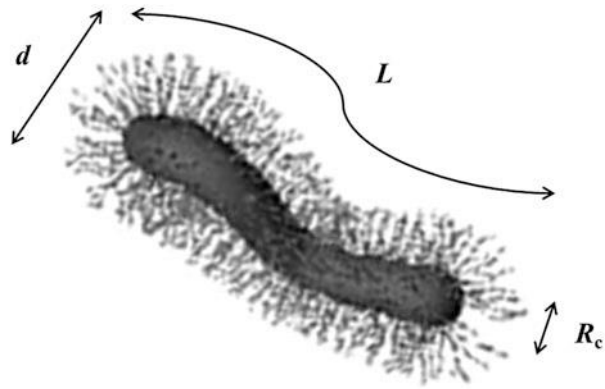
Στη περίπτωση συστημάτων που αποτελούνται από τρισυσταδικά γραμμικά συμπολυμερή του τύπου ABC η μορφολογία των μικκυλίων παρουσιάζει πολυπλοκότητα, λόγω της παρουσίας της τρίτης συστάδας, ενώ παράλληλα δύναται να προσδώσει επιπλέον λειτουργικότητα στο σύστημα.[8] Τα συμπολυμερή ABC χωρίζονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τον αριθμό των διαλυτών ή μη συστάδων στον εκάστοτε διαλύτη. Συγκεκριμένα, τα τρισυσταδικά συμπολυμερή των οποίων οι δύο συστάδες είναι αδιάλυτες και η μία διαλυτή, σχηματίζουν μικκύλια με διαμερισματοποιημένο πυρήνα και ομογενή κορώνα. Η μορφολογία των μικκυλίων αυτών είναι του τύπου “κρεμμυδιού” (*onion-like micelles*), “τριών στρωμάτων” (*three-layer micelles*), ή “πυρήνα-κελύφους-κορώνας” (*core-shell-corona micelles*): η πρώτη αδιάλυτη συστάδα A σχηματίζει τον πυρήνα, η δεύτερη αδιάλυτη συστάδα B

τυλίγεται γύρω από τον πυρήνα και η τρίτη διαλυτή συστάδα C εκτείνεται στο διάλυμα σχηματίζοντας την κορώνα του μικκυλίου. [4]

1.1.3.2 Κυλινδρικά Μικκύλια

Μια άλλη κατηγορία μικκυλιακών μορφολογιών είναι αυτή των κυλινδρικών μικκυλίων, που συχνά αναφέρονται και ως “σκωλικοειδή” (*worm-like*), “ραβδόμορφα” (*rod-like*) ή ακόμα και “νηματοειδή” μικκύλια (*thread-like micelles*). Σαν μορφολογία είναι πιο σπάνια σε αντίθεση με αυτή των σφαιρικών μικκυλίων ή των πολυμεροσωμάτων.[9] Μια σχηματική παρουσίαση ενός “σκωλικοειδούς” μικκυλίου, μαζί με τις χαρακτηριστικές διαστάσεις του: συνολικό μήκος L , συνολική διάμετρο d και ακτίνα πυρήνα R_c , παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.4.

Σε γενικές γραμμές, τα σκωλικοειδή μικκύλια έχουν κλασική μονοδιάστατη δομή, όπου το μήκος τους είναι αρκετές φορές μεγαλύτερο από την διάμετρο της διατομής τους. Ωστόσο, παρουσιάζουν πλούσιο δομικό πολυμορφισμό, με την έννοια ότι μπορεί να είναι σχετικά μικρά σε μήκος ή μεγάλα φθάνοντας τη κλίμακα των μικρομέτρων, ενώ παράλληλα μπορεί να είναι άκαμπτα ή λεπτά και εύκαμπτα.[10] Τα μικρά σε μήκος και άκαμπτα μικκύλια ορίζονται ως κυλινδρικά ή ραβδόμορφα, ενώ αυτά που είναι μεγάλου μήκους και λεπτά και εύκαμπτα ονομάζονται νηματοειδή μικκύλια. Τέλος, λόγω της κυλινδρικής τους δομής, τα μικκύλια αυτά επιδεικνύουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για εφαρμογές στο πεδίο της νανοτεχνολογίας και της ιατρικής και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φορείς φαγο-μιμητικών φαρμάκων και μικροπόρων (*micropore delivery agents*).[11]



Εικόνα 1.4: Σχηματική αναπαράσταση ενός "σκωληκοειδούς" μικκυλίου. [12]

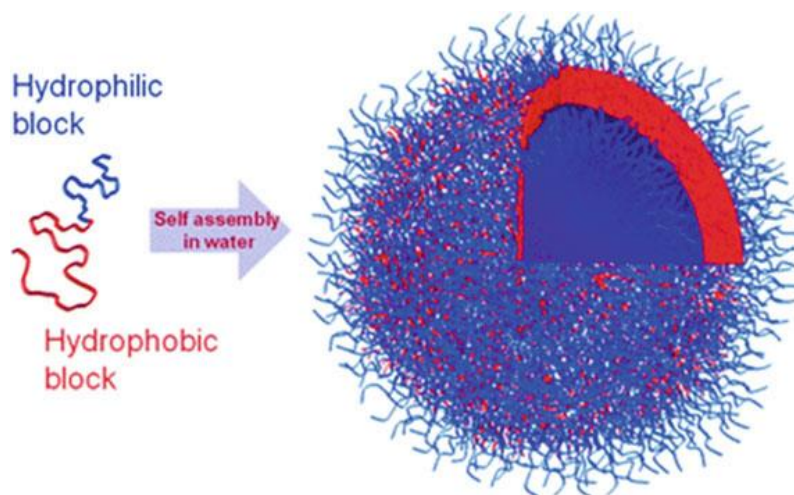
1.1.3.3 Πολυμεροσώματα-Κυστίδια

Τα πολυμεροσώματα ή αλλιώς πολυμερικά κυστίδια αποτελούν μια αρκετά ενδιαφέρουσα κατηγορία μακρομοριακής αυτοοργάνωσης, που τα τελευταία χρόνια ελκύουν το επιστημονικό ερευνητικό ενδιαφέρον, λόγω της ομοιότητας που παρουσιάζουν με βιολογικές κυτταρικές μεμβράνες. Έχουν την ικανότητα να ελέγχουν το μέγεθός τους, ανάλογα με τις αλληλεπιδράσεις που δέχονται από το περιβάλλον. Η ευελιξία ως προς τις ιδιότητες μεμβράνης που παρουσιάζουν, τα καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμα σε (βιο)ηλεκτρονικές και καταλυτικές εφαρμογές, ακόμα και σε ιατρικές θεραπείες.

Εάν επιτευχθεί η κατάλληλη ισορροπία υδρόφιλου/υδρόφοβου, τα αμφίφιλα συμπολυμερή αυτοοργανώνονται στο νερό σε δομή μεμβρανών. Οι μεμβράνες αυτές συνήθως κλείνουν, σχηματίζοντας κοίλες σφαίρες με υδατικό πυρήνα, όπως φαίνεται στην *Εικόνα 1.5*. Τα μεγέθη τους κυμαίνονται από δεκάδες έως χιλιάδες νανόμετρα. Οι δομές που προκύπτουν είναι γνωστές ως πολυμερικά κυστίδια, αλλά συχνά αναφέρονται και ως πολυμεροσώματα σε αναλογία με τις νανοδομές από λιπίδια που ονομάζονται λιποσώματα. Σε αντίθεση με τα λιποσώματα, τα πολυμεροσώματα εμφανίζουν ενισχυμένη σταθερότητα και σκληρότητα, μειωμένη διαπερατότητα, περιορισμένη κινητικότητα των αλυσίδων εντός της μεμβράνης και αντίσταση στη διάλυση. Τα χαρακτηριστικά αυτά αποδίδονται στο σημαντικά υψηλό μοριακό βάρος των αμφίφιλων συμπολυμερών σε σύγκριση με αυτό των λιπιδίων. Το μοριακό βάρος των συμπολυμερών καθορίζει το πάχος της φυσαλιδώδους

μεμβράνης, η οποία μπορεί να φτάσει έως και 50nm, ενώ οι διπλοστοιβάδες των λιποσωμάτων έχουν πάχος 3-5nm. Επιπλέον, η ενισχυμένες μηχανικές ιδιότητες των μεμβρανών των πολυμερικών κυστιδίων είναι αποτέλεσμα της διαπλοκής και αλληλοδιδείσδυσης που συμβαίνουν μεταξύ των υδρόφοβων αλυσίδων μέσα στη μεμβράνη. [9,10]

Η μακρομοριακή αρχιτεκτονική και η χημική σύνθεση των αμφίφιλων συμπολυμερών που σχηματίζουν τα πολυμεροσώματα είναι πιθανό να είναι απλή ή σπανίως πιο περίπλοκη δίνοντας στα πολυμεροσώματα τις σημαντικές ιδιότητές τους. Για παράδειγμα, ένα συμπολυμερές τύπου AB, όπου A και B υποδηλώνει τις υδρόφιλες και υδρόφοβες συστάδες αντίστοιχα, αποτελούν τη πιο απλή αρχιτεκτονική για τη πλειοψηφία των πολυμερικών κυστιδίων που δημιουργούνται από πολυμερή όπως τα PEO-PPO, PS-PAA, PS-PEO, PBD-PAA, PB-PEO and P2VP-PEO. Ωστόσο και συμπολυμερή πιο σύνθετης γραμμικής αρχιτεκτονικής όπως ABA, BAB, ABABA, ABC και ABCA (με τη C συστάδα να είναι είτε υδρόφιλη είτε υδρόφοβη) έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία ότι οργανώνονται σε πολυμεροσώματα.[13]



Εικόνα 1.5: Σχηματική απεικόνιση ενός πολυμερικού κυστιδίου. [13]

Η μορφολογία των πολυμεροσωμάτων επηρεάζεται σημαντικά από έναν αριθμό παραγόντων όπως είναι η φύση των συμπολυμερών και τα συστατικά που τα αποτελούν, η παρουσία ιονισμένων ομάδων ή ομάδων που δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου, οι συνθήκες του διαλύματος (πχ

θερμοκρασία, συγκέντρωση, pH), η παρουσία πρόσθετων (οξέα, βάσεις, άλατα, επιφανειοδραστικές ουσίες), καθώς επίσης και η μέθοδος παρασκευής. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι στη πλειοψηφία τους τα πολυμεροσώματα δεν είναι δομές ισορροπίας.

Παρόλα αυτά, τα πολυμεροσώματα είναι στο επίκεντρο της ερευνητικής δραστηριότητας, λόγω της δυνατότητας εφαρμογής τους ιδίως στο τομέα της ιατρικής. Οι εφαρμογές αυτές στηρίζονται στην ικανότητα των πολυμεροσωμάτων να εγκλωβίζουν υδρόφιλες ενώσεις μέσα στο πυρήνα και ταυτόχρονα υδρόφιλα και αμφίφιλα μόρια μέσα στη μεμβράνη. Γι' αυτό το λόγο, τα πολυμερικά κυστίδια έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς ως φορείς χορήγησης φαρμάκων και γονιδιακής θεραπείας, ιατρικών απεικονιστικών, διάγνωσης και θεραπείας καρκίνου, κ.α [14,15].

1.1.4 Χαρακτηρισμός Μικκυλίων

Τα χαρακτηριστικά μεγέθη και παράμετροι που μετρώνται μελετώντας τα φαινόμενα μικκυλίωσης περιλαμβάνουν κυρίως τα ακόλουθα [16]:

- 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)

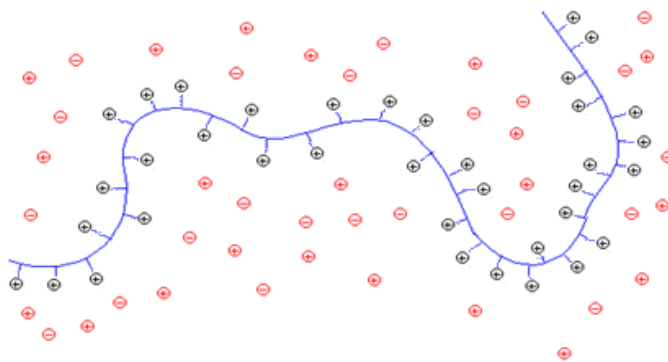
Ο χαρακτηρισμός των μικκυλιακών συστημάτων αμφίφιλων συμπολυμερών κατά συστάδες καθίσταται δυνατός μέσω της χρήσης διαφόρων πειραματικών τεχνικών. Τεχνικές μικροσκοπίας οι οποίες παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για το σχήμα και το μέγεθος των μικκυλίων είναι, η ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης (*Transmission Electron Microscopy, TEM*), η πιο πρόσφατη

παραλλαγή της κρυογονικής ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διαπερατότητας (cryo-TEM) και η μικροσκοπία ατομικής δύναμης (*Atomic Force Microscopy, AFM*). Επίσης, τεχνικές σκέδασης όπως η σκέδαση νετρονίων και ακτίνων Χ σε μικρές γωνίες (*SANS* και *SAXS*), αλλά και η δυναμική και στατική σκέδαση φωτός (*DLS* και *SLS*), αποτελούν χρήσιμα πειραματικά εργαλεία για τη μελέτη των μικκυλιακών συστημάτων *in situ* και η χρήση τους είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη. Μέσω των μετρήσεων σκέδασης εξάγονται σημαντικές παράμετροι του συστήματος, συμπεριλαμβανομένων της ακτίνας του πυρήνα, της ακτίνας του μικκυλίου, του μοριακού βάρους του μικκυλίου, μέσω του οποίου υπολογίζεται ο αριθμός συσσωμάτωσης, καθώς και της υδροδυναμικής και της γυροσκοπικής ακτίνας του μικκυλίου.[17] Η υδροδυναμική ακτίνα εξάγεται επίσης μέσω μετρήσεων ιξωδομετρίας, οι οποίες επιπροσθέτως παρέχουν το εσωτερικό ιξώδες του συστήματος. Φασματοσκοπικές μετρήσεις φθορισμού χρησιμοποιούνται συνήθως για τον προσδιορισμό της κρίσιμης μικκυλιακής συγκέντρωσης και τη διερεύνηση της δυναμικής των αλυσίδων. Η τελευταία μελετάται επίσης μέσω φασματοσκοπίας πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (*Nuclear Magnetic Resonance, NMR*). Τέλος, λιγότερο διαδεδομένες αλλά χρήσιμες τεχνικές είναι αυτές της υπερφυγοκέντρωσης (*Ultracentrifugation*) και της χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγεθών (*Size Exclusion Chromatography, SEC*) οι οποίες παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την κατανομή του μεγέθους ή/και του βάρους των μικκυλίων και την ισορροπία με τις μεμονωμένες αλυσίδες στο διάλυμα.[18]

1.2 Πολυηλεκτρολύτες

Με τον όρο πολυηλεκτρολύτες υποδηλώνονται τα πολυμερικά μακρομόρια που φέρουν μεγάλο αριθμό ιοντιζόμενων ομάδων. Οι ομάδες αυτές δίστανται σε διάλυμα υπό συγκεκριμένες συνθήκες, με αποτέλεσμα το μακρομόριο να καθίσταται άκρως φορτισμένο.[19] Η διάσταση της κάθε ομάδας δημιουργεί ένα αντισταθμιστικό ιόν αντίθετου φορτίου στο διάλυμα [20], όπως φαίνεται στην *Εικόνα 1.6*.

Οι πολυηλεκτρολύτες διαχωρίζονται σε ασθενείς και ισχυρούς. Ο διαχωρισμός αυτός οφείλεται στο βαθμό διάστασης. Κατά τη διαλυτοποίηση σε ένα υδατικό μέσο, οι ιοντιζόμενες ομάδες των ισχυρών πολυηλεκτρολυτών δίστανται πλήρως, ενώ στην περίπτωση των ασθενών πολυηλεκτρολυτών υπάρχει μερική διάσταση. Ωστόσο, οι ομάδες των ασθενών πολυηλεκτρολυτών δίστανται πλήρως κατά την εξουδετέρωση, δηλαδή την αλλαγή του pH του διαλύματος. Ως εκ τούτου, οι ασθενείς πολυηλεκτρολύτες δεν είναι πλήρως φορτισμένοι σε διάλυμα και το συνολικό τους φορτίο μπορεί να μεταβληθεί συναρτήσει του pH, της συγκέντρωσης των αντισταθμιστικών ιόντων ή/και της ιοντικής ισχύος του διαλύματος.[18]



Εικόνα 1.6: Σχηματική αναπαράσταση ενός πολυηλεκτρολύτη.

Οι πολυηλεκτρολύτες διαχωρίζονται σε δυο κατηγορίες όσον αφορά τον τρόπο σύνθεσης τους: στους φυσικούς (π.χ DNA) και στους χημικά συντεθειμένους πολυηλεκτρολύτες. Επίσης, διαχωρίζονται σε σχέση με την ηλεκτροχημική τους συμπεριφορά σε πολυοξέα, πολυβάσεις και πολυαμφολύτες. Τα πολυοξέα έχουν στην αλυσίδα τους ομάδες ηλεκτρολυτών, όπως: $-\text{COOH}$, SO_3H κ.α. Αυτές κατά τη διάστασή τους διαχωρίζονται σε πολυανιόντα και θετικά φορτισμένα πρωτόνια (H^+). Στις πολυβάσεις οι ομάδες ηλεκτρολυτών μπορεί να είναι $-\text{NH}_2$ οι οποίες με την πρόσληψη ενός πρωτονίου μετατρέπονται σε πολυκατιόντα. Οι πολυαμφολύτες περιέχουν τόσο όξινης όσο και βασικές ομάδες και είναι θετικά φορτισμένοι σε χαμηλό pH και αρνητικά φορτισμένοι σε υψηλό pH.

Η διαμόρφωση ενός πολυμερούς σε διάλυμα επηρεάζεται από πλήθος παραγόντων και ιδιαίτερος από την αρχιτεκτονική του μακρομορίου και τη

συνάφεια με το διαλύτη. Στην περίπτωση των πολυηλεκτρολυτών η παρουσία των φορτίων διαδραματίζει μείζονα ρόλο, καθώς οι ιδιότητες των πολυηλεκτρολυτικών αλυσίδων καθορίζονται κυρίως από τις ισχυρές ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις του συστήματος. Επομένως, οι φορτισμένες αλυσίδες των πολυηλεκτρολυτών υιοθετούν περισσότερο εκτεταμένες διαμορφώσεις, συγκριτικά με τις ουδέτερες πολυμερικές αλυσίδες, λόγω των ηλεκτροστατικών απώσεων μεταξύ των φορτισμένων τμημάτων της αλυσίδας. Στη περίπτωση που αυξηθεί η ιοντική ισχύς του διαλύματος μέσω της προσθήκης άλατος επέρχεται προάσπιση των φορτίων και εξασθένηση των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων του συστήματος, με αποτέλεσμα οι πολυηλεκτρολυτικές αλυσίδες να μεταβαίνουν σε λιγότερο εκτεταμένες διαμορφώσεις, παρόμοιες με αυτές των ουδέτερων πολυμερών σε συνθήκες καλού διαλύτη. Αυτό ονομάζεται και ως φαινόμενο του πολυηλεκτρολύτη (*polyelectrolyte effect*).

Οι πολυηλεκτρολύτες είναι οπωσδήποτε μια ιδιαίτερα σημαντική κατηγορία πολυμερών και γι' αυτό το λόγο υπάρχει έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον. Μια από τις σημαντικότερες ιδιότητές του είναι η διαλυτότητά τους στο νερό (πολικός διαλύτης). Επίσης, μπορούν να προσδώσουν φορτίο σε ουδέτερα σωματίδια, καθιστώντας δυνατή τη διασπορά τους σε υδατικό διάλυμα. Εκτός από τον υδροφιλικό χαρακτήρα των πολυηλεκτρολυτών ένα επιπρόσθετο και σπουδαίο φαινόμενο που πρέπει να ληφθεί υπόψη έρχεται από την πολύ ευνοϊκή εντροπική συνεισφορά των αντισταθμιστικών ιόντων στην ελεύθερη ενέργεια ανάμιξης του πολυμερούς με το διαλύτη. [21] Η διαλυτότητα στο νερό σε συνδυασμό με την τάση που έχουν οι πολυηλεκτρολύτες να διασυνδέονται με αντίθετα φορτισμένους πολυηλεκτρολύτες και να σχηματίζουν σύμπλοκα, έχει οδηγήσει σε μεγάλο αριθμό χρήσεων όπως τα "έξυπνα" υλικά που χρησιμοποιούνται σαν μεταφορείς φαρμακευτικών ουσιών στον ανθρώπινο οργανισμό. Έτσι υπάρχει η δυνατότητα επιλογής της περιοχής που θα απελευθερωθεί η φαρμακευτική ουσία. Επίσης χρησιμοποιούνται στην κατασκευή εμφυτευμάτων με αυξανόμενη βιοσυμβατότητα. Ακόμα χρησιμοποιούνται στη δημιουργία μεμβρανών για διάλυση και διήθηση.

1.2.1 Αμφίφιλα Συμπολυμερή με Συστάδες Πολυηλεκτρολύτη

Τα αμφίφιλα συμπολυμερή κατά συστάδες με συστάδες από πολυηλεκτρολύτες είναι ένα αρκετά ενδιαφέρον και σημαντικό αντικείμενο έρευνας λόγω των ιδιοτήτων που παρουσιάζουν. Τα συμπολυμερή αυτά συνδυάζουν τα δομικά χαρακτηριστικά των πολυηλεκτρολυτών, των αμφίφιλων συμπολυμερών και των επιφανειοδραστικών ουσιών, γεγονός που τους προσδίδει αρκετά μοναδικές και ασυνήθιστες ιδιότητες και πολλές δυνατότητες εξειδικευμένου σχεδιασμού (*custom design*). Η αυτοοργάνωση των πολυηλεκτρολυτικών συμπολυμερών σε υδατικό διάλυμα, επηρεάζεται από πλήθος εξωτερικών παραμέτρων, όπως το pH, η θερμοκρασία και η αλατότητα, οι οποίες σχετίζονται με (ή προσδιορίζονται από) διάφορες τεχνολογικές και βιολογικές διεργασίες και εφαρμογές.

Παράλληλα, τα σχηματιζόμενα μικκύλια φέρουν πολυηλεκτρολυτική κορώνα και αντιστοιχούν σε κολλοειδή σωματίδια, των οποίων οι ιδιότητες εξαρτώνται από το βαθμό διάστασης των φορτισμένων ομάδων, το pH και τη συγκέντρωση του άλατος στο διάλυμα, καθώς και τις πολικές αλληλεπιδράσεις του συστήματος. Επιπροσθέτως, τα πολυηλεκτρολυτικά μικκύλια παρέχουν τη δυνατότητα μελέτης των ιδιοτήτων των πολυηλεκτρολυτών σε ιδιαίτερα υψηλή συγκέντρωση αλυσίδων και στο πλαίσιο αυτό αποτελούν συστήματα ανάλογα των σφαιρικών πολυηλεκτρολυτικών βουρτσών (*spherical polyelectrolyte brushes*). Οι λόγοι αυτοί έχουν αποτελέσει το κίνητρο για τη μελέτη αυτών των συστημάτων και έχουν οδηγήσει στη διεξαγωγή πολυπληθών θεωρητικών και πειραματικών μελετών [22,23], όπως αυτές που έχουν δημοσιευτεί από τους Föster, Abetz και Müller [24].

1.3 Αποκρίσιμα Πολυμερή

Μια ιδιαίτερη κατηγορία πολυμερών είναι τα «αποκρίσιμα» πολυμερή που επιδεικνύουν μεγάλες, και άμεσες φυσικές ή χημικές αντιστρεπτές αλλαγές στην διαμόρφωση τους ως απόκριση σε εξωτερικά ερεθίσματα.[25,26,27] Υπάρχουν πολλά διαφορετικά ερεθίσματα που ρυθμίζουν την απόκριση των πολυμερών και μπορούν να ταξινομηθούν είτε ως χημικά, είτε ως φυσικά ερεθίσματα. Τα χημικά ερεθίσματα, όπως το pH, η ιονική ισχύς, οι ιοντικοί και χημικοί παράγοντες, αλλάζουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων ή μεταξύ των αλυσίδων και του διαλύτη σε μοριακό επίπεδο. Τα φυσικά ερεθίσματα, όπως η θερμοκρασία, το ηλεκτρικό ή μαγνητικό πεδίο και η μηχανική τάση, επηρεάζουν τους θερμοδυναμικούς παράγοντες (ενθαλπία και εντροπία) και μεταβάλλουν τις μοριακές αλληλεπιδράσεις. Αυτές οι αποκρίσεις των πολυμερικών συστημάτων είναι πολύ χρήσιμες σε βιολογικές εφαρμογές, όπως στη μεταφορά φαρμάκων.[28,29]

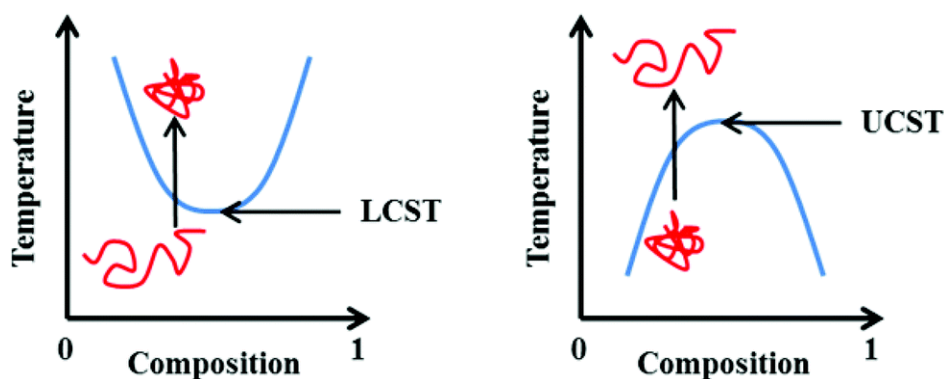
Το ενδιαφέρον για αυτά τα πολυμερή έχει αυξηθεί λόγω των εφαρμογών στη βιομηχανία των χρωμάτων, των καλλυντικών, τον καθαρισμό του νερού, αλλά κυρίως στο πεδίο της βιοϊατρικής. Τα αποκρίσιμα πολυμερή μιμούνται τα βιολογικά συστήματα με έναν πρωτογενή τρόπο, καθώς και ένα εξωτερικό ερέθισμα, για παράδειγμα η αλλαγή του pH ή της θερμοκρασίας, έχει ως αποτέλεσμα αλλαγή σε κάποιες ιδιότητες. Αυτό μπορεί να σημαίνει αλλαγή στη διαμόρφωση, στη διαλυτότητα ή την διαφοροποίηση της ισορροπίας υδροφιλικότητας-υδροφοβικότητας που τελικά μπορεί να οδηγήσει στην αποδέσμευση ενός βιοδραστικού μορίου, δηλαδή ενός φαρμάκου. Μπορεί, επίσης να περιλαμβάνει συνδυασμό περισσότερων της μίας απόκρισης την ίδια στιγμή.[30] Ορισμένα πολυμερικά συστήματα συνδυάζουν απόκριση σε δυο ή περισσότερα ερεθίσματα, για παράδειγμα είναι θερμο-ευαίσθητα αλλά και αποκρίσιμα σε μεταβολές του pH.[31]

Από την άλλη μεριά υπάρχουν εργασίες αναφέρουν ότι υπάρχουν πολυμερή που για να αποκριθούν σε ερεθίσματα είναι αναγκαία η ταυτόχρονη επιβολή δυο ερεθισμάτων για να υπάρξει απόκριση από το πολυμερές, στη περίπτωση αυτή το πολυμερές ονομάζεται διπλοαποκρινόμενο. Μια νέα και ενδιαφέρουσα κατηγορία εξωτερικού ερεθίσματος θεωρείται το βιοχημικό

ερέθισμα, το οποίο περιλαμβάνει απόκριση σε αντιγόνα, ένζυμα, υποκαταστάτες και βιοχημικούς παράγοντες.[32]

1.3.1 Πολυμερή Αποκρίσιμα στη Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία είναι ίσως το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο ερέθισμα στα αποκρίσιμα πολυμερικά συστήματα. Μια από τις μοναδικές ιδιότητες των θερμοευαίσθητων πολυμερών είναι η ύπαρξη μια κρίσιμης θερμοκρασίας διάλυσης (*Lower Critical Solution Temperature, LCST*).[33] Η LCST είναι η θερμοκρασία στην οποία η φάση του πολυμερούς και του διαλύματος αλλάζουν ασυνεχώς σύμφωνα με τη σύστασή τους. Σε υδατικά μέσα, πολυμερή που έχουν LCST σημαίνει ότι είναι διαλυτά στο νερό σε χαμηλή θερμοκρασία, ενώ με την άνοδο της θερμοκρασίας, παύουν να είναι διαλυτά και παρατηρείται διαχωρισμός φάσεων. Ο διαχωρισμός φάσεων ως αποτέλεσμα μεταβολής της θερμοκρασίας οφείλεται στην διαφοροποίηση διαμοριακών και ενδομοριακών δυνάμεων, καθώς με την θέρμανση του διαλύματος του πολυμερούς προάγονται οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πολυμερικών αλυσίδων, με αποτέλεσμα την συσσωμάτωσή τους και την θόλωση του αρχικά διαυγούς διαλύματος.[25] Αν το φαινόμενο του διαχωρισμού φάσεων λαμβάνει χώρα με την μείωση της θερμοκρασίας, τότε το υδατικό σύστημα χαρακτηρίζεται από εμφάνιση ανώτερης κρίσιμης θερμοκρασίας διάλυσης (*Upper Critical Solution Temperature, UCST*) Ωστόσο οι περισσότερες εφαρμογές σχετίζονται με πολυμερικά συστήματα που εμφανίζουν LCST.[34]



Εικόνα 1.7: Αναπαράσταση της μετάπτωσης φάσης που συνδέεται με την LCST (αριστερά) και UCST (δεξιά). Η μπλε γραμμή αντιπροσωπεύει το όριο διαχωρισμού φάσεων. [35]

Χαρακτηριστικά παραδείγματα θερμοαποκρινόμενων πολυμερών με LCST συμπεριφορά είναι πολυμερή που βασίζονται στα μονομερή του Ν-ισοπροπυλακρυλαμίδιου (NIPAM), Ν,Ν-δαιθυλακρυλαμίδιου (DEAM), Ν-Ν-διμέθυλαμινεστέρας (DMAEMA), μέθυλο βινυλαιθέρα (MVE) και Ν-βινυλοκαπρολακτάμης (NVCa). Τυπικά συστήματα με UCST βασίζονται σε συνδυασμό ακρυλαμίδιου (AAm) και ακρυλικού οξέος (AAc). Επίσης, υπάρχουν συμπολυμερή κατά συστάδες με ενδιαφέρουσες εφαρμογές π.χ. PEO-b-PPO. [30]

1.3.2 pH-Αποκρίσιμα Πολυμερή

Τα πολυμερή που εμφανίζουν ευαισθησία στο pH αποτελούνται από μονομερή που μπορούν να ιονιστούν, δηλαδή να δώσουν ή να λάβουν πρωτόνια σε απόκριση με τη μεταβολή του pH. Καθώς το pH αλλάζει ο βαθμός ιονισμού του πολυμερούς μεταβάλλεται γύρω από μια συγκεκριμένη τιμή pH, που ονομάζεται pK_a . Αυτή η γρήγορη αλλαγή στο συνολικό φορτίο της αλυσίδας προκαλεί μεταβολή του υδροδυναμικού όγκου των πολυμερικών αλυσίδων. Η μετάβαση από συρρικνωμένη σε εκτεταμένη διαμόρφωση ερμηνεύεται από την οσμωτική πίεση, που προκαλούν τα αντισταθμιστικά ιόντα των φορτίων των αλυσίδων.[36]

Υπάρχουν δυο είδη αποκρινόμενων στο pH πολυηλεκτρολυτών: ασθενή πολυοξέα και ασθενείς πολυβάσεις. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα που εμφανίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές των pH-αποκρίσιμων οξέων είναι το πολυακρυλικό οξύ PAA [37] και το πολυμεθακρυλικό οξύ PMMA [38]. Το PAA είναι ένα ασθενές πολυοξύ, το οποίο είναι ουδέτερο σε χαμηλό pH, ενώ ιονίζεται σε υψηλό pH. Ένα ακόμα παράδειγμα ασθενών πολυοξέων είναι pH-ευαίσθητα πολυμερή που φέρουν ομάδες σουλφοναμίδιου και έχουν ποικίλες τιμές pK_a στην περιοχή pH από 3 ως 11. [39,40]

Αντίθετα, pH-αποκρίσιμες πολυβάσεις, όπως η 4-βινυλοπυριδίνη, ο πολυ(μεθακρυλικός εστέρας της διμεθυλοαμινοαιθανόλης) (PDMAEMA) και ο πολυ(μεθακρυλικός εστέρας της δαιθυλοαμινοαιθανόλης) (PDEAEMA) είναι πρωτονιωμένοι σε χαμηλό pH και ουδέτεροι σε υψηλό pH. [41] Πιο συγκεκριμένα η αμινομάδα των PDMAEMA και PDEAEMA είναι ουδέτερη σε

αλκαλικό περιβάλλον, ενώ φορτίζεται θετικά (προσλαμβάνοντας ένα πρωτόνιο) σε όξινο περιβάλλον. Οι μεγαλύτερες υδρόφοβες ομάδες του PDEAEMA το καθιστούν συνολικά πιο υδρόφοβο και προκαλούν ισχυρότερες υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις σε υψηλό pH. Τόσο το PDMAEMA, όσο και το PDEAEMA καταβυθίζονται σε $pH > 8$ λόγω της αποπρωτονίωσης των αμινοομάδων.[42] Η πολυ(4 ή 2-βυνιλοπυριδίνη) (PVP) εμφανίζει επίσης ευαισθησία σε μεταβολές του pH. Στο πολυμερές αυτό παρατηρείται μεταβολή φάσεων σε $pH < 5$, που οφείλεται στην πρωτονίωση/αποπρωτονίωση των ομάδων της πυριδίνης.[41,43]

Η ρύθμιση του κατάλληλου κρίσιμου pH (pH^*), στο οποίο παρατηρούνται αντιστρεπτές μεταβολές στη διαμόρφωση των αλυσίδων, είναι ένας σημαντικός παράγοντας στις εφαρμογές των pH-αποκρίσιμων πολυμερών. Η περιοχή pH, στην οποία παρατηρείται μια αντιστρεπτή μεταβολή της φάσης μπορεί να ρυθμιστεί με δυο τρόπους είτε επιλέγοντας πολυοξέα και πολυβάσεις, των οποίων τα pK συμπίπτουν με εκείνη την περιοχή pH, είτε με ενσωμάτωση ενός υδρόφοβου τμήματος στην πολυμερική αλυσίδα του πολυοξέος ή της πολυβάσης με αποτέλεσμα το pK να συμπίπτει με το pH^* . Η δεύτερη περίπτωση έχει μελετηθεί συστηματικά αλλάζοντας το ποσοστό του υδρόφοβου τμήματος στην πολυμερική αλυσίδα.

1.3.3 Επίδραση της Ιοντικής Ισχύος Διαλύματος

Καθώς η συμπεριφορά θερμοαπόκρισης εξαρτάται από την αλληλεπίδραση του διαλύτη με το πολυμερές και ως εκ τούτου από την ισορροπία υδροφιλικότητας/υδροφοβικότητας στα πολυμερικά μόρια, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι η παρουσία προσθέτων στο σύστημα πολυμερούς/διαλύτη μπορεί να επηρεάσει την θέση της μετάπτωσης φάσης. Ενδιαφέρουσα είναι η περίπτωση προσθήκης αλάτων καθώς σχετίζεται με βιοϊατρικές εφαρμογές [30,44]. Η παρουσία αλάτων διαταράσσει την δομή ενυδάτωσης γύρω από τις πολυμερικές αλυσίδες με αποτέλεσμα την μείωση της θερμοκρασίας διαχωρισμού φάσεων.[25] Αυτή η δράση εξαρτάται από το είδος των ιόντων και περιγράφεται από τις σειρές *Hofmeister*.

Η μείωση της διαλυτότητας (φαινόμενο εξαλάτωσης) είναι αποτέλεσμα του ανταγωνισμού των πολυμερικών μορίων με τα ιόντα του άλατος για τα μόρια νερού που απαιτούνται για την επιδιалύτωση τους. Σε υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων τα μόρια του νερού που είναι διαθέσιμα για την διαλύτωση των πολυμερών δεν είναι αρκετά καθώς η πλειονότητά τους συνδέεται ισχυρά με τα άλατα. Έτσι, οι αλληλεπιδράσεις πολυμερούς-πολυμερούς υπερτερούν των αλληλεπιδράσεων πολυμερούς-νερού, οπότε σχηματίζονται συσσωματώματα με αποτέλεσμα την καταβύθιση των πολυμερικών μορίων

1.4 Σύμπλεξη Πολυμερών με DNA

Η σύμπλεξη μεταξύ πολυηλεκτρολυτικών πολυμερών και βιομακρομορίων (πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα) καθιστά δυνατή την ανάπτυξη λειτουργικών βιολογικών νανοϋλικών και βιο-οργανικών υβριδίων, με ενδεχόμενη χρήση σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων, σε γονιδιακή θεραπεία και άλλα. Εκτός αυτού, η μελέτη της διαδικασίας της σύμπλεξης πολυηλεκτρολυτών με βιομακρομόρια προσφέρει καλύτερη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φορτισμένων βιολογικών μακρομορίων, με αποτέλεσμα την απόκτηση σημαντικών πληροφοριών σχετικά με τις διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα σε διάφορα βιολογικά συστήματα.

Οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αντίθετων φορτίων των δύο ειδών μακρομορίων ευθύνονται κυρίως για τη σύμπλεξη πολυηλεκτρολυτών και DNA σε υδατικό μέσο. Η διαδικασία της σύμπλεξης καθώς και η δομή των σχηματιζόμενων συμπλόκων επηρεάζονται από πλήθος παραμέτρων, με σημαντικότερες την αναλογία μεταξύ των δύο συστατικών, τη συγκέντρωση, το pH, τη θερμοκρασία και την ιοντική ισχύ του διαλύματος.[45] Εξίσου σημαντική θεωρείται και η χημική δομή των μακρομορίων, καθώς και η επίδραση παραμέτρων όπως το μοριακό βάρος, η πυκνότητα φορτίου, η ακαμψία και η υδροφοβικότητα της πολυηλεκτρολυτικής αλυσίδας, καθώς και η διαμόρφωση και η επιφανειακή κατανομή των φορτίων του μακρομορίου.

1.5 Πολυμερισμός Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση (RAFT Polymerization) [46,47,48]

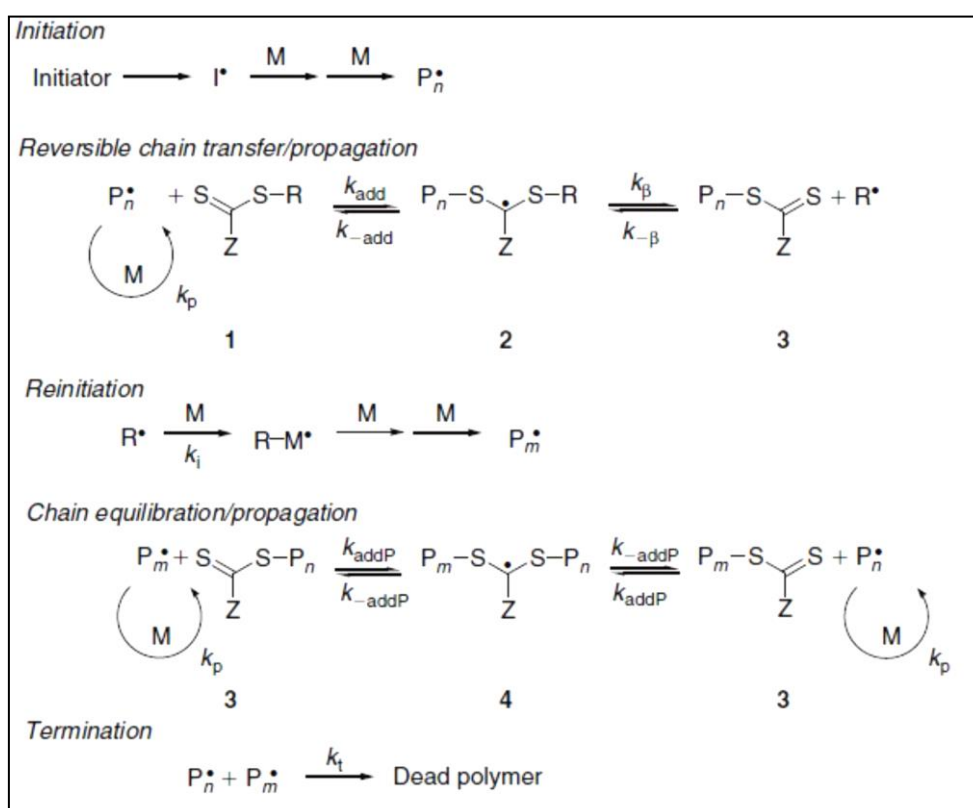
Ο πολυμερισμός αντιστρεπτής προσθήκης-μεταφοράς αλυσίδας με απόσπαση (Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer, RAFT) είναι ένας μηχανισμός ζωντανού ελεγχόμενου ριζικού πολυμερισμού. Οι πρώτες ερευνητικές αναφορές εμφανίστηκαν στο τομέα της συνθετικής οργανικής χημείας στις αρχές της δεκαετίας του 1970. Τα τελευταία δεκαπέντε χρόνια ο πολυμερισμός RAFT έχει εξελιχθεί σε μια ισχυρή τεχνική για την σύνθεση συμπολυμερών με καθορισμένη αρχιτεκτονική και μικρές κατανομές μοριακών βαρών. 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.

Ο πολυμερισμός RAFT βασίζεται σε μια σειρά αντιδράσεων αντιστρεπτής μεταφοράς αλυσίδας, έτσι ώστε να είναι ελεγχόμενος. Εφόσον ο RAFT αποτελεί έναν ριζικό πολυμερισμό που διεξάγεται με την παρουσία ενός CTA, το στάδιο της έναρξης μπορεί να επιτευχθεί χρησιμοποιώντας παραδοσιακούς απαρχητές, όπως αζωενώσεις, υπεροξειδία, οξειδοαναγωγικά συστήματα έναρξης, φωτοαπαρχητές και ακτινοβολία-γ.

Η πρόδρομη ρίζα I^{*} πιστεύεται γενικά ότι προστίθεται στο 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^{*}), 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 την αρχικής ρίζας I^* με το μονομέρες, που έχει ως αποτέλεσμα μία διαδιδόμενη ολιγομερική αλυσίδα (P_n^*), το CTA αντιδρά με την P_n^* για να δώσει μια ενδιάμεση ρίζα. Αυτή η ενδιάμεση ρίζα, αν έχει γίνει σωστή επιλογή CTA, θρυμματίζεται και δημιουργείται ένα νέο είδος ρίζας R^* . Το στάδιο προ-ισοροπίας (*pre-equilibrium*) ορίζεται ως ο χρόνος που απαιτείται ώστε όλα τα θραύσματα R^* να προσθέσουν μονομερικές μονάδες για να σχηματιστούν διαδιδόμενες αλυσίδες P_m^* και διέπεται από τις τέσσερις σταθερές k_{add} , k_{-add} , k_β και $k_{-\beta}$.



Εικόνα 1.8: Μηχανισμός πολυμερισμού Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση (RAFT). [46]

Για να επιτευχθούν στενές κατανομές μοριακών βαρών το στάδιο προ-ισορροπίας πρέπει να ολοκληρωθεί νωρίς για όλες τις αλυσίδες, έτσι ώστε να μπουν στο στάδιο κυρίως ισορροπίας την ίδια στιγμή. Αυτό είναι ανάλογο με άλλα συστήματα ζωντανού πολυμερισμού, στα οποία υποτίθεται ότι η έναρξη συμβαίνει ποσοτικά και ακαριαία. Όταν ολοκληρωθεί το στάδιο προ-ισορροπίας, ο πολυμερισμός μπαίνει στο στάδιο της κυρίως ισορροπίας. Αυτό το στάδιο περιλαμβάνει την εκφυλιστική μεταφορά της ακραίας μεταφερόμενης ομάδας του CTA 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 ριζικού πολυμερισμού, ο RAFT δουλεύει για να περιορίσει τον αριθμό των μη αντιστρεπτών αντιδράσεων τερματισμού, με το να ελαχιστοποιεί την συγκέντρωση ριζών που είναι διαθέσιμες για τερματισμό κάθε στιγμή. Ωστόσο, όπως σε όλες τις διαδικασίες ελευθέρων ριζών, αντιδράσεις τερματισμού λαμβάνουν χώρα εξαιτίας της σύζευξης των ελευθέρων ριζών και η δυσαναλογία μπορεί να συσχετιστεί άμεσα με την αρχική συγκέντρωση του απαρχητή. Όταν ο αρχικός τρόπος τερματισμού είναι διμοριακός συνδυασμός (*bimolecular combination*), ο αριθμός των νεκρών αλυσίδων δημιουργείται με το μισό των αλυσίδων να προέρχονται από τον απαρχητή. Στην περίπτωση όπου η δυσαναλογία/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*). Έτσι, το θεωρητικό μέσο μοριακό βάρος κατ' αριθμό $\langle M_n \rangle$ μπορεί να προσδιοριστεί σύμφωνα με την εξίσωση:

$$M_{n,th} = \frac{[M]_0 M_{MW} \rho}{[CTA]_0 + 2f[I]_0(1 - e^{-k_d t})} + CTA_{MW} \quad (1.5.1)$$

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 απαρχητή.

Σε έναν καλά σχεδιασμένο πολυμερισμό RAFT, με υψηλή συγκέντρωση CTA σε σχέση με τον απαρχητή, το ποσοστό των αλυσίδων που προέρχονται από τον απαρχητή είναι μικρότερο του 5% και έτσι οι όροι που αντιστοιχούν σε αυτές τις αλυσίδες μπορούν να παραληφθούν και η εξίσωση να πάρει τη μορφή:

$$M_{n,th} = \frac{[M]_0 M_{MW} \rho}{[CTA]_0} + CTA_{MW} \quad (1.5.2)$$

με αποτέλεσμα η σχέση μοριακού βάρους και μετατροπής του μονομερούς να είναι γραμμική επιτρέποντας καλά καθορισμένα μοριακά βάρη με μικρές τιμές κατανομής μοριακών βαρών.

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 πώς η σταθερά k_b 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 .

1.6 Σκοπός της Εργασίας

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι η σύνθεση καινοτόμων αμφίφιλων συμπολυμερών με τη χρήση της τεχνικής πολυμερισμού RAFT. Τα συντιθέμενα αμφίφιλα δισυσταδικά συμπολυμερή αποτελούνται από τον πολυ(μεθακρυλικό εστέρα της διμεθυλοαμινοαιθανόλης) (PDMAEMA) που αποτελεί την υδρόφιλη συστάδα και τον πολυ(μεθακρυλικό εστέρα της δωδεκανόλης) (PLMA) που αποτελεί την υδρόφοβη συστάδα.

Το PDMAEMA ανήκει στην κατηγορία των μεθακρυλικών εστέρων και διαθέτει μια ακραία ομάδα τριτοταγούς αμίνης. Πρόκειται για έναν ασθενή κατιοντικό πολυηλεκτρολύτη ο οποίος εμφανίζει ενδιαφέρουσες ιδιότητες και ανταποκρίνεται σε εξωτερικά ερεθίσματα όπως θερμοκρασία, pH και ιοντική ισχύ. Η τροποποίηση της τριτοταγούς του αμίνης σε τεταρτοταγή του προσδίδει επιπλέον ιδιότητες, πέραν της απόκρισης του σε εξωτερικά ερεθίσματα, όπως την σύμπλεξη των θετικά φορτισμένων αλυσίδων του με αρνητικά φορτισμένα μακρομόρια (DNA, πρωτεΐνες).

Τη δεύτερη συστάδα του πολυμερούς αποτελεί το PLMA. Ανήκει εξίσου στην οικογένεια των μεθακρυλικών εστέρων και διαθέτει μια πλευρική ομάδα που αποτελείται από δώδεκα άνθρακες. Είναι ένα υδρόφοβο πολυμερές και όταν συμμετέχει σε αυτοοργανωμένες δομές σε ένα υδατικό διάλυμα εμφανίζει ένα ρευστό πυρήνα, λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας υαλώδους μετάπτωσης (T_g) που έχει.

Στόχος της εργασίας είναι μελέτη αυτών των συστημάτων και των παραγώγων τους που προκύπτουν από την τεταρτοταγοποίηση της αμίνης και τη μετατροπή της σε σουλφοβεταΐνη του PDMAEMA σε δομικό και μοριακό επίπεδο. Επιπροσθέτως η διερεύνηση της συμπεριφοράς της αυτό-οργάνωσης τους σε μικκυλιακές δομές όταν βρεθούν σε υδατικά μέσα και η εξάρτησή τους από τη μεταβολή φυσικοχημικών παραμέτρων που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Σε τελευταίο στάδιο μελετάται η σύμπλεξη των πολυηλεκτρολυτικών συμπολυμερών με DNA για να διερευνηθεί αν τα συστήματα αυτά χρήζουν ικανά για τη μελλοντική χρήση τους ως φορείς γονιδίων.

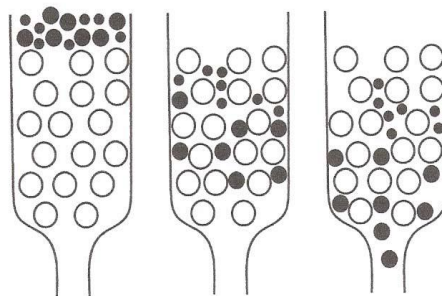
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΕΝΟΡΓΑΝΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

2.1 Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγεθών (SEC)

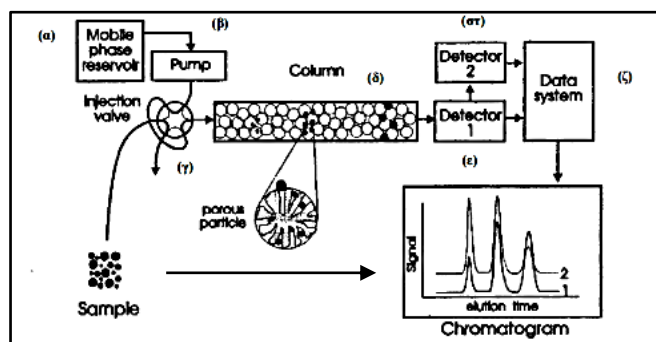
Η χρωματογραφία διαπερατότητας μέσω πηκτής (*gel permeation chromatography, GPC*) βασίζεται στον διαχωρισμό των μακρομοριακών αλυσίδων βάσει του μεγέθους τους και για τον λόγο αυτόν η τεχνική ονομάζεται και χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών (*size exclusion chromatography, SEC*). Αποτελεί σήμερα μια από τις δυναμικότερες μεθόδους χαρακτηρισμού των πολυμερών, τόσο σε εργαστηριακό, όσο και σε βιομηχανικό επίπεδο.[49]

Ο διαχωρισμός των διαφόρων μοριακών βαρών γίνεται στις στήλες, οι οποίες περιέχουν πορώδες υλικό. Οι πόροι έχουν περίπου ίδιο μέγεθος με την περιοχή μεγεθών των μακρομορίων. Στις ιδανικές στήλες, ο διαχωρισμός οφείλεται μόνο στο μοριακό μέγεθος και δεν υπάρχει κανενός άλλου είδους αλληλεπίδραση μεταξύ πορώδους υλικού και μακρομορίων. Ο μηχανικός διαχωρισμός (αποκλεισμός λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης/αποκλεισμού) επιτρέπει στα μεγαλύτερα μόρια να περάσουν μέσα από ένα μικρό ποσοστό πόρων, ενώ τα μικρότερα περνάνε από τους περισσότερους πόρους.[50] Κατά συνέπεια οι πολυμερικές αλυσίδες διαχωρίζονται ανάλογα με το μέγεθός τους, αφού τα μεγαλύτερα εκλούονται πρώτα, επειδή διανύουν μικρότερη απόσταση μέσα στις στήλες διαχωρισμού.[51] Ο μηχανισμός διαχωρισμού παρουσιάζεται στην *Εικόνα 2.1*.



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

Στην *Εικόνα 2.2* που ακολουθεί δίνονται τα βασικά τμήματα ενός χρωματογράφου αποκλεισμού μεγεθών [52]:



Εικόνα 2.2: Ο χρωματογράφος αποτελείται από μία αποθήκη διαλύτη (α), την αντλία (β), τον εισαγωγέα δείγματος (γ), τις στήλες (δ), τους ανιχνευτές που συνδέονται σε σειρά (ε), (στ), και ένα καταγραφικό σύστημα (ζ).

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

- i. Ανιχνευτές μάζας (διαφορικό διαθλασίμετρο, πυκνόμετρο)
- ii. Ειδικοί Ανιχνευτές (ανιχνευτές απορρόφησης)
- iii. Ανιχνευτές ευαίσθητοι σε μοριακή μάζα (φωτόμετρο σκέδασης φωτός λέιζερ σε μικρές γωνίες)

Το πακεταριστικό υλικό των στηλών μπορεί να είναι οργανικής φύσεως όπως πολυστυρένιο δικτυωμένο με διβινυλοβενζόλιο ή ανόργανο όπως σίλικα ή πορώδες γυαλί. Συνήθως προτιμάται πακεταριστικό υλικό από πολυστυρένιο και όχι από ανόργανες ύλες, επειδή έτσι δεν δημιουργούνται δευτερογενείς αλληλεπιδράσεις, οι οποίες θα οδηγούσαν σε δευτερογενείς διαδικασίες κατανομής. Οι λόγοι για τέτοιες δευτερογενείς διαδικασίες είναι προσρόφηση, κατανομή, ασυμβατότητα κ.α. Γενικά, τέτοιες διαδικασίες αυξάνουν τον όγκο έκλυσης, δίνοντας έτσι μειωμένο μοριακό βάρος για το άγνωστο δείγμα. [53]

Η βαθμονόμηση του οργάνου γίνεται με τη χρήση πρότυπων πολυμερών, των οποίων τα MB (μοριακά βάρη) είναι γνωστά, γιατί έχουν χαρακτηριστεί με απόλυτες μεθόδους, όπως η στατική σκέδαση φωτός και η ωσμωμετρία. Με τον τρόπο αυτό γίνεται γνωστός ο χρόνος κατακράτησης στη στήλη μορίων συγκεκριμένου MB και με βάση αυτά μπορούν να μετατραπούν οι χρόνοι

κατακράτησης αγνώστων δειγμάτων σε ισοδύναμα MB, με την προϋπόθεση ότι οι συνθήκες διεξαγωγής της βαθμονόμησης και ανάλυσης ενός αγνώστου MB δείγματος παραμένουν οι ίδιες (π.χ. η στήλη, ο φέρων διαλύτης, η ροή του διαλύτη και η πίεση).[54]

2.2 Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (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.[55] Παρέχει ποιοτικές και ποσοτικές πληροφορίες για τη σύσταση των δομικών μονάδων και τη στερεοχημική διαμόρφωση των μορίων. Η τεχνική λαμβάνει χώρα είτε σε διάλυμα είτε σε στερεή κατάσταση για μη διαλυτά υλικά και βασίζεται στην αναλογία μεταξύ της μέγιστης παρατηρούμενης έντασης του φάσματος NMR και τον αριθμό των πυρήνων που παράγουν αντίστοιχο σήμα.

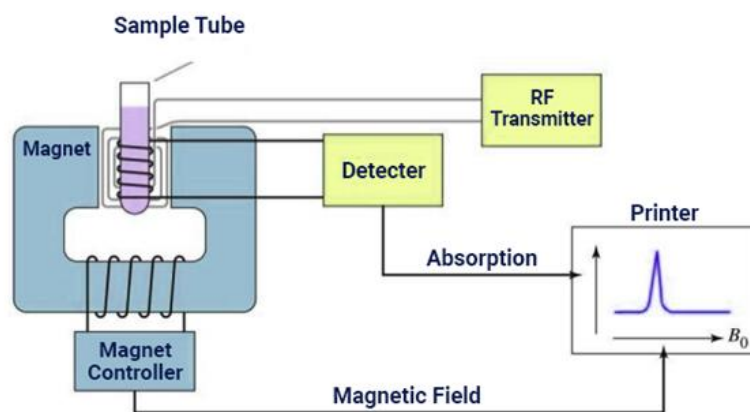
Η φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται για την μελέτη μιας μεγάλης ποικιλίας πυρήνων, όπως ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F και ^{31}P . Οι πυρήνες πρωτονίου (^1H) και άνθρακα (^{13}C), θεωρούνται από τους οργανικούς χημικούς οι χρησιμότεροι, αφού το υδρογόνο και ο άνθρακας αποτελούν τα κύρια συστατικά των οργανικών ενώσεων. Η σημαντικότερη και συνηθέστερη χρήση του NMR στα πολυμερή είναι η εύρεση της σύστασης συμπολυμερών. 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 2.3*.

- 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 περισσότερο προστατευμένων πρωτονίων εμφανίζονται προς το υψηλότερο πεδίο, ενώ των περισσότερο αποπροστατευμένων, προς το χαμηλότερο πεδίο.[56]



Εικόνα 2.3: Σχηματικό διάγραμμα φασματομέτρου NMR. [57]

2.3 Φασματοσκοπία Υπερύθρου (IR)

Η φασματοσκοπία υπερύθρου (Infrared Spectroscopy, IR) είναι μία μέθοδος εύκολης και γρήγορης ταυτοποίησης της ύπαρξης χαρακτηριστικών ομάδων σε ένα μόριο. Η ελάχιστη ποσότητα δείγματος και η ταχύτητα λήψης είναι τα σημεία που καθιστούν την φασματοφωτομετρία IR ιδιαίτερα χρήσιμη και εύχρηστη μέθοδο στην ταυτοποίηση ενός άγνωστου δείγματος. Η τεχνική της φασματοσκοπίας υπερύθρου μελετά την αλληλεπίδραση της υπέρυθρης ακτινοβολίας με την ύλη και εξάγει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη δονητική κατάσταση των μορίων, μιας και η ενέργεια που απαιτείται για να

πραγματοποιηθούν δονητικές μεταβάσεις στο μόριο αντιστοιχεί σε αυτή την περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος.[58,59]

Βασίζεται στην αρχή ότι οι χημικοί δεσμοί απορροφούν την υπέρυθη ακτινοβολία, χαρακτηριστικής ενέργειας και κάθε δείγμα παράγει ένα φάσμα το οποίο απεικονίζει τη συνδυασμένη απορρόφηση των ατόμων που είναι παρόντα. Επειδή κάθε διαφορετικό υλικό είναι ένας μοναδικός συνδυασμός ατόμων, καμία ένωση δύο ατόμων δεν παράγει ακριβώς το ίδιο φάσμα υπέρυθρου. Επομένως, η φασματοσκοπία υπέρυθρου μπορεί να οδηγήσει σε έναν σαφή προσδιορισμό (ποιοτική ανάλυση) των διαφορετικών ειδών του υλικού.

Όταν μια ποσότητα ύλης ακτινοβολείται με υπέρυθη ακτινοβολία, ένα ποσοστό από τα μόρια που δέχονται την ακτινοβολία διεγείρονται, αυξάνοντας την ενέργεια δόνησης και περιστροφής τους. Για να λάβει χώρα η απορρόφηση ενέργειας από τα μόρια, θα πρέπει η συχνότητα της προσπίπτουσας ακτινοβολίας να συμπέσει με την συχνότητα δόνησης των ατόμων του δεσμού. Οι συχνότητες με τις οποίες δονούνται τα άτομα στο μόριο εξαρτώνται μόνο από τις μάζες των ατόμων, τον τύπο του δεσμού και το σχήμα του μορίου. Αν ένα μόριο είναι συμμετρικό δεν παρατηρείται απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας. Ένα μόριο θα απορροφήσει στο IR μόνο εφόσον μεταβάλλεται η διπολική ροπή του κατά την διάρκεια της δόνησης. Διαφορετικά, η δόνηση θεωρείται ανενεργή στο IR. Όσο μεγαλύτερη είναι η μεταβολή της διπολικής ροπής, τόσο ισχυρότερη είναι και η απορρόφηση.

Οι δονήσεις που λαμβάνουν χώρα διακρίνονται σε δυο κατηγορίες:

- Δονήσεις τάσης όπου τα άτομα του δεσμού διαδοχικά πλησιάζουν και απομακρύνονται μεταξύ τους κινούμενα κατά μήκος του δεσμού.
- Δονήσεις κάμψης: Τα άτομα των γειτονικών δεσμών κινούνται έτσι ώστε να αλλάζει η γωνία των δεσμών.

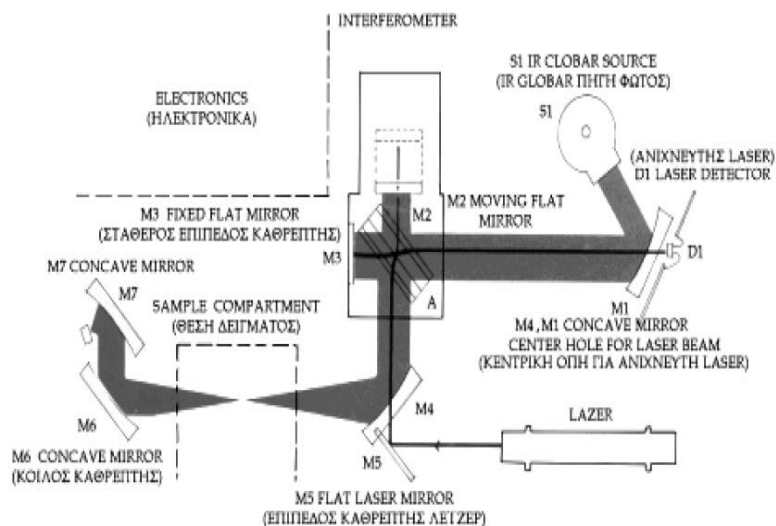
Οι δονήσεις τάσεως διακρίνονται σε συμμετρικές και ασύμμετρες, ενώ οι δονήσεις κάμψεως σε παραμορφώσεις, αιωρήσεις και συστροφές. Εκτός από τις δονήσεις και τις κάμψεις υπάρχουν και άλλα είδη παραμόρφωσης της

δομής των μορίων, όπως όταν αυτό σείεται (*wagging*), κλυδωνίζεται (*rocking*), στρεβλώνεται (*twisting*), ή έχει ψαλιδωτή κίνηση (*scissoring*), κ.λπ. [60]

Στην συνήθη φασματοσκοπία υπερύθρου η πολυχρωματική ακτινοβολία πηγής αναλύεται με χρήση μονοχρωμάτων και ανιχνεύεται σε συχνότητες $\nu + \Delta\nu$ όπου το $\Delta\nu$ καθορίζεται από το εύρος των σχισμών του φωτόμετρου. Στην φασματοσκοπία υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (FT-IR) εντάσσεται το συμβολόμετρο Michelson.

Το βασικό μέρος της διάταξης FT-IR (*Εικόνα 2.4*) είναι το συμβολόμετρο *Michelson*. Το συμβολόμετρο αποτελείται από έναν διαχωριστή δέσμης (*beam splitter*) των ακτινών, ένα σταθερό καθρέφτη και έναν κινητό καθρέφτη που "μεταφράζει" το σήμα πριν και μετά, με πολύ μεγάλη ακρίβεια. Ο διαχωριστής ακτινών αποτελείται από ένα ειδικό υλικό που διαβιβάζει τη μισή από την ακτινοβολία που το χτυπά και ανακλά την άλλη μισή. Η ακτινοβολία από την πηγή χτυπά το διαχωριστή ακτινών και διαχωρίζεται σε δύο ακτίνες. Μια ακτίνα διαβιβάζεται μέσω του διαχωριστή ακτινών στο σταθερό καθρέφτη και μια δεύτερη ανακλάται από το διαχωριστή ακτινών στον κινούμενο καθρέφτη.

Οι σταθεροί και κινούμενοι καθρέφτες ανακλούν ξανά την ακτινοβολία πίσω στο *beam splitter*. Οι δύο δέσμες επανασυνδεόμενες μετά από την ανάκλασή τους στα κάτοπτρα, συμβάλλουν με μια διαφορά πορείας, χ , ίση με το διάστημα μετατόπισης του κινητού κατόπτρου. Πάλι, η μισή από αυτήν την ανακλώμενη ακτινοβολία διαβιβάζεται και η άλλη μισή ανακλάται από τον *beam splitter*, με συνέπεια μια ακτίνα να περνά στον ανιχνευτή και μια δεύτερη να πηγαίνει πίσω στην πηγή. Το σήμα του ανιχνευτή είναι συνάρτηση της απόστασης χ , ενώ το φάσμα λαμβάνεται στη συνηθισμένη μορφή ($\%T = f(\lambda)$), με τη βοήθεια του μετασχηματισμού Fourier και καταγράφεται στον ηλεκτρονικού υπολογιστή.[60]



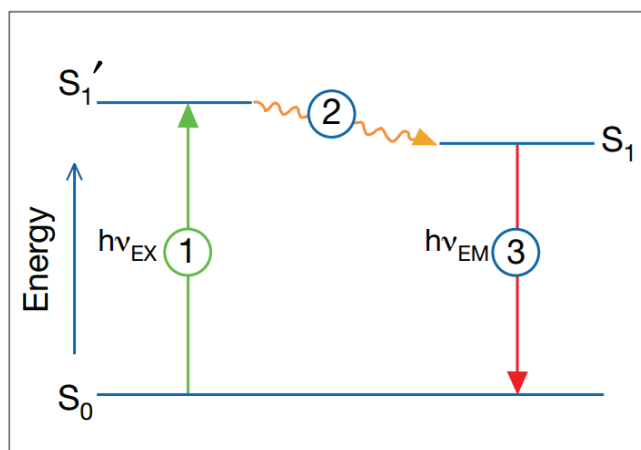
Εικόνα 2.4: Σχηματική διάταξη ενός τυπικού φασματοφωτομέτρου FT-IR και διάταξη των πηγών, καθρεπτών και ανιχνευτή.

2.4 Φασματοσκοπία Φθορισμού (FS)

Η τεχνική της φασματοσκοπίας φθορισμού (*Fluorescence Spectroscopy*) βασίζεται στο φαινόμενο του φθορισμού, δηλαδή την εκπομπή ακτινοβολίας από ένα διεγερμένο μόριο.[61] Γενικά, όταν ένα μόριο που βρίσκεται στη θεμελιώδη ενεργειακή κατάσταση αλληλεπιδρά με ακτινοβολία κατάλληλης συχνότητας, το μόριο απορροφά την ακτινοβολούμενη ενέργεια και διεγείρεται, δηλαδή μεταπίπτει σε υψηλότερη ενεργειακή στάθμη. Η διέγερση αυτή διατηρείται για μικρό χρονικό διάστημα, καθώς το μόριο αποβάλλει την απορροφημένη ενέργεια είτε υπό μορφή θερμότητας, είτε μέσω εκπομπής ακτινοβολίας και επιστρέφει στη θεμελιώδη κατάσταση. Η αποδιέγερση του μορίου μέσω εκπομπής ακτινοβολίας, ονομάζεται *φωταύγεια* και όταν συμβαίνει σε σύντομο χρονικό διάστημα (10^{-9} - 10^{-6} s) από τη στιγμή της διέγερσης, χαρακτηρίζεται ως φθορισμός.

Πιο αναλυτικά το φαινόμενο του φθορισμού μπορεί να περιγραφεί ως μία διαδικασία τριών σταδίων. Κατά το πρώτο στάδιο, ένα φωτόνιο ενέργειας $h\nu_{EX}$, το οποίο παρέχεται από μία εξωτερική πηγή ακτινοβολίας, απορροφάται από το μόριο που βρίσκεται στη θεμελιώδη ηλεκτρονιακή κατάσταση S_0 . Αποτέλεσμα της απορρόφησης αυτής, είναι η μετάβαση ενός ηλεκτρονίου από τη θεμελιώδη κατάσταση S_0 στη πρώτη διεγερμένη ηλεκτρονιακή απλή

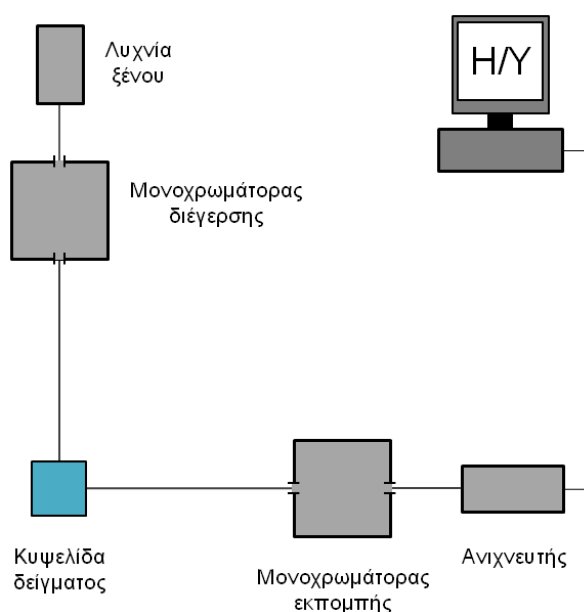
κατάσταση S_1' . Κάθε ηλεκτρονιακή κατάσταση διαχωρίζεται σε επιμέρους δονητικά επίπεδα και η μετάβαση συνήθως πραγματοποιείται στο υψηλότερο ενεργειακά δονητικό επίπεδο της πρώτης διεγερμένης κατάστασης (S_1'). Στο δεύτερο στάδιο, κατά τη διάρκεια ζωής της διεγερμένης κατάστασης, το μόριο χάνει ενέργεια λόγω των αλλαγών της διαμόρφωσης του ή των συγκρούσεων με τα μόρια του περιβάλλοντος του. Η απώλεια της ενέργειας αυτής, οδηγεί στη μετάβαση του ηλεκτρονίου από το υψηλότερο στο χαμηλότερο δονητικό επίπεδο της πρώτης διεγερμένης κατάστασης S_1 και η διαδικασία αυτή καλείται δονητική επαναφορά. Τέλος, στο τρίτο στάδιο λαμβάνει χώρα η αποδιέγερση του μορίου, δηλαδή η μετάπτωση του ηλεκτρονίου από το χαμηλότερο ενεργειακά δονητικό επίπεδο της κατάστασης S_1 στη θεμελιώδη κατάσταση S_0 με παράλληλη εκπομπή ακτινοβολίας ενέργειας $h\nu_{EM}$ (Εικόνα: 2.5).



Εικόνα 2.5: Απλοποιημένο διάγραμμα, το οποίο αναπαριστά σχηματικά τις τρεις επιμέρους διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα κατά το φαινόμενο του φθορισμού

Η πειραματική διάταξη φθορισμομετρίας διαθέτει ως πηγή ακτινοβολίας μία λυχνία ξένου η οποία παρέχει ακτινοβολία στην περιοχή 250-700 nm. Μέσω ενός μονοχρωμάτορα διέγερσης πραγματοποιείται η ανάλυση της πολυχρωματικής ακτινοβολίας με τη χρήση διπλού φράγματος περίθλασης και παραγωγή μονοχρωματικής ακτινοβολίας. Η μονοχρωματική ακτινοβολία κατευθύνεται στην κυψελίδα του δείγματος και η εκπεμπόμενη ακτινοβολία ανιχνεύεται στις 90° , ώστε να ελαχιστοποιηθεί η ανίχνευση της ακτινοβολίας διέγερσης (παράσιτη ακτινοβολία). Η ακτινοβολία εκπομπής, μετά τη διέλευση

από ένα μονοχρωμάτορα εκπομπής μονού φράγματος περιθλασης, φθάνει στον ανιχνευτή ο οποίος είναι ένας φωτοπολλαπλασιαστής που καταγράφει την ένταση της ακτινοβολίας και παρέχει τα δεδομένα σε έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή. Στην είσοδο και την έξοδο κάθε μονοχρωμάτορα υπάρχουν σχισμές διέλευσης ακτινοβολίας μεταβλητού εύρους, οι οποίες χρησιμοποιούνται για τη ρύθμιση της ευαισθησίας και της διακριτικής ικανότητας της τεχνικής. Η σχηματική αναπαράσταση της διάταξης παρουσιάζεται στην *Εικόνα 2.6* [18].



Εικόνα 2.6: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης φασματοσκοπίας φθορισμού.

2.5 Σκέδαση Φωτός (LS)

Οι τεχνικές σκέδασης φωτός χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μελέτη πολυμερικών διαλυμάτων και παρέχουν σημαντικές πληροφορίες αναφορικά με τις στατικές και θερμοδυναμικές ιδιότητες των πολυμερικών μορίων στο διάλυμα. 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 ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας προσπίπτει στα μόρια μιας ουσίας, το

ηλεκτρικό πεδίο του κύματος αλληλεπιδρά με τα φορτία των μορίων, μεταβάλλοντας τη χωρική τους κατανομή.[62]

2.5.1 Δυναμική Σκέδαση φωτός (DLS) [53,63,64]

Η συνεχής μεταβολή της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας λόγω της κίνησης Brown των αλυσίδων (ή των νανοσωματιδίων γενικότερα) σε ένα διάλυμα πολυμερούς (ή σε μία σωματιδιακή διασπορά) είναι η κύρια αρχή λειτουργίας της δυναμικής σκέδασης φωτός (Dynamic Light Scattering, DLS). Έτσι η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας είναι αποτέλεσμα των καταστρεπτικών ή ενισχυτικών αλληλεπιδράσεων της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας από κάθε σωματίδιο – σκεδαστή μέσα στο διάλυμα ξεχωριστά. Εξαιτίας όμως της κίνησης Brown, οι σκεδαστές κινούνται μέσα στο διάλυμα και οι αλληλεπιδράσεις των σκεδαζόμενων ακτινών είναι διαφορετικές με αποτέλεσμα η συνολική ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας να μεταβάλλεται με τον χρόνο. Η μεταβολή της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας σε σχέση με το χρόνο περιγράφεται από μία χρονική συνάρτηση αυτοσυσχέτισης. Γενικά μία συνάρτηση αυτοσυσχέτισης μεταξύ δύο σφαιρικών σωμάτων που δεν αλληλεπιδρούν έχει τη μορφή:

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

Όπου:

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

$$q = \frac{4\pi n_0}{\lambda} \sin(\theta/2) \quad (2.5.1.2)$$

Όπου:

- **n_0** ο δείκτης διάθλασης του δείγματος
- **λ** το μήκος κύματος του λέιζερ που ακτινοβολεί το δείγμα και
- **θ** η γωνία που τοποθετείται ο ανιχνευτής σε σχέση με την κυψελίδα που περιέχει το δείγμα.

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

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R_h} \quad (2.5.1.3)$$

Όπου:

- k η σταθερά Boltzmann,
- T η απόλυτη θερμοκρασία,
- η το ιξώδες του διαλύματος και
- R_h η υδροδυναμική ακτίνα του πολυμερούς.

Ο υπολογισμός της υδροδυναμικής ακτίνας από τη συνάρτηση αυτοσυσχέτισης προκύπτει έπειτα από ανάλυση από κάποιο μαθηματικό αλγόριθμο. Δύο τέτοιοι αλγόριθμοι που χρησιμοποιούνται σχεδόν αποκλειστικά για την παραπάνω ανάλυση είναι η μέθοδος των αθροισμάτων και οι τεχνικές κανονικοποίησης μέσω του προγράμματος CONTIN. Σύμφωνα με τη μέθοδο των αθροισμάτων η συνάρτηση αυτοσυσχέτισης περιγράφεται με ένα πολυώνυμο, συνήθως 2^{ης} ή 3^{ης} τάξης, και από τους συντελεστές του πολυωνύμου προκύπτουν ο συντελεστής διάχυσης (1^{ος} cumulant) και η πολυδιασπορά του συστήματος (2^{ος} cumulant). Ενώ με ανάλυση μέσω του προγράμματος CONTIN, η συνάρτηση αυτοσυσχέτισης έχει σαν αποτέλεσμα μία πληθώρα πιθανών λύσεων που στην συνέχεια απορρίπτονται οι πιο περίπλοκες λύσεις ως λιγότερο πιθανές να υπάρξουν σε πραγματικά συστήματα. Η ανάλυση μέσω του προγράμματος CONTIN οδηγεί στον προσδιορισμό της συνάρτησης κατανομής μεγεθών των σωματιδίων στο διάλυμα.

2.5.2 Στατική Σκέδαση Φωτός (SLS)

Στη περίπτωση της στατικής σκέδασης φωτός (*Static Light Scattering, SLS*), η μέση χρονική τιμή της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, μετράται συναρτήσει της γωνίας σκέδασης θ και της συγκέντρωσης του διαλύματος c και εκφράζεται μέσω του λόγου Rayleigh, R_θ , ο οποίος ορίζεται ως:

$$R_\theta = \frac{d^2}{V f} \frac{I_s}{I_0} \quad (2.5.2.1)$$

Όπου:

- d είναι η απόσταση μεταξύ δείγματος και ανιχνευτή,
- V ο σκεδαζόμενος όγκος,
- f ο παράγοντας διόρθωσης ως προς το επίπεδο πόλωσης της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και
- I_s, I_0 οι εντάσεις της σκεδαζόμενης και προσπίπτουσας ακτινοβολίας, αντίστοιχα.

Σε ένα αραιό σύστημα, όπως για παράδειγμα ένα αέριο, τα μόρια κατανέμονται τυχαία στο χώρο και σε μεγάλες αποστάσεις μεταξύ τους, οπότε η συνεισφορά κάθε μορίου στην ένταση σκέδασης μπορεί να θεωρηθεί ανάλογη του αριθμού τους. Στην περίπτωση όμως πυκνών συστημάτων, όπως τα καθαρά υγρά και τα διαλύματα, τα μόρια βρίσκονται σε κοντινές αποστάσεις, οπότε η ακτινοβολία που σκεδάζεται από κάθε μόριο αλληλεπιδρά με εκείνη που προέρχεται από άλλα μόρια. Η πιθανότητα για καταστρεπτική συμβολή αυξάνεται και το φαινόμενο αυτό μειώνει την ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας. Η περιγραφή του φαινομένου αυτού μπορεί να γίνει μέσω της θεωρίας των διακυμάνσεων Einstein-Smoluchowski, η οποία λαμβάνει υπόψη τις τοπικές διακυμάνσεις της διηλεκτρικής σταθεράς, σε κλίμακα της τάξης μεγέθους του μήκους κύματος, οι οποίες προέρχονται από διακυμάνσεις πυκνότητας σε ένα καθαρό υγρό και/ή από διακυμάνσεις συγκέντρωσης σε ένα διάλυμα.

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

$$\Delta R_{\theta} = R_{\theta, \text{διαλύματος}} - R_{\theta, \text{διαλύτη}} \quad (2.5.2.2)$$

Όπως φαίνεται στη σχέση (2.5.2.1), 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:

$$R_{\theta} = R_T \frac{n_0^2}{n_T^2} \frac{I_S}{I_{S,T}} \quad (2.5.2.3)$$

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:

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

όπου M_w το μοριακό βάρος 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 διάνυσμα σκέδασης q , ορίζεται ως:

$$q = \frac{4\pi n_0}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.5.2.5)$$

όπου λ το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.

Η σταθερά K δίνεται από τη σχέση:

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

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

Μέσω της εξίσωσης (2.5.2.4) και για μετρήσεις σε πολλαπλές γωνίες θ και συγκεντρώσεις c , προκύπτει το διάγραμμα Zimm. Από το διάγραμμα αυτό με διπλή προέκταση των μετρούμενων τιμών του λόγου $K_c/\Delta R_\theta$ σε μηδενική γωνία σκέδασης και μηδενική συγκέντρωση, εξάγεται το μοριακό βάρος M_w ως το αντίστροφο της κοινής τεταγμένης επί της αρχής, ενώ ο συντελεστής A_2 και η γυροσκοπική ακτίνα R_g υπολογίζονται από τις κλίσεις των ευθειών για $\theta = 0$ και $c = 0$, αντίστοιχα.

Όπως φαίνεται από τη σχέση (2.5.2.4), ο διαφορικός δείκτης διάθλασης $\partial n/\partial c$ του πολυμερικού διαλύματος, είναι μια απαραίτητη παράμετρος 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 σταθμισμένος μέσος όρος των διαφορικών δεικτών διάθλασης $(\partial n/\partial c)_1$ και $(\partial n/\partial c)_2$ των επιμέρους συστατικών, ως εξής:

$$\left(\frac{\partial n}{\partial c}\right)_{ολικό} = w_1 \left(\frac{\partial n}{\partial c}\right)_1 + w_2 \left(\frac{\partial n}{\partial c}\right)_2 \quad (2.5.2.7)$$

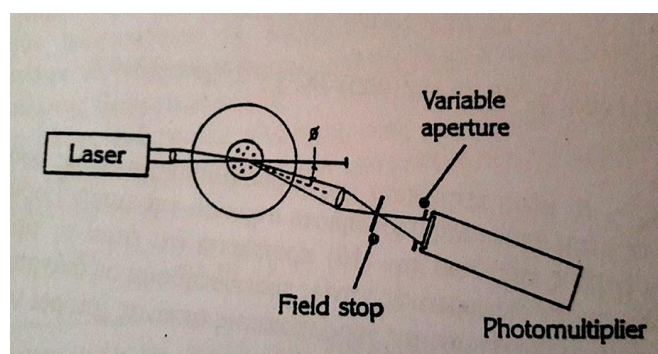
όπου w_1 και w_2 τα κλάσματα βάρους των δύο συστατικών.

Η οργανολογία που χρησιμοποιείται για πειράματα σκέδασης φωτός σε πολλαπλές γωνίες παρουσιάζεται στην *Εικόνα 2.7*. Τα πιο σημαντικά τμήματα μιας τέτοιας διάταξης [53] είναι:

- Πηγή φωτός: Πρόκειται για κάποιο λέιζερ που παρέχει μονοχρωματική ακτινοβολία καθορισμένου μήκους κύματος, με αρκετά μεγάλη ένταση, καλώς καθορισμένη διάμετρο δέσμης και γενικότερα γεωμετρικά

χαρακτηριστικά. Το φως που εκπέμπεται είναι πιθανόν να είναι πολωμένο.

- Κυψελίδα μέτρησης: Είναι συνήθως κυλινδρική για εύκολη μέτρηση της έντασης σκεδάσεως σε πολλές γωνίες (συνήθως 30° - 150°). Τις περισσότερες φορές είναι τοποθετημένη σε λουτρό του οποίου η θερμοκρασία είναι ελεγχόμενη και το περιβάλλον υγρό έχει δείκτη διάθλασης κοντά σε εκείνον του γυαλιού της κυψελίδας.
- Ανιχνευτής σκεδαζόμενης ακτινοβολίας: Η ένταση σκεδαζόμενης ακτινοβολίας μετράται συνήθως με φωτοπολλαπλασιαστές ευαίσθητους στο χρησιμοποιούμενο μήκος κύματος. Η ευαισθησία του φωτοπολλαπλασιαστή πρέπει να είναι υψηλή μιας και η ένταση σκεδάσεως είναι 10^6 φορές μικρότερη από εκείνη της προσπίπτουσας. Συνήθως ο φωτοπολλαπλασιαστής τοποθετείται σε περιστρεφόμενη διάταξη (γωνιομετρο) που μετακινείται ώστε να είναι δυνατή η μέτρηση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας σε διαφορετικές γωνίες.
- Σύστημα συλλογής και ανάλυσης δεδομένων: Στα σύγχρονα φωτόμετρα αυτό είναι ένας υπολογιστής μέσω του οποίου καταγράφονται οι μετρούμενες παράμετροι. Ο ηλεκτρονικός υπολογιστής επίσης ελέγχει τη θερμοκρασία του λουτρού, την κίνηση του γωνιομέτρου και άλλες πειραματικές μεταβλητές.

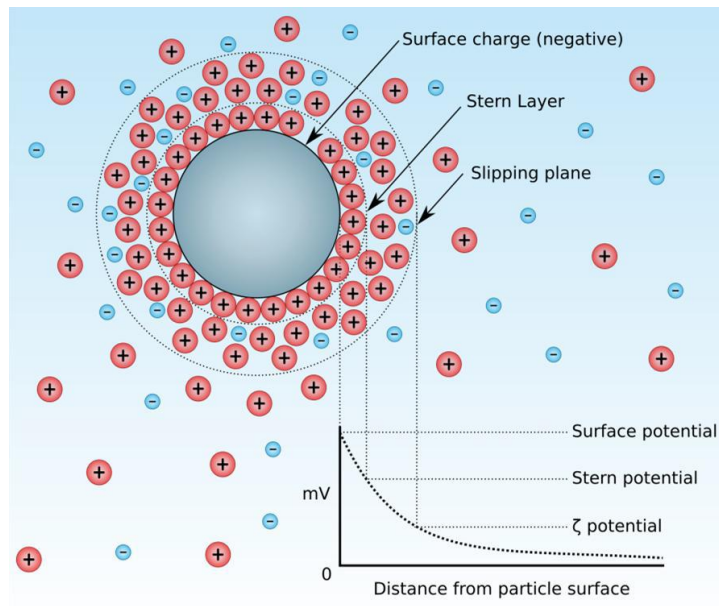


Εικόνα 2.7: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης στατικής σκέδασης φωτός.[53]

2.5.3 Ηλεκτροφορητική Σκέδαση Φωτός (ELS) – ζ δυναμικό

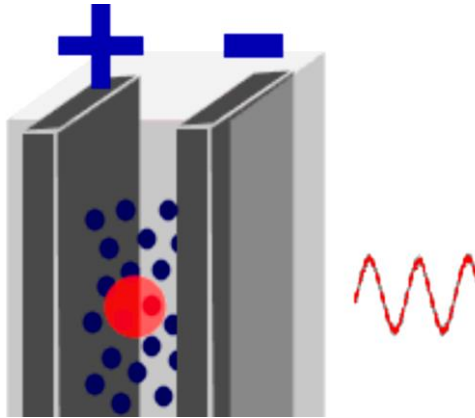
Όταν ένα φορτισμένο σωματίδιο ή μακρομόριο βρεθεί σε περιβάλλον πολικού διαλύτη, τα επιφανειακά φορτία του σωματιδίου αλληλεπιδρούν με τα ιόντα του διαλύτη μέσω ηλεκτροστατικών δυνάμεων, με αποτέλεσμα το σχηματισμό γύρω από το σωματίδιο μίας ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας (*Electrical Double Layer, EDL*), 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. [65,66]

Η διπλή αυτή στοιβάδα μπορεί να θεωρηθεί ότι αποτελείται από δύο τμήματα όπως φαίνεται στην *Εικόνα 2.8*, μια εσωτερική περιοχή, η οποία περιλαμβάνει ιόντα δεσμευμένα σχετικά ισχυρά με τη φορτισμένη επιφάνεια και ονομάζεται στοιβάδα *Stern (Stern Layer)*, και μια εξωτερική (διαχυτική) περιοχή που δημιουργείται από διάχυση ασθενέστερα συνδεδεμένων ιόντων του μίγματος και ονομάζεται στοιβάδα *Gouy-Chapman*. Στο διάχυτο στρώμα υπάρχει ένα νοητό όριο μέσα στο οποίο ιόντα και μόρια διαλύτη αλληλεπιδρούν αρκετά ισχυρά με τη φορτισμένη επιφάνεια του σωματιδίου ώστε σχηματίζουν μια σταθερή οντότητα με το σωματίδιο. Το όριο αυτό ονομάζεται επίπεδο ολίσθησης (*Slipping plane*). Όταν ένα σωματίδιο κινείται, τα ιόντα μέσα σε αυτό το όριο κινούνται μαζί του. Το ηλεκτρικό δυναμικό το οποίο υπάρχει στο εξωτερικό μέρος αυτού του ορίου (επίπεδο ολίσθησης) ονομάζεται *δυναμικό ζ (ζ-potential)* (ή αλλιώς *ηλεκτροκινητικό δυναμικό*) και αποτελεί ένδειξη του επιφανειακού φορτίου του σωματιδίου. [67]



Εικόνα 2.8: Σχηματική απεικόνιση της ηλεκτρικής διπλοστοιβάδας και των επιμέρους επιπέδων που την αποτελούν.

Σε μια τυπική μέτρηση ζ-δυναμικού ή ηλεκτροφορητικής σκέδασης του φωτός (*Electrophoretic Light Scattering, ELS*), ένα μέρος από το δείγμα του κολλοειδούς τοποθετείται σε μία τριχοειδή κυψελίδα με ένα ηλεκτρόδιο στις δύο εισόδους της και εφαρμόζεται τάση στα ηλεκτρόδιά της. Στο δείγμα προσπίπτει μια δέσμη μονοχρωματικής ακτινοβολίας (*Laser*) και η σκεδαζόμενη από το διάλυμα ακτινοβολία συλλέγεται από έναν ανιχνευτή (*Εικόνα 2.9*). Όσο μεγαλύτερη είναι η ταχύτητα των σωματιδίων του κολλοειδούς, η οποία εξαρτάται από το φορτίο τους, τόσο μεγαλύτερη θα είναι η μεταβολή στη συχνότητα της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας (φαινόμενο *Doppler*). 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 και προσδιοριστεί η μετατόπιση *Doppler*, η οποία χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της ταχύτητας των σωματιδίων. [68]



Εικόνα 2.9: 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:

$$\zeta = \frac{\eta}{\varepsilon} U_e \quad (2.5.3.1)$$

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

$$U_e = \frac{u}{V/L} u \quad (2.5.3.2)$$

όπου, u η ταχύτητα του σωματιδίου, V η εφαρμοζόμενη τάση και L η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων. Εφόσον όλα τα μεγέθη των Σχέσεων 2.5.3.1 και 2.5.3.2 είναι γνωστά, εύκολα μπορεί να προσδιοριστεί το ζ-δυναμικό των σωματιδίων.

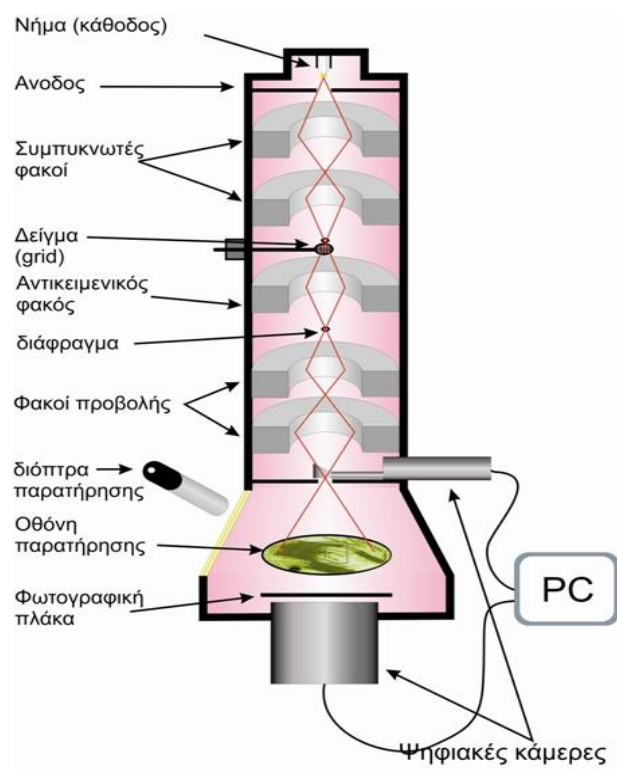
2.6 Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης (TEM) [69]

Η ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης ή διαπερατότητας (*Transmission Electron Microscopy, TEM*) είναι μια πολύ σημαντική τεχνική, που εφαρμόζεται για την παρατήρηση υλικών σε επίπεδο ατόμων. Συγκεκριμένα, είναι μία τεχνική μικροσκοπίας στην οποία αντί για φως, όπως συμβαίνει στα οπτικά μικροσκόπια, χρησιμοποιείται δέσμη ηλεκτρονίων προκειμένου να δημιουργήσει μεγενθυμένα είδωλα των αντικειμένων που εξετάζονται. Η δέσμη ηλεκτρονίων προσπίπτει σε δείγμα, το οποίο είναι πολύ λεπτό, πάχους της τάξης του 1μm, διέρχεται από αυτό και στη συνέχεια δημιουργεί δευτερογενή ηλεκτρόνια εκ περιθλάσεως και συμβολής. Αυτά εστιάζονται σε φθορίζουσα οθόνη και μετά σε φωτογραφικό φιλμ ή εκτυπωτή. Η εξαιρετική διακριτική ικανότητα του TEM οφείλεται κυρίως σε περιθλώμενες ακτίνες ηλεκτρονίων σε ευρεία γωνία. Η συγκεκριμένη τεχνική μικροσκοπίας πλεονεκτεί έναντι όλων των υπολοίπων εξαιτίας του γεγονότος ότι μία εστιασμένη δέσμη ηλεκτρονίων δίνει τη δυνατότητα πολύ μεγάλης διακριτικής ικανότητας. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι με κατάλληλες διατάξεις και συνθήκες η διακριτική ικανότητα της τεχνικής μπορεί να φτάσει μέχρι επίπεδο ατόμου. Η μέγιστη διακριτική ικανότητα του TEM είναι περίπου 1,5 Å.

Η τεχνική βασίζεται στο γεγονός ότι υλικά με διαφορετική ηλεκτρονιακή πυκνότητα ή με διαφορετικό πάχος, θα σκεδάζουν τη δέσμη ηλεκτρονίων σε διαφορετικό ποσοστό και αυτό θα οδηγεί στη δημιουργία ενός ειδώλου με φωτεινές και σκοτεινές περιοχές. Όσο μεγαλύτερη ηλεκτρονιακή πυκνότητα έχει ένα υλικό, ή όσο πιο παχύ είναι, τόσο πιο σκοτεινό θα είναι το είδωλό του στην επιφάνεια καταγραφής. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι τα μεταλλικά νανοσωματίδια οδηγούν σε πολύ σκοτεινές περιοχές, ενώ οι ενώσεις με υδρογόνο και άνθρακα είναι υλικά τα οποία σκεδάζουν ελάχιστα. Ακόμη, όσο πιο παχύ είναι ένα υλικό, δηλαδή όσο μεγαλύτερη είναι η διαδρομή που ακολουθεί η δέσμη ηλεκτρονίων μέσα στο υλικό, τόσο πιο σκοτεινό θα είναι το είδωλο του υλικού στην εικόνα που καταγράφεται.

Γενικά η τεχνική TEM έχει χρησιμοποιηθεί ευρύτατα για τη μελέτη πολλών συστημάτων εξαιτίας της μοναδικής διακριτικής ικανότητας που μπορεί να πετύχει. Ιδιαίτερα στο πεδίο της νανοτεχνολογίας η προσφορά της τεχνικής αυτής είναι σημαντικότερη καθώς δίνει τη δυνατότητα του μορφολογικού

χαρακτηρισμού των υλικών που συντίθενται. Προκειμένου να πραγματοποιηθεί ο παραπάνω χαρακτηρισμός τα υλικά τα οποία πρόκειται να μελετηθούν, συνήθως εναποτίθενται πάνω σε κατάλληλες επιφάνειες οι οποίες σκεδάζουν ελάχιστα τη δέσμη ηλεκτρονίων. Η εναπόθεση γίνεται χρησιμοποιώντας αραιά διαλύματα των υλικών που μελετώνται και οδηγεί στην ομοιογενή διασπορά των νανοσωματιδίων. Στη συνέχεια τα δείγματα τοποθετούνται στο μικροσκόπιο και καταγράφεται, με τον τρόπο που αναφέρθηκε παραπάνω, η μορφολογία των νανοσωματιδίων. Στην *Εικόνα 2.10* δίνεται μια σχηματική αναπαράσταση της διάταξης ενός μικροσκοπίου TEM.



Εικόνα 2.10: Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης ενός ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης (TEM).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

3.1 Υλικά και Αντιδραστήρια

Κατά τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω αντιδραστήρια:

- Μονομερή: Μεθακρυλικός μεθυλεστέρας της διμεθυλαμίνης (n-Dimethylamino ethyl methacrylate, DMAEMA), Μεθακρυλικός εστέρας της δωδεκανόλης (lauryl methacrylate, LMA) (Sigma-Aldrich)
- CTA: 4-Cyano-4-[(dodecyl sulfanylthio carbonyl)sulfanyl]pentanoic acid 4-κυανο-4-[(δωδεκυλο σουλφανυλοθειο καρβονυλο) σουλφάνυλο] πεντανοϊκό οξύ (Sigma-Aldrich)
- Απαρχητής: Αζω-δισοβουτυρονιτρίλιο (azobisisobutyronitrile, AIBN)
- Ρητίνες: Απομάκρυνσης σταθεροποιητών 311340 και 311332 (Sigma-Aldrich)
- Αντιδραστήρια: Μεθυλοιωδίδιο, CH₃I (Sigma-Aldrich), 1,3 κυκλοπροπανοσουλτόνη (Sigma-Aldrich)
- DNA: Σπέρμα σολωμού σε νηματοειδή μορφή (Salmon testes DNA) (Sigma-Aldrich)
- Διαλύτες: Τετραϋδροφουράνιο (Tetrahydrofuran, THF), Κανονικό εξάνιο (n-Hexane), 1,4-Διοξάνιο (1,4 Dioxane), Βενζόλιο (Benzene), N,N Διμεθυλοφορμαμίδιο (N-N Dimethylformamide, DMF), Δευτεριωμένο χλωροφόρμιο (Deuterated chloroform, CDCl₃) (Sigma-Aldrich)

3.2 Οργανολογία και Τεχνικές Χαρακτηρισμού

ο Χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών

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

ο Φασματοσκοπία ¹H-NMR

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

ο Δυναμική και Στατική Σκέδαση Φωτός

Οι μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το όργανο *ALV/CGS-3 Compact Goniometer System* (*ALV GmbH, Germany*), εξοπλισμένο με λέιζερ *JDS Uniphase 22mW He-Ne*, που

λειτουργεί στα 632,8 nm, συνδεδεμένο με έναν ψηφιακό συσχετιστή φωτονίων 288 καναλιών ALV-5000/EPP multi-tau (πολλαπλών χρόνων) και μία ηλεκτρονική μονάδα σκέδασης φωτός ALV/LSE-5003 για έλεγχο της σταδιακής κίνησης του γωνιομέτρου και έλεγχο του διακόπτη ακραίας θέσης. Η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας και οι συναρτήσεις αυτοσυσχέτισης μετρήθηκαν στις 90°. Οι συναρτήσεις αυτοσυσχέτισης καταγράφηκαν πέντε φορές και αναλύθηκαν με τη μέθοδο αθροισμάτων και τον αλγόριθμο CONTIN, ο οποίος παρέχει τις κατανομές για την φαινόμενη υδροδυναμική ακτίνα με χρήση αντίστροφου μετασχηματισμού Laplace της συνάρτησης αυτοσυσχέτισης με τη βοήθεια της σχέσης Stokes – Einstein.

Οι μετρήσεις στατικής σκέδασης φωτός πραγματοποιήθηκαν με το ίδιο όργανο σε γωνιακό εύρος 30° - 150°, λαμβάνοντας μέτρηση ανά 10 μοίρες. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων για τον υπολογισμό του φαινομένου μοριακού βάρους και της γυροσκοπικής ακτίνας έγιναν με τη χρήση της προσέγγισης *Guinier* 2^{ης} τάξης στις περισσότερες περιπτώσεις.

Έγιναν μετρήσεις σε διαφορετικές συγκεντρώσεις πολυμερούς οι οποίες προέκυψαν με αραιώση ενός αρχικού διαλύματος υψηλότερης συγκέντρωσης. Πριν τη μέτρηση όλα τα διαλύματα διηθήθηκαν με υδρόφιλο φίλτρο πορώδους 0,45μm και η σκόνη στις κυψελίδες μέτρησης απομακρύνθηκε με τη χρήση ταχείας ροής αζώτου.

- Φασματοσκοπία FT-IR

Οι μετρήσεις στην περιοχή του εγγύς υπέρυθρου (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*)

- Φασματοσκοπία Φθορισμού- Προσδιορισμός CMC

Για τον προσδιορισμό της κρίσιμης μικκυλιακής συγκέντρωσης χρησιμοποιήθηκε 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 μικυλλιακών διαλυμάτων σε εύρος συγκεντρώσεων από 10^{-3} - 10^{-8} mg /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.

- Ηλεκτροφορητική Σκέδαση Φωτός- ζ-δυναμικό

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

- Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης (TEM)

Οι μικρογραφίες TEM ελήφθησαν με την χρήση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης JEM-2100 της εταιρίας JEOL, χρησιμοποιώντας δυναμικό επιτάχυνσης 200 kV. Η προετοιμασία των δειγμάτων έγινε απλώνοντας μια σταγόνα αραιού υδατικού αιωρήματος σε grids χαλκού επικαλυμμένα με άνθρακα Formvar.

3.3 Σύνθεση Πολυμερών μέσω Τεχνικής Πολυμερισμού RAFT

Στη παρούσα εργασία συντέθηκαν αμφίφιλα δισυσταδικά συμπολυμερή αποτελούμενα από τη πρώτη συστάδα του πολυμεθακρυλικού εστέρα της διμεθυλοαμινοαιθανόλης (PDMAEMA) και τη δεύτερη συστάδα του πολυμεθακρυλικού εστέρα της δωδεκανόλης (PLMA). Για τη σύνθεση των δισυσταδικών συμπολυμερών, αρχικά συντέθηκε η πρώτη συστάδα του ομοπολυμερούς PDMAEMA μέσω του μηχανισμού σύνθεσης RAFT.

3.3.1 Σύνθεση Ομοπολυμερούς Μεθακρυλικού Εστέρα της Διμεθυλοαμινοαιθανόλης (PDMAEMA)

Η σύνθεση του ομοπολυμερούς PDMAEMA έγινε όπως περιγράφεται ακολούθως. Συντέθηκαν ομοπολυμερή διαφορετικών μοριακών βαρών. Η διαδικασία σύνθεσης που ακολουθήθηκε είναι ίδια για όλα τα ομοπολυμερή, διαφέρει μόνο στις απαιτούμενες ποσότητες.

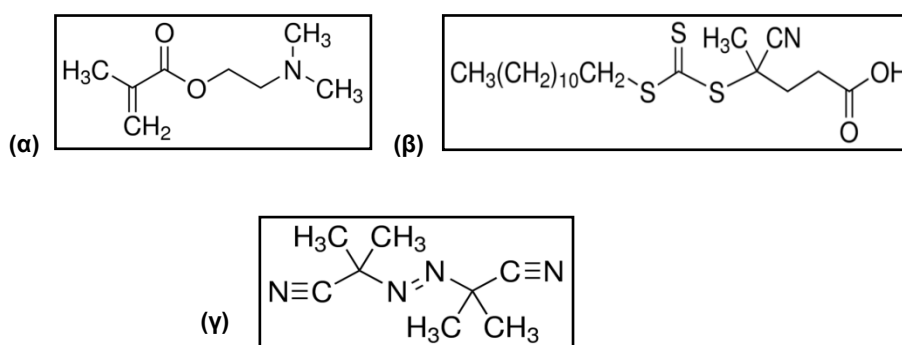
Ενδεικτικά για την σύνθεση του ομοπολυμερούς PDMAEMA-3 χρησιμοποιήθηκαν ένα αντιδραστήριο μεταφοράς αλυσίδας, το μονομερές DMAEMA (Σχήμα 3.1α), ο απαρχητής και ο κατάλληλος διαλύτης. Ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο σύνθεσης το οποίο περιλαμβάνει τον αρχικό καθαρισμό του μονομερούς από τον σταθεροποιητή που περιείχε (μονομεθυλαιθέρας της υδροκινόνης). Με τη χρήση της κατάλληλης ρητίνης, ποσότητα μονομερούς περνιέται μέσα από στήλη πληρωμένη με ποσότητα ρητίνης και έτσι απομακρύνεται ο παρεμποδιστής.

Σε μια σφαιρική φιάλη των 25ml προστίθενται 3g (19,1 mmol) μονομερούς DMAEMA απαλλαγμένο από παρεμποδιστές, 0,24g (0,6mmol) 4-Cyano-4-[(dodecyl sulfanylthio carbonyl)sulfanyl]pentanoic acid (CDP) (ως αντιδραστήριο μεταφοράς αλυσίδας) (Σχήμα 3.1β), 0,0098g (0,6mmol) αζωδιισοβουτυρονιτρίλιο (AIBN) (ως απαρχητής) (Σχήμα 3.1γ) και 7ml 1,4 διοξάνιο. Το διάλυμα είχε τελικό όγκο 10ml.

Στη συνέχεια πραγματοποιείται απαέρωση του διαλύματος υπό συνεχή ροή αζώτου για χρονικό διάστημα δεκαπέντε λεπτών. Μετά την απαέρωση, η σφαιρική φιάλη εμβαπτίζεται σε ελαιόλουτρο στη θερμοκρασία των 65°C για 18 ώρες ώστε να πραγματοποιηθεί η έναρξη του πολυμερισμού του

μονομερούς. Μετά το πέρας των 18 ωρών, η φιάλη με το προϊόν της αντίδρασης τοποθετείται για 15 λεπτά σε χαμηλή θερμοκρασία -8°C με σκοπό τον τερματισμό των ελεύθερων ριζών που δεν έχουν αντιδράσει και επαναφέρεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Για την ανάκτηση του πολυμερούς, μετά την ολοκλήρωση του πολυμερισμού, το διάλυμα πολυμερισμού αναμίχθηκε με δεκαπλάσια ποσότητα εξανίου και το πολυμερές καταβυθίζεται σε στερεή μορφή. Το υπερκείμενο αποχύνεται και το ίζημα επαναδιασπείρεται σε μικρή ποσότητα τετραϋδροφουρανίου. Πραγματοποιείται και δεύτερη καταβύθιση του σε δεκαπλάσια περίσσεια εξανίου, απόχυση του υπερκείμενου, συλλογή του ιζήματος και τοποθέτηση του στον φούρνο κενού για 48 ώρες για ξήρανση.



Σχήμα 3.1: Χημική δομή (α) του μονομερούς DMAEMA, (β) του CTA CDP, (γ) του AIBN.

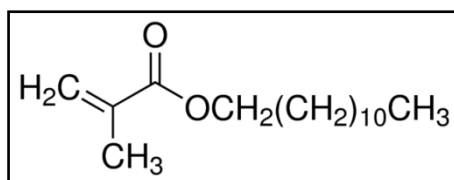
3.3.2 Σύνθεση Συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA

Το ομοπολυμερές PDMAEMA χρησιμοποιήθηκε ως μακρο-CTA για την έναρξη του πολυμερισμού της δεύτερης συστάδας του συμπολυμερούς. Με χρήση της τεχνικής πολυμερισμού RAFT συντέθηκαν πέντε συμπολυμερή πολυμεθακρυλικού εστέρα της διμεθυλοαμινοαιθανόλης (PDMAEMA) –b– πολυμεθακρυλικού εστέρα της δωδεκανόλης (PLMA), με διαφορετική αναλογία ως προς τις δυο συστάδες του αμφίφιλου συμπολυμερούς.

Η πειραματική διαδικασία για τη σύνθεση των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA περιλαμβάνει αρχικά τον καθαρισμό του μονομερούς (LMA) (Σχήμα 3.2) από παρεμποδιστές του (μονομεθυλαιθέρα της υδροκινόνης) με τη χρήση κατάλληλων ρητινών απομάκρυνσης του. Ο καθαρισμός του μονομερούς πραγματοποιείται με τη χρήση στήλης, όπως χρησιμοποιήθηκε και για τον καθαρισμό του ομοπολυμερούς PDMAEMA.

Σε μια σφαιρική φιάλη προστίθενται κατάλληλες ποσότητες από PDMAEMA ως αντιδραστήριο μεταφοράς αλυσίδας (macro-CTA), αζωδισοβουτυρονιτρίλιο (AIBN) ως απαρχητή, μονομερές LMA απαλλαγμένο από παρεμποδιστές και βενζόλιο ως διαλύτη για το πολυμερισμό. Η αναλογία CTA / απαρχητή (σε mol) που χρησιμοποιήθηκε για τη σύνθεση των συμπολυμερών είναι PDMAEMA / AIBN = 2.

Ακολούθησε η απαέρωση του διαλύματος με τη χρήση αερίου αζώτου για 15 λεπτά και στο τέλος τη διαδικασίας αυτής η σφαιρική φιάλη εμβαπτίζεται σε ελαιόλουτρο στη θερμοκρασία των 65°C για 15 ώρες. Μετά το πέρας των 15 ωρών το διάλυμα ψύχεται στους -8°C για τον τερματισμό των ελευθέρων ριζών που δεν έχουν αντιδράσει, επαναφέρεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και τέλος πραγματοποιείται καταβύθιση του προϊόντος της αντίδρασης σε δεκαπλάσια περίσσεια διαλύτη σε σχέση με τον όγκο του διαλύματος. Το προϊόν καταβυθίστηκε σε μεθανόλη, ωστόσο παρατηρήθηκε ότι όσο αυξανόταν το ποσοστό είτε της υδρόφιλης είτε της υδρόφοβης συστάδας το πολυμερές δεν καταβυθιζόταν, συνεπώς έγινε εξάτμιση του διαλύτη του μίγματος με τη χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα (*Rotary Evaporator*). Τέλος, το πολυμερές συλλέχθηκε και τοποθετήθηκε στο φούρνο κενού για 48 ώρες.



Σχήμα 3.2: Χημική δομή μονομερούς LMA.

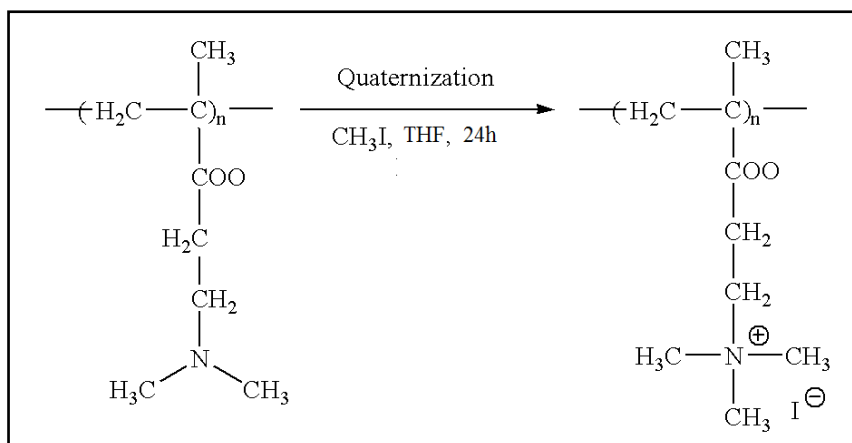
3.4 Σύνθεση Χημικά Τροποποιημένων Συμπολυμερών

Στα συμπολυμερή που συντέθηκαν πραγματοποιήθηκε μετατροπή της τριτοταγούς αμίνης της πρώτης συστάδας του PDMAEMA σε τεταρτοταγή με τη χρήση διαφόρων αντιδραστηρίων. Σκοπός είναι η δημιουργία πολυηλεκτρολυτών όπου με τη φορτισμένη θετικά αμινομάδα τροποποιούνται και οι ιδιότητες των συμπολυμερών.

3.4.1 Σύνθεση Συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA

Στα συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA το μέρος της συστάδας PDMAEMA (ασθενής κατιονικός πολυηλεκτρολύτης) το οποίο περιέχει μια τριτοταγή αμινομάδα μετατράπηκε σε τεταρτοταγές άλας αμμωνίου (ισχυρός κατιονικός πολυηλεκτρολύτης) (*Quaternization*) με τη χρήση του αντιδραστηρίου CH₃I.

Η αντίδραση που έλαβε χώρα για τη τεταρτοταγοποίηση της αμινομάδας του PDMAEMA όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.3 πραγματοποιήθηκε σε μια σφαιρική φιάλη όπου περιέχει αραιό διάλυμα (2% w/v) του πολυμερούς σε τετραϋδροφουράνιο (THF) και υπό μέτρια ανάδευση προστέθηκε σε περίσσεια το CH₃I (moles αμίνης/ moles CH₃I = 1/2). Η αντίδραση διήρκεσε 24 ώρες υπό συνεχή ανάδευση και σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μετά το πέρας των 24 ωρών ο διαλύτης απομακρύνθηκε με τη χρήση περιστροφικού εξατμιστήρα συλλέχθηκε σε ξηρή σχεδόν μορφή και τοποθετήθηκε στο φούρνο κενού για ξήρανση.



Σχήμα 3.3: Τεταρτοταγοποίηση (Quaternization) τριτοταγούς αμίνης PDMAEMA με CH₃I.

3.4.2 Σύνθεση Συμπολυμερών SPDMAEMA-b-PLMA

Η ακραία τριτοταγής αμινομάδα του PDMAEMA αντέδρασε με περίσσεια 1-3 κυκλοπροπανοσουλτόνης (moles αμίνης/ moles σουλτόνης = 1/1,5) με σκοπό τη μετατροπή της σε διπολική ομάδα τύπου σουλφοβεταΐνης, όπως φαίνεται στο παρακάτω Σχήμα 3.4. Σε αραιό διάλυμα (2% w/v) ξηρού πολυμερούς προστέθηκε THF και το διάλυμα τοποθετήθηκε σε σφαιρική φιάλη. Υπό ανάδευση προστέθηκε κατάλληλη ποσότητα προπανοσουλτόνης και η αντίδραση αφέθηκε προς ολοκλήρωση για 24 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Όταν ολοκληρώθηκε η αντίδραση, ο διαλύτης εξατμίστηκε μέσω του περιστροφικού εξατμιστήρα, το προϊόν συλλέχθηκε σε σχεδόν ξηρή μορφή και τέλος τοποθετήθηκε στο φούρνο κενού για πλήρη ξήρανση.



Σχήμα 3.4: Αντίδραση μετατροπής πλευρικής αμίνης της συστάδας PDMAEMA σε ομάδα σουλφοβεταΐνης.[70]

3.5 Μέθοδοι παρασκευής και αυτοοργάνωση μικκυλιακών δομών

Ένας από τους σκοπούς της σύνθεσης των συγκεκριμένων συμπολυμερών κατά συστάδες είναι η δημιουργία μικκυλίων μέσω της ικανότητας αυτοοργάνωσης τους σε υδατικά διαλύματα και η μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων τους. Χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά πρωτόκολλα ανάλογα με τις ιδιότητες του κάθε συμπολυμερούς. Στα παρακάτω υποκεφάλαια παρατίθενται τα πρωτόκολλα που εφαρμόστηκαν για τα συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA και των παραγώγων τους.

3.5.1 Αυτοοργάνωση των PDMAEMA-b-PLMA σε μικκύλια

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την αυτοοργάνωση των αμφίφιλων συμπολυμερών σε μικκύλια περιλαμβάνει τα παρακάτω: τη διαλυτοποίηση του στερεού πολυμερούς σε έναν κοινό και για τις δυο συστάδες διαλύτη, όπως THF. Για την υποβοήθηση της διαλυτοποίησης το διάλυμα υπόκειται σε κατεργασία εντός λουτρού υπερήχων, αναδεύεται και στη συνέχεια προστίθεται στάγδην ο εκλεκτικός διαλύτης H₂O. Το διάλυμα έρχεται σε ισορροπία και στη συνέχεια θερμαίνοντας το ο κοινός διαλύτης εξατμίζεται, εφόσον αυτός είναι πτητικός και ο εκλεκτικός διαλύτης έχει πολύ μεγαλύτερο σημείο ζέσεως. Με την θέρμανση και την εξάτμιση του διαλύτη παρατηρήθηκε θολότητα στο διάλυμα που καταδεικνύει τη δημιουργία μικκυλίων.

Ωστόσο, σε συμπολυμερή με υψηλότερο ποσοστό της υδρόφοβης συστάδας PLMA το πρωτόκολλο αυτό δεν οδήγησε στο σχηματισμό μικκυλίων. Συνεπώς, σε αυτή τη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε διαφορετικό πρωτόκολλο, αυτό της ενυδάτωσης λεπτού υμένιου (*Thin Film Hydration Method*). Ποσότητα ξηρού πολυμερούς διαλύεται σε οργανικό διαλύτη THF και 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 επιφάνειας της. Έπειτα, προστίθεται H₂O και με ήπια ανάδευση προκύπτει η δημιουργία αυτό-οργανούμενων δομών στο υδατικό διάλυμα.

3.5.2 Αυτοοργάνωση των QPDMAEMA-b-PLMA σε μικκύλια

Τα συμπολυμερή με τροποποιημένη την αμινομάδα της πρώτης συστάδας από τριτοταγή σε τεταρτοταγή άλατα αμμωνίου αυτοοργανώνονται σε μικκύλια με την απευθείας διάλυση στερεού πολυμερούς σε υδατικό μέσο NaCl 0,01M. Με τη μέθοδο αυτή δημιουργήθηκαν μικκυλιακές δομές στα συμπολυμερή με υψηλότερο ποσοστό της υδρόφιλης συστάδας του PDMAEMA που είναι διαλυτό σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,01M.

Στα συμπολυμερή με μεγαλύτερο ποσοστό υδρόφοβης ομάδας το πρωτόκολλο αυτό δεν λειτούργησε. Συνεπώς, ακολουθήθηκε μια διαφορετική μέθοδος παρασκευής μικκυλίων, αυτή της σταδιακής αντικατάστασης του καλού διαλύτη με τον εκλεκτικό χρησιμοποιώντας μεμβράνες διαπίδυσης (*Dialysis Method*). Κατά τη μέθοδο αυτή το στερεό πολυμερές διαλύεται σε έναν καλό διαλύτη και για τις δυο συστάδες, συγκεκριμένα σε N,N διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF) και προστίθεται στάγδην και υπό ανάδευση ο εκλεκτικός διαλύτης NaCl 0,01M. Για την υποβοήθηση της διαλυτοποίησης χρησιμοποιήθηκε λουτρό υπερήχων για 1 λεπτό. Έπειτα, το διάλυμα του συμπολυμερούς στο μίγμα των διαλυτών εγκλωβίζεται εντός μιας μεμβράνης διαπίδυσης και τοποθετείται σε ένα λουτρό που περιέχει μεγάλη περίσσεια του εκλεκτικού διαλύτη. Σταδιακά ο εκλεκτικός διαλύτης NaCl 0,01M εισέρχεται διά μέσου της μεμβράνης και αντικαθιστά το DMF. Ανά διαστήματα 3 ωρών το λουτρό ανανεώνεται με νέες ποσότητες καθαρού εκλεκτικού διαλύτη, ώστε πάντα να είναι σε μεγάλη περίσσεια σε σχέση με τον καλό διαλύτη εντός της μεμβράνης, με σκοπό την ταχεία και ποσοτική ανταλλαγή των διαλυτών. Η διαδικασία διήρκησε 3 ημέρες. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιήθηκε για όλες τις αναλογίες συμπολυμερών που συντέθηκαν. Παρατηρήθηκε ότι με τη μέθοδο αυτή προέκυψαν υπερμοριακές δομές μικρότερου μεγέθους καθώς και πιο σταθερές χρονικά μικκυλιακές δομές.

3.5.3 Αυτοοργάνωση των SPDMAEMA-b-PLMA σε μικκύλια

Για τη παρασκευή μικκυλίων από τα συμπολυμερή με τροποποιημένη την τριτοταγή αμινομάδα του PDMAEMA σε διπολική ομάδα σουλφοβεταΐνης ακολουθήθηκαν τα πρωτόκολλα που αναφέρθηκαν παραπάνω. Χρησιμοποιήθηκε ένας καλός κοινός διαλύτης THF για τη διάλυση του στερεού πολυμερούς, όμως το πολυμερές δεν ήταν διαλυτό. Το μίγμα στερεού και διαλύτη αφέθηκε για 24 ώρες σε ηρεμία. Για την υποβοήθηση της διαλυτότητας το δείγμα υπέστη επεξεργασία σε λουτρό υπερήχων για 2 λεπτά και έπειτα θερμάνθηκε στους 60°C για μια ώρα. Στη συνέχεια προστίθεται στο αδιάλυτο δείγμα στάγδην και υπό ήπια ανάδευση διάλυμα NaCl 0,15M και το δείγμα οδηγείται εκ νέου στο λουτρό υπερήχων για 1 λεπτό. Παρατηρείται η διαλυτοποίηση του δείγματος και έπειτα με τη θέρμανση του στους 100°C υπό ανάδευση εξατμίζεται το THF και δημιουργούνται μικκυλιακές δομές. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή δεν λειτούργησε για όλες τις αναλογίες των συμπολυμερών. Δοκιμάστηκαν διαφορετικές μέθοδοι που δημιουργήθηκαν μικκύλια, αλλά με τη πάροδο του χρόνου δεν υπήρχε σταθερότητα των δομών αυτών με αποτέλεσμα το πολυμερές να καταβυθίζεται.

3.6 Μελέτη της επίδρασης φυσικοχημικών παραμέτρων στα διαλύματα των συμπολυμερών

Τα υδατικά διαλύματα των συμπολυμερών μετά την αυτοοργάνωση τους σε μικκυλιακές δομές μελετήθηκαν ως προς την εξάρτησή τους από μια σειρά φυσικοχημικών παραμέτρων του διαλύματος. Τα συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA και τα παράγωγά τους (QPDMAEMA-b-PLMA και SPDMAEMA-b-PLMA) αναμένεται, λόγω της χημικής δομής τους και την υπάρχουσα βιβλιογραφία σε ανάλογα συστήματα συμπολυμερών, να είναι αποκρίσιμα σε μεταβολές του pH, της θερμοκρασίας και της ιοντικής ισχύος. Στα επόμενα υποκεφάλαια αναλύονται οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν για τη μελέτη της επίδρασης των παραμέτρων αυτών ως προς την αυτοοργάνωση των μικκυλίων.

3.6.1 Μεταβολή του pH των διαλυμάτων των συμπολυμερών

Η επίδραση του pH εξετάστηκε μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις 90° και σε συγκέντρωση διαλύματος της τάξης των 10⁻⁴ g/ml. Παρασκευάστηκαν διαλύματα με όξινο και βασικό pH. Τα διαλύματα παρασκευάστηκαν με αρχική τιμή pH=7. Με τη χρήση πρότυπου υδατικού διαλύματος HCl 1M το pH προσαρμόστηκε από pH=7 σε pH=3. Ομοίως, προστέθηκε υδατικό διάλυμα NaOH 0,1M για να ρυθμιστεί το pH από τη τιμή 7 στη τιμή 10.

3.6.2 Μελέτη της θερμοκρασίας

Οι μετρήσεις για την επίδραση της μεταβολής της θερμοκρασίας στις ιδιότητες των συμπολυμερών υλοποιήθηκαν μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός με γωνία μέτρησης τις 90°, συγκέντρωση διαλύματος της τάξης των 10⁻⁴ g/ml και σε pH=7. Η θερμοκρασία αυξανόταν σταδιακά από τους 25°C έως τους 55°C ανά 10°C. Μετά τη μέγιστη θερμοκρασία, η θερμοκρασία επαναφερόταν στους 25°C για να μελετηθεί η αντιστρεπτικότητα τους συστήματος.

3.6.3 Μελέτη της ιοντικής ισχύος

Η επίδραση της ιοντικής ισχύος των συστημάτων των συμπολυμερών και των παραγώγων τους μελετήθηκε με σταδιακή προσθήκη διαφορετικών ποσοτήτων υδατικού διαλύματος NaCl 1M έτσι ώστε να επιτευχθούν 9 διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος στο μίγμα:

C _{NaCl} : 0.01M, 0.02M, 0.03M, 0.047M, 0.09M, 0.2M, 0.33M, 0.43M και 0.5M

Η κάθε προσθήκη πραγματοποιούνταν στο ίδιο διάλυμα ανά 15 λεπτά. Μετά από 15 λεπτά από τη προσθήκη, το διάλυμα μετρήθηκε μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός στις 90°, σε αρχική συγκέντρωση διαλύματος της τάξης των 10⁻⁴ g/ml και pH=7.

3.7 Σύμπλεξη των QPDMAEMA-b-PLMA μικκυλίων με DNA

Με σκοπό τη διερεύνηση χρήσης τους ως φορείς γονιδιακής θεραπείας πραγματοποιήθηκαν μελέτες σύμπλεξης των συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA με DNA. Συγκεκριμένα, παρασκευάστηκε διάλυμα πολυμερούς συγκέντρωσης 2x10⁻⁴ g/mL σε διαλύτη NaCl 0,01M και αρχικό διάλυμα DNA στον ίδιο διαλύτη. Η συγκέντρωση του πολυμερούς διατηρήθηκε σταθερή για

όλα τα δείγματα των διαφόρων αναλογιών. Η συγκέντρωση του DNA μεταβάλλεται ανάλογα με την σύσταση του συμπολυμερούς και το ποσοστό του σε QPDMAEMA. Βάση του ποσοστού (% κ.β) του πολυμερούς υπολογίζεται η συγκέντρωση του διαλύματος DNA που θα παρασκευαστεί καθώς και τα moles του πολυμερούς και του DNA. Μέσω των moles υπολογίζεται ο λόγος N/P ο οποίος ορίζεται ως ο λόγος των θετικά φορτισμένων μονάδων για τις αλυσίδες του QPDMAEMA που είναι διαθέσιμες για ηλεκτροστατική σύζευξη με τα αρνητικά φορτισμένα νουκλεοτίδια (φωσφορικές ομάδες) του μορίου του DNA.

Παρασκευάστηκαν διαλύματα πολυμερούς και DNA επτά διαφορετικών N/P αναλογιών. Η ανάμιξη πραγματοποιήθηκε προσθέτοντας σε κάθε διάλυμα πολυμερούς με όγκο 2ml διαφορετικές ποσότητες DNA και το κάθε διάλυμα πολυμερούς – DNA αραιώθηκε με διαλύτη NaCl 0,01M. Όλα τα διαλύματα είχαν τελικό όγκο 10ml. Τα διαλύματα αφέθηκαν σε ηρεμία για 24 ώρες σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ώστε η συναρμογή του DNA με την ομάδα της αμίνης του QPDMAEMA να είναι σε ισορροπία.

3.7.1 Μελέτη επίδρασης ιοντικής ισχύος στα σύμπλοκα QPDMAEMA-b-PLMA/DNA

Η επίδραση της ιοντικής ισχύος στα σύμπλοκα QPDMAEMA-b-PLMA/DNA με τη προσθήκη NaCl 1M σε διαφορετικές 6 διαφορετικές συγκεντρώσεις άλατος στο κάθε δείγμα. Με αρχική συγκέντρωση άλατος των συμπλόκων 0,01M NaCl πραγματοποιήθηκαν οι εξής προσθήκες:

C_{NaCl} : 0.01M (αρχική), 0.05M, 0.1M, 0.15M, 0.2M, 0.3M, 0.5M
--

Για τις μετρήσεις επίδρασης της ιοντικής ισχύος επιλέχθηκαν διαλύματα δυο διαφορετικών λόγων N/P για την κάθε σειρά συμπλόκων. Επιλέχθηκαν αυτά που εμφάνιζαν μεγαλύτερη σταθερότητα με το πέρασ του χρόνου. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός στις 90°, σε συγκέντρωση διαλύματος της τάξης των 10^{-4} g/mL και pH=7.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Στο παρόν κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα από την σύνθεση, τον μοριακό - φυσικοχημικό χαρακτηρισμό των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA καθώς των παραγώγων τους με τροποποιημένη τη πρώτη συστάδα PDMAEMA (QPDMAEMA-b-PLMA και SPDMAEMA-b-PLMA).

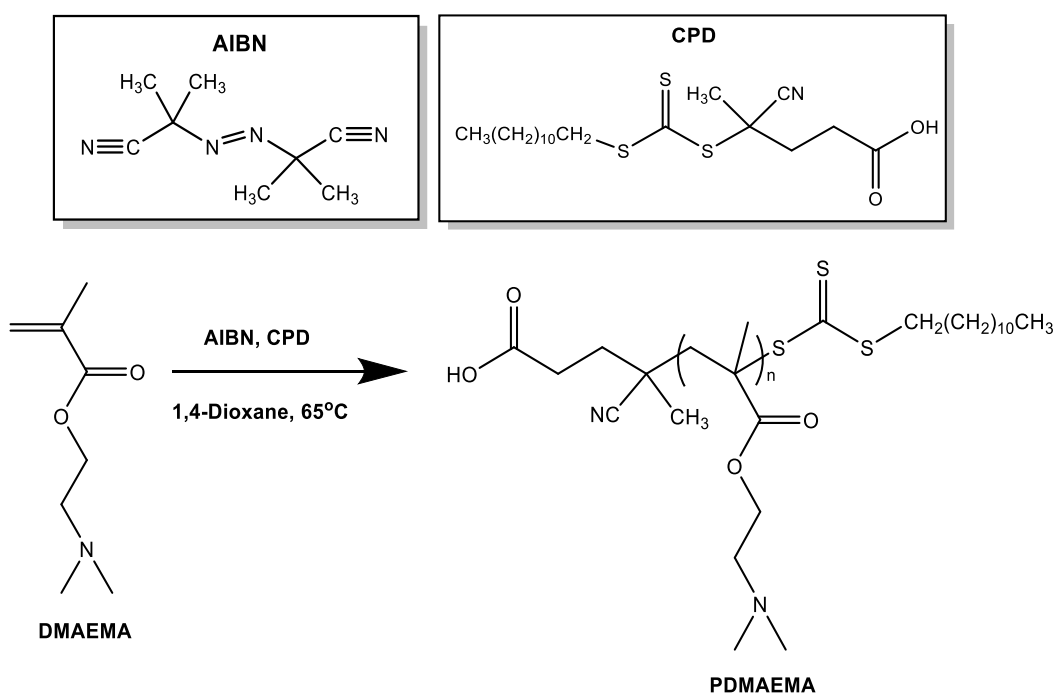
Μελετήθηκαν οι ιδιότητες των συμπολυμερών και η αυτο-οργάνωση τους σε μικκυλιακές δομές. Ακολουθως, προσδιορίστηκαν μια σειρά φυσικοχημικών παραμέτρων οι οποίες επηρεάζουν την ικανότητα αυτοοργάνωσης τους, προσδίδοντάς τους νέες ιδιότητες. Οι παράμετροι αφορούν την εξάρτηση των συστημάτων από τη μεταβολή του pH, της θερμοκρασίας και της ιοντικής ισχύος. Στη συνέχεια, σειρά έχει η εφαρμογή των συστημάτων που συντέθηκαν ως φορείς γονιδίων. Αναλύονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων σύμπλεξης των πολυμερών με DNA καθώς και η εξάρτηση των συμπλόκων αυτών από την ιοντική ισχύ.

Οι τεχνικές ενόργανης ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκαν για τον χαρακτηρισμό των συμπολυμερών αποτελούν αυτές της Χρωματογραφίας Αποκλεισμού Μεγεθών (SEC), Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (NMR), Φασματοσκοπία Υπερύθρου (FT-IR), Φασματοσκοπία Φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy), Στατική (SLS), Δυναμική (DLS) και Ηλεκτροφορητική (ζ-δυναμικό) Σκέδαση Φωτός (ELS) και τέλος Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης (TEM).

4.1 Δισυσταδικά Αμφίφιλα Συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA

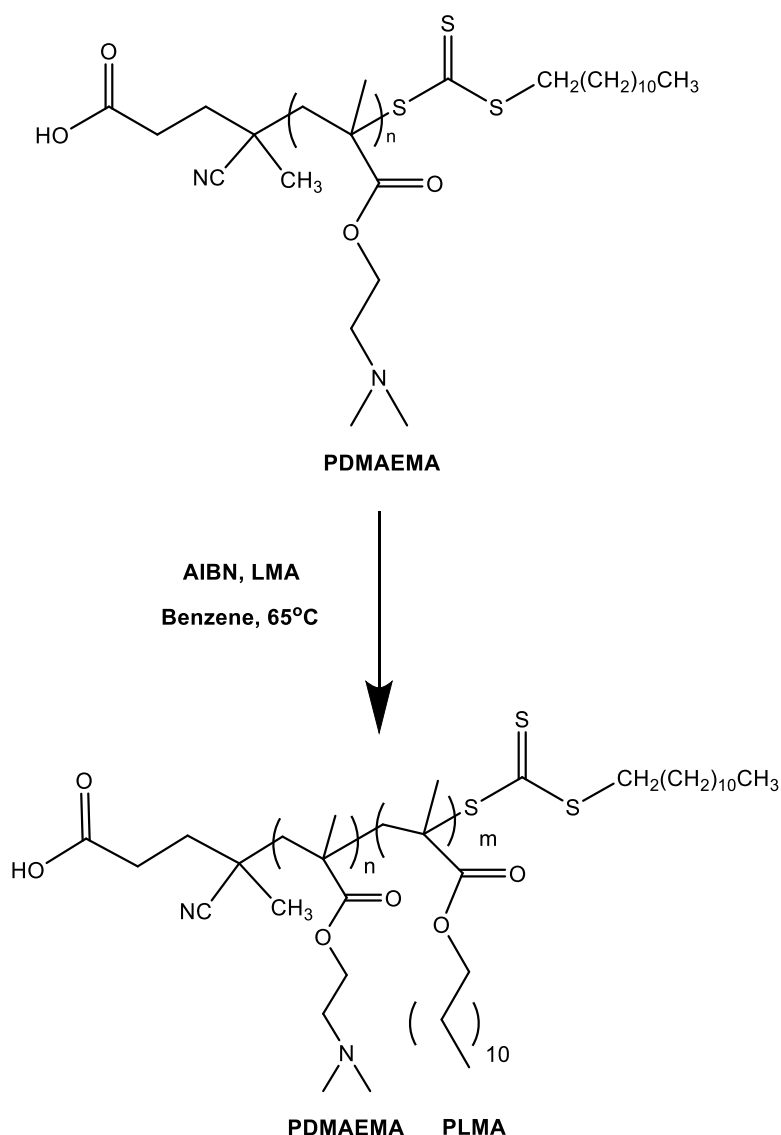
4.1.1 Σύνθεση συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA

Για τη σύνθεση των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA πραγματοποιήθηκε αρχικά η σύνθεση της πρώτης συστάδας του PDMAEMA. Η σύνθεση του ομοπολυμερούς έγινε με την τεχνική πολυμερισμού RAFT. Χρησιμοποιώντας το μονομερές του μεθακρυλικού εστέρα της διμεθυλοαμινοαιθανόλης (DMAEMA), ως CTA το 4-κυανο-4 - [(δωδέκυλο σουλφανυλοθειό καρβονύλο) σουλφάνυλο] πεντανοϊκό οξύ, το οποίο είναι αρκετά δραστικό για μεθακρυλικά μονομερή, και τον απαρχητή AIBN, συντέθηκαν ομοπολυμερή διαφορετικών μοριακών βαρών (Πίνακας 4.1). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε διαλύτη 1,4 διοξανίου, στους 65°C για 18 ώρες και περιγράφεται παρακάτω στο Σχήμα 4.1.



Σχήμα 4.1 Συνθετική πορεία παρασκευής του ομοπολυμερούς PDMAEMA.

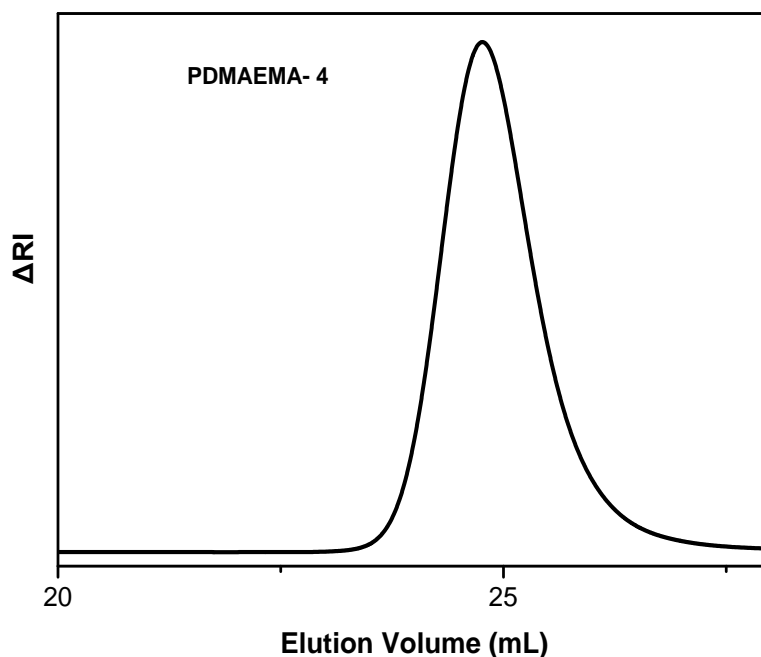
Η σύνθεση των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA πραγματοποιήθηκε επίσης με την τεχνική πολυμερισμού RAFT και με τη χρήση του ομοπολυμερούς PDMAEMA ως μακρο-CTA. Για τη σύνθεση χρησιμοποιήθηκε πάλι το AIBN ως απαρχητής και η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε διαλύτη βενζόλιο, στους 65°C για 18 ώρες, σύμφωνα με το Σχήμα 4.2. Συντέθηκαν πέντε δισυσταδικά συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA διαφορετικών συστάσεων και μοριακών βαρών. Τα μοριακά χαρακτηριστικά τους παρατίθενται παρακάτω στο Πίνακα 4.2. Τα διαλύματα πολυμερισμού ήταν ομογενή καθ'όλη τη διάρκεια των πολυμερισμών. Τα πολυμερή απομονώθηκαν σε στερεή μορφή, η υφή των οποίων εξαρτάται από τη σύστασή τους.



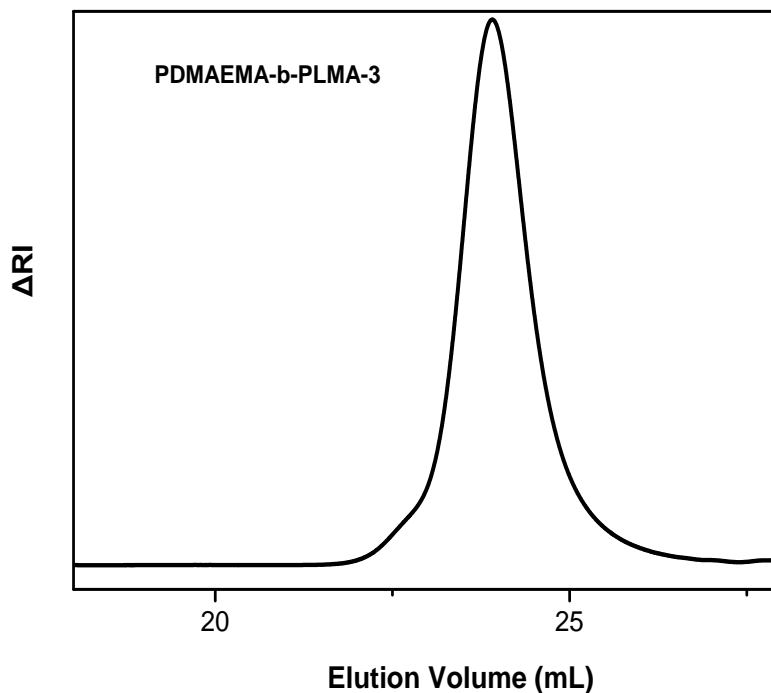
Σχήμα 4.2 Συνθετική πορεία παρασκευής των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA.

Τα μοριακά βάρη και οι κατανομές μοριακών βαρών των πολυμερών που συντέθηκαν προσδιορίστηκαν μέσω της χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγεθών (GPC/SEC). Από τα χρωματογραφήματα και την ανάλυσή τους διαπιστώθηκε ο επιτυχής πολυμερισμός με χρήση της τεχνικής RAFT για τη σύνθεση των συμπολυμερών. Επίσης, διαπιστώθηκε και ο επιτυχής έλεγχος του μοριακού βάρους των πολυμερών που συντέθηκαν και πάρθηκαν τα επιθυμητά αποτελέσματα όσον αφορά την καθαρότητα των τελικών συμπολυμερών και τις κατανομές μοριακών βαρών. Οι κατανομές μοριακών βαρών είναι μικρές και οι τιμές τους ικανοποιητικές εντός του εύρους που επιβάλλει το θεωρητικό υπόβαθρο και η πρακτική εφαρμογή της τεχνικής πολυμερισμού RAFT.

Στα παρακάτω Σχήματα 4.3 και 4.4 παρουσιάζονται ενδεικτικά χαρακτηριστικά χρωματογραφήματα του ομοπολυμερούς PDMAEMA-4 και του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-3 που συντέθηκε από το παράπανω ομοπολυμερές. Τα μοριακά βάρη των πολυμερών που συντέθηκαν καθώς και οι κατανομές μοριακών βαρών βρίσκονται στο Πίνακα 4.1 για τα ομοπολυμερή PDMAEMA και στο συγκεντρωτικό Πίνακα 4.2 για τα συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA.



Σχήμα 4.3: Χρωματογράφημα SEC ομοπολυμερούς PDMAEMA.

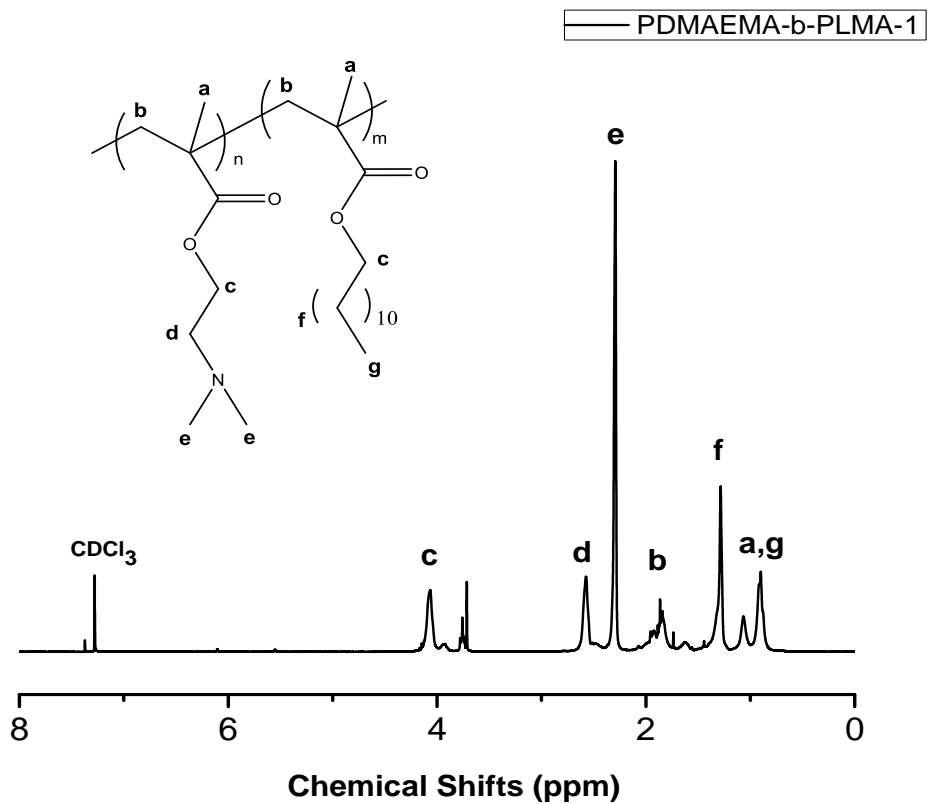


Σχήμα 4.4: Χρωματογράφημα SEC ομοπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-3.

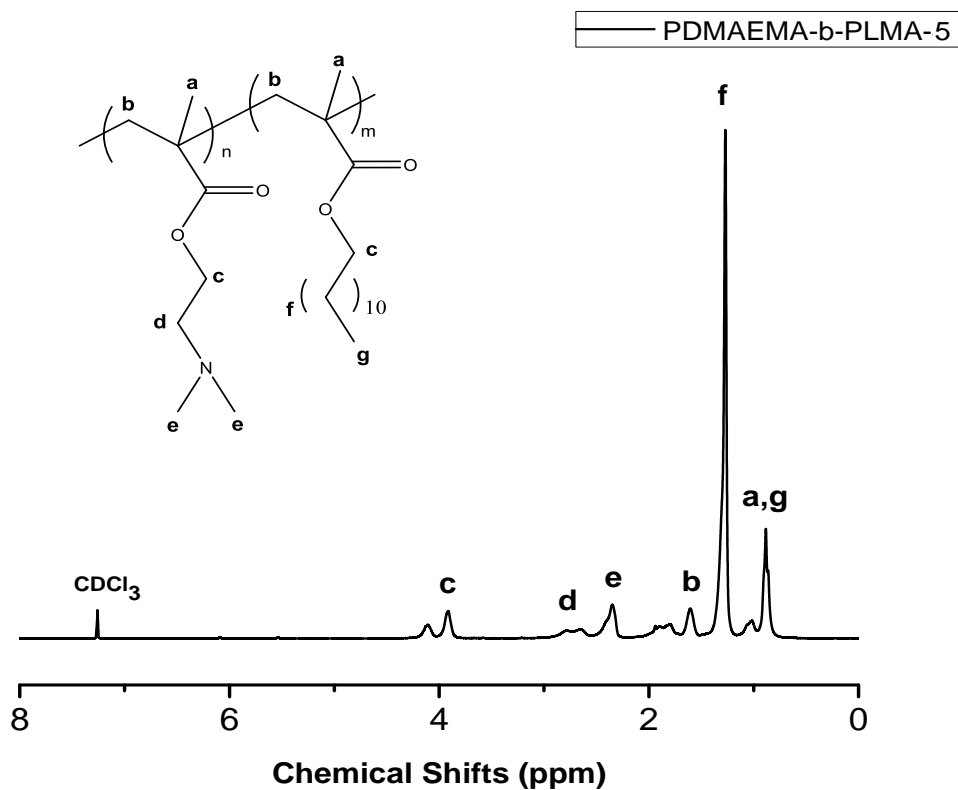
Πίνακας 4.1: Μοριακά χαρακτηριστικά ομοπολυμερών PDMAEMA μέσω SEC.

Δείγμα Ομοπολυμερούς	M_w ($\times 10^{-4}$) (g/mol)	M_w / M_n
PDMAEMA-1	1,31	1,22
PDMAEMA-2	1,28	1,25
PDMAEMA-3	0,50	1,14
PDMAEMA-4	0,49	1,15

Η ταυτοποίηση της χημικής δομής και ο προσδιορισμός της σύστασης των συμπολυμερών πραγματοποιήθηκαν με τη φασματοσκοπία 1H -NMR. Στα Σχήματα 4.5 και 4.6 παρουσιάζονται ενδεικτικά τα φάσματα και η αποτίμηση των κορυφών σε σχέση με τις δομικές μονάδες των συμπολυμερών.



Σχήμα 4.5: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-1 σε CDCl_3 .



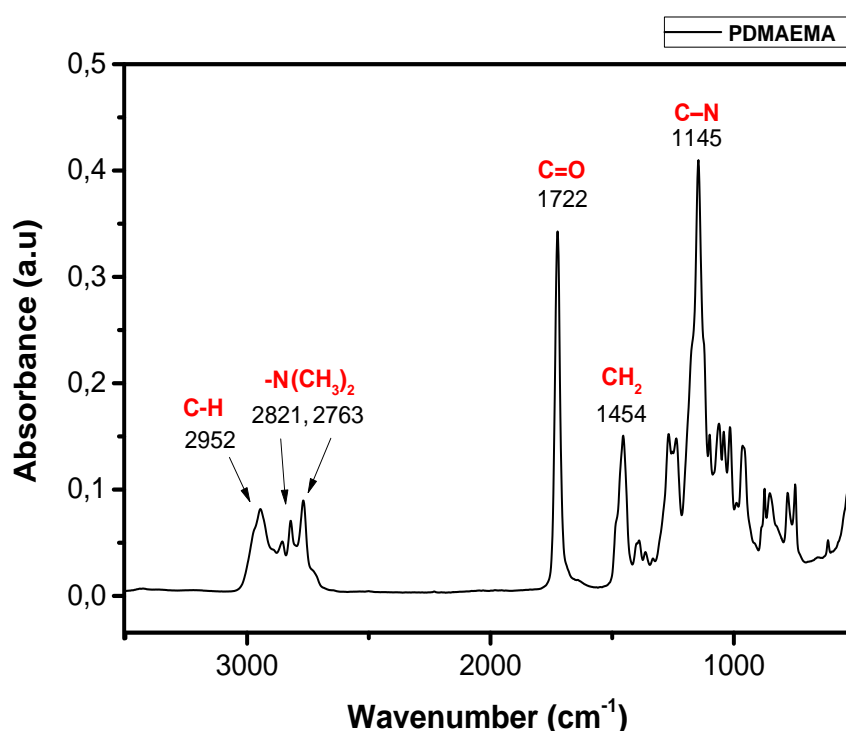
Σχήμα 4.6: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-5 σε CDCl_3 .

Μέσα από τα παραπάνω φάσματα παρατηρούνται διαφορές ως προς την ένταση και το πλάτος των κορυφών. Αυτό οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των μονομερικών μονάδων που αποτελούν τα διαφορετικά συμπολυμερή. Για τον υπολογισμό της σύστασης χρησιμοποιήθηκαν οι πιο χαρακτηριστικές κορυφές της κάθε συστάδας. Συγκεκριμένα για το PDMAEMA επιλέχθηκαν τα $-CH_3$ υδρογόνα των δυο μεθυλίων (e κορυφή σχήματος) που αντιστοιχούν στην αμινομάδα και εμφανίζονται στα 2,32ppm [71]. Για το PLMA επιλέχθηκε η κορυφή που εμφανίζεται στα 1,26ppm και αντιστοιχεί στα $-CH_2-$ υδρογόνα της πλευρικής ομάδας των 10 ανθράκων (f κορυφή σχήματος) [72]. Στη συνέχεια, έγινε διαίρεση του εμβαδού κάθε κορυφής με τον αριθμό των υδρογόνων που αντιστοιχούν σε αυτή και έπειτα πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό που προκύπτει με το μοριακό βάρος της αντίστοιχης μονομερικής μονάδας. Διαιρώντας το αποτέλεσμα που προέκυψε με το άθροισμα για τις δυο κορυφές προκύπτει η κατά βάρος (%) σύσταση της κάθε συστάδας. Οι πειραματικά προσδιορισμένες συστάσεις για τα πολυμερή που συντέθηκαν βρίσκονται καταγεγραμμένες στο Πίνακα 4.2. Οι τιμές συμφωνούν ικανοποιητικά με τις στοιχειομετρικά προσδιορισμένες.

Πίνακας 4.2: Μοριακά χαρακτηριστικά συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA.

Δείγμα Συμπολυμερούς	M_w ($\times 10^{-4}$) (g/mol)	M_w / M_n	M_w PDMAEMA ($\times 10^{-4}$) (g/mol)	Σύσταση %wt PLMA (1H NMR)
PDMAEMA-b-PLMA-1	1,8	1,16	1,31	23
PDMAEMA-b-PLMA-2	1,78	1,35	1,28	36
PDMAEMA-b-PLMA-3	0,89	1,16	0,49	41
PDMAEMA-b-PLMA-4	1,07	1,19	0,5	54
PDMAEMA-b-PLMA-5	1,55	1,29	0,5	73

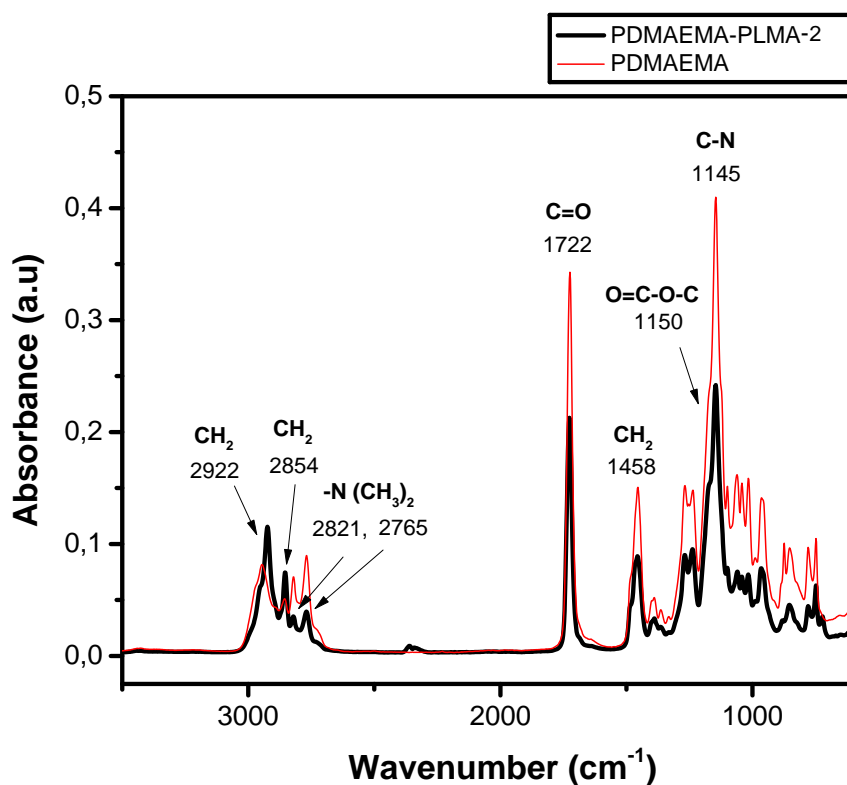
Για την ποιοτική χημική ταυτοποίηση των συμπολυμερών χρησιμοποιήθηκε επίσης φασματοσκοπία FT-IR. Στα παρακάτω Σχήματα παρουσιάζονται χαρακτηριστικά φάσματα με την αποτίμηση των κορυφών για τις χαρακτηριστικές ομάδες που αναμένεται να αποτελούν τμήματα των συμπολυμερών.



Σχήμα 4.7: Φάσμα FT-IR ομοπολυμερούς PDMAEMA.

Το Σχήμα 4.7 αντιστοιχεί στο φάσμα του ομοπολυμερούς PDMAEMA. Από την αποτίμηση των κορυφών, οι μπάντες απορρόφησης: στα 2952 cm⁻¹ αντιστοιχούν σε δονήσεις έκτασης δεσμών C-H των ομάδων -CH₂ (ασύμμετρη έκταση) [73], στους κυματαριθμούς 2821 cm⁻¹ και 2763 cm⁻¹ σε δονήσεις έκτασης δεσμών της ομάδας της τριτοταγούς αμίνης -N(CH₃)₂ [74,75] Η κορυφή που εμφανίζεται στα 1722 cm⁻¹ αντιστοιχεί σε δονήσεις έκτασης του καρβονυλίου της εστερικής ομάδας του PDMAEMA. Στα 1454 cm⁻¹ παρατηρείται μια ασύμμετρη κάμψη που αντιστοιχεί στους δεσμούς C-H των -CH₂. [73] Στα 1145 cm⁻¹ παρατηρείται μια δόνηση έκτασης δεσμών της ομάδας C-N. [76] Ωστόσο, στο ίδιο εύρος κυματαριθμών αποτιμάται μια δόνηση έκτασης δεσμών του O=C-O-C της εστερικής ομάδας. [77] Δεν είναι

ιδιαίτερα ευκρινές ποια κορυφή αντιστοιχεί σε αυτό το κυμαριθμό και οι βιβλιογραφικές αναφορές δεν συμφωνούν μεταξύ τους. Θεωρείται πως υπάρχει αλληλεπικάλυψη των κορυφών με τη δόνηση της ομάδας C-N να υπερτερεί.



Σχήμα 4.8: Συγκριτικό φάσμα FT-IR ομοπολυμερούς PDMAEMA και συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2.

Στο Σχήμα 4.8 παρατίθενται συγκριτικά τα φάσματα FT-IR του ομοπολυμερούς PDMAEMA και του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2. Οι διαφορές που εντοπίζονται στο συμπολυμερές σε σχέση με τις κορυφές του ομοπολυμερούς έγκεινται στη ύπαρξη δονήσεων που οφείλονται στη δεύτερη συστάδα PLMA. Στα 2922 cm^{-1} παρατηρείται δόνηση έκτασης των δεσμών C-H των ομάδων $-\text{CH}_2$ του PLMA (ασύμμετρη έκταση) ενώ αυτή στα 2854 cm^{-1} αντιστοιχεί στις ίδιες ομάδες αλλά σε συμμετρική έκταση του δεσμού. Η κορυφή στα 1722 cm^{-1} αντιστοιχεί στην εστερική ομάδα και των δύο μονομερικών μονάδων DMAEMA και LMA. Το ίδιο ισχύει και στη κορυφή στα 1458 cm^{-1} που αντιστοιχεί και στις δυο συστάδες. Στα 1145 cm^{-1} παρατηρείται μια δόνηση έκτασης δεσμών της ομάδας C-N, ωστόσο όπως

αναφέρθηκε προηγουμένως στο ίδιο εύρος κυματαριθμών αποτιμάται μια δόνηση έκτασης δεσμών του $O=C-O-C$. Θεωρείται ότι υπάρχει αλληλοεπικάλυψη των κορυφών με τη δόνηση της ομάδας C-N να υπερτερεί. Στα συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA το φαινόμενο αυτό είναι πιο ευκρινές. Τα καταγεγραμμένα φάσματα FT-IR συμφωνούν ποιοτικά με την αναμενόμενη χημική δομή των συμπολυμερών που παρασκευάστηκαν.

4.1.2 Μοριακός – Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός μικκυλίων συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA

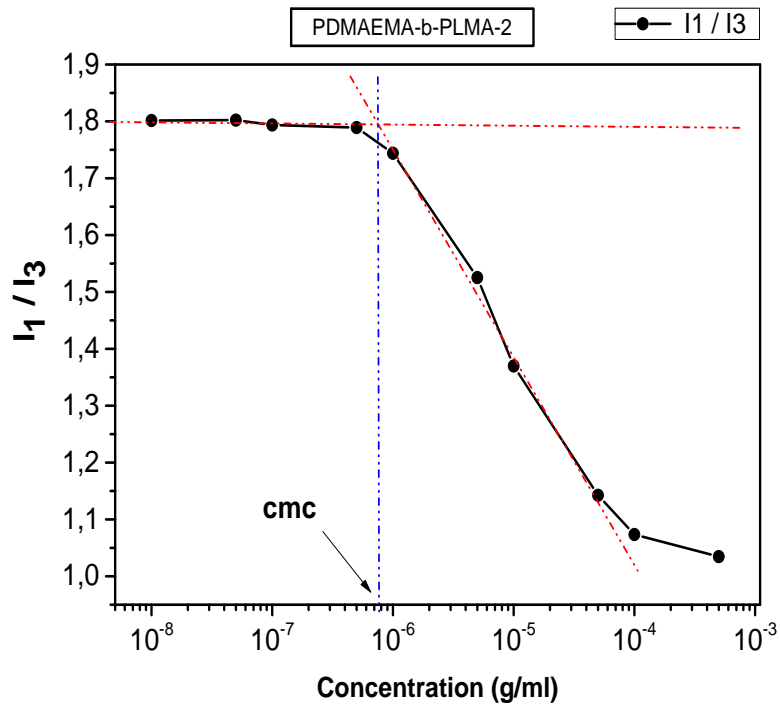
Η αυτοοργάνωση των αμφίφιλων συμπολυμερών σε υδατικά μέσα πραγματοποιήθηκε με δύο τρόπους. Αυτοί περιλαμβάνουν τη διαλυτοποίηση του στερεού πολυμερούς σε THF το οποίο είναι ένας καλό διαλύτης και για τις δυο συστάδες, έπειτα με τη σταδιακή προσθήκη του εκλεκτικού διαλύτη H_2O και την απομάκρυνση του THF και ο άλλος τη μέθοδο της ενυδάτωσης λεπτού υμενίου (*Thin Film Hydration Method*).

Για τα πολυμερή PDMAEMA-b-PLMA-1, 2 και 3 που αποτελούνται από μεγαλύτερο ποσοστό υδρόφιλης συστάδας PDMAEMA χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της διαλυτοποίησης των πολυμερών σε THF, έπειτα η προσθήκη H_2O και τέλος η εξάτμιση του THF. Μετά την απομάκρυνση του THF, τα διαλύματα θόλωσαν και ήταν μακροσκοπικά ορατή η δημιουργία μικκυλιακών δομών. Αντίθετα, για τα συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA-4 και 5 που περιέχουν μεγαλύτερο ποσοστό υδρόφοβης συστάδας PLMA, επειδή δεν ήταν επιτυχής η πρώτη μέθοδος ακολουθήθηκε αυτή της ενυδάτωσης λεπτού υμενίου. Επιπροσθέτως, το διάλυμα του πολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-5 δεν ήταν ιδιαίτερα σταθερό σε $pH=7$ στο οποίο παρασκευάστηκαν όλα τα διαλύματα πολυμερών. Μειώνοντας το pH στη τιμή 3 με την προσθήκη HCl 1M, σχηματίστηκαν μικκυλιακές δομές. Συνεπώς όλες οι μετρήσεις που αφορούν το συγκεκριμένο διάλυμα πολυμερούς έγιναν σε $pH=3$.

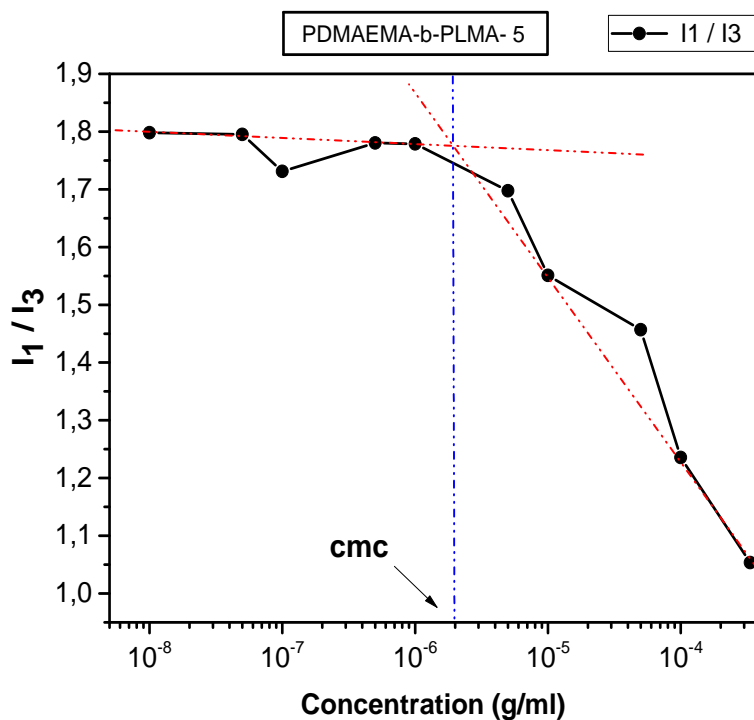
Τα υδατικά διαλύματα των PDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών κατά συστάδες μελετήθηκαν μέσω φασματοσκοπίας φθορισμού (FS) με σκοπό το προσδιορισμό της κρίσιμης μικκυλιακής συγκέντρωσης (CMC). Για τις μετρήσεις, εγκλωβίστηκε πυρένιο στο πυρήνα των μικκυλίων ως ιχνηθέτης.

Η CMC ορίζεται ως η συγκέντρωση που αντιστοιχεί στο σημείο που ο λόγος των σχετικών εντάσεων της πρώτης και τρίτης κορυφής που εμφανίζονται στο φάσμα του πυρενίου I_1/I_3 αρχίζει να μειώνεται. Ένα χαρακτηριστικό διάγραμμα του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2 φαίνεται στο *Σχήμα 4.9*. Παρατηρούνται εμφανώς το πλατώ σε χαμηλές συγκεντρώσεις όπου δεν εμφανίζονται μικκύλια, η περιοχή μετάβασης σε ενδιάμεσες συγκεντρώσεις, καθώς και το πλατώ σε υψηλές συγκεντρώσεις. Η CMC προσδιορίζεται από το πρώτο σημείο καμπής των νοητών ευθειών, όπως φαίνεται στο διάγραμμα του σχήματος.

Από το διάγραμμα του σχήματος 4.9, μπορεί εύκολα να προσδιοριστεί η τιμή της CMC, ωστόσο ορισμένα διαλύματα δειγμάτων εμφάνισαν πλατιά περιοχή προσδιορισμού της CMC, με αποτέλεσμα να είναι πιο δύσκολη και η εύρεση της ακριβής τιμής της. Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελεί το διάγραμμα του *Σχήματος 4.10* που αντιστοιχεί στο διάλυμα του πολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-5. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία αναμένεται η μείωση της CMC με την αύξηση του ποσοστού της υδρόφοβης συστάδας.[78] Οι τιμές CMC όλων των διαλυμάτων δίνονται στο *ν* συγκεντρωτικό *Πίνακα 4.3*.



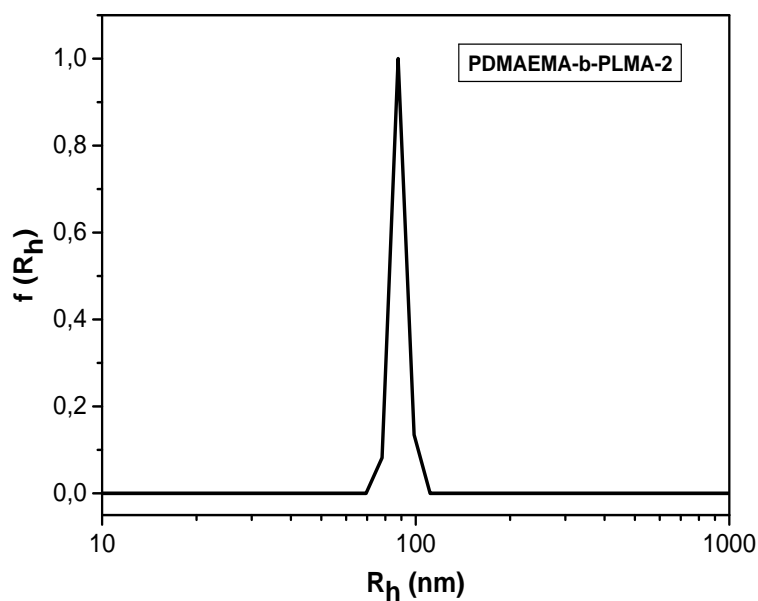
Σχήμα 4.9: Διάγραμμα της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1 / I_3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές PDMAEMA-b-PLMA-2.



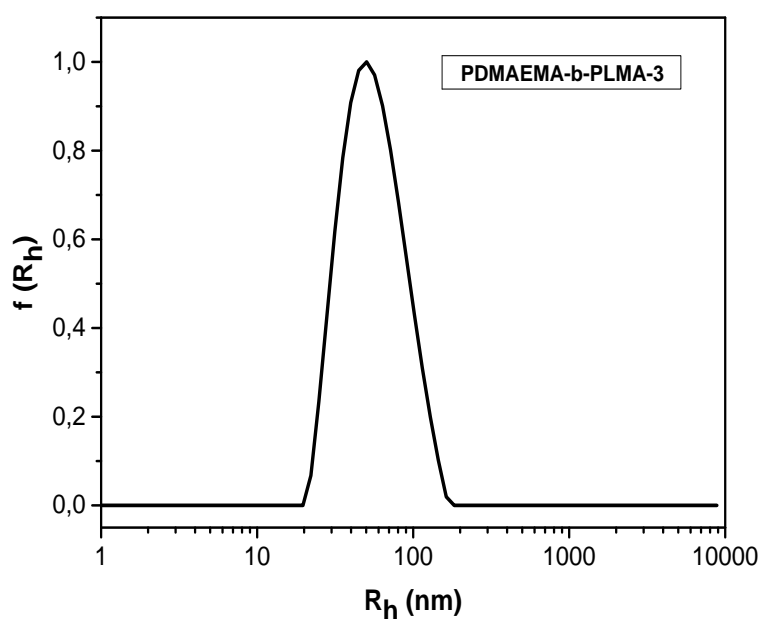
Σχήμα 4.10: Διάγραμμα της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1 / I_3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές PDMAEMA-b-PLMA-5.

Παράδειγμα πλατιάς περιοχής προσδιορισμού CMC.

Για τον προσδιορισμό της φαινόμενης υδροδυναμικής ακτίνας (R_h) και του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) των πολυμερικών μικκυλίων έγιναν μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός σε διαφορετικές γωνίες, $pH=7$ και συγκέντρωση της τάξης των 10^{-4} g/ml. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με τη χρήση του αλγορίθμου *CONTIN* και τη μέθοδο των αθροισμάτων. Στα Σχήματα 4.11 και 4.12 παρατίθενται ενδεικτικά διαγράμματα κατανομής μεγεθών των πολυμερικών μικκυλίων (*CONTIN*) του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2 και PDMAEMA-b-PLMA-3 αντίστοιχα στη γωνία των 90° .



Σχήμα 4.11: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του PDMAEMA-b-PLMA-2 ($pH=7$, 90°).



Σχήμα 4.12: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του PDMAEMA-b-PLMA-3 ($pH=7$, 90°).

Μέσω της στατικής σκέδασης φωτός υπολογίσθηκε το φαινόμενο μοριακό βάρος και η γυροσκοπική ακτίνα (R_g). Αρχικά, προσδιορίστηκε ο λόγος dn/dc στο νερό για τα συμπολυμερή η τιμή του οποίου εξαρτάται από τη σύσταση του συμπολυμερούς και τη τιμή dn/dc της κάθε συστάδας στο νερό. Η τιμή dn/dc για το PDMAEMA βάση της βιβλιογραφίας είναι 0,187 ενώ του PLMA 0,1797.

Το φαινόμενο μοριακό βάρος υπολογίσθηκε γνωρίζοντας το λόγο dn/dc και την συγκέντρωση του υπό μέτρηση διαλύματος συμπολυμερούς. Η τιμή του για το κάθε δείγμα βρίσκεται στο *Πίνακα 4.3*. Από τη τιμή του φαινόμενου μοριακού βάρους και του κατά βάρους μοριακού βάρους που υπολογίστηκε από τη χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών προσδιορίστηκε ο βαθμός συσσωμάτωσης N_{agg} . Τα φαινόμενα μοριακά βάρη που προσδιορίστηκαν από στατική σκέδαση φωτός είναι πολύ μεγάλα όπως φαίνεται και στο *Πίνακα 4.3* και κατά συνέπεια οδηγούν στον υπολογισμό μεγάλων αριθμών συσσωμάτωσης.

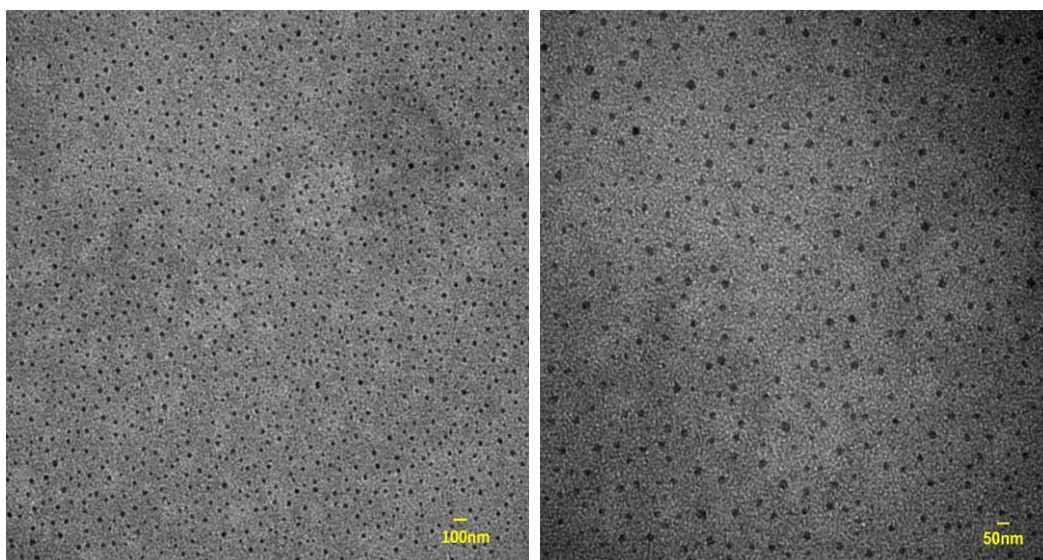
Μέσω της ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός (ELS) προσδιορίστηκε το ζ-δυναμικό. Για όλα τα διαλύματα πολυμερών η τιμή του είναι θετική και οφείλεται στη μερική πρωτονίωση της συστάδας του PDMAEMA σε $pH=7$. Για το διάλυμα του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-5 που μετρήθηκε σε $pH=3$, η τιμή είναι εξίσου θετική λόγω της πρωτονίωσης του PDMAEMA σε όξινα pH . Η απόκριση των συμπολυμερών σε μεταβολές του pH θα συζητηθεί αναλυτικότερα στην επόμενη υποενότητα.

Στο *Πίνακα 4.3* παρουσιάζεται το μήκος της εκτεταμένης αλυσίδας του κάθε συμπολυμερούς, οι τιμές του οποίου δίνουν πληροφορίες για τις διαστάσεις των σωματίδιων. Οι μικρές τιμές του μήκους της μιας αλυσίδας σε σχέση με τις διαστάσεις που παρουσιάζονται από τη σκέδαση φωτός δηλώνουν την ύπαρξη υπερμοριακών δομών.

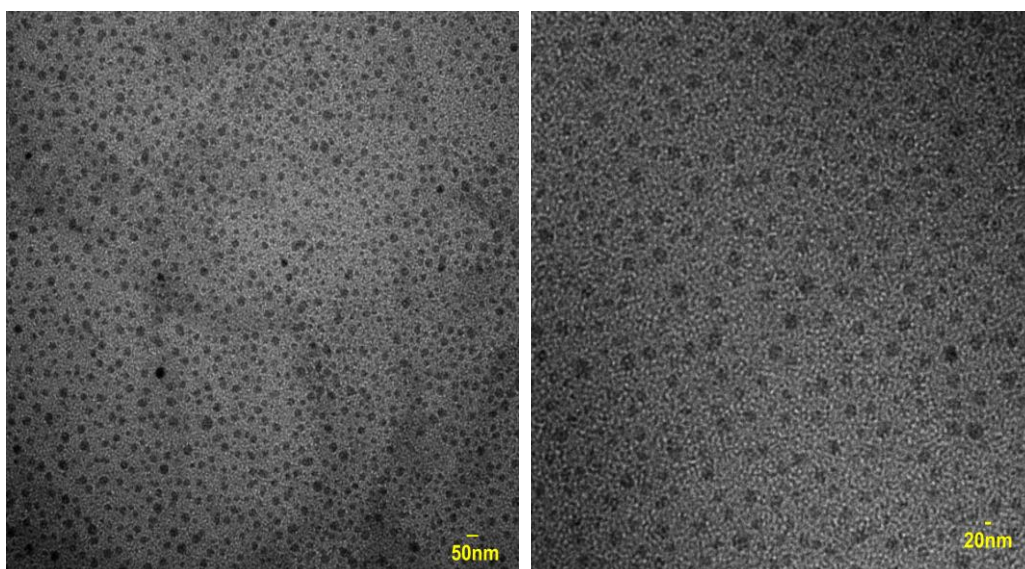
Πίνακας 4.3: Αποτελέσματα SLS, DLS ,ELS και FS για τα μικκύλια των PDMAEMA-b-PLMA σε pH=7.

PDMAEMA-b-PLMA									
Δείγμα	Mw _{ap} (x10 ⁻⁷) (g/mol)	N _{agg}	R _g (nm)	R _h (nm) 90°	PDI	R _g / R _{h0}	CMC (x10 ⁷) (g/ml)	Z _p (mV)	L (nm)
PDMAEMA -b-PLMA-1	2,35	1308	187	79	0,3	1,7	0,7	+23	11
PDMAEMA -b-PLMA-2	0,27	151	58	88	0,04	0,75	7,6	+38	10
PDMAEMA -b-PLMA-3	7,15	7981	163	54	0,18	1,9	6,5	+34	12
PDMAEMA -b-PLMA-4	0,2	186	98	111	0,31	0,92	4,7	+26	14
PDMAEMA -b-PLMA- 5_pH=3	3,52	2057	140	97	0,2	0,87	0,3	+27	7

Επιπροσθέτως, μέσω της στατικής σκέδασης προσδιορίστηκε η R_g και κατ' επέκταση ο λόγος R_g/R_{h0}. Ο λόγος της γυροσκοπικής ακτίνας R_g προς την υδροδυναμική ακτίνα R_{h0} (στις 0°) δίνει σημαντικά συμπεράσματα για την μορφολογία των αυτό-οργανούμενων νανοσωματιδίων που έχουν σχηματιστεί. Οι τιμές του λόγου R_g/R_{h0} που λαμβάνονται από τα δείγματα των διαλυμάτων των PDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών ανήκουν στο εύρος 0,7 έως 1,9. Από τη βιβλιογραφία στο εύρος αυτών των τιμών ανήκουν μορφολογίες σφαιρικών δομών είτε μορφολογίες κυστιδίων.[79] Για την βέλτιστη εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τη δομή και τη μορφολογία των μικκυλίων πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (TEM). Έγινε λήψη και ανάλυση των εικόνων TEM και παρουσιάζονται ενδεικτικά παρακάτω στις *Εικόνες 4.1* και *4.2*.



Εικόνα 4.1 Μικρογραφίες TEM της μορφολογίας του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2 σε κλίμακα 100nm και 50nm.



Εικόνα 4.2: Μικρογραφίες TEM της μορφολογίας του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-4 σε κλίμακα 50nm και 20nm.

Μέσα από τις εικόνες παρατηρείται η σφαιρική μορφολογία των μικκυλιακών δομών. Ενδέχεται να φαίνεται μόνο το πιο πυκνό εσωτερικό τμήμα των δομών και όχι η κορώνα τους. Τα σφαιρικά μικκύλια μπορεί να είναι και συμμιγή/σύνθετα μικκύλια (*compound micelles*) στα υδατικά διαλύματα των

συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA. Σε αυτό μπορεί να συμβάλλει και η ύπαρξη μακρών αλειφατικών αλυσίδων στη συστάδα του PLMA που κάνει την οργάνωση των συστάδων PLMA σε ένα σφαιρικό πυρήνα πιο δύσκολη.[72]

Από την ανάλυση των εικόνων TEM πραγματοποιήθηκε ο προσδιορισμός της διαμέτρου των νανοσωματιδίων και η σύγκριση με την διάμετρο που λήφθηκε από τη δυναμική σκέδαση φωτός. Οι τιμές βρίσκονται στο *Πίνακα 4.4*.

Πίνακας 4.4: Διάμετροι μικκυλίων συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA από DLS και TEM.

Δείγμα Συμπολυμερούς	TEM D (nm)	DLS D_h (nm)
PDMAEMA-b-PLMA-1	264	158
PDMAEMA-b-PLMA-2	43	176
PDMAEMA-b-PLMA-3	-	108
PDMAEMA-b-PLMA-4	37	222
PDMAEMA-b-PLMA-5	56	194

Παρατηρείται ότι οι τιμές των διαμέτρων από το TEM είναι εμφανώς μικρότερες από τις τιμές του DLS. Εξαίρεση αποτελεί το δείγμα PDMAEMA-b-PLMA-1. Το συγκεκριμένο δείγμα από τις εικόνες TEM εμφάνισε μεγάλο αριθμό συσσωματωμάτων, συνεπώς υπάρχει σφάλμα στο προσδιορισμό της τιμής. Επίσης, το δείγμα PDMAEMA-b-PLMA-2 δεν συμπεριλαμβάνεται στο *Πίνακα 4.4* διότι δεν μετρήθηκε στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης. Οι διαφορές στις τιμές μεταξύ των δύο τεχνικών έγκειται στο γεγονός ότι στις μετρήσεις DLS γίνεται υπολογισμός της υδροδυναμικής διαμέτρου, η οποία περιλαμβάνει και τον όγκο του διαλύτη που ενυδατώνει τα σωματίδια. Αντίθετα, η διάμετρος που υπολογίζεται από το TEM είναι η διάμετρος των μικκυλίων στη ξηρή μορφή, καθώς το μετρούμενο δείγμα δεν περιέχει διαλύτη αφού αυτός έχει εξατμιστεί. Επιπροσθέτως, οι έντονες διαφορές στις τιμές

μπορεί να οφείλονται και στο ότι από τις εικόνες του TEM είναι ορατοί μόνο οι πυρήνες του PLMA και όχι όλο το μέγεθος του μικκυλίου, συνεπώς είναι λογικό η τιμή της D να είναι ακόμη μικρότερη.

Εν κατακλείδι, από τα αποτελέσματα των τεχνικών που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των μικκυλίων των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA και της μορφολογίας τους, διαπιστώθηκε ότι τα συγκεκριμένα συμπολυμερή σε υδατικά διαλύματα σχηματίζουν σφαιρικά μικκύλια ή πιο σύνθετης μορφής αυτής των συμμιγών μικκυλίων.

4.1.3 Μελέτη επίδρασης φυσικοχημικών παραμέτρων στα διαλύματα πολυμερών PDMAEMA-b-PLMA

4.1.3.1 Μελέτη επίδρασης του pH

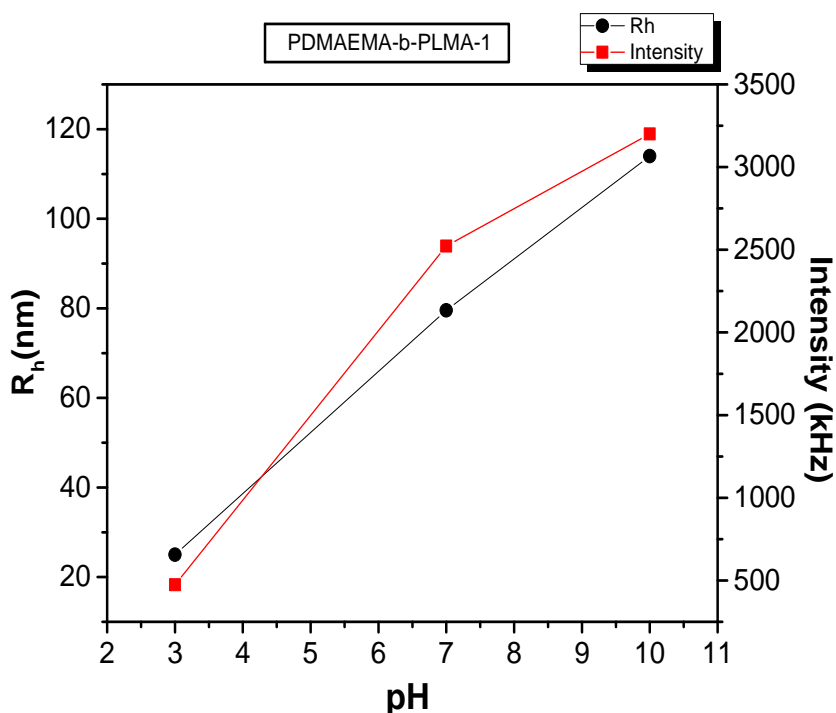
Στην ενότητα αυτή μελετάται η επίδραση της μεταβολής του pH στη συμπεριφορά των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA που εμφανίζουν μικκυλιακές δομές σε υδατικά διαλύματα. Η επίδραση του pH εξετάστηκε μέσω της δυναμικής και ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός. Οι μετρήσεις δυναμικής σκέδασης πραγματοποιήθηκαν στις 90°, σε συγκέντρωση της τάξης των 10⁻⁴g/ml, στην θερμοκρασία των 25°C για τρεις διαφορετικές τιμές pH ~ 3, 7 και 10.

Στο *Σχήμα 4.13* παρατίθεται η μεταβολή του pH συναρτήσει της υδροδυναμικής ακτίνας και της έντασης σκεδάσεως για το διάλυμα του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-1. Από το διάγραμμα παρατηρείται ότι με τη μεταβολή του pH υπάρχει και μεταβολή στην ένταση και την ακτίνα. Σε όξινο pH=3 φαίνεται πως η ακτίνα και η ένταση μειώνονται ενώ σε μεγαλύτερο pH=10 υπάρχει αύξηση των δυο αυτών παραμέτρων.

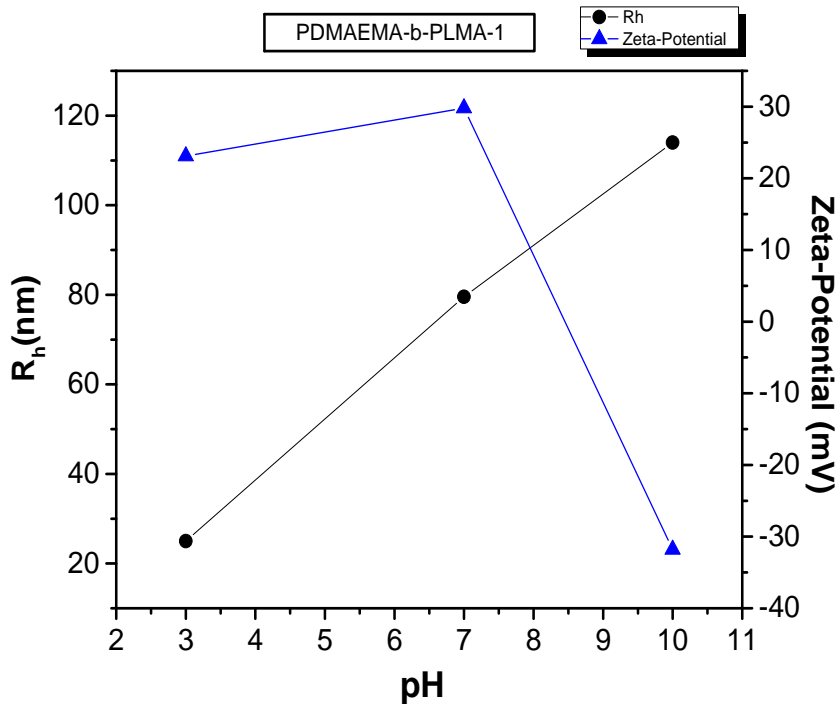
Είναι εμφανής η απόκριση του συστήματος στις μεταβολές των τιμών του pH στο διάλυμα. Αυτό οφείλεται στη συστάδα του PDMAEMA η οποία είναι μια ασθενής πολυβάση και συμπεριφέρεται ως αποκρινόμενος ασθενής κατιονικός πολυηλεκτρολύτης λόγω της ισορροπίας πρωτονίωσης – αποπρωτονίωσης της αμινομάδας, η οποία εξαρτάται από το pH του

διαλύματος. Σε όξινο pH=3 η τριτοταγείς αμίνες του PDMAEA είναι θετικά φορτισμένες εξαιτίας της πρωτονίωσης που έχουν υποστεί και το πολυμερές είναι πιο διαλυτό με αποτέλεσμα την μείωση της μάζας και της ακτίνας των υπερμοριακών δομών που σχηματίζονται στο διάλυμα. Σε αλκαλικό περιβάλλον η συστάδα PDMAEMA είναι ουδέτερη. Αυξάνοντας το pH στη τιμή 10 μειώνεται σημαντικά ο βαθμός πρωτονίωσης των αμινομάδων και η συστάδα του PDMAEMA αποπρωτονιώνεται. Το PDMAEMA αποκτά πιο υδρόφοβο χαρακτήρα με αποτέλεσμα τα μικκύλια να συσσωματώνονται και να καθιζάνουν. Αυτό είναι εμφανές μέσα από την αύξηση της έντασης σκεδάσεως και της υδροδυναμικής ακτίνας.

Στο Σχήμα 4.14 παρουσιάζεται η επίδραση του pH συναρτήσει της ακτίνας και του ζ-δυναμικού. Παρατηρείται ότι σε όξινο pH το ζ-δυναμικό είναι θετικό, ενώ σε pH=10 έχει αρνητική τιμή. Η θετική τιμή του ζ-δυναμικού οφείλεται στη πρωτονίωση της ομάδας σε όξινο pH, ενώ η μετάβαση σε ένα αρνητικό ζ-δυναμικό σε pH=10 πάνω από το ισοηλεκτρικό σημείο συμβαίνει λόγω της αποφόρτισης της αμινομάδας.



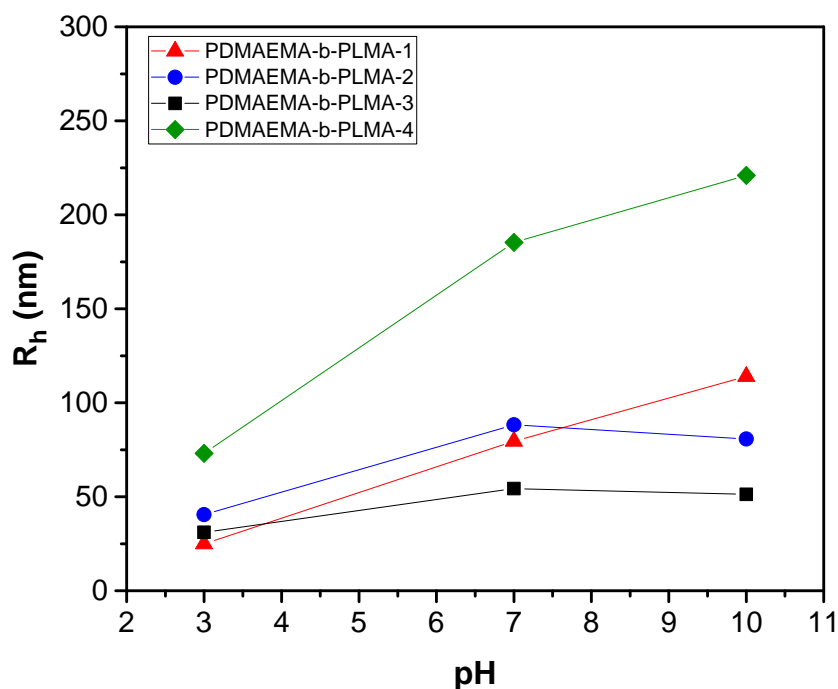
Σχήμα 4.13: Μετρήσεις R_h και έντασης I συναρτήσει μεταβολής pH για το συμπολυμερές PDMAEMA-PLMA-1.



Σχήμα 4.14: Μετρήσεις R_h και Z_p συναρτήσει μεταβολής pH για το συμπολυμερές PDMAEMA-PLMA-1.

Όλα τα συστήματα πολυμερών εμφάνισαν την ίδια συμπεριφορά. Σε pH=3 η ένταση και η ακτίνα μειώνονταν απότομα, γεγονός που σηματοδοτεί τη συρρίκνωση και αποσυσσωμάτωση των μικκυλίων. Επίσης για όλα τα συστήματα η τιμή σε pH=3 η τιμή του ζ-δυναμικού ήταν θετική. Σε pH=7 υπήρχε αύξηση στην ένταση και την R_h και η τιμή του ζ-δυναμικού ήταν θετική. Αντίθετα, σε pH=10 η τιμή του ζ-δυναμικού για όλα τα δείγματα ήταν αρνητική, ενώ υπήρχε απότομη αύξηση της έντασης και της ακτίνας συνεπώς και την δημιουργία συσσωματωμάτων. Στο *Σχήμα 4.14* παρατίθεται ένα συγκριτικό διάγραμμα των δειγμάτων στο πως μεταβάλλεται η ακτίνα R_h με την αλλαγή του pH. Παρατηρείται ότι στα διαλύματα των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA-2 και 3 δεν υπάρχουν μεγάλες μεταβολές της ακτίνας μεταξύ pH=7 και 10. Εικάζεται ότι τα συγκεκριμένα συστήματα παρουσιάζουν μια μικρή σταθερότητα σε αυτή τη τιμή pH. Στα αποτελέσματα του συγκριτικού διαγράμματος δεν παρουσιάζεται το διάλυμα του πολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-5. Το δείγμα ήταν σταθερό μόνο σε pH=3 ενώ σε μεγαλύτερα pH το δείγμα, παρουσίαζε καθίζηση και δεν μπορούσαν να ληφθούν ασφαλή αποτελέσματα από τις μετρήσεις.

Τέλος, η συμπεριφορά του PDMAEMA φαίνεται να εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη μεταβολή του pH, καθώς και από τη σύσταση και το μοριακό βάρος του πολυμερούς και να έρχεται σε συμφωνία με τα πειραματικά αποτελέσματα που αναφέρονται στη βιβλιογραφία.[42]



Σχήμα 4.15: Συγκριτικό διάγραμμα μεταβολής R_h συναρτήσει pH για τα διαλύματα των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA.

4.1.3.2 Μελέτη επίδρασης της θερμοκρασίας

Τα υδατικά διαλύματα των πολυμερικών συστημάτων PDMAEMA-b-PLMA μελετήθηκαν μέσω δυναμικής σκέδασης φωτός με σκοπό το προσδιορισμό της επίδρασης της θερμοκρασίας στην αυτοοργάνωσή τους. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις 90°, σε συγκέντρωση της τάξης των 10^{-4} g/ml, pH=7 και σε ένα εύρος θερμοκρασιών των 25°C - 55 °C.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία η συστάδα του PDMAEMA εμφανίζει απόκριση σε μεταβολές της θερμοκρασίας και έχει ως κρίσιμη κατώτερη κρίσιμη θερμοκρασία διάλυσης (LCST) στο νερό τους 40°C με 50°C.[80,81,82] Η δεύτερη συστάδα του PLMA δεν διαθέτει την ιδιότητα της θερμοαποκρισιμότητας συνεπώς δεν αντιδρά στις μεταβολές τις θερμοκρασίας, ωστόσο συμβάλει στην μορφολογία και αυτοοργάνωση των μικκυλίων. Ο

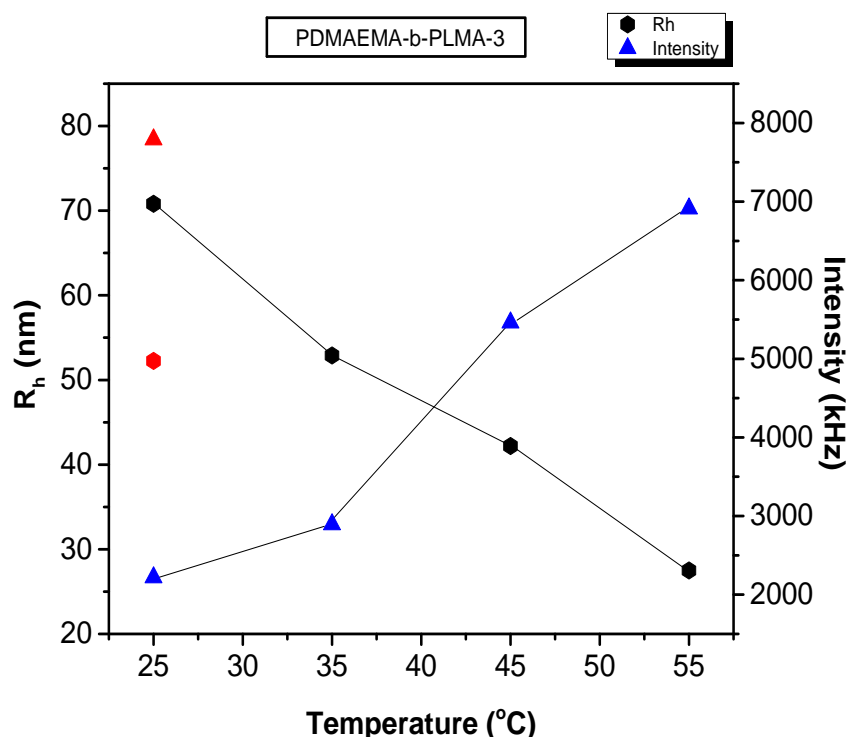
προσδιορισμός της LCST για κάθε σύστημα πολυμερούς διαφέρει και εξαρτάται από τη σύσταση, τον αριθμό των πολυμερικών μονάδων και το μοριακό του βάρος. Δηλαδή δεν υπάρχει μια καθορισμένη τιμή επειδή το PDMAEMA έχει μια τιμή LCST σε ένα καθορισμένο εύρος, αλλά είναι απόρροια όλου του συμπολυμερούς σαν σύστημα.

Οι παράμετροι που προσδιορίστηκαν από την μεταβολή της θερμοκρασίας ήταν η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας των σωματιδίων του διαλύματος και κατ' επέκταση η υδροδυναμική ακτίνα. Παρατηρήθηκε για όλα τα συστήματα των διαλυμάτων που προέρχονται από διαφορετικές συστάσεις πολυμερών ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας εμφάνισαν αύξηση της έντασης και μείωση της υδροδυναμικής ακτίνας. Η συμπεριφορά αυτή έρχεται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία που σχετίζεται με το PDMAEMA και την θερμο-ευαισθησία του. Μετά το πέρας των μετρήσεων στις υψηλές τιμές θερμοκρασίας πραγματοποιήθηκε επαναφορά των συστημάτων στην αρχική θερμοκρασία μέτρησης των 25°C με σκοπό τον έλεγχο της αντιστρεπτότητας της μεταβολής.

Στο *Σχήμα 4.16* παρουσιάζεται η εξάρτηση του διαλύματος του πολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-3 σε υδατικό μέσο από τη θερμοκρασία όσον αφορά τις τιμές της υδροδυναμικής ακτίνας και της έντασης σκεδάσεως. Με τη μεταβολή από τους 25°C έως τους 55°C είναι ορατή η αύξηση της έντασης και η μείωση της ακτίνας. Η πρώτη μεταβολή συμβαίνει στους 35°C και πιο έντονη στους 45°C. Σε χαμηλές θερμοκρασίες κάτω της LCST το PDMAEMA είναι υδρόφιλο συνεπώς διαλυτό στο νερό. Με την αύξηση της θερμοκρασίας και πάνω από τη τιμή της LCST το πολυμερές μετατρέπεται σε υδρόφοβο και έχει τη τάση να συρρικνώνεται και να οδηγείται το σύστημα σε συσσωμάτωση. Αυτό οφείλεται στο ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας επηρεάζονται οι διαμοριακοί δεσμοί με αποτέλεσμα να καταστρέφονται οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ του νερού και των μονομερικών μονάδων του PDMAEMA και να γίνεται πιο υδρόφοβο.

Η συρρίκνωση των αλυσίδων PDMAEMA γύρω από την κρίσιμη θερμοκρασία έχει την τάση να μειώνει τη διαλυτότητα του συμπολυμερούς. Επομένως η αύξηση της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας σχετίζεται με την αύξηση σε μάζα λόγω συσσωμάτωσης των αρχικών υπερμοριακών δομών. Η μείωση της υδροδυναμικής ακτίνας σχετίζεται με την συρρίκνωση των αλυσίδων

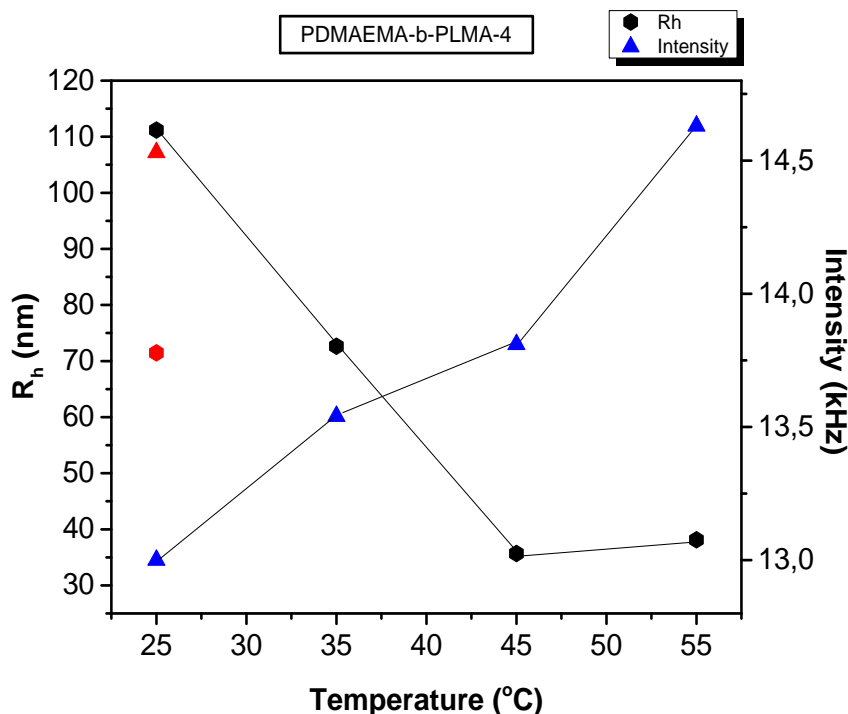
PDMAEMA. Στο διάλυμα του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-3 παρατηρείται ότι με την επαναφορά της θερμοκρασίας στους 25°C (Σχήμα 4.16, κόκκινα σημεία) εξακολουθεί να υπάρχει αυξημένη τιμή της έντασης και μειωμένη της ακτίνας, αρκετά διαφορετικές από τις αρχικές τιμές τους. Φαίνεται πως δεν υπάρχει αντιστρεπτικότητα του συστήματος και με την επαναφορά στην αρχική θερμοκρασία το σύστημα έχει μεταβληθεί ως προς τη μάζα των μικκυλίων και ως προς το μέγεθος και τη διαμόρφωση των αλυσίδων του PDMAEMA γύρω από τον υδρόφοβο πυρήνα του PLMA.



Σχήμα 4.16: Μεταβολή R_h και έντασης I συναρτήσει θερμοκρασίας για το PDMAEMA-b-PLMA-3.

Η ίδια συμπεριφορά απαντάται και σε ένα άλλο σύστημα αυτό του PDMAEMA-b-PLMA-4 (ως προς PLMA: 54%). Το πολυμερές διαθέτει ένα ποσοστό σε PDMAEMA μικρότερο σε σχέση με το προηγούμενο σύστημα του PDMAEMA-b-PLMA-3 (ως προς PLMA: 41%), ωστόσο φαίνεται να επιδεικνύει ακόμα μεγαλύτερη εξάρτηση από τη θερμοκρασία και λιγότερη δημιουργία συσσωματωμάτων όπως φαίνεται στο Σχήμα:4.17. Η διαφορά στα δυο συστήματα έγκειται στη συστάδα του PLMA και στη χαμηλή θερμοκρασία

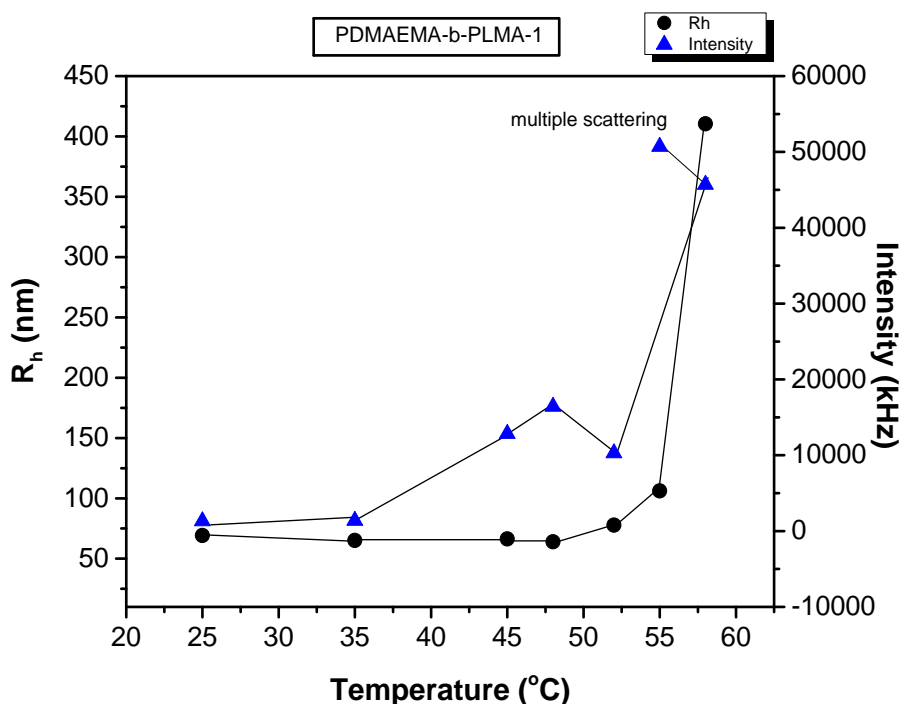
υαλώδους μετάβασης του PLMA ($T_g = -53^\circ\text{C}$) [83] με αποτέλεσμα ο πυρήνας να μην είναι συμπαγής αλλά πιο ρευστός και να υπάρχει μεγαλύτερη τάση για συσσωμάτωση όπως στη περίπτωση του PDMAEMA-b-PLMA-3.



Σχήμα 4.17: Μεταβολή θερμοκρασίας συναρτήσεσι R_h και έντασης I για το PDMAEMA-b-PLMA-4.

Στο Σχήμα 4.18 που ακολουθεί παρατίθενται τα αποτελέσματα για διάλυμα πολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-1 που διαθέτει το μεγαλύτερο ποσοστό στη συστάδα του PDMAEMA. Το σύστημα αυτό εμφάνισε διαφορετική συμπεριφορά σε σχέση με τα υπόλοιπα τέσσερα. Ενώ, στα υπόλοιπα συστήματα με την αύξηση της θερμοκρασίας παρατηρήθηκε αύξηση της έντασης και μείωση της R_h , στο διάλυμα αυτό παρατηρείται απότομη αύξηση της έντασης και της ακτίνας. Το συγκεκριμένο δείγμα θερμάνθηκε μέχρι τους 58°C . Με την θέρμανση από τους 25°C έως τους 55°C παρατηρήθηκε ένα στάδιο μετάβασης το οποίο στα υπόλοιπα συστήματα δεν ήταν εμφανές. Το δείγμα θερμάνθηκε έως τους 58°C με σκοπό τη μελέτη αυτής της απότομης μετάβασης. Στη θερμοκρασία αυτή παρατηρήθηκε το φαινόμενο της πολλαπλής σκέδασης καθώς και έντονη θολότητα του δείγματος. Συνεπώς δεν μπορούν να παρθούν ασφαλή συμπεράσματα για τις τιμές της έντασης

και της ακτίνας. Το πολυμερές αυτό διαθέτει μια υδρόφιλη κορώνα και μία μικρότερη σε λόγο σύστασης υδρόφοβη συστάδα. Συνεπώς η συμπεριφορά του συστήματος εξαρτάται περισσότερο από τη μεγαλύτερη σε σύσταση συστάδα του PDMAEMA. Λόγω του μεγάλου ποσοστού υδροφοβικότητας του συμπολυμερούς σε υψηλότερες θερμοκρασίες, οι πολυμερικές αλυσίδες συσσωματώνονται και το πολυμερές μακροσκοπικά καθιζάνει.

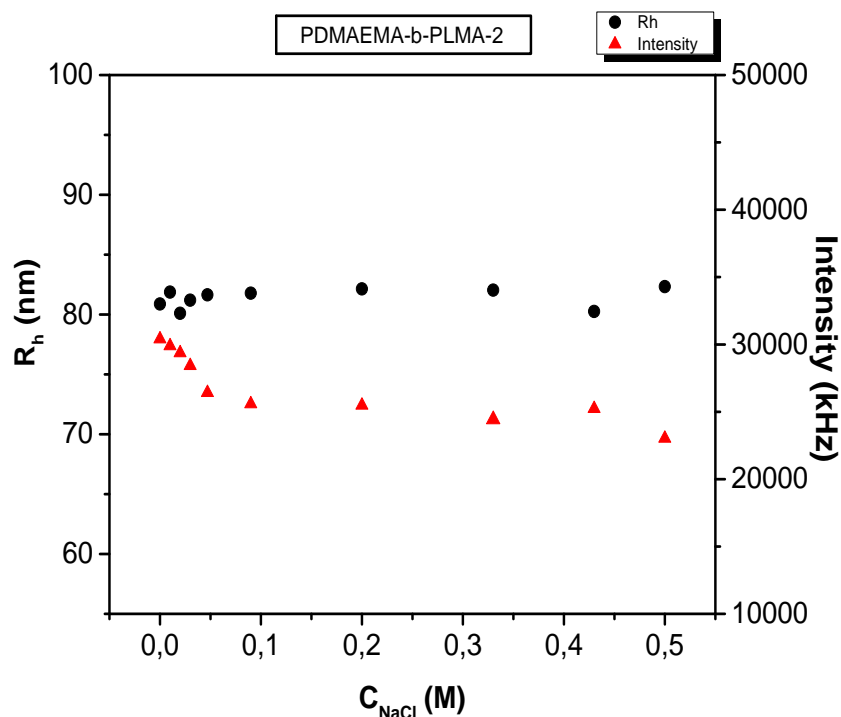


Σχήμα 4.18: Μεταβολή θερμοκρασίας συναρτήσει R_h και έντασης I για το PDMAEMA-b-PLMA-1.

4.1.3.3 Μελέτη επίδρασης της ιοντικής ισχύος

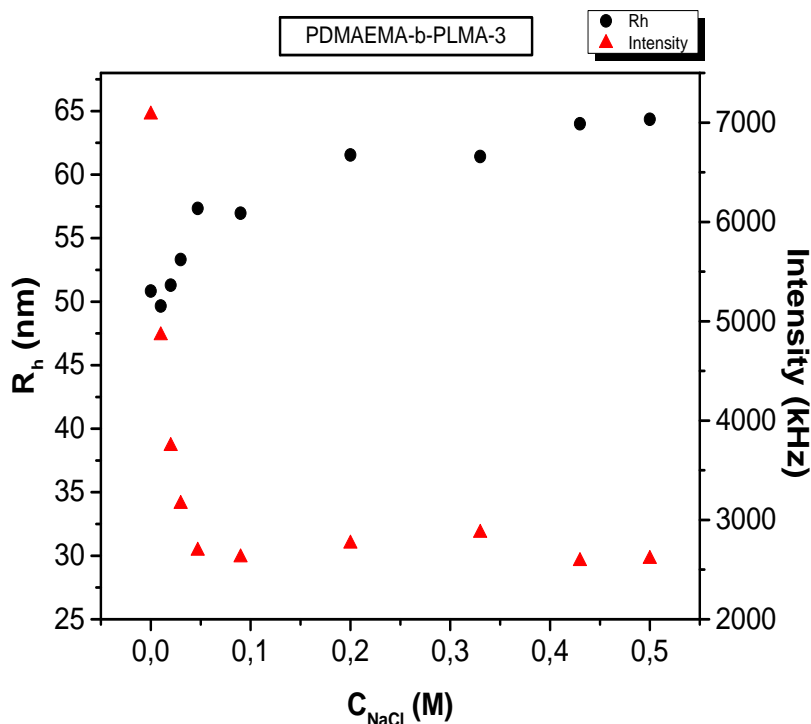
Μια ακόμη παράμετρος που εξετάστηκε για το αν επηρεάζει τις ιδιότητες και την αυτο-οργάνωση των πολυμερικών μικκυλίων σε υδατικά διαλύματα είναι αυτή της αύξησης της ιοντικής ισχύος του διαλύματος με τη σταδιακή προσθήκη NaCl 1M. Πραγματοποιήθηκαν εννέα προσθήκες (από 0,01M έως 0,5M) διαφορετικών συγκεντρώσεων άλατος στο υδατικό διάλυμα πολυμερούς και διεξάχθηκαν μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός στις 90°, σε συγκέντρωση της τάξης των 10⁻⁴ g/ml, pH=7 και σε θερμοκρασία 25°C.

Τα αποτελέσματα της δυναμικής σκέδασης φωτός δεν έδειξαν ιδιαίτερα αξιοσημείωτες μεταβολές για όλα τα διαλύματα πολυμερών. Συγκεκριμένα για το διάλυμα του πολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2 όπως φαίνεται και στο Σχήμα 4.19, υπήρξαν μηδαμινές (στα όρια σφάλματος του οργάνου) έως και οριακές μεταβολές ως προς την ένταση ή την ακτίνα.



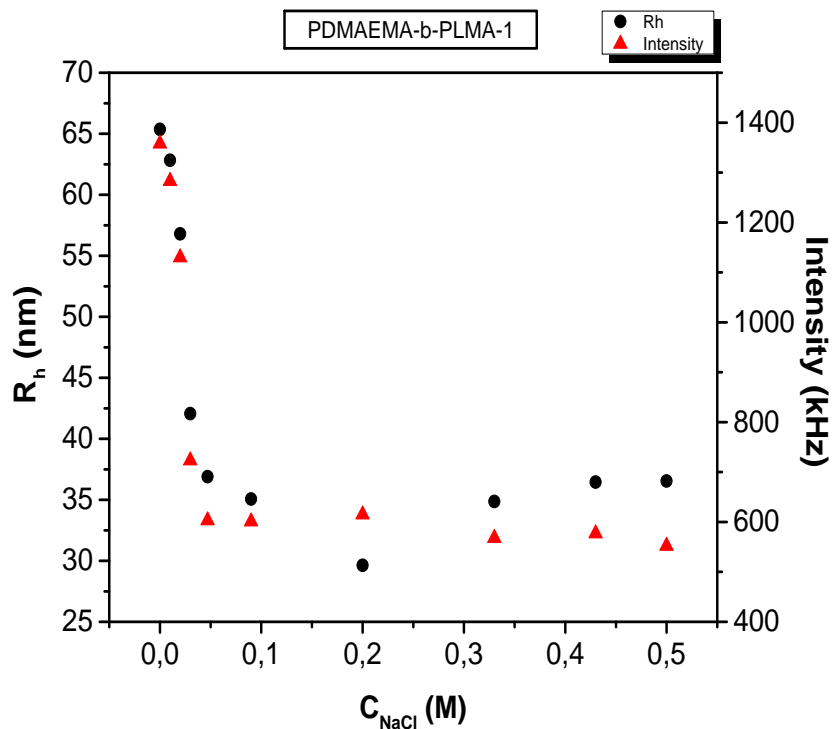
Σχήμα 4.19: Μεταβολή συγκέντρωσης συναρτήσει R_h και I του PDMAEMA-b-PLMA-2.

Αντίθετα το διάλυμα του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-3 που φαίνεται στο Σχήμα 4.20 παρατηρήθηκε αύξηση της υδροδυναμικής ακτίνας κατά 15nm συνολικά στη συγκέντρωση 0,5M και μείωση έντασης κατά 5000kHz. Έχει παρατηρηθεί ότι η προσθήκη άλατος επιτρέπει το σχηματισμό μικκυλίων σε υψηλότερο βαθμό πρωτονίωσης εξαιτίας της προάσπισης των φορτίων. Επιπλέον, υψηλότερη συγκέντρωση άλατος έχει ως αποτέλεσμα μεγαλύτερες υδροδυναμικές ακτίνες R_h , οφειλόμενες στον υψηλότερο βαθμό συσσωμάτωσης των μικκυλίων λόγω της προάσπισης των φορτίων. Στη συγκεκριμένη περίπτωση η μείωση της έντασης πρέπει να οφείλεται σε διάσπαση των αρχικών μικκυλίων λόγω συρρίκνωσης της κορώνας. Τα μικκύλια που προκύπτουν έχουν μεγαλύτερη ακτίνα λόγω ίσως της πιο χαλαρής εσωτερικής δομής τους.



Σχήμα 4.20: Μεταβολή R_h και I συναρτήσει συγκέντρωσης του PDMAEMA-b-PLMA-3.

Στο διάλυμα του πολυμερούς PDMAEMA-PLMA-1 που σε σύσταση έχει μεγαλύτερο ποσοστό σε PDMAEMA σε σχέση με το PLMA, άρα και πιο μεγάλη κορώνα παρατηρήθηκε μείωση της σκεδαζόμενης έντασης και ακτίνας με την προσθήκη μεγαλύτερης συγκέντρωσης άλατος (Σχήμα 4.21). Η ένταση μειώθηκε κατά 800kHz και η ακτίνα κατά 30nm. Σύμφωνα με τις μετρήσεις αυτές η προσθήκη NaCl στο σύστημα οδηγεί σε μείωση του μεγέθους των μικκυλίων υποδηλώνοντας τη συρρίκνωση. Επιπροσθέτως, η μείωση της έντασης φανερώνει την μείωση της μάζας των μικκυλίων και την πιθανή αποσυσσωμάτωσή τους. Το PDMAEMA που από τη φύση του είναι ένας ασθενής κατιονικός πολυηλεκτρολύτης, με τη παρουσία του άλατος παρατηρούνται διαφοροποιήσεις στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις στην κορώνα, με αποτέλεσμα την συστολή των αλυσίδων της κορώνας των μικκυλίων. Συνεπώς λόγω της σύστασης του πολυμερούς η συμπεριφορά του εξαρτάται από τη συστάδα του PDMAEMA και η αλλαγή στη διαμόρφωση των αλυσίδων του, κάνει ορατή τη συρρίκνωση και την αποσυσσωμάτωση των μικκυλίων.



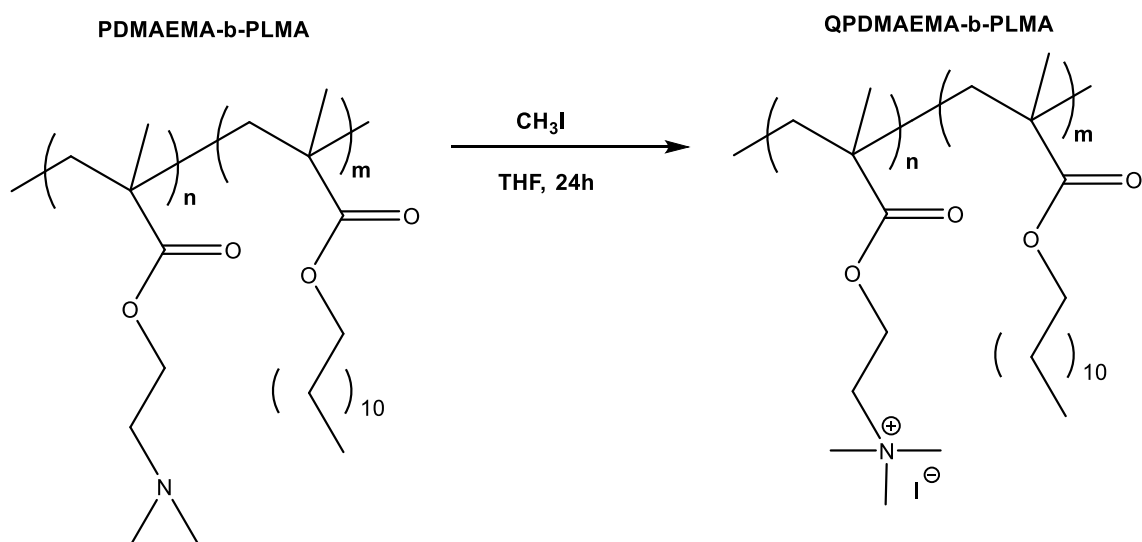
Σχήμα 4.21: Μεταβολή R_h και I συναρτήσει συγκέντρωσης του PDMAEMA-b-PLMA-1.

Συμπερασματικά, από τα παραπάνω διαγράμματα φαίνεται πως τα μικκύλια από τα συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA ανταποκρίνονται σε μεταβολές της ιοντικής ισχύος σε υδατικά διαλύματα, ωστόσο καθοριστικό παράγοντα αποτελεί η σύσταση του πολυμερούς στην αποκρινόμενη σε μεταβολές συστάδα του PDMAEMA.

4.2 Δισυσταδικά Αμφίφιλα Τροποποιημένα Συμπολυμερή QPDMAEMA-b-PLMA

4.2.1 Σύνθεση συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA

Στα συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA που συντέθηκαν πραγματοποιήθηκε μετατροπή της τριτοταγούς αμίνης της συστάδας του PDMAEMA. Σε διάλυμα πολυμερούς σε THF υπό ανάδευση προστέθηκε περίσσεια CH₃I και η τριτοταγής αμίνη μετατράπηκε σε τεταρτοταγές άλας αμμωνίου. Στη περίπτωση αυτή το PDMAEMA από έναν ασθενή μετατρέπεται σε έναν ισχυρό κατιοντικό πολυηλεκτρολύτη. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε υπό ανάδευση, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 24 ώρες. Στο Σχήμα 4.26 φαίνεται η αντίδραση τεταρτοταγοποίησης (*Quaternization*) της αμίνης και η δημιουργία του νέου συμπολυμερούς (*Quaternized Diblock*).



Σχήμα 4.22: Αντίδραση τεταρτογοποίησης αμίνης PDMAEMA και δημιουργία συμπολυμερούς QPDMAEMA-b-PLMA.



Εικόνα 4.3: Αλλαγή στην εμφάνιση του διαλύματος μετά την αντίδραση τεταρτοταγοποίησης για το συμπολυμερές QPDMAEMA-b-PLMA-1.

Με την προσθήκη του CH_3I στο διάλυμα του πολυμερούς σε THF και με την ολοκλήρωση της αντίδρασης, το διάλυμα άλλαξε εμφάνιση ως προς το χρώμα και τη μορφή του. Από διαυγές μετατράπηκε σε κίτρινο και ως προς τη μορφή παρατηρήθηκε ο σχηματισμός γέλης. Η αλλαγή στην εμφάνιση ως προς το χρώμα οφείλεται στο CH_3I και ως προς τη μορφή πηκτώματος στο ότι με την τεταρτοταγοποίηση της αμίνης το πολυμερές παύει πια να είναι διαλυτό στο THF. Ανάλογα με την αύξηση της σύστασης του συμπολυμερούς σε PDMAEMA η αλλαγή στην εμφάνιση είναι ακόμα πιο έντονη. Στην *Εικόνα 4.3* φαίνεται η αλλαγή στην εμφάνιση του διαλύματος του συμπολυμερούς QPDMAEMA-b-PLMA-1 μετά το πέρας των 24ωρών.

Η σύσταση και το μοριακό βάρος των συμπολυμερών με τροποποιημένη την αμινομάδα από τριτοταγή σε τεταρτοταγή προσδιορίστηκε από το μοριακό βάρος και τις κατά βάρος συστάσεις των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA που υπολογίστηκαν από τα φάσματα $^1\text{H-NMR}$ και από SEC. Οι τιμές αυτές βρίσκονται καταγεγραμμένες στο *Πίνακα 4.5*.

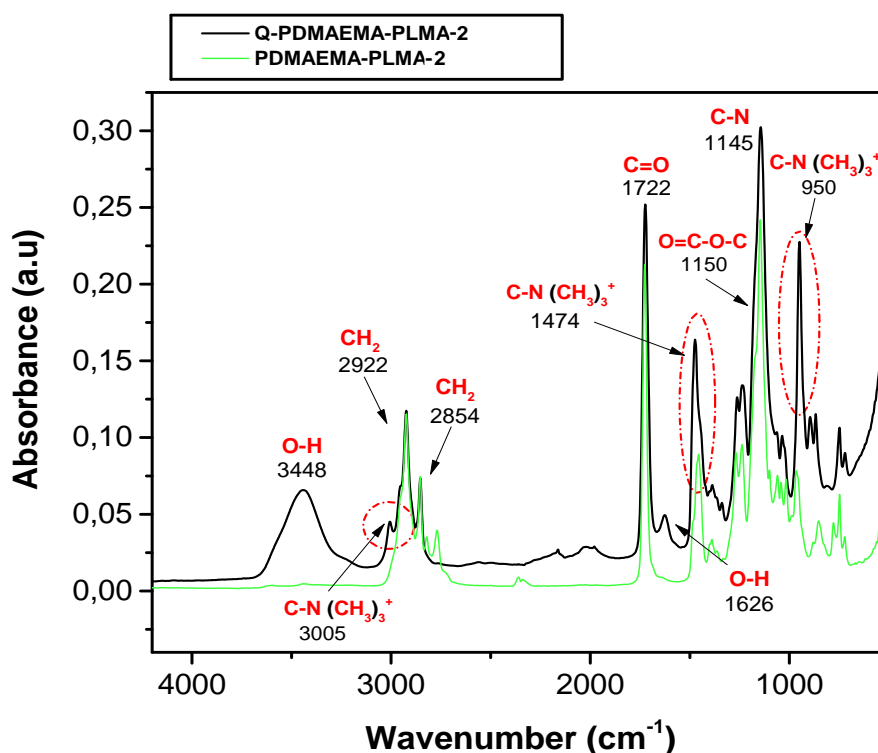
Το ποσοστό της σύστασης που αντιστοιχεί στη πρώτη συστάδα του PDMAEMA πολλαπλασιάζεται με το μοριακό βάρος του συμπολυμερούς και προκύπτει το μοριακό βάρος της συστάδας του PDMAEMA. Έπειτα, διαιρώντας το μοριακό βάρος του PDMAEMA με το μοριακό βάρος της μονομερικής του μονάδας προκύπτουν οι δομικές μονάδες της συστάδας του

PDMAEMA στο συμπολυμερές. Εάν θεωρηθεί ότι η αντίδραση τεταρτοταγοποίησης (*Quaternization*) έχει πραγματοποιηθεί στο 100% σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [78], τότε στην αμινομάδα κάθε δομικής μονάδας PDMAEMA θα έχει ενσωματωθεί ένα μεθύλιο του CH₃I και το ιώδιο ως αντισταθμιστικό ιόν. Συνεπώς, προσθέτοντας το μοριακό βάρος της μονομερικής ομάδας του PDMAEMA με το μοριακό βάρος του CH₃I, το άθροισμα που προκύπτει πολλαπλασιάζεται με τον αριθμό των δομικών μονάδων του PDMAEMA του συμπολυμερούς. Ο αριθμός που προκύπτει από τον πολλαπλασιασμό είναι το μοριακό βάρος της συστάδας του QPDMAEMA. Επιπλέον από τη κατά βάρος σύσταση του NMR του συμπολυμερούς και το μοριακό του βάρος, υπολογίζεται το μοριακό βάρος της συστάδας του PLMA το οποίο θα παραμείνει ίδιο μετά την αντίδραση. Το μοριακό βάρος του QPDMAEMA και του PLMA προστίθενται και προκύπτει το μοριακό βάρος του νέου συμπολυμερούς. Το ποσοστό της σύστασης υπολογίζεται μέσω του μοριακού βάρους της QPDMAEMA συστάδας και του QPDMAEMA-b-PLMA.

Πίνακας 4.5 Μοριακά χαρακτηριστικά συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA

Δείγμα QPDMAEMA-PLMA	M _w QPDMAEMA (x10 ⁻⁴) (g/mol)	M _w	
		QPDMAEMA- PLMA (x10 ⁻⁴) (g/mol)	Σύσταση (%) wt PLMA
QPDMAEMA-b-PLMA-1	2,63	3,04	13
QPDMAEMA-b-PLMA-2	1,14	2,8	23
QPDMAEMA-b-PLMA-3	0,98	1,35	27
QPDMAEMA-b-PLMA-4	0,95	1,53	38
QPDMAEMA-b-PLMA-5	0,8	1,94	58

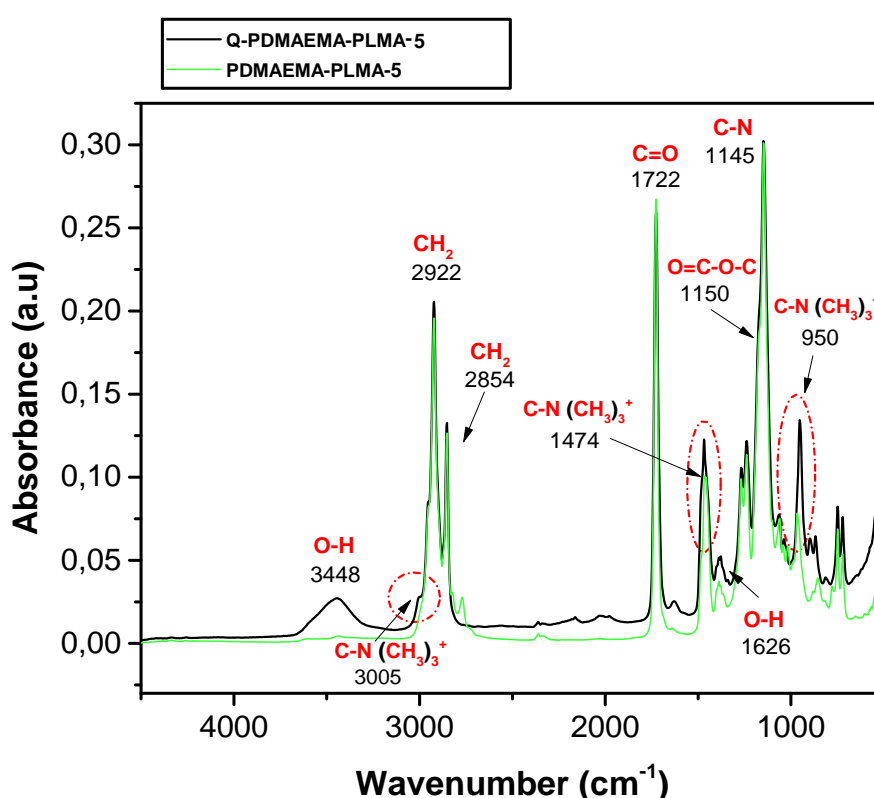
Η φασματοσκοπία FT-IR χρησιμοποιήθηκε για την ποιοτική εξακρίβωση της επιτυχούς μετατροπής της αμινομάδας του PDMAEMA από τριτοταγή σε τεταρτοταγή. Στο παρακάτω Σχήμα 4.23 παρατίθενται τα φάσματα ATR-FTIR για το συμπολυμερές πριν και το συμπολυμερές που έχει υποστεί τεταρτοταγοποίηση της αμινομάδας του PDMAEMA. Σύμφωνα με την αποτίμηση των κορυφών, παρατηρείται η εμφάνιση νέων κορυφών στο φάσμα των QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών που στο φάσμα των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA δεν ήταν ορατές.



Σχήμα 4.23: Συγκριτικά φάσματα FT-IR συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2 και QPDMAEMA-b-PLMA-2.

Οι κορυφές αυτές παρατηρούνται στα 3448 cm^{-1} όπου αντιστοιχεί σε έκταση δεσμών O-H μιας και με τη τροποποίηση αυτή το πολυμερές εμφανίζει ενδογενή υγρασία, στα 3005 cm^{-1} εμφανίζεται μια νέα κορυφή που σύμφωνα με τη βιβλιογραφία[84] αποδίδεται σε τεταρτοταγή αμίνη. Το ίδιο συμβαίνει και στα 1474 cm^{-1} όπου παρατηρείται μια διαπλάτυνση και μετατόπιση της κορυφής από τα 1458 cm^{-1} της ομάδας $-\text{CH}_2$ του αρχικού συμπολυμερούς. Έντονη αλλαγή αποτελεί η κορυφή στα 950 cm^{-1} που αντιστοιχεί στην τεταρτοταγή αμίνη και οφείλεται σε έκταση των δεσμών της ομάδας C-N(CH)₃.

[84] Για όλα τα QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερή που συντέθηκαν το αποτύπωμα είναι ίδιο, διαφέρουν όμως σε ένταση οι κορυφές της τεταρτοταγούς αμίνης. Όπως φαίνεται παρακάτω στο Σχήμα 4.24 οι κορυφές είναι πολύ πιο έντονες στο πολυμερές QPDMAEMA-b-PLMA-2 που έχει μεγάλο ποσοστό QPDMAEMA (77% QPDMAEMA- 23% PLMA) και στο συμπολυμερές QPDMAEMA-b-PLMA-5 που έχει μεγαλύτερο ποσοστό της συστάδας του PLMA (42% QPDMAEMA - 58% PLMA). Η εμφάνιση των κορυφών της τεταρτοταγούς αμίνης στο αποτύπωμα του φάσματος FT-IR υποδηλώνει την επιτυχή μετατροπή της αμίνης.

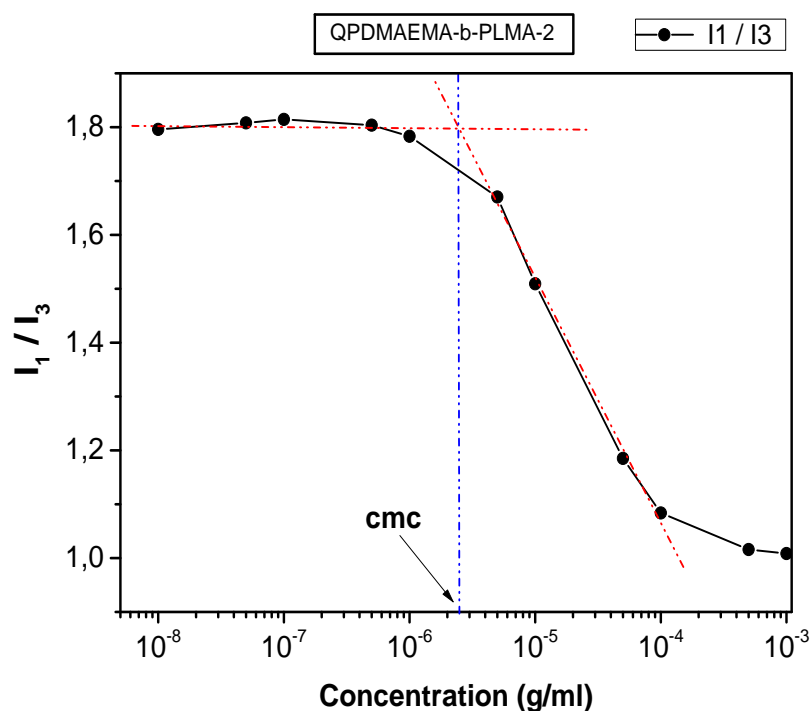


Σχήμα 4.24: Συγκριτικό Φάσμα FT-IR συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-5 και QPDMAEMA-b-PLMA-5.

4.2.2 Μοριακός – Φυσικοχημικός Χαρακτηρισμός μικκυλίων συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA

Ο προσδιορισμός της CMC των πολυμερικών μικκυλίων των τροποποιημένων QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών μέσω φασματοσκοπίας φθορισμού (FS). Για τις μετρήσεις ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία που πραγματοποιήθηκε για το προσδιορισμό της CMC των PDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών. Δηλαδή εγκλωβίστηκε πυρένιο στο πυρήνα των μικκυλίων ως ιχνηθέτης και μέσω της FS προσδιορίστηκε ο λόγος των σχετικών εντάσεων της πρώτης και τρίτης κορυφής που εμφανίζονται στο φάσμα του πυρενίου I_1 / I_3

Ένα χαρακτηριστικό διάγραμμα της κατηγορίας των τροποποιημένων συμπολυμερών είναι αυτό του QPDMAEMA-b-PLMA-2, στο Σχήμα 4.25. Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα για όλες τις CMC των QPDMAEMA-b-PLMA διαλυμάτων δίνονται στον Πίνακα 4.6. Παρατηρείται ότι η CMC στα διαλύματα των QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών έχει αυξηθεί κατά μια τάξη μεγέθους σε σύγκριση με τα διαλύματα των συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA. Αυτό είναι αναμενόμενο, διότι αυξάνεται η διαλυτότητα λόγω των φορτισμένων αλυσίδων.

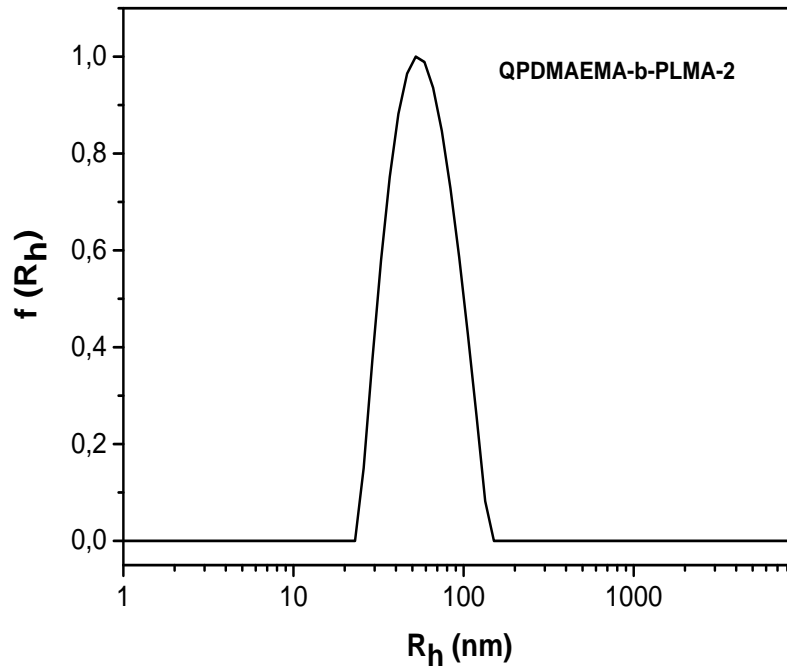


Σχήμα 4.25: Διάγραμμα της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1 / I_3 του πυρενίου συναρτήσει συγκέντρωσης για το συμπολυμερές QPDMAEMA-b-PLMA-2.

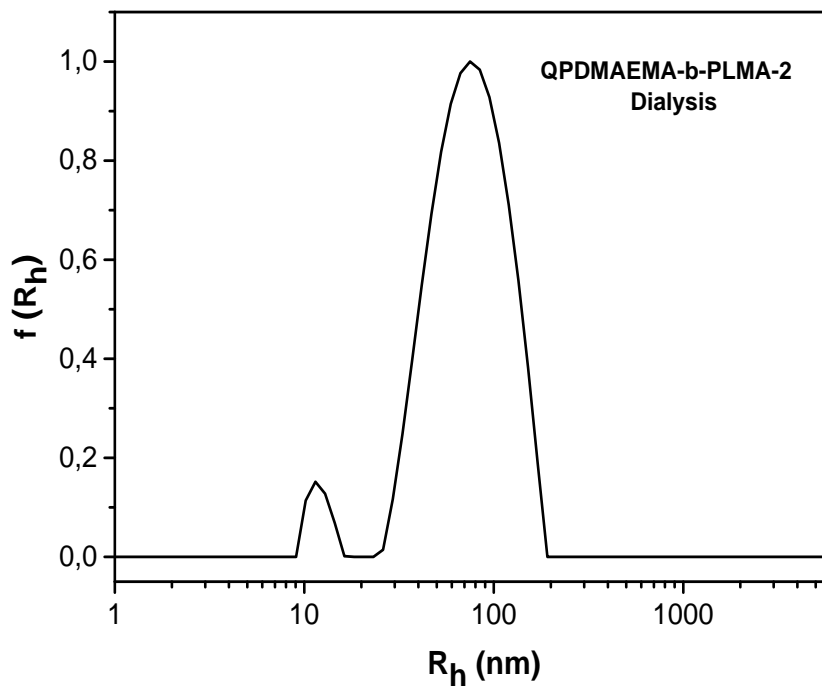
Τα μοριακά χαρακτηριστικά που λήφθηκαν από τις διάφορες τεχνικές σκέδασης φωτός για τα διαλύματα συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA περιγράφονται εξίσου στο *Πίνακα 4.6* που ακολουθεί. Οι διαδικασίες μέτρησης και ανάλυσης είναι οι ίδιες που χρησιμοποιήθηκαν και για τα διαλύματα των PDMAEMA-b-PLMA πολυμερών.

Για τα QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερή χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά πρωτόκολλα παρασκευής μικκυλιακών δομών. Συγκεκριμένα στα διαλύματα των QPDMAEMA-b-PLMA 2 και 3, παρασκευάστηκαν μικκύλια είτε με την απευθείας διαλυτοποίηση του πολυμερούς σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,01M, είτε με τη μέθοδο διαπίδυσης μεμβράνης (Dialysis). Παρατηρήθηκαν διαφορές ως προς τα μοριακά χαρακτηριστικά των μικκυλίων μεταξύ των διαφορετικών πρωτοκόλλων τα οποία φαίνονται στο *Πίνακα 4.6*. Τα διαλύματα των συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA-4 και 5 δημιούργησαν μικκυλιακές δομές με τη μέθοδο Dialysis. Τέλος, το QPDMAEMA-PLMA-1 αυτο-οργανώθηκε σε μικκύλια με την απευθείας διαλυτοποίηση του σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,01M λόγω της αυξημένης υδροφιλικότητας που παρουσιάζει, διότι διαθέτει τη μεγαλύτερη σύσταση σε QPDMAEMA συστάδα σε σύγκριση με τα υπόλοιπα συμπολυμερή.

Για τον προσδιορισμό της φαινόμενης υδροδυναμικής ακτίνας (R_h) και του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) των πολυμερικών μικκυλίων έγιναν μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός σε διαφορετικές γωνίες, pH=7 και συγκέντρωση της τάξης των 10^{-4} g/ml. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με τη χρήση του αλγορίθμου *CONTIN* και τη μέθοδο των αθροισμάτων. Στα παρακάτω σχήματα παρουσιάζονται ενδεικτικά τα διαγράμματα δυναμικής σκέδασης φωτός για τα πολυμερικά μικκύλια του QPDMAEMA-b-PLMA-2 με τη χρήση των δυο διαφορετικών μεθόδων παρασκευής μικκυλίων. Το *Σχήμα 4.26* αντιστοιχεί στο πρωτόκολλο της απευθείας διαλυτοποίησης του συμπολυμερούς σε NaCl 0,01M, ενώ το *Σχήμα 4.27* αντιστοιχεί στη μέθοδο διαπίδυσης μεμβράνης (*Dialysis*).



Σχήμα 4.26: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του QPDMAEMA-b-PLMA-2 με απ'ευθείας διάλυση σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,01M.



Σχήμα 4.27: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του QPDMAEMA-b-PLMA-2 (Dialysis σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,01M).

Μέσω της στατικής σκέδασης φωτός υπολογίσθηκε το φαινόμενο μοριακό βάρος και η γυροσκοπική ακτίνα (R_g), προσδιορίζοντας πρώτα το λόγο dh/dc στο νερό για τα QPDMAEMA-b-PLMA διαλύματα συμπολυμερών. Η τιμή του QPDMAEMA στο νερό σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι 0,174 [85], ενώ του PLMA είναι 0,1797. Ανάλογα τη σύσταση του συμπολυμερούς, υπολογίστηκε και η τιμή του dh/dc του κάθε διαλύματος. Επιπροσθέτως, μέσω της στατικής σκέδασης προσδιορίστηκε η R_g και κατ' επέκταση ο λόγος R_g/R_{h0} .

Πίνακας 4.6: Αποτελέσματα από SLS, DLS ,ELS και FS για τα μικκύλια των QPDMAEMA-b-PLMA.

QPDMAEMA-b-PLMA								
Δείγμα	Mw_{ap} ($\times 10^{-7}$) (g/mol)	N_{agg}	R_g (nm)	R_h (nm) 90°	PDI	R_g/R_{h0}	CMC ($\times 10^6$) (g/ml)	Z_p (mV)
QPDMAEMA-b-PLMA-1 NaCl 0,01M	-	-	-	24	0,15	-	9,6	+35
QPDMAEMA-b-PLMA-2 NaCl 0,01M	1,53	547	44	56	0,16	0,96	2,4	+45
QPDMAEMA-b-PLMA-2 Dialysis	0,11	45	37	74	0,28	0,57	-	+39
QPDMAEMA-b-PLMA-3 NaCl 0,01M	0,58	430	64	61	0,29	1,54	5	+29
QPDMAEMA-b-PLMA-3 Dialysis	0,77	570	126	103	0,27	0,99	-	+55
QPDMAEMA-b-PLMA-4 Dialysis	0,28	162	46	49	0,20	0,94	6,5	+46
QPDMAEMA-b-PLMA-5 Dialysis	0,09	46	22	21	0,37	0,98	4,1	+47

Τα διαφορετικά πρωτόκολλα χρησιμοποιήθηκαν με σκοπό την εξέταση του κατά πόσο η χρήση του κάθε πρωτοκόλλου παρασκευής μικκυλίων επηρεάζει τα μοριακά χαρακτηριστικά καθώς και τις λαμβανόμενες μορφολογικές δομές τους. Διαπιστώθηκαν διαφοροποιήσεις ως προς τα χαρακτηριστικά αυτά. Για τα διαλύματα των QPDMAEMA-b-PLMA-2 με την απευθείας διαλυτοποίηση στο υδατικό διάλυμα του NaCl 0,01M και με τη μέθοδο Dialysis παρατηρούνται διαφορές ως προς την ακτίνα R_h και κυρίως ως προς το βαθμό συσσωμάτωσης. Το ίδιο ισχύει και για τα διαλύματα των QPDMAEMA-b-PLMA-3. Γενικά, φαίνεται ότι τα συστήματα δεν είναι δομές ισορροπίας και επηρεάζονται από τη μέθοδο παρασκευής μικκυλίων που θα ακολουθηθεί.

Στα Quaternized διαλύματα συμπολυμερών παρατηρείται έντονα η μείωση του βαθμού συσσωμάτωσης σε σύγκριση με τα διαλύματα των PDMAEMA-b-PLMA, διότι αυξάνεται η διαλυτότητα του συμπολυμερούς λόγω των φορτισμένων ομάδων του PDMAEMA. Επίσης, οι τιμές του ζ-δυναμικού είναι αναμενόμενες διότι τα σωματίδια είναι έντονα θετικά φορτισμένα. Ο λόγος R_g/R_{h_0} παραπέμπει σε σφαιρική μορφολογία των μικκυλίων ή κυστίδια ή ακόμα και compound μικκύλια, ωστόσο είναι αναγκαία η χρήση συμπληρωματικών τεχνικών για να καθοριστεί η ακριβής μορφολογία των μικκυλίων. Τέλος να σημειωθεί ότι για το διάλυμα του QPDMAEMA-b-PLMA-1 δεν ήταν δυνατός ο προσδιορισμός των παραμέτρων που δεν εμφανίζονται στο Πίνακα 4.6 εξαιτίας του ότι το όργανο δεν μπορούσε να υπολογίσει το φαινόμενο μοριακό βάρος και τη γυροσκοπική ακτίνα R_g συνεπώς και κατ' επέκταση όλες τις υπόλοιπες παραμέτρους.

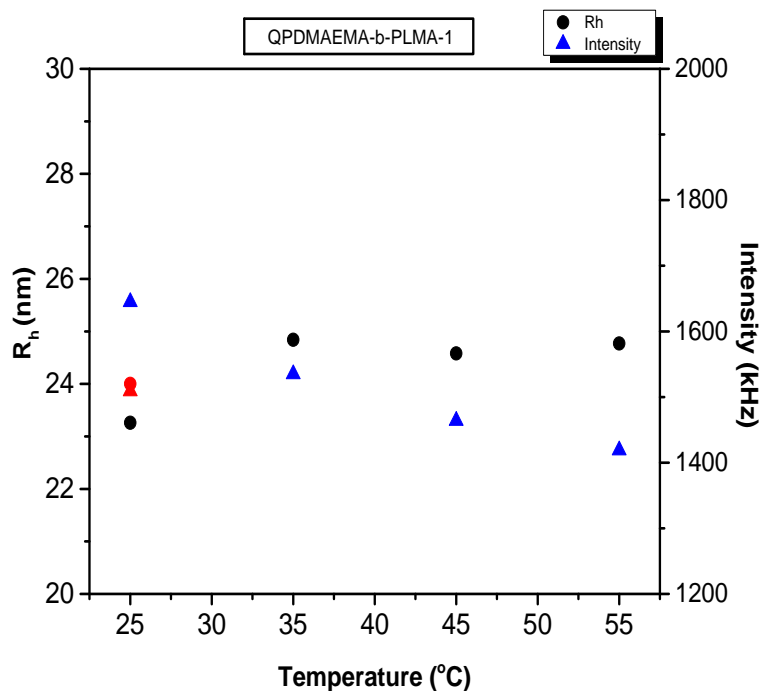
4.2.3 Μελέτη επίδρασης φυσικοχημικών παραμέτρων στα διαλύματα QPDMAEMA-b-PLMA πολυμερών

4.2.3.1 Μελέτη επίδρασης της θερμοκρασίας

Η επίδραση της θερμοκρασίας μελετήθηκε και στα υδατικά διαλύματα των αμφίφιλων QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών με τη χρήση της δυναμικής σκέδασης φωτός. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις 90°, σε συγκέντρωση διαλύματος της τάξης των 10^{-4} g/ml, pH=7 και σε ένα εύρος θερμοκρασιών των 25°C - 55°C. Προσδιορίστηκε η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας και η υδροδυναμική ακτίνα με την μεταβολή της θερμοκρασίας.

Η τριτοταγής αμινομάδα της συστάδας του PDMAEMA μέσω της αντίδρασης της τεταρτοταγοποίησης μετατράπηκε σε τεταρτοταγή με αποτέλεσμα το PDMAEMA από έναν ασθενή να μετατραπεί σε έναν ισχυρό κατιονικό πολυηλεκτρολύτη. Το PDMAEMA εμφανίζει απόκριση σε μεταβολές της θερμοκρασίας όπως διαπιστώθηκε στη μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στα υδατικά διαλύματα των αμφίφιλων συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA στην *Ενότητα 4.1.3.1* και εμφανίζει μια κρίσιμη μικκυλιακή θερμοκρασία LCST πάνω από την οποία αποκτά υδρόφοβο χαρακτήρα. Αντίθετα, το τεταρτοταγές QPDMAEMA σύμφωνα με τη βιβλιογραφία παρουσιάζει μια UCST[86, 87, 88]. Για θερμοκρασίες χαμηλότερες από την UCST το πολυμερές είναι αδιάλυτο στο νερό ενώ για θερμοκρασίες άνω της UCST είναι διαλυτό.

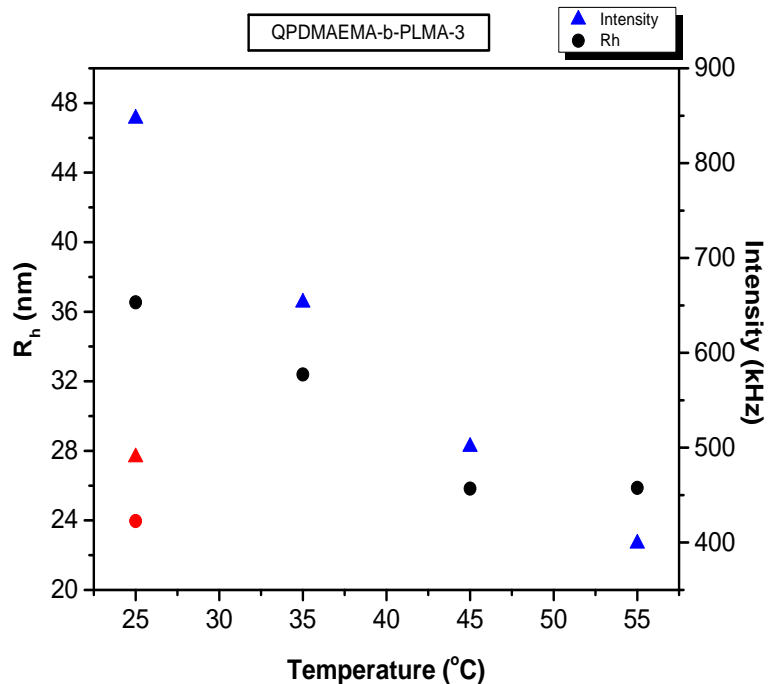
Τα διαλύματα των QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών σε υδατικό μέσο φαίνεται πως δεν παρουσίασαν ιδιαίτερη εξάρτηση από την αύξηση της θερμοκρασίας. Η ένταση σκεδάσεως και η υδροδυναμική ακτίνα δεν μεταβλήθηκαν ώστε να θεωρηθούν αξιοσημείωτες. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το διάγραμμα του *Σχήματος 4.28* για το διάλυμα του συμπολυμερούς QPDMAEMA-b-PLMA-1. Η ακτίνα αυξήθηκε κατά 1nm, ενώ παρατηρήθηκε μια μικρή μείωση στην ένταση κατά 200kHz. Τα κόκκινα σημεία δείχνουν την επιστροφή του συστήματος στην αρχική θερμοκρασία μετά την αύξηση για την αντιστρεπτότητα του συστήματος.



Σχήμα 4.28: Μεταβολή της θερμοκρασίας συναρτήσει R_h και I για το QPDMAEMA-PLMA-1.

Το μοναδικό δείγμα διαλύματος πολυμερούς που παρουσίασε μεταβολή στην ακτίνα R_h και την ένταση είναι του QPDMAEMA-b-PLMA-3. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.29 η ακτίνα μειώθηκε κατά 10nm και ένταση μειώθηκε κατά 450kHz. Οι μειώσεις αυτές της έντασης και της ακτίνας, δείχνουν ότι η αύξηση της θερμοκρασίας αποσυσσωματώνει τα υπάρχοντα συσσωματώματα, λόγω μεγαλύτερης επιδιαλύτωσης των αλυσίδων QPDMAEMA της κορώνας. Τα κόκκινα σημεία στο διάγραμμα δείχνουν την επαναφορά του διαλύματος στην αρχική θερμοκρασία μέτρησης.

Συμπερασματικά, σημειώνονται μικρές μεταβολές από την αύξηση της θερμοκρασίας. Δεν μπορούν να παρθούν σημαντικές πληροφορίες. Εικάζεται ή ότι τα διαλύματα των QPDMAEMA-b-PLMA που διαθέτουν θετικά φορτισμένη αμινομάδα με την τροποποίηση της αμινομάδας τα υπό μελέτη συστήματα παύουν να είναι θερμοαποκρινόμενα. Η αλληλεπίδραση ωστόσο εξαρτάται και από την σύσταση του συμπολυμερούς. Τέλος, είναι εμφανές ότι συστήματα δεν είναι δομές ισορροπίας.



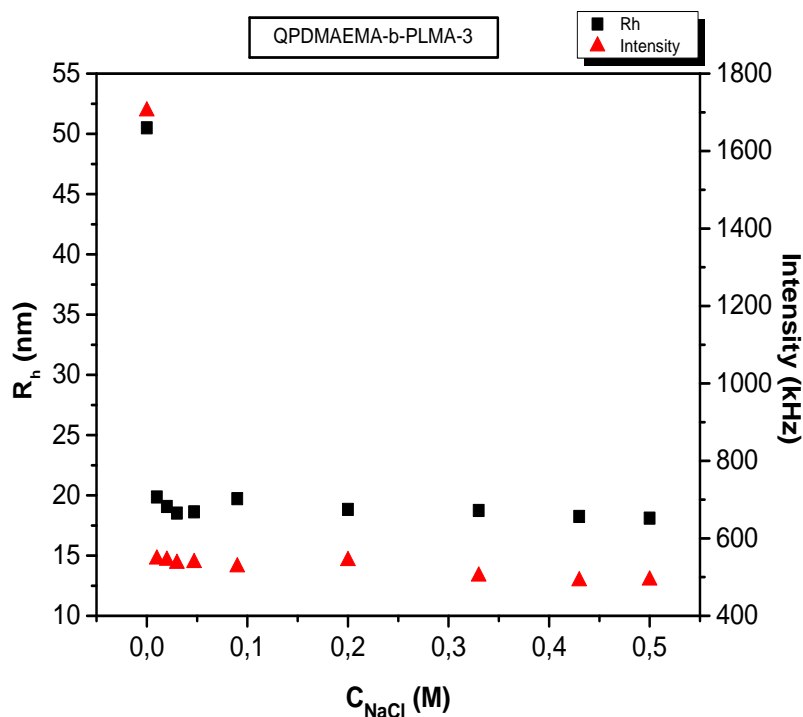
Σχήμα 4.29: Μεταβολή της R_h και I συναρτήσει της θερμοκρασίας για το QPDMAEMA-PLMA-3.

4.2.3.2 Μελέτη επίδρασης της ιοντικής ισχύος

Η μελέτη της ιοντικής ισχύος στα υδατικά διαλύματα των QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών πραγματοποιήθηκε με προσθήκη NaCl 1M. Πραγματοποιήθηκαν εννέα προσθήκες (από 0,01M έως 0,5M) διαφορετικών συγκεντρώσεων άλατος στο υδατικό διάλυμα και μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός μετρήθηκαν οι μεταβολές της έντασης και της ακτίνας R_h με την αύξηση της αλατότητας του διαλύματος. Οι μετρήσεις έγιναν σε γωνία 90° , συγκέντρωση διαλύματος της τάξης των 10^{-4} g/ml, pH=7 και σε θερμοκρασία 25°C .

Όλα τα διαλύματα QPDMAEMA-b-PLMA πολυμερών που μετρήθηκαν μέσω DLS παρουσίασαν παρόμοια συμπεριφορά με τη παρουσία άλατος. Σημειώθηκαν μικρές μεταβολές μείωσης ως προς την ακτίνα R_h (της τάξης των 5 με 10 nm) και την ένταση σκέδασης με την αύξηση της ιοντικής ισχύος. Το διάλυμα του πολυμερούς QPDMAEMA-b-PLMA-3 εμφάνισε τη μεγαλύτερη εξάρτηση από την ιοντική ισχύ σε σχέση με υπόλοιπα τέσσερα δείγματα. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.30 με τη πρώτη προσθήκη NaCl στο διάλυμα η

υδροδυναμική ακτίνα και η ένταση από τη τιμή των 50nm και 1700kHz αντίστοιχα μειώνονται απότομα στη τιμή των 20nm και 550kHz. Στη μέγιστη συγκέντρωση άλατος η ακτίνα δεν έχει μεταβληθεί αρκετά μετά τη τιμή της πρώτης προσθήκης και από την τιμή των 20nm με τη πρώτη προσθήκη. Το ίδιο ισχύει και για την ένταση.



Σχήμα 4.30: Μεταβολή της ιοντικής ισχύος συναρτήσει R_h και I για το QPDMAEMA-PLMA-3.

Το QPDMAEMA είναι ένας ισχυρός κατιονικός πολυηλεκτρολύτης και με τη παρουσία άλατος εμφανίζονται διαφοροποιήσεις στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις στην κορώνα, με αποτέλεσμα την συστολή των εκτεταμένων αλυσίδων της κορώνας των μικκυλίων. Συμπερασματικά, σύμφωνα με τις μετρήσεις αυτές η προσθήκη NaCl στο σύστημα οδηγεί σε μείωση του μεγέθους των μικκυλίων υποδηλώνοντας τη συρρίκνωση και αποσυσσωμάτωσή τους.

4.2.4 Σύμπλεξη QPDMAEMA-b-PLMA με DNA

Πραγματοποιήθηκαν μελέτες για τη χρήση των QPDMAEMA-b-PLMA πολυμερών ως φορείς γονιδιακής θεραπείας μέσω σύμπλεξης μορίων DNA στην θετικά φορτισμένη επιφάνεια της κορώνας QPDMAEMA των συμπολυμερών. Η συναρμογή του DNA με το πολυμερές πραγματοποιήθηκε σε διαφορετικές αναλογίες του λόγου N/P. Μεταβάλλοντας το λόγο των διαθέσιμων για ηλεκτροστατική σύζευξη φορτισμένων αμινομάδων με τα αρνητικά φορτισμένα νουκλεοτίδια (φωσφορικές ομάδες) του μορίου του DNA, μέσω τεχνικών σκέδασης φωτός προσδιορίστηκε η μεταβολή της έντασης σκεδάσεως, της υδροδυναμικής ακτίνας και του ζ-δυναμικού. Τα διαλύματα πολυμερούς – συμπλόκου έγιναν σε συγκέντρωση άλατος 0,01 NaCl.

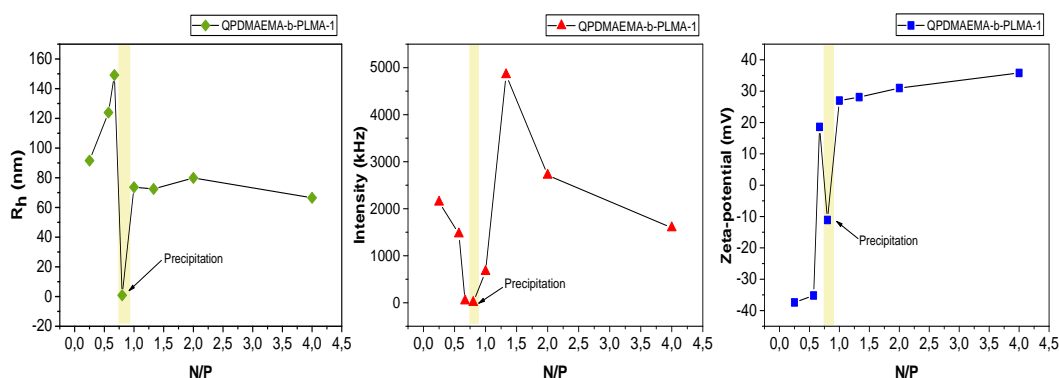
Μελετήθηκαν τρία από τα πέντε συμπολυμερή QPDMAEMA-b-PLMA διότι επέδειξαν μεγαλύτερη σταθερότητα με το πέρασ του χρόνου σε αντίθεση με τα άλλα δυο. Τα τρία εξεταζόμενα συστήματα εμφάνισαν την ίδια συμπεριφορά. Στα παρακάτω Σχήματα 4.31, 4.32 και 4.33 παρουσιάζεται η επίδραση της μεταβολής του λόγου N/P στην ακτίνα R_h , στην ένταση I και στο ζ-δυναμικό για τα μικκύλια συμπολυμερών QPDMAEMA-b-PLMA-1,2 και 3 αντίστοιχα.

Όπως φαίνεται στα σχήματα όσο αυξάνεται ο λόγος N/P η ακτίνα και η ένταση μειώνονται. Αντίθετα, σε χαμηλές τιμές του λόγου των φορτίων N/P υπάρχουν περισσότερες φωσφορικές ομάδες συνδεδεμένες ηλεκτροστατικά με το θετικό φορτίο της τεταρτοταγούς αμινομάδας του QPDMAEMA συνεπώς αυξάνεται και το μέγεθος των μικκυλίων. Η έντονη αύξηση της έντασης με την αύξηση της ακτίνας σηματοδοτεί ότι σε περίσσεια φωσφορικών ομάδων υπάρχουν φαινόμενα συσσωμάτωσης και καθίζησης.

Μέσω μετρήσεων ηλεκτροφορητικής σκέδασης φωτός προσδιορίστηκε η τιμή του ζ-δυναμικού για όλες τις αναλογίες φορτίων N/P. Παρατηρείται ότι σε χαμηλές τιμές N/P τα σωματίδια είναι φορτισμένα αρνητικά λόγω της παρουσίας περισσότερων φωσφορικών ομάδων, ενώ σε μεγαλύτερες τιμές N/P όπου υπερισχύουν οι θετικά φορτισμένες αμινομάδες το ζ-δυναμικό έχει θετικό φορτίο.

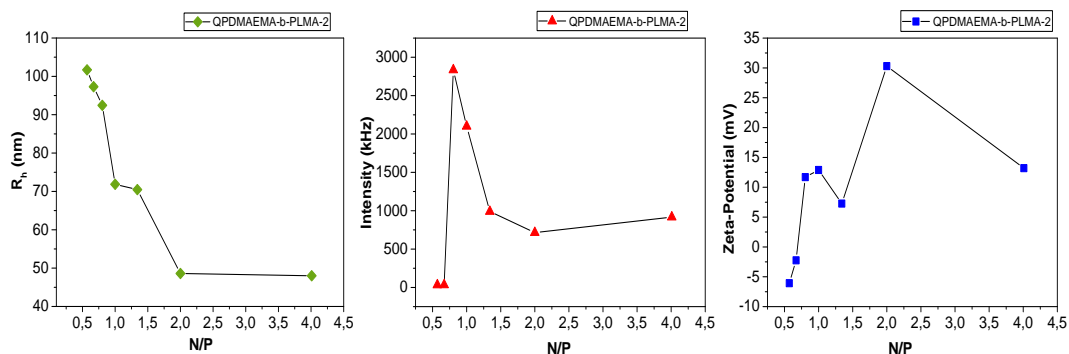
Επιπλέον από μετρήσεις στατικής σκέδασης φωτός προσδιορίστηκε κατά προσέγγιση η μορφολογία των μικκυλίων με τη σύμπλεξη του DNA στις διαφορετικές αναλογίες N/P. Οι τιμές R_g/R_h που προσκομίστηκαν για το συγκεκριμένο δείγμα κυμαίνονται από 0,7 σε χαμηλές τιμές του λόγου N/P έως 1,02 σε μεγαλύτερες. Συνεπώς παρατηρείται μια τάση να δημιουργούνται σφαιρικά μικκύλια με τη περίσσεια των φωσφορικών ομάδων.

Στο Σχήμα 4.31 για το διάλυμα συμπλόκου - πολυμερούς QPDMAEMA-b-PLMA-1 παρατηρείται ότι για τον λόγο φορτίων N/P γύρω στη τιμή 0,8 εμφανίζεται καθίζηση (*Precipitation*). Αυτό οφείλεται στο ότι το DNA που βρίσκεται γύρω από τη κορώννα και ο μικρός σε μέγεθος πυρήνας του PLMA (σύσταση 13%), το κάνουν να μπορεί να προσπελάσει τα φορτία που βρίσκονται κοντά στον πυρήνα με αποτέλεσμα το σύμπλοκο να καταβυθίζεται.



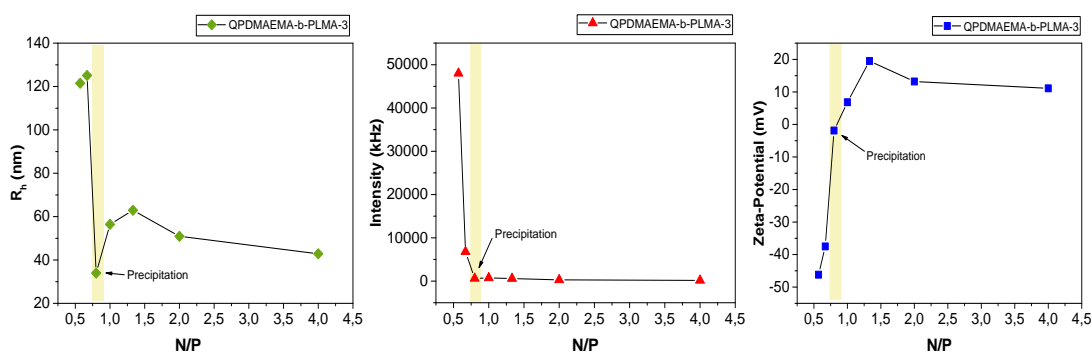
Σχήμα 4.31: Μεταβολή της R_h , έντασης I και ζ-δυναμικού συναρτήσει του λόγου N/P για το συμπολυμερές QPDMAEMA-b-PLMA-1.

Το διάλυμα συμπλόκου συμπολυμερούς QPDMAEMA-b-PLMA-2/DNA δεν παρουσιάζει εμφανή καθίζηση, όπως φαίνεται και το Σχήμα 4.32. Σε αυτή τη περίπτωση λόγω σύστασης (σύσταση 23% σε PLMA) δεν παρουσιάζεται καταβύθιση διότι υπάρχει μεγαλύτερο ποσοστό μη προσπελάσιμων φορτίων, κοντά στο εσωτερικό της κορώννας, τα οποία συνεισφέρουν στη διαλυτότητα του συμπλόκου.



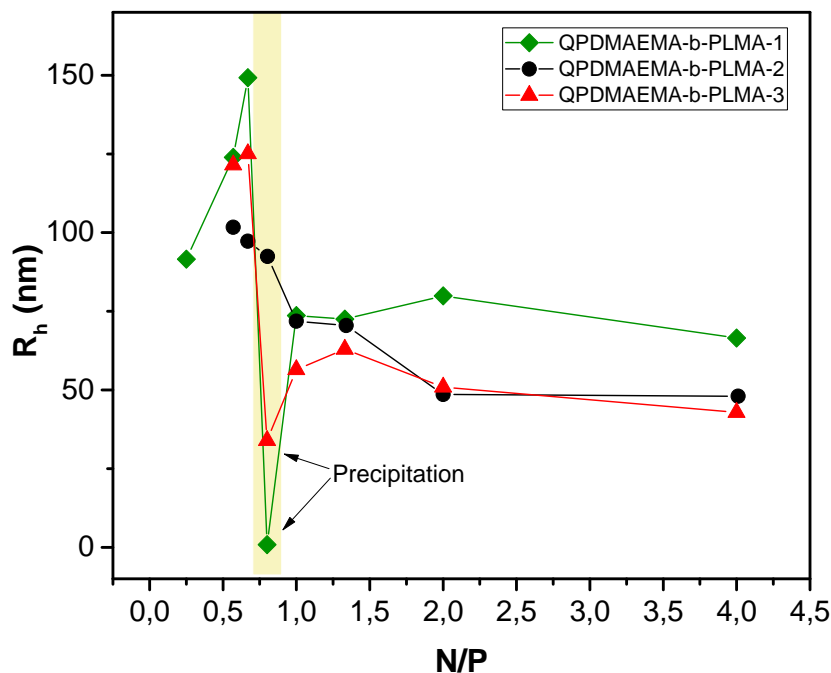
Σχήμα 4.32: Μεταβολή της R_h , έντασης I και ζ-δυναμικού συναρτήσει του λόγου N/P για το QPDMAEMA-b-PLMA-2.

Στη περίπτωση του QPDMAEMA-b-PLMA-3 (Σχήμα 4.33) εμφανίζεται καθίζηση στο λόγο φορτίων $N/P = 0,8$. Το συμπολυμερές αυτό διαθέτει ένα μεγαλύτερο σε μέγεθος υδρόφοβο πυρήνα PLMA (σύσταση 27%), σε σχέση με τα δυο προηγούμενα δείγματα, και λιγότερο σε υδρόφιλο. Τα φορτία των αλυσίδων DNA που βρίσκονται γύρω από τη κορώνα μπορούν να προσπελάσουν τα φορτία που βρίσκονται γύρω από το πυρήνα λόγω του μεγέθους του, με αποτέλεσμα να παρουσιάζεται και πιο ευρεία περιοχή καθίζησης μετά τη συμπλοκοποίηση. Επίσης το μεγαλύτερο ποσοστό υδροφοβικότητας συμβάλλει στη μικρότερη περιοχή σταθερότητας των συμπλόκων του συγκεκριμένου συμπολυμερούς.



Σχήμα 4.33: Μεταβολή της R_h , έντασης I και ζ-δυναμικού συναρτήσει του λόγου N/P για το QPDMAEMA-b-PLMA-3.

Στο Σχήμα 4.34 παρουσιάζεται συγκριτικά και για τα τρία διαλύματα η μεταβολή της υδροδυναμικής ακτίνας R_h συναρτήσει του λόγου N/P. Είναι ορατή η παρόμοια συμπεριφορά των μικκυλίων με την αύξηση του λόγου N/P καθώς και οι περιοχές όπου παρατηρήθηκε εμφανής καθίζηση των συμπλοκών.

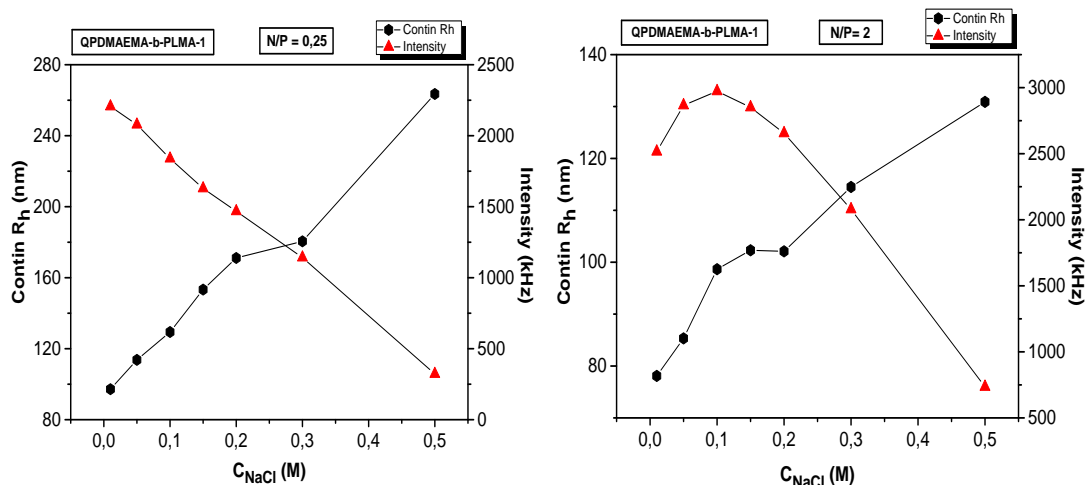


Σχήμα 4.34: Συγκριτικό διάγραμμα μεταβολής της R_h συναρτήσει του λόγου N/P για τα QPDMAEMA-b-PLMA-1,2 και 3.

4.2.4.1 Μελέτη επίδρασης ιοντικής ισχύος στα σύμπλοκα QPDMAEMA-b-PLMA/DNA

Τα σύμπλοκα QPDMAEMA-b-PLMA/DNA με διαφορετικούς λόγους N/P μελετήθηκαν και ως προς την επίδραση που έχει η αύξηση της ιοντικής ισχύος στη συμπεριφορά τους στο διάλυμα. Στα υδατικά διαλύματα QPDMAEMA-b-PLMA/DNA συγκέντρωσης 0,01M NaCl πραγματοποιήθηκαν 6 προσθήκες NaCl 1M συγκεντρώσεων από 0,01M (αρχική συγκέντρωση) έως 0,5M και στη συνέχεια μέσω της δυναμικής σκέδασης φωτός μετρήθηκαν οι μεταβολές της έντασης και της ακτίνας R_h με την αύξηση της αλατότητας του διαλύματος. Οι μετρήσεις έγιναν σε γωνία 90° , αρχική συγκέντρωση διαλύματος της τάξης των 10^{-4} g/ml, pH=7 και σε θερμοκρασία 25°C .

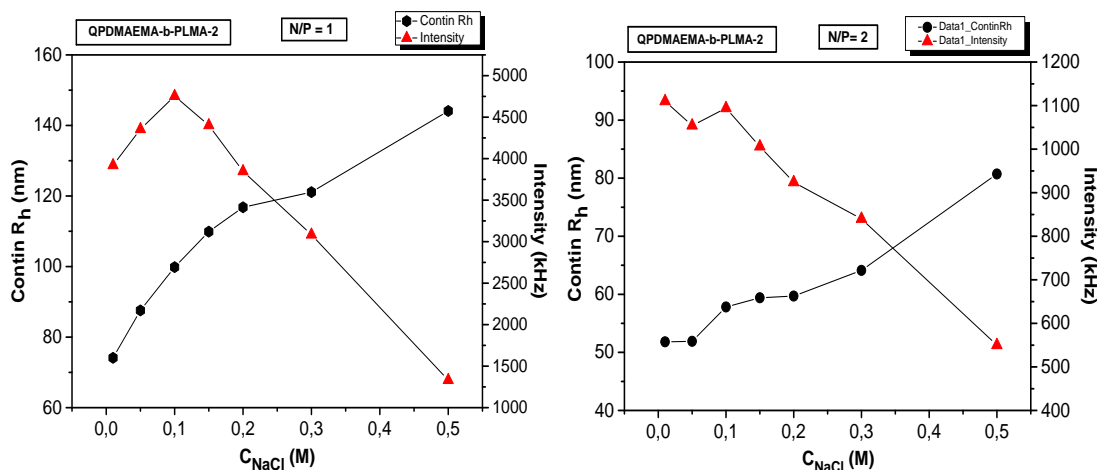
Για τις μετρήσεις επίδρασης της ιοντικής ισχύος επιλέχθησαν διαλύματα δυο διαφορετικών λόγων N/P για την κάθε σειρά συμπλόκων από αυτά που εμφάνιζαν μεγαλύτερη σταθερότητα με το πέρασ του χρόνου. Στο Σχήμα 4.35 παρουσιάζονται οι μεταβολές έντασης και ακτίνας R_h με την αύξηση της ιοντικής ισχύος του συμπλόκου QPDMAEMA-b-PLMA-1/ DNA για τους λόγους φορτίων N/P = 0,25 και N/P= 2. Από τα διαγράμματα παρατηρείται και για τους δυο λόγους φορτίων, η αύξηση της υδροδυναμικής ακτίνας και η έντονη μείωση της έντασης καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του άλατος στο διάλυμα. Η μείωση της έντασης σηματοδοτεί τη μείωση του συμπλόκου σε μάζα συνεπώς και την αποσύνθεσή του. Με την αύξηση της ακτίνας φαίνεται ότι απελευθερώνονται τα φορτία που ήταν αρχικά συμπλεγμένα μιας και το σύστημα τώρα είναι πιο διαλυτό και μπορεί να εγκλωβίσει περισσότερο νερό.



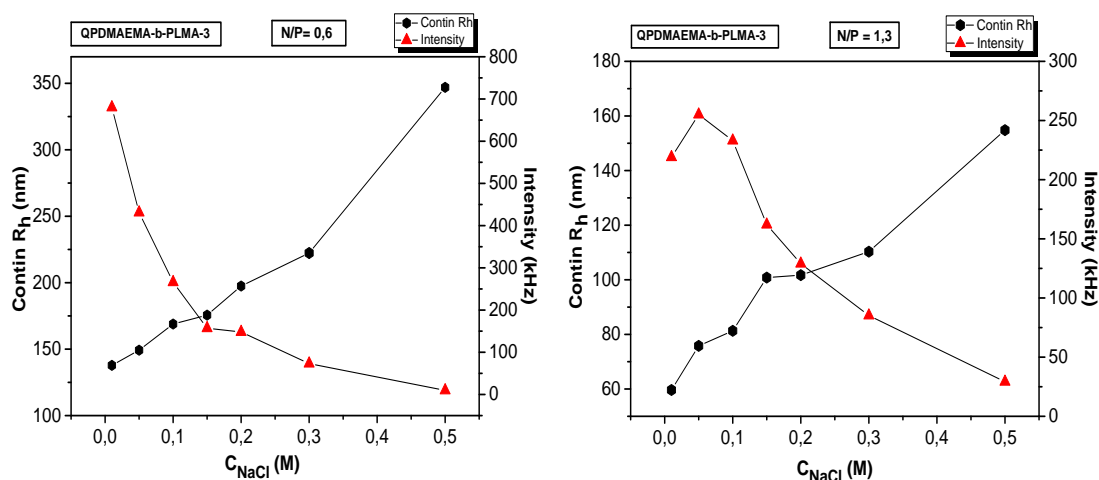
Σχήμα 4.35: Μεταβολή των R_h και I συναρτήσει της ιοντικής ισχύος για τα σύμπλοκα QPDMAEMA-PLMA-1 /DNA, για λόγους φορτίων N/P= 0,25 (αριστερά) και 2 (δεξιά).

Η ίδια συμπεριφορά απαντάται σε όλα τα συστήματα συμπλόκων πολυμερούς – DNA όπως φαίνεται και στα παρακάτω Σχήματα 4.36 και 4.37 για τα QPDMAEMA-b-PLMA-2 και 3 αντίστοιχα. Στο Σχήμα 4.36 παρουσιάζονται δυο διαγράμματα για το σύστημα συμπλόκου QPDMAEMA-b-PLMA-2 – DNA για τους λόγους N/P = 1 (αριστερό διάγραμμα) και 2 (δεξί διάγραμμα). Αντίστοιχα, στο Σχήμα 4.37 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για QPDMAEMA-b-PLMA-3 για τους λόγους N/P = 0,6 (αριστερό διάγραμμα) και

1,3 (δεξί διάγραμμα). Είναι εμφανής και στις δυο αυτές περιπτώσεις συμπλόκων, η μείωση της έντασης και η αύξηση της ακτίνας για τους δυο λόγους φορτίων N/P. Φαίνεται και σε αυτή τη περίπτωση ότι με την αύξηση της ιοντικής ισχύος το σύστημα αλληλεπιδρά με το NaCl απελευθερώνοντας φορτία που ήταν αρχικά συμπλεγμένα και κατ' επέκταση να αυξάνεται η ακτίνα λόγω αύξησης της διαλυτότητας του συστήματος.



Σχήμα 4.36: Μεταβολή των R_h και I συναρτήσει της ιοντικής ισχύος για τα σύμπλοκα QPDMAEMA-PLMA-2/ DNA, για λόγους φορτίων N/P= 1 (αριστερά) και 2 (δεξιά).

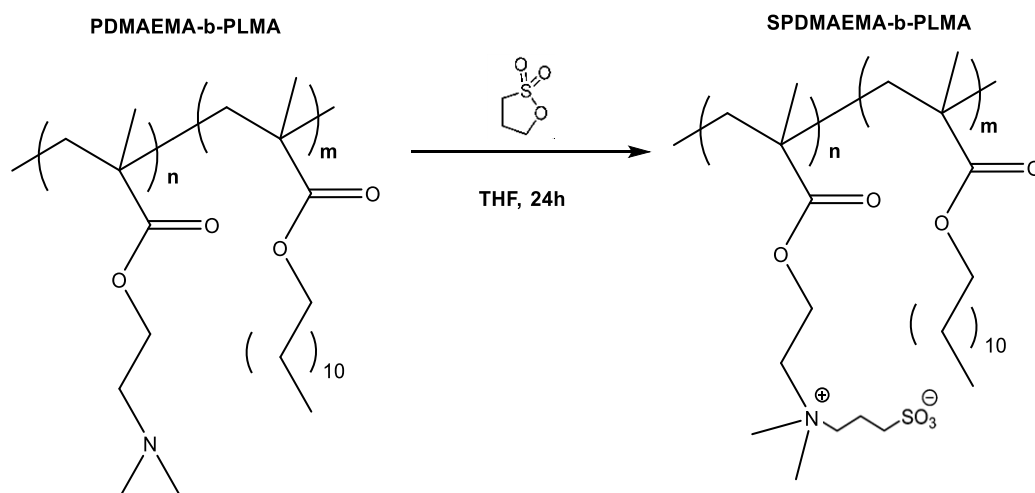


Σχήμα 4.37: Μεταβολή των R_h και I συναρτήσει της ιοντικής ισχύος για τα σύμπλοκα QPDMAEMA-PLMA-3/ DNA, για λόγους φορτίων N/P= 0,6 (αριστερά) και 1,3 (δεξιά).

4.3 Δισυσταδικά Αμφίφιλα Τροποποιημένα Συμπολυμερή SPDMAEMA-b-PLMA

4.3.1 Σύνθεση Συμπολυμερών SPDMAEMA-b-PLMA

Σε όλα τα PDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερή πραγματοποιήθηκε και μια επιπλέον διαδικασία τροποποίησης της τριτοταγούς αμινομάδας του PDMAEMA σε διπολική ομάδα σουλφοβεταΐνης (*Sulfobetainization*). Στη περίπτωση αυτή ο ασθενής κατιοντικός πολυηλεκτρολύτης PDMAEMA μέσω μετρατρέπεται σε πολυαμφολύτη. Σε διάλυμα πολυμερούς σε THF προστέθηκε υπό ανάδευση περίσσεια 1,3-κυκλοπροπανοσουλτόνης. Η αντίδραση έγινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, υπό συνεχή ανάδευση για 24 ώρες. Η πορεία της αντίδρασης και η δημιουργία των SPDMAEMA-b-PLMA πολυμερών περιγράφεται στο Σχήμα 4.38



Σχήμα 4.38: Αντίδραση μετατροπής αμίνης PDMAEMA σε ομάδα σουλφοβεταΐνης και δημιουργία συμπολυμερούς SPDMAEMA-b-PLMA.

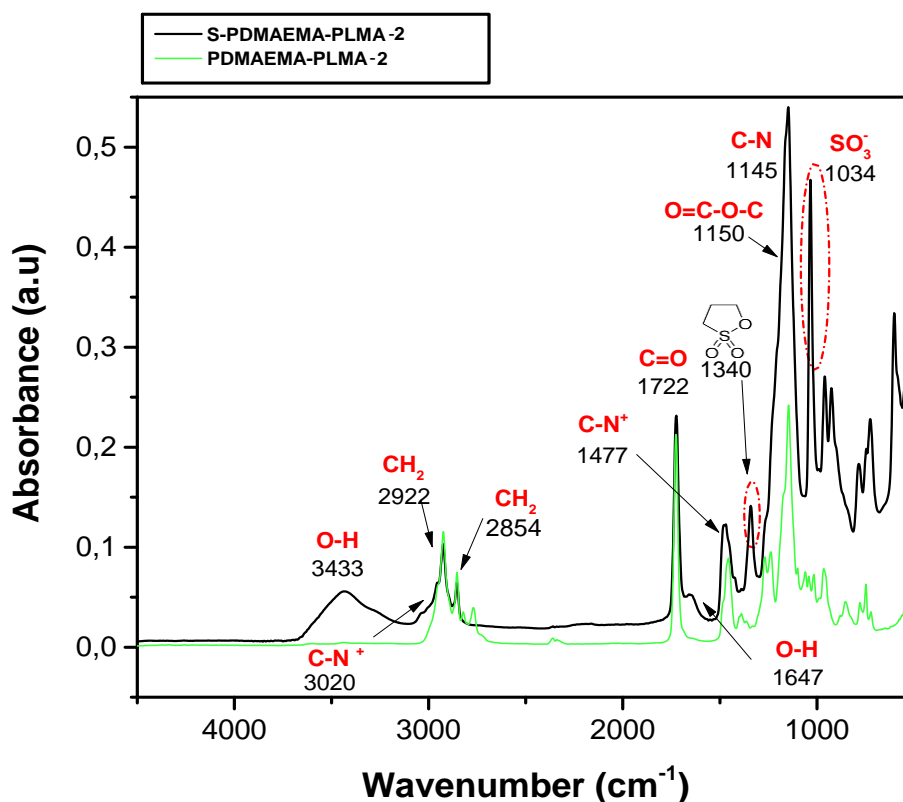
Ο προσδιορισμός της σύστασης και του μοριακού βάρους των πολυμερών με τη τροποποιημένη αμινομάδα σε ομάδα σουλφοβεταίνης πραγματοποιήθηκε με τον ίδιο τρόπο που περιγράφηκε και για τον υπολογισμό των QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών στην *Υποενότητα 4.2.1*. Η διαφορά είναι ό,τι σε αυτή τη περίπτωση προστίθεται το μοριακό βάρος της μονομερικής μονάδας του PDMAEMA με το μοριακό βάρος της 1,3-κυκλοπροπανοσουλτόνης. Θεωρώντας ότι η αντίδραση έχει πραγματοποιηθεί στο 100% σύμφωνα με τη βιβλιογραφία⁸⁹, στο παρακάτω *Πίνακα 4.7* παρατίθενται τα μοριακά βάρη και οι συστάσεις των SPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών.

Πίνακας 4.7: Μοριακά χαρακτηριστικά συμπολυμερών SPDMAEMA-b-PLMA.

Δείγμα SPDMAEMA-PLMA	M_w SPDMAEMA ($\times 10^{-4}$) (g/mol)	M_w	
		SPDMAEMA- PLMA ($\times 10^{-4}$) (g/mol)	Σύσταση (%) wt PLMA
SPDMAEMA-b-PLMA-1	2,46	2,86	14
SPDMAEMA-b-PLMA-2	2,01	2,65	24
SPDMAEMA-b-PLMA-3	0,92	1,29	29
SPDMAEMA-b-PLMA-4	0,89	1,47	39
SPDMAEMA-b-PLMA-5	0,75	1,89	60

Η φασματοσκοπία FT-IR χρησιμοποιήθηκε επίσης για την ποιοτική εξακρίβωση της επιτυχούς μετατροπής της αμινομάδας του PDMAEMA από τριτοταγή σε τεταρτοταγή ομάδα σουλφοβεταίνης. Στο *Σχήμα 4.39* παρατίθενται τα φάσματα FT-IR για το συμπολυμερές πριν και μετά την αντίδραση. Στα φάσματα παρατηρείται η εμφάνιση νέων κορυφών στο φάσμα του SPDMAEMA-b-PLMA που στο φάσμα του αρχικού συμπολυμερούς δεν ήταν ορατές.

Σύμφωνα με την αποτίμηση των κορυφών, στα 3433 cm^{-1} εμφανίζεται έκταση των δεσμών O-H, λόγω ενδογενούς υγρασίας. Χαρακτηριστικό παράδειγμα νέων κορυφών είναι η εμφάνιση της έντονης κορυφής στα 1034 cm^{-1} που δεν υπήρχε στη μη τροποποιημένη αμίνη της PDMAEMA συστάδας του συμπολυμερούς. Η κορυφή αυτή αντιστοιχεί σε έκταση των δεσμών της -SO_3^- ομάδας στην τροποποιημένη αμίνη [90]. Επίσης, στα 1340 cm^{-1} εμφανίζεται μια κορυφή που αντιστοιχεί σε 1,3-κυκλοπροπανοσουλτόνη και οφείλεται στη περίσσεια που χρησιμοποιήθηκε για να πραγματοποιηθεί η αντίδραση στο 100%. [90] Επιπροθέτως, οι κορυφές στα 3020 cm^{-1} και 1477 cm^{-1} αντιστοιχούν σε δόνησεις των δεσμών C-N⁺ της πλέον τεταρτοταγούς αμίνης. Συνεπώς, συμπερασματικά το φάσμα FT-IR υποδηλώνει την επιτυχή μετατροπή της τριτοταγούς αμίνης σε ομάδα σουλφοβηταΐνης.



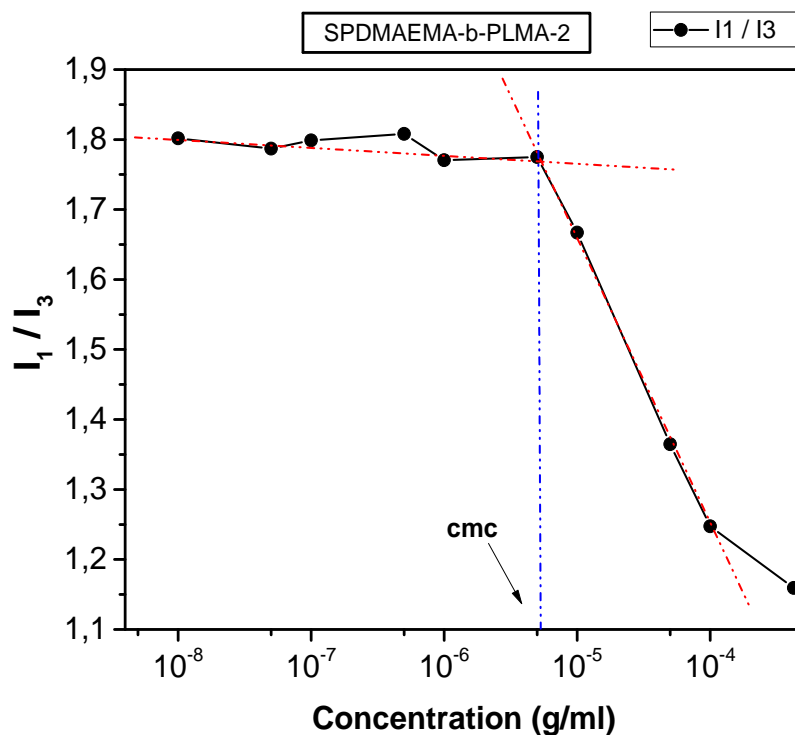
Σχήμα 4.39: Συγκριτικά φάσματα FT-IR συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA-2 και SPDMAEMA-b-PLMA-2.

4.3.2 Μοριακός – Φυσικοχημικός χαρακτηρισμός μικκυλίων συμπολυμερών SPDMAEMA-b-PLMA

Η αυτοοργάνωση των αμφίφιλων συμπολυμερών με τροποποιημένη την τριτοταγή αμινομάδα του PDMAEMA σε διπολική ομάδα σουλφοβεταΐνης πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ενός κοινού διαλύτη THF και για τις δυο συστάδες με σκοπό τη διαλυτοποίηση του στερεού πολυμερούς, ωστόσο δεν επιτεύχθηκε η διαλυτοποίηση του. Με μια σειρά βημάτων που ακολουθήθηκαν, όπως περιγράφονται στη πειραματική διαδικασία (*Κεφάλαιο 3^ο, Υποενότητα:3.5.5*), με τη προσθήκη NaCl 0,15M και την εξάτμιση του THF, τα διαλύματα των συμπολυμερών αυτο-οργανώθηκαν σε μικκυλιακές δομές. Η προσθήκη άλατος στη συγκεκριμένη συγκέντρωση έκανε διαλυτά τα SPDMAEMA-b-PLMA πολυμερή. Αυτό είναι αναμενόμενο διότι τα πολυμερή αυτά με τη τροποποίηση και τη προσθήκη της φορτισμένης ομάδας της σουλφοβεταΐνης μετατρέπονται σε αμφολύτες και δεν είναι διαλυτοί στο νερό, όμως με μια κατάλληλη συγκέντρωση άλατος διαλύονται σε υδατικά μέσα. Ωστόσο με την πάροδο του χρόνου οι δομές δεν εμφάνισαν σταθερότητα, με αποτέλεσμα το πολυμερές να καταβυθίζεται. Συνεπώς δεν ήταν δυνατή η μελέτη όλων των συστημάτων. Παρακάτω ακολουθούν αποτελέσματα μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν.

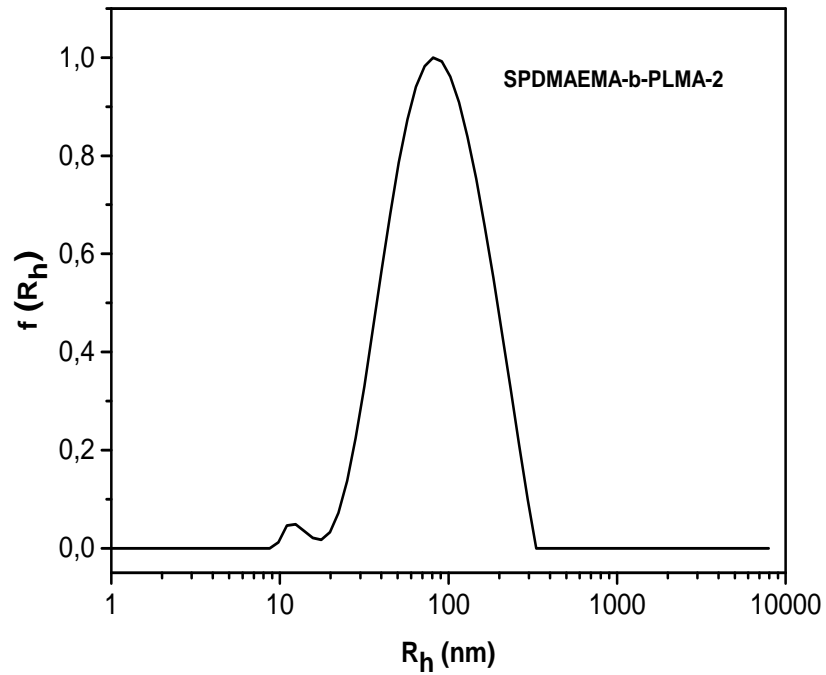
Ο προσδιορισμός της CMC των πολυμερικών μικκυλίων των τροποποιημένων SPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών έγινε μέσω φασματοσκοπίας φθορισμού (FS). Για τις μετρήσεις ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία που πραγματοποιήθηκε για το προσδιορισμό της CMC των PDMAEMA-b-PLMA και QPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών. Δηλαδή εγκλωβίστηκε πυρένιο στο πυρήνα των μικκυλίων ως ιχνηθέτης και μέσω της FS προσδιορίστηκε ο λόγος των σχετικών εντάσεων της πρώτης και τρίτης κορυφής που εμφανίζονται στο φάσμα του πυρενίου I1/I3. Ένα χαρακτηριστικό διάγραμμα του συμπολυμερούς SPDMAEMA-b-PLMA-2 φαίνεται στο Σχήμα 4.40. Οι τιμές της CMC που προσδιορίστηκαν δίνονται στον Πίνακα 4.8 για τα διαλύματα των SPDMAEMA-b-PLMA 2 και 3 πολυμερών διότι ήταν τα μόνα συστήματα που επέδειξαν σταθερότητα. Από τις τιμές του Πίνακα 4.8 φαίνεται πως η CMC των διαλυμάτων των

τροποποιημένων με σουλτόνη συμπολυμερών αυξάνεται κατά μια τάξη μεγέθους σε σχέση με τα διαλύματα των μη τροποποιημένων συμπολυμερών. Η αύξηση της CMC δείχνει την αύξηση της διαλυτότητας του συστήματος σε υδατικό μέσο, αλλά μόνο με τη προσθήκη άλατος στο διάλυμα διότι οι πολυαμφολυτες δεν είναι διαλυτοί στο νερό χαμηλής αλατότητας.

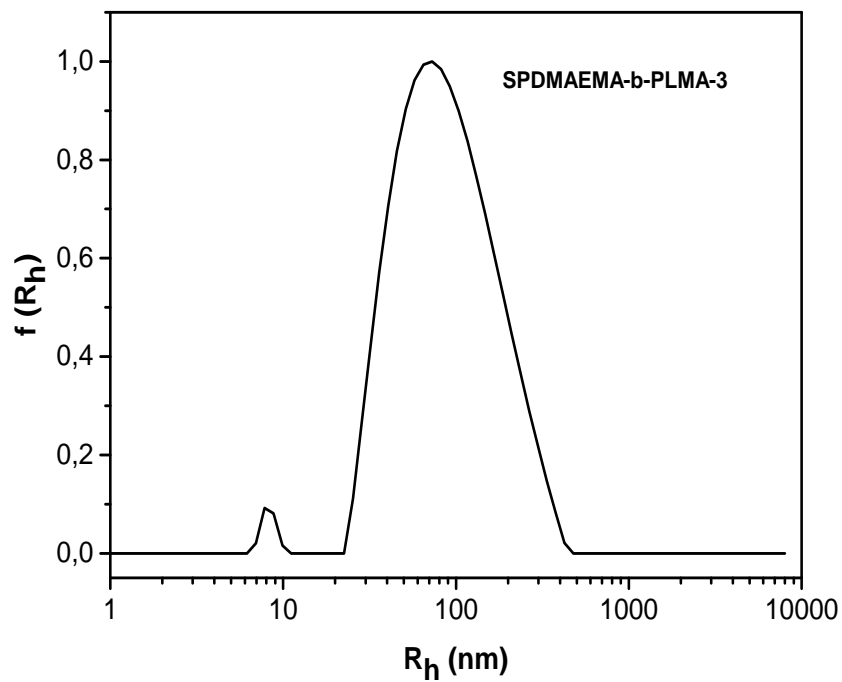


Σχήμα 4.40: Διάγραμμα συγκέντρωσης συναρτήσει της έντασης του λόγου των σχετικών κορυφών I_1 / I_3 του πυρενίου για το συμπολυμερές SPDMAEMA-b-PLMA-2.

Ο προσδιορισμός της φαινόμενης υδροδυναμικής ακτίνας (R_h) και του δείκτη πολυδιασποράς (PDI) των πολυμερικών μικκυλίων έγινε με μετρήσεις δυναμικής σκέδασης φωτός. Τα διαλύματα των μετρήθηκαν σε διαφορετικές γωνίες, σε pH=7 και σε συγκέντρωση της τάξης των 10^{-4} g/ml. Στα Σχήματα 4.41 και 4.42 παρατίθενται ενδεικτικά διαγράμματα κατανομής μεγεθών των πολυμερικών μικκυλίων (CONTIN) του συμπολυμερούς PDMAEMA-b-PLMA-2 και PDMAEMA-b-PLMA-3 αντίστοιχα, στη γωνία των 90° . Από τα διαγράμματα είναι ορατή η διαφορά στη κατανομή μεγεθών σε σχέση με τα αντίστοιχα διαλύματα των συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA, καθώς και η αύξηση της πολυδιασποράς του συστήματος.



Σχήμα 4.41: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του SPDMAEMA-b-PLMA-2 σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,15 M.



Σχήμα 4.42: Χαρακτηριστικό διάγραμμα DLS του SPDMAEMA-b-PLMA-3 σε υδατικό διάλυμα NaCl 0,15 M.

Μέσω της στατικής σκέδασης φωτός υπολογίσθηκε η γυροσκοπική ακτίνα (R_g) και κατ' επέκταση ο λόγος R_g/R_{h0} . Δεν ήταν δυνατός ο προσδιορισμός του φαινομένου μοριακού βάρους και του βαθμού συσσωμάτωσης, λόγω του ότι δεν είναι γνωστός μέσα από τη βιβλιογραφία ο λόγος dn/dc του PDMAEMA που έχει μια πλευρική ομάδα σουλφοβεταΐνης. Από το λόγο R_g/R_{h0} φαίνεται πως η μορφολογία των σωματιδίων δεν είναι αδιαμφισβήτητα σφαιρική, αλλά παραπέμπει ή σε συμμιγή/ σύνθετα μικκύλια (compound micelles) είτε σε κυστίδια είτε και σε πιο επιμήκεις δομές, χωρίς ωστόσο να είναι καλά καθορισμένες δομές και λόγω των μεγάλων κατανομών.

Από την ηλεκτροφορητική σκέδαση φωτός, οι τιμές του ζ-δυναμικού είναι αναμενόμενες διότι η επιφάνεια της κορώνας είναι αρνητικά φορτισμένη λόγω των ομάδων SO_3^- της σουλφοβεταΐνης.

Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα από SLS, DLS, ELS και FS για τα μικκύλια των SPDMAEMA-b-PLMA συμπολυμερών.

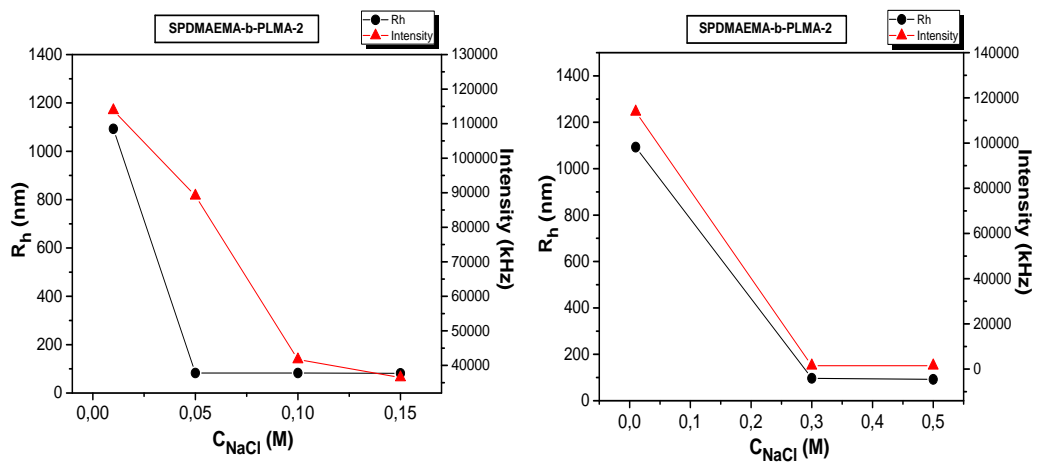
<u>SPDMAEMA-b-PLMA</u>						
Δείγμα	R_h (nm) 90°	PDI	R_g (nm)	R_g/R_{h0}	CMC (g/ml)	Z_p (mV)
SPDMAEMA-b-PLMA-2	82	0,3	161	1,11	$5,2 \cdot 10^{-6}$	-6,7
SPDMAEMA-b-PLMA-3	73	0,31	170	1,22	$3,03 \cdot 10^{-6}$	-5,8
SPDMAEMA-b-PLMA-4	105	0,32	277	1,59	-	-11,6
SPDMAEMA-b-PLMA-5	100	0,19	160	1,08	-	-12,4

4.3.2.1 Μελέτη επίδρασης ιοντικής ισχύος στα SPDMAEMA-b-PLMA

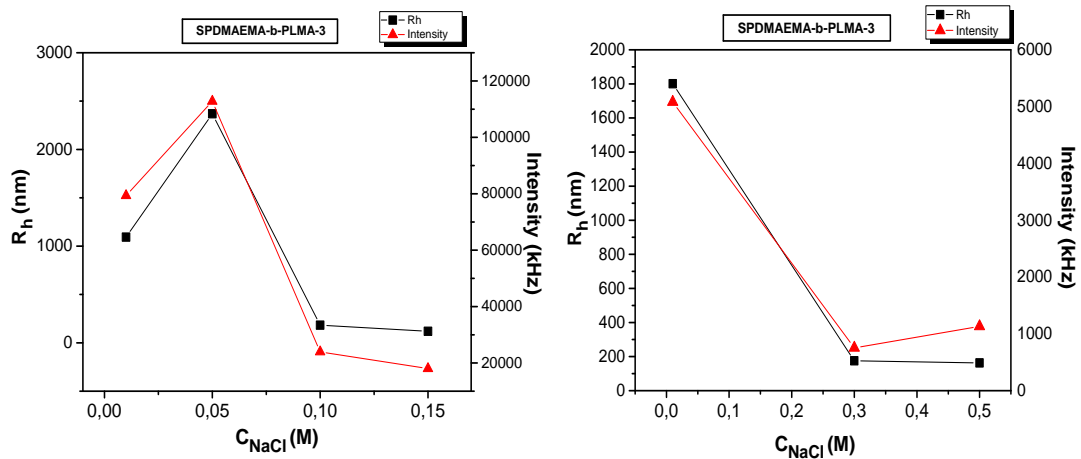
Μελετήθηκε η συμπεριφορά της αυτοοργάνωσης των διαλυμάτων SPDMAEMA-b-PLMA με την αύξηση και μείωση της ιοντικής ισχύος. Τα διαλύματα έχουν ως αρχική συγκέντρωση άλατος 0,15M NaCl. Αρχικά, μελετάται η μείωση της ιοντικής ισχύος πραγματοποιώντας διαδοχικές αραιώσεις του διαλύματος στις συγκεντρώσεις των 0,1M, 0,05M και 0,01M NaCl. Στη συνέχεια, από την τελική συγκέντρωση άλατος του διαλύματος 0,01M μελετάται η αύξηση της ιοντικής ισχύος προσθέτοντας διαδοχικά διάλυμα NaCl 1M και φτάνοντας σε συγκεντρώσεις 0,3M και 0,5M. Έγιναν μετρήσεις DLS για τον προσδιορισμό της έντασης και της R_h σε γωνία 90° , συγκέντρωση διαλύματος της τάξης των 10^{-4} g/ml, pH=7 και $\theta = 25^\circ\text{C}$.

Τα διαγράμματα του Σχήματος 4.43 δείχνουν την επίδραση της ιοντικής ισχύος στο σύστημα ως προς τη μείωση (αριστερό διάγραμμα) και ως προς την αύξησή της (δεξί διάγραμμα). Στο διάγραμμα της μείωσης παρατηρείται ότι η ένταση και η ακτίνα αυξάνονται απότομα από τη συγκέντρωση 0,15 προς τη συγκέντρωση 0,01M, γεγονός που δείχνει ότι λαμβάνει χώρα εκτεταμένη δευτερογενής συσσωμάτωση. Οι ελκτικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις μεταξύ των αλυσίδων εμποδίζουν τη μοριακή διάλυση του πολυμερούς με αποτέλεσμα σε μικρές συγκεντρώσεις άλατος να μην είναι διαλυτό. Αντίθετα, στην περίπτωση αύξησης της ιοντικής ισχύος η ένταση και η ακτίνα R_h μειώνονται. Φαίνεται ότι πραγματοποιείται η αποσυσσωμάτωση των υπάρχοντων συσσωματωμάτων και το σύστημα να γίνεται πιο διαλυτό. Αυτό οφείλεται στο ότι πολυμερικές αλυσίδες προτιμούν να συμπλεχθούν με τον προστιθέμενο ηλεκτρολύτη, με συνέπεια την μείωση των μεταξύ τους ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων και την αύξηση της διαλυτότητας του συστήματος.

Η ίδια επίδραση της ιοντικής ισχύος απαντάται και στο διάλυμα του SPDMAEMA-b-PLMA-3 πολυμερούς, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 4.44. Η συμπεριφορά αυτή των συμπολυμερών SPDMAEMA-b-PLMA οφείλεται στην αντι-πολυηλεκτρολυτική συμπεριφορά που εμφανίζουν οι πολυαμφολύτες.[91,92]



Σχήμα 4.43: Μείωση (αριστερά) και αύξηση (δεξιά) της ιοντικής ισχύος του διαλύματος πολυμερούς SPDMAEMA-b-PLMA-2.



Σχήμα 4.44: Μείωση (αριστερά) και αύξηση (δεξιά) της ιοντικής ισχύος του διαλύματος πολυμερούς SPDMAEMA-b-PLMA-3.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ολοκληρώνοντας αυτή την ερευνητική εργασία τα συμπεράσματα που αποκομίστηκαν περιλαμβάνουν την επιτυχή σύνθεση των αμφίφιλων συμπολυμερών PDMAEMA-b-PLMA μέσω της τεχνικής πολυμερισμού RAFT, σε διαφορετικές κατά βάρος συστάσεις ως προς τη συστάδα του κάθε πολυμερούς. Μέσω της χρωματογραφίας αποκλεισμού μεγεθών διαπιστώθηκε ότι πάρθηκαν τα επιθυμητά μοριακά βάρη και χαρακτηριστικά, με ικανοποιητικές κατανομές που εντάσσονται στα όρια της τεχνικής RAFT. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε η επιτυχής σύνθεση των παράγωγων πολυηλεκτρολυτών κατά συστάδες με αντιδράσεις τεταρτοταγοποίησης της αμίνης του PDMAEMA, όπως κατέδειξε και η φασματοσκοπία IR.

Σε επόμενο στάδιο, παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα μικκυλίων των αμφίφιλων συμπολυμερών χρησιμοποιώντας διαφορετικά πρωτόκολλα παρασκευής και μελετήθηκε η αυτό-οργάνωση τους. Διαπιστώθηκε μέσω μετρήσεων δυναμικής και στατικής σκέδασης φωτός ότι το πρωτόκολλο παρασκευής των διαλυμάτων επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό την αυτο-οργάνωση των συμπολυμερών. Τα μικκύλια των πολυμερικών συστημάτων επέδειξαν σταθερότητα εκτός από τα διαλύματα SPDMAEMA-b-PLMA πολυμερών που εμφάνισαν δυσκολίες στην παρασκευή μικκυλιακών δομών σε υδατικά διαλύματα. Προσδιορίστηκαν χαρακτηριστικά των μικκυλιακών δομών όπως η κρίσιμη μικκυλιακή συγκέντρωση μέσω φασματοσκοπίας φθορισμού. Επιπλέον από τη χρήση των SLS και TEM προσδιορίστηκε η μορφολογία των μικκυλίων που είναι σφαιρική και ενίοτε συμμιγή/σύνθετη σε υδατικά περιβάλλοντα με μεγάλους αριθμούς συσσωμάτωσης και εύπλαστους πυρήνες.

Στη συνέχεια, μελετήθηκε η απόκριση των συστημάτων σε ερεθίσματα όπως θερμοκρασία, pH και ιονική ισχύς. Τα αποτελέσματα έδειξαν την έντονη απόκριση των πολυμερών σε αυτές τις φυσικοχημικές παραμέτρους, η οποία εξαρτάται από τη σύστασή τους σε υδρόφιλη συστάδα PDMAEMA. Οι

συμπεριφορές που παρατηρήθηκαν ανταποκρίνονται σε αυτές που περιγράφονται για το PDMAEMA στη βιβλιογραφία.

Τα QPDMAEMA-b-PLMA πολυμερή χρησιμοποιήθηκαν για τη σύμπλεξη των θετικά φορτισμένων αμινομάδων του PDMAEMA με τις αρνητικά φορτισμένες φωσφορικές ομάδες του DNA για διαφορετικούς λόγους N/P. Σε συγκεκριμένους λόγους N/P και πολυμερικά συστήματα εμφανίσθηκε καταβύθιση του συμπλόκου QPDMAEMA-b-PLMA / DNA λόγω πλήρους αδρανοποίησης των φορτίων του συστήματος ή μερικής που οδηγεί όμως σε μείωση της διαλυτότητας των συμπλόκων. Τέλος, μελετήθηκε και η επίδραση της ιοντικής ισχύος στα σύμπλοκα αυτά και για συγκεκριμένους λόγους φορτίων και διαπιστώθηκε η αλληλεπίδραση με το NaCl και η αύξηση της διαλυτότητας των συμπλόκων.

Συμπερασματικά, τα συμπολυμερή PDMAEMA-b-PLMA και τα παράγωγά τους επέδειξαν ενδιαφέρον τόσο από συνθετική σκοπιά, όσο και από συμπεριφορά αυτο-οργάνωσης σε υδατικά διαλύματα. Η επιτυχία σύμπλεξης με αρνητικά φορτισμένα μακρομόρια τα καθιστά ενδιαφέροντα συστήματα για περαιτέρω μελέτη με το σωστό σχεδιασμό των παραμέτρων που επηρεάζουν τα συστήματα αυτά. Τέλος, μελλοντική χρήση τους αφορά τον εγκλωβισμό φαρμάκου στο πυρήνα του PLMA και παράλληλα σύμπλεξη μακρομορίων (DNA, RNA, πρωτεΐνες) και αντιγόνων με τη φορτισμένη θετικά κορώνα του PDMAEMA, για πολυσχιδή θεραπεία.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Πίνακας 6.1: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate)	πολυ(μεθακρυλικός εστέρας της διμεθυλοαμινοαιθανόλης)
poly(lauryl methacrylate)	πολυ(μεθακρυλικός εστέρας της δωδεκανόλης)
Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer	Πολυμερισμός Αντιστρεπτής Προσθήκης-Μεταφοράς Αλυσίδας με Απόσπαση
Chain Transfer Agent	Μέσο Μεταφοράς Αλυσίδας
Quaternization	Τεταρτοταγοποίηση
Sulfobetaines	Σουλφοβεταΐνες
Polyelectrolytes	Πολυηλεκτρολύτες
Thin Film Hydration Method.	Μέθοδος ενυδάτωσης λεπτού υμενίου
Dialysis	Διαπίδυση μέσω ημιπερατής μεμβράνης
Critical micelle concentration	Κρίσιμη Μικκυλιακή συγκέντρωση
Lower Critical Solution Temperature	Κατώτερη Κρίσιμη Θερμοκρασία Διαλύματος
Upper Critical Solution Temperature	Ανώτερη Κρίσιμη Θερμοκρασία Διαλύματος
Size Exclusion Chromatography	Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγεθών

Nuclear Magnetic Resonance	Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός
Dynamic Light Scattering	Δυναμική Σκέδαση Φωτός
Static Light Scattering	Στατική Σκέδαση Φωτός
Zeta-Potential	ζ-δυναμικό
Transmission Electron Microscopy	Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Διέλευσης

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμια και ανάπτυξη τους

PDMAEMA	poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate)
PLMA	poly(lauryl methacrylate)
QPDMAEMA	Quaternized poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate)
SPDMAEMA	Sulfobetainized poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate)
RAFT	Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer
AIBN	Αζω-διισοβουτυρονιτρίλιο
SEC	Size Exclusion Chromatography
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
¹ HNR	Proton Nuclear Magnetic Resonance
CDCl ₃	Deuterium Chloroform
FT-IR	Fourier Transmission Infra Red
DLS	Dynamic Light Scattering
SLS	Static Light Scattering
FS	Fluorescence
ELS	Electrophoretic Light Scattering

dn/dc	Differential Refractive Index
R _h	Υδροδυναμική Ακτίνα
R _g	Γυροσκοπική Ακτίνα
N _{agg}	Βαθμός Συσσωμάτωσης
THF	Τετραϋδροφουράνιο
LCST	Lower Critical Solution Temperature, LCST
UCST	Upper Critical Solution Temperature, LCST
CMC	Critical Micelle Concentration
TEM	Transmission Electron Microscopy

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Zupancich, J. A., "Amphiphilic Block Copolymers for Biomedical Applications", Chapter 1: Background, ProQuest, (2008).
2. Riess, G. "Micellization of block copolymers", *Progress in Polymer Science*, vol. 28(7), pp.1107-1170, (2003).
3. Hadjichristidis, N., Pispas, S., & Floudas, G. "Block copolymers: synthetic strategies, physical properties, and applications", Wiley Interscience, (2003).
4. 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).
5. Gohy, J. F., "Block copolymer micelles", Chapter in: Block copolymers II, *Advances in Polymer Science*, vol.190, pp.65-136, (2005).
6. Munk, P. "Equilibrium and nonequilibrium polymer micelles". Chapter: Solvents and Self-organization of Polymers, pp.19-32, Springer Netherlands, (1996).
7. Quémener, D., Deratani, A., & Lecommandoux, S. "Dynamic assembly of block-copolymers", Chapter in: Constitutional Dynamic Chemistry. pp. 165-192. Springer Berlin Heidelberg, (2011).
8. Hadjichristidis, N., Iatrou, H., Pitsikalis, M., Pispas, S., & Avgeropoulos, A., "Linear and non-linear triblock terpolymers. Synthesis, self-assembly in selective solvents and in bulk", *Progress in Polymer Science*, vol.30(7), pp.725-782, (2005).
9. Rangelov, S., & Pispas, A., "Polymer and polymer-hybrid nanoparticles: from synthesis to biomedical applications", CRC Press, (2013).
10. Blanz, 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).
11. Kim, Y., Dalhaimer, P., Christian, D. A., & Discher, D. E. “Polymeric worm micelles as nano-carriers for drug delivery”, *Nanotechnology*, vol.16(7), pp.484, (2005).
 12. Förster, S., & Konrad, M. “From self-organizing polymers to nano-and biomaterials”, *Journal of Materials Chemistry*, vol.13(11), pp.2671-2688, (2003).
 13. LoPresti, C., Lomas, H., Massignani, M., Smart, T., & Battaglia, G. “Polymersomes: nature inspired nanometer sized compartments”, *Journal of Materials Chemistry*, vol.19(22), pp.3576-3590, (2009).
 14. Massignani, M., Lomas, H., & Battaglia G, “Polymersomes: a synthetic biological approach to encapsulation and delivery” In *Modern Techniques for Nano and Microreactors/-reactions*, pp.115-154, Springer Berlin Heidelberg, (2010).
 15. Onaca, O., Enea, R., Hughes, D. W., & Meier, W. “Stimuli-Responsive Polymersomes as Nanocarriers for Drug and Gene Delivery”, *Macromolecular Bioscience*, vol. 9(2), pp.129-139, (2009).
 16. Πιτσικάλης Μαρίνος, “Ειδικά θέματα επιστήμης πολυμερών”, Σημειώσεις Μαθήματος, Τμήμα Χημείας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, (2010).
 17. Schärftl, W. “Light scattering from polymer solutions and nanoparticle dispersions”, Springer Science & Business Media, (2007).
 18. Μ. Καραγιάννη, Αυτοοργάνωση Πολυμερών: Πολυηλεκτρολύτες και Σύμπλοκά τους με Πρωτεΐνες, Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Χημείας, ΕΚΠΑ, (2012).
 19. F. Oosawa, *Polyelectrolytes*, Marcel & Dekker, (1971).
 20. T. Radeva, *Physical Chemistry of Polyelectrolytes*, Marcel & Dekker, (2001).

21. M. Mandel, 'Polyelectrolytes' in Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Wiley, Interscience, vol.11, (Polyelectrolytes).
22. Moffitt, M., Khougaz, K., & Eisenberg, A. "Micellization of ionic block copolymers", *Accounts of Chemical Research*, vol.29(2), pp.95-102, (1996).
23. Hales, K., & Pochan, D. J. "Using polyelectrolyte block copolymers to tune nanostructure assembly" *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, vol.11(6), pp.330-336, (2006).
24. Förster, S., Abetz, V., & Müller, A. H. "Polyelectrolyte block copolymer micelles", *Advanced Polymer Science*, vol.166, pp.173-210, (2004).
25. Van Durme, K., Rahier, H., & Van Mele, B., "Influence of additives on the thermoresponsive behavior of polymers in aqueous solution", *Macromolecules*, vol.38(24), pp.10155-10163, (2005).
26. Polymeric Materials Encyclopedia, vol. 17, Water Soluble Polymers.
27. Moradi-Araghi, A., Beardmore, D. H., & Stahl, G. A. "The application of gels in enhanced oil recovery: theory, polymers and crosslinker systems In Water-Soluble Polymers for Petroleum Recovery", pp.299-312. Springer US, (1988).
28. Gupta, P., Vermani, K., & Garg, S. "Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery", *Drug Discovery Today*, vol. 7(10), pp.569-579, (2002).
29. Jeong, B., & Gutowska, A. "Lessons from nature: stimuli-responsive polymers and their biomedical applications", *Trends in Biotechnology*, vol. 20(7), pp.305-311, (2002).
30. Schmaljohann, D. "Thermo-and pH-responsive polymers in drug delivery", *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 58(15), pp.1655-1670, (2006).
31. Gan, L. H., Gan, Y. Y., & Deen, G. R. "Poly(N-acryloyl-N'-propylpiperazine): A new stimuli-responsive polymer", *Macromolecules*, vol.33(21), pp.7893-7897, (2000).

32. Kurisawa, M., & Yui, N. "Dual-stimuli-responsive drug release from interpenetrating polymer network-structured hydrogels of gelatin and dextran", *Journal of Controlled Release*, vol. 54(2), pp.191-200, (1998).
33. Seuring, J., & Agarwal, S. "Polymers with upper critical solution temperature in aqueous solution", *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 33(22),pp.1898-1920, (2012).
34. Fujishige S, Ando KKI. *Journal of Physical Chemistry*,vol.93, pp.3311–3, (1989).
35. Phillips, D. J., & Gibson, M. I. "Towards being genuinely smart:'isothermally-responsive'polymers as versatile, programmable scaffolds for biologically-adaptable materials", *Polymer Chemistry*, vol.6(7),pp.1033-1043, (2015).
36. Tonge, S. R., & Tighe, B. J., "Responsive hydrophobically associating polymers: a review of structure and properties" *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol.53(1), pp.109-122, (2001).
37. Philippova, O. E., Hourdet, D., Audebert, R., & Khokhlov, A. R., "pH-responsive gels of hydrophobically modified poly (acrylic acid)", *Macromolecules*, vol.30(26), pp.8278-8285, (1997).
38. Torres-Lugo, M., & Peppas, N. A., "Molecular design and in vitro studies of novel pH-sensitive hydrogels for the oral delivery of calcitonin", *Macromolecules*, vol.32(20),pp.6646-6651, (1999).
39. Park SY, Bae YH., "Novel pH-sensitive polymers containing sulfonamide groups", *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 20, pp.269–73, (1999).
40. Kang SI, Bae YH., "A sulfonamide based glucose-responsive hydrogel with covalently immobilized glucose oxidase and catalase", *Journal of Controlled Release*, vol. 86,pp.115–21, (2003).
41. Pinkrah, V. T., Snowden, M. J., Mitchell, J. C., Seidel, J., Chowdhry, B. Z., & Fern, G. R, "Physicochemical properties of poly (N-isopropylacrylamide-co-4-vinylpyridine) cationic polyelectrolyte colloidal microgels", *Langmuir*, vol.19(3),pp. 585-590, (2003).

42. Lee AS, Butun V, Vamvakaki M, Armes SP, Pople JA, Gast AP, "Structure of pH-Dependent Block Copolymer Micelles: Charge and Ionic Strength Dependence", *Macromolecules*, vol.35, pp. 8540–51, (2002).
43. Gohy J, Lohmeijer BGG, Varshney SK, Decamps B, Leroy E, Boileau S, Schubert US, *Macromolecules*, vol. 35, pp. 9748–55, (2002).
44. Gao X., Kucerka N., Nich M.P., Katsaras J., Zhu S., Brash J., Sheardown H., "Chain conformation of a new glass of PEG-based thermoresponsive polymer brushes grafted on silicon as determined by neutron reflectometry", *Langmuir*, vol. 25 (17), pp.10271-10278, (2009).
45. Meredith A. Mintzer and Eric E. Simanek, "Nonviral Vectors for Gene Delivery", *Chemical Reviews*, vol.109, pp. 259–302, (2009).
46. G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, "Radical addition fragmentation chemistry in polymer synthesis", *Polymer*, vol. 49, pp. 1079-1131, (2008).
47. G. Moad, E. Rizzardo, S. H. Thang, "Living Radical Polymerization by the RAFT Process—A First Update", *Australian. Journal of Chemistry*, vol. 59, pp. 669–692, (2006).
48. A. E. Smith, X. Xu, C. L. McCormick, "Stimuli-responsive amphiphilic (co)polymers via RAFT polymerization", *Progress in Polymer Science*, vol. 35, pp. 45-93, (2010).
49. Skoog, Douglas A, F. James Holler and Timothy Nieman. Principles of Instrumental Analysis (5 ed.), New York. pp. 805–808, (1998).
50. Hiemenz P., "Polymer Chemistry: The Basic Concepts", Marcel Dekker, New York, Chap. 1, pp. 642-652, (1984).
51. Gedde U. W., "Polymer Physics", Chapman and Hall: UK, Chap.1, pp.118, (1995).
52. Ιατρού Ε., Σιακαλη Α, Χατζηχρησιδης Ν, Σημειώσεις εργαστηριακών ασκήσεων "Χημείας πολυμερών", Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, (2002).

53. Ιατρού Ε, Πίσπας Α, Πισικάλης Μ, “Μέθοδοι χαρακτηρισμού πολυμερών”, Σημειώσεις μεταπτυχιακού μαθήματος Μέθοδοι χαρακτηρισμού πολυμερών, Μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών: Επιστήμη πολυμερών και εφαρμογές της, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
54. Παναγιώτου Κ., Επιστήμη και Τεχνολογία Πολυμερών, 2η έκδοση, Πήγασος, Κεφ. 8, σελ. 255-258, Θεσσαλονίκη, (2000).
55. Παρουσίαση μαθήματος, Τμήμα φαρμακευτικής, ΕΚΠΑ, http://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/PHARM110/ir_nmr_presentation.pdf
56. L.G. Wade, JR Withman College, Οργανική χημεία, 7η έκδοση, Εκδόσεις Τζιόλα.
57. <http://byjus.com/chemistry/nmr-spectroscopy/>
58. Ε. Ι. Καμίτσος, *Σημειώσεις Φασματοσκοπίας Υπερύθρου*, Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών “Επιστήμη Πολυμερών και Εφαρμογές της”, (2002).
59. N. J. Harrick, “Internal Reflection Spectroscopy”, John Wiley & Sons, (1967).
60. Βαλαβανίδης Αθανάσιος, “Βασικές Αρχές Μοριακής Φασματοσκοπίας και Εφαρμογές στην Οργανική Χημεία”, *Εκδόσεις Σύγχρονα Θέματα*, Αθήνα, (2008).
61. Sharma, A., & Schulman, S. G. “Introduction to fluorescence spectroscopy”, *Wiley-interscience*, vol. 13, (1999).
62. N. C. Santos, M. Castanho, “Teaching Light Scattering Spectroscopy: The Dimension and Shape of Tobacco Mosaic Virus”, *Biophysics Journal*, vol. 71, pp 1641-1646, (1996).
63. R. Pecora, “Dynamic light scattering: Applications of photon correlation spectroscopy”, Plenum Press, (1985).
64. S. W. Provencher, “Inverse problems in polymer characterization: Direct analysis of polydispersity with photon correlation spectroscopy”, *Macromolecular. Chemistry Physics*, vol. 180, pp. 201-209, (1979).

65. R. J. Hunter, "Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications", Academic Press, (1981).
66. A. V. Delgado, F. Gonzalez-Caballero, R. J. Hunter, L. K. Koopal, J. Lyklema, Measurement and Interpretation of Electrokinetic Phenomena, *Pure Applied Chemistry*, vol. 77 (10), pp.1753–1850, (2005).
67. Zetasizer Nano Series, "Zeta Potential Theory", Chapter 16, Malvern Instruments Ltd.
68. Γκοτζαμάνης Γεώργιος, "Ανάπτυξη νέων 'ευφυών' κατά συστάδες συμπολυμερών τύπου ομοπολυμερές-στατιστικό συμπολυμερές", Διδακτορική Διατριβή, Πάτρα, (2007).
69. D. Williams, C. Carter, "Transmission electron microscopy", *Plenum Press*, New York, (1996).
70. Πίσπας Αστέριος, "Συστάδες-Στυρενίου με ακραίες πολικές ομάδες: Σύνθεση-Χαρακτηρισμός-Ιδιότητες σε αραιά διαλύματα", Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ), (1994).
71. Qianqian Y, Puyu Z, "Synthesis of copper complexes of poly [2-(dimethylamino ethyl methacrylate)-b-poly (oligo (ethylene glycol) monomethylether methacrylate)-b-poly [2-(dimethylamino ethyl methacrylate)", *Advanced Materials*, vol. 668, pp. 145-148, (2013).
72. Athanasios Skandalis, Stergios Pispas, "PLMA-b-POEGMA amphiphilic block copolymers: Synthesis and self-assembly in aqueous media", Wiley Periodicals, *Polymer Chemistry*, vol. 55, pp.155–163, (2017).
73. John Coates, "Interpretation of Infrared Spectra: A practical Approach, Encyclopedia of Analytical Chemistry", pp. 10815-10837, *Chichester*, (2000).
74. George Socrates, "Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies Tables and Charts", 3rd Edition, Chapter 9: Amines, Imines and their Hydrohalides, pp.110, *Wiley*, (2004).
75. Norman B. Colthup, Stephen E. Wiberley, Lawrence H. Daly, "Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy", 2nd Edition, Chapter

- 11: Amines, C=N and N=O Compounds, Page 324, *Academic Press*, (1975).
76. Debashish Roy, James T. Guthrie, Sebastien Perrier, Synthesis of Natural-Synthetic Hybrid Materials from Cellulose via the RAFT Process, *Soft Matter*, vol. 4, pp. 145-155, (2008).
77. Juan Li, Ting-Ting Jiang, Jiang-Nan Shen and Hui-Min Ruan, "Preparation and Characterization of PMMA and its Derivative via RAFT Technique in The Presence of Disulfide as a Source of Chain Transfer Agent", *Journal of Membrane and Separation Technology*, vol. 1, pp.117-128, (2012).
78. Antoun, S., Gohy, J. F., & Jérôme, R. "Micellization of quaternized poly (2-(dimethylamino) ethyl methacrylate)-block-poly (methyl methacrylate) copolymers in water". *Polymer*, vol. 42(8),pp. 3641-3648, (2001).
79. B. M. Tande and N. J. Wagner, Viscosimetric, Hydrodynamic, and Conformational Properties of Dendrimers and Dendrons, *Macromolecules*, vol. 34, pp. 8580-8585, (2001).
80. Bruno M. Reis, Steven P. Armes, Syuji Fujii, Simon Biggs, "Characterization of the dispersion stability of a stimulus responsive core-shell colloidal latex", *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, vol 353 ,pp 210–215, (2010).
81. Seo-Hyun Jung, Hyung-il Lee, "Well-Defined Thermoresponsive Copolymers with Tunable LCST and UCST in Water", *Korean Chemical Society*, Vol. 35, No. 2, (2014).
82. Agut W, Brûlet A, Schatz C, "pH and temperature responsive polymeric micelles and polymersomes by self-assembly of poly[2-(dimethylamino)ethyl methacrylate]-b-poly(glutamic acid) double hydrophilic block copolymers", *Langmuir*, vol 6;26(13), (2010).
83. M. Demetriou, T. Krasia-Christoforou, "Synthesis and characterization of well-defined block and statistical copolymers based on lauryl methacrylate and 2-(Acetoacetoxy)ethyl methacrylate using RAFT-

- controlled radical polymerization”, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.*, vol. 46, pp. 5442-5451, (2008).
84. Norman B. Colthup, Stephen E. Wiberley, Lawrence H. Daly, “Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy”, 2nd Edition, Chapter 11: Amines, C=N and N=O Compounds, Page 325, *Academic Press*, (1975).
 85. Ramon Novoa-Carballal, André Pfaffa, Axel H. E. Müller, “Interpolyelectrolyte complexes with a polysaccharide corona from dextran-*block*-PDMAEMA diblock copolymers”, *Polymer Chemistry.*, vol 4, pp 2278-2285, (2013).
 86. Weizhong Yuan, Xiangnan Chen, “Star-shaped and star-block polymers with a porphyrin core: from LCST–UCST thermoresponsive transition to tunable self-assembly behaviour and fluorescence performance”, *RSC Advanced.*, vol 6, pp 6802-681, (2016).
 87. Housni A, Zhao Y, “Gold nanoparticles functionalized with block copolymers displaying either LCST or UCST thermosensitivity in aqueous solution”, *Langmuir*, vol 3; 26(15), pp12933-9, (2010).
 88. Yuan, Weizhong Wang, Jinju Shen, “Surface modification of graphene oxide with thermoresponsive polymers via atom transfer radical polymerization: Transition from LCST to UCST”, *Materials Letters*, vol 107, pp 243–246, (2013).
 89. Andrew B. Lowe, Norman C. Billingham, Steven P. Armes, “Synthesis and Properties of Low -Polydispersity Poly(sulfopropylbetaine)s and Their Block Copolymers”, *Macromolecules*, 32, 2141-214, (1999).
 90. George Socrates, “Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies Tables and Charts”, Chapter: Sulphur and Selenium Compounds, Page 221, 3rd Edition, Wiley, (2004).
 91. Peter A. Woodfield, Yicheng Zhu, Yiwen Pei, Peter J. Roth, “Hydrophobically Modified Sulfobetaine Copolymers with Tunable Aqueous UCST through Postpolymerization Modification of

Poly(pentafluorophenyl acrylate)", *Macromolecules*, 47, 750–762, (2014).

92. Fei Wang, Jingfa Yang, Jingfa Yang, "Understanding anti-polyelectrolyte behavior of a well-defined polyzwitterion at the single-chain level", *Polymer International*, Vol 64, Issue 8, Pages 999–1005, (2015).