

Zachowanie gwieździstych kopolimerów metakrylanów w roztworach^{*)}

Barbara Mendrek¹⁾

DOI: [dx.doi.org/10.14314/polimery.2016.413](https://doi.org/10.14314/polimery.2016.413)

Streszczenie: Artykuł opisuje dwa rodzaje polimerów gwieździstych z ramionami z homopolimeru metakrylanu *N,N*-dimetyloaminoetylu (PDMAEMA) oraz z ramionami z kopolimeru bezładnego metakrylanu *N,N*-dimetyloaminoetylu i metakrylanu eteru monometylowego di(glikolu etylenowego) (PDMAEMA-*co*-PDEGMA), które syntezowano metodą „najpierw rdzeń”. Wyznaczając promienie hydrodynamiczne ($R_h^{90^\circ}$) badano zachowania otrzymanych polimerów w rozpuszczalnikach organicznych i w wodzie. Określano także wpływ pH i temperatury na potencjał zeta i $R_h^{90^\circ}$ nanocząstek tych polimerów w roztworach wodnych.

Słowa kluczowe: kopolimer gwieździsty, zachowanie polimerów w roztworze, wpływ pH, termoczułość.

Behavior of methacrylate star copolymers in solutions

Abstract: This paper describes two kinds of star polymers with homopolymer arms made of *N,N*-dimethylaminoethyl methacrylate (PDMAEMA) and with random copolymer arms of *N,N*-dimethylaminoethyl methacrylate and di(ethylene glycol) methyl ether methacrylate (PDMAEMA-*co*-PDEGMA), which were synthesized *via* “core first” method. Hydrodynamic radii were determined and the behavior of obtained polymers in organic solvents and in aqueous solutions were studied. The effect of pH and temperature on the zeta potential and hydrodynamic radii of polymers particles were also investigated.

Keywords: star copolymer, solution behavior, effect of pH, thermosensitivity.

Makrocząsteczki gwieździste to takie, w których kilka lub wiele łańcuchów homo- lub kopolimerów połączonych jest z jednym, centralnym elementem – rdzeniem. Rdzeń polimeru gwieździstego może stanowić wielofunkcyjny związek małowcząsteczkowy. Może być on także rozbudowany (np. poprzez zastosowanie dendrymeru, usieciowanego mikrożelu lub polimeru silnie rozgałęzionego [1–3]), co prowadzi do uzyskania struktur gwieździstych typu „rdzeń-powłoka”. Ciekawy przypadek stanowią takie polimery gwieździste, w których elementy stanowiące wnętrze inaczej oddziałują z rozpuszczalnikiem niż część zewnętrzna – ramiona. W biotechnologii i w medycynie jest coraz większe zainteresowanie takimi strukturami, ze względu na ich spodziewane wykorzystanie jako nanokontenerów zdolnych do transportu i uwalniania substancji czynnych biologicznie [4–6].

Poli(metakrylan *N,N*-dimetyloaminoetylu) (PDMAEMA) należący do grupy polikationów wykazuje czułość zarówno na pH, jak i temperaturę [7]. Ze względu na te właściwości polimery gwieździste metakrylanu *N,N*-dimetyloaminoetylu (DMAEMA) cieszą się dużym zainteresowaniem

badawców i są badane m.in. jako nośniki kwasów nukleinowych [8–10] i leków [6, 11], a także jako materiały antybakteryjne [12].

Jednymi z podstawowych parametrów wpływających na potencjalne zastosowanie nanocząstek PDMAEMA jest ich rozmiar i rozkład rozmiarów. Rozmiary nanocząstek do zastosowań biomedycznych, opisane w literaturze, zwykle mieszczą się w zakresie 5–200 nm [13].

Gwieździste kopolimery o hydrofobowym wnętrzu i hydrofilowych ramionach, czyli o strukturze „rdzeń-powłoka”, przypominają swoją budową micelle uformowane w procesie samoorganizacji liniowych, amfifilowych kopolimerów blokowych, dlatego też często, choć niepoprawnie, są nazywane micelami jednocząsteczkowymi [14]. Makrocząsteczki gwieździste typu „rdzeń-powłoka” mogą występować w roztworach wodnych zarówno jako pojedyncze makrocząsteczki, jak i organizować się w większe struktury lub występować jednocześnie w obydwóch formach [2]. Hydrofobowe części kopolimeru gwieździstego mogą zbliżać się do siebie tworząc rdzeń agregatu odseparowany od środowiska koroną wykazującą powinowactwo do wody [2, 15, 16]. W wyniku agregacji może także powstać struktura wielordzeniowa, zawierająca w swoim wnętrzu zarówno rdzenie, jak i ramiona makrocząsteczek [16–19]. Zewnętrzna warstwa takiego agregatu utworzona z hydrofilowych ramion jest zdolna do utrzymania zagregowanych struktur w roztworze.

¹⁾ Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych Polskiej Akademii Nauk, ul. M. Curie-Skłodowskiej 34, 41-819 Zabrze, e-mail: bmendrek@cmpw-pan.edu.pl

^{*)} Materiał zawarty w artykule był prezentowany podczas Sekcji Polimerowej 58. Zjazdu Naukowego PTChem w Gdańsku, który odbył się w dniach 21–25 września 2015 r.

Samoorganizacja amfifilowych polimerów gwieździstych w roztworach wodnych może zachodzić samoistnie [20–22] lub pod wpływem czynników zewnętrznych. Przykładem czynnika zewnętrznego może być przekroczenie tzw. krytycznego stężenia micelizacji (CMC), co może zapoczątkować proces micelizacji [16]. Również zmiana temperatury roztworu może wpływać na organizację makrocząsteczek gwieździstych w roztworze. Jeżeli makrocząsteczki są termoczulłe, to poniżej dolnej krytycznej temperatury rozpuszczalności (LCST) polimery gwieździste mogą istnieć w roztworze jako pojedyncze makrocząsteczki lub ze względu na swój amfifilowy charakter mogą, podobnie jak liniowe kopolimery amfifilowe, ulegać micelizacji tworząc agregaty. Powyżej LCST korona pojedynczej makrocząsteczki ulega kurczeniu, wpływając na zmniejszenie jej rozmiarów, możliwa jest również agregacja do większych struktur [22, 23]. Sposób samoorganizacji polielektrolitów zależy również od pH roztworu. Na skutek zmiany pH roztworu i związanymi z tym procesami protonowania/deprotonowania grup funkcyjnych w łańcuchach ramion, makrocząsteczka może zmniejszać lub zwiększać swoje rozmiary, w zależności od typu ramion (polikwas czy polizasada), ale także tworzyć większe struktury [23].

Synteza polimerów gwieździstych za pomocą nowoczesnych metod polimeryzacji kontrolowanych i żyjących oraz charakterystyka takich struktur była przedmiotem prac wielu grup badawczych [1–6, 8]. W wielu pracach zachowanie takich makrocząsteczek w roztworach, rzutujące na ich potencjalne zastosowanie jako nośników substancji aktywnych biologicznie nie zostało jednak wystarczająco wyjaśnione, bądź było pomijane. Często nie podawano informacji o tym, czy w roztworze znajdowały się izolowane makrocząsteczki gwieździste, czy ich agregaty.

Celem tej pracy było zbadanie jak struktura chemiczna polimerów gwieździstych oraz bodźce zewnętrzne wpływają na ich zachowanie w roztworze.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiały

Metakrylan eteru monometylowego di(glikolu etylenowego) (DEGMA, 95 %), 1,2-dichlorobenzen (99 %), 1,1,4,7,10,10-hexametylotrietylotetramina (HMTETA, 97 %), bromek miedzi(I) (CuBr, 99.999 %), bromek miedzi(II) (CuBr₂, 99 %) oraz pożywka hodowlana Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) zostały zakupione w Sigma Aldrich i użyte bez oczyszczania. Metakrylan *N,N*-dimetyloaminoetylu (DMAEMA, 99 %) zakupiono w Merck i destylowano przed użyciem. Aceton (99,5 %) i etanol (99,8 %) zakupiono w firmie POCh. Do przygotowywania roztworów wodnych wykorzystano filtrowaną (0,1 μm) wodę dejonizowaną. Wartość pH roztworów ustalano poprzez dodawanie 5-proc. roztworów KOH lub HCl (POCh).

Synteza kopolimerów gwieździstych

Synteza homopolimerów gwieździstych metakrylanu *N,N*-dimetyloaminoetylu (PDMAEMA) oraz kopolimerów bezładnych metakrylanu *N,N*-dimetyloaminoetylu (DMAEMA) i metakrylanu eteru monometylowego di(glikolu etylenowego) (PDMAEMA-*co*-PDEGMA) została opisana we wcześniejszych publikacjach [20, 21]. Polimery gwieździste otrzymano stosując polimeryzację rodnikową z przeniesieniem atomu (ATRP) metodą „najpierw rdzeń”, tak jak to pokazano na schemacie A. Jako makroinicjator i równocześnie rdzeń gwiazd wykorzystano silnie rozgałęziony poli(aryleno oksindol) (ParOx). Jest to polimer o 100-proc. stopniu rozgałęzienia, liczbowo średniej masy molowej $M_n = 21\,000$ g/mol i dyspersji $M_w/M_n = 2,17$. Jedna makrocząsteczka zawiera średnio 28 grup 2-bromoestrowych zdolnych do zainicjowania procesu ATRP [20, 21, 24].

Metody badań

Masy molowe (M_n) i rozkłady mas molowych wyznaczano za pomocą chromatografu żelowego (GPC-MALLS) z refraktometrem różnicowym (Δn -2010 RI WGE Dr. Bures) oraz detektorem wielokątowego rozpraszania światła (DAWN HELEOS firmy Wyatt Technologies). Jako fazę ruchomą zastosowano dimetyloformamid (DMF) z dodatkiem 5 mM roztworu LiBr. Analizę wykonywano w temperaturze 45 °C. Szybkość przepływu przez kolumnę wynosiła 1 cm³/min. Zastosowano następujący zestaw kolumn: prekolumna GRAM, GRAM 100 Å, GRAM 1000 Å i GRAM 3000 Å (Polymer Standard Service). Przed pomiarami roztwory filtrowano filtrami z membraną z poli(tetrafluoroetyleny) (PTFE) o średnicy porów 0,2 μm. Do analizy wyników pomiarów użyto oprogramowania ASTRA 5 (Wyatt Technologies). Badania metodą GPC-MALLS pozwoliły na wyznaczenie absolutnych wartości masy molowej polimerów.

Współczynniki załamania światła poli(aryleno oksindolu) (ParOx), liniowego PDMAEMA i liniowego PDEGMA wyznaczano w niezależnych pomiarach w dimetyloformamidzie (DMF), w temperaturze 45 °C za pomocą refraktometru różnicowego SEC-3010 dn/dc WGE Dr. Bures. Wartości inkrementu współczynnika załamania światła polimerów wynosiły odpowiednio:

$$\left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{ParOx}} = 0,149 \frac{\text{cm}^3}{\text{g}}, \quad \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{PDMAEMA}} = 0,056 \frac{\text{cm}^3}{\text{g}}$$

$$\text{i} \quad \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{PDEGMA}} = 0,073 \frac{\text{cm}^3}{\text{g}}$$

Inkrement współczynnika załamania światła (dn/dc) polimeru gwieździstego z ramionami z homopolimeru został obliczony z równania:

$$\frac{dn}{dc} = w_{\text{ParOx}} \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{ParOx}} + w_{\text{DMAEMA}} \left(\frac{dn}{dc}\right)_{\text{PDMAEMA}} \quad (1)$$

a z ramionami kopolimerowymi z równania:

$$\frac{dn}{dc} = w_{PArOx} \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PArOx} + w_{DMAEMA} \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PDMAEMA} + w_{DEGMA} \left(\frac{dn}{dc} \right)_{PDEGMA} \quad (2)$$

gdzie: w_{PArOx} – ułamek masowy rdzenia, w_{DMAEMA} – ułamek masowy DMAEMA w makrocząsteczce, w_{DEGMA} – ułamek masowy DEGMA w makrocząsteczce, $\left(\frac{dn}{dc} \right)_{PArOx}$ – inkrement współczynnika załamania światła rdzenia PArOx, $\left(\frac{dn}{dc} \right)_{PDMAEMA}$ – inkrement współczynnika załamania światła PDMAEMA, $\left(\frac{dn}{dc} \right)_{PDEGMA}$ – inkrement współczynnika załamania światła PDEGMA.

Na podstawie widm 1H NMR [21] obliczano zawartość DEGMA w gwiazdach kopolimerowych PDMAEMA-co-PDEGMA.

Pomiary dynamicznego rozpraszania światła (DLS) wykonano za pomocą goniometru Brookhaven BI-200 ze spolaryzowanym w płaszczyźnie pionowej światłem o długości fali $\lambda = 632,8$ nm uzyskiwanym z lasera He-Ne 35 mW. Stosowano cyfrowy autokorelator Brookhaven PCI BI-9000 AT Di. Otrzymane funkcje autokorelacji analizowano za pomocą algorytmu CONTIN. Pomiarów wykonywano dla kąta 90° , w temperaturze $25^\circ C$. Rozkłady rozmiarów makrocząsteczek wyrażono jako $\frac{\mu_2}{\bar{\Gamma}^2}$ (gdzie $\bar{\Gamma}$ jest średnią wartością szybkości relaksacji Γ , a μ_2 jej drugim momentem). Wartości te otrzymano metodą kumulantów. Rozpuszczalniki filtrowano przez strzykawkowy filtr membranowy o wielkości porów $0,1 \mu m$ (Whatman International) w komorze laminarnej. Roztwory próbek filtrowano przez strzykawkowy filtr membranowy o wielkości porów $0,2 \mu m$ (Whatman International) bezpośrednio przed pomiarami.

Wartość pH roztworów wodnych kopolimerów gwiazdzistych mierzono za pomocą wodoszczelnego pH-metru CP-401 z zespoloną elektrodą szklaną typu EPS firmy Elmetron.

Temperatury zmętnienia (T_{cp}) polimerów gwiazdzistych wyznaczano za pomocą pomiarów transmitancji roztworów w różnych temperaturach. Stosowano spektrofotometr UV-VIS Jasco V530 z termostatowaną kweztą Medson MTC-P1. Do zapisu widm użyto programu SPECTRA MANAGER. Transmitancję wodnych roztworów polimerów ($c = 1 \text{ g/dm}^3$) mierzono przy długości fali 700 nm . Wartości T_{cp} wyznaczono jako temperatury, w których transmitancja wynosiła 50%

Potencjał zeta roztworów polimerów mierzono za pomocą Zetasizera Nano ZS 90 (Malvern Instruments). Pomiarów dla każdej próbki wykonywano trzykrotnie, w jednorazowych kapilarnych kuwetach, a jako wynik przyjmowano wartość średnią z tych pomiarów.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Charakterystyka otrzymanych kopolimerów gwiazdzistych i ich zachowanie w roztworach

Charakterystykę otrzymanych polimerów gwiazdzistych przedstawiono w tabeli 1. Otrzymano dwa rodzaje gwiazd, z ramionami z homopolimeru metakrylanu *N,N*-dimetyloaminoetylu (PDMAEMA), różniące się masą molową (M_n) oraz stopniem polimeryzacji ramion (DP_{ram}) (tabela 1, próbki HG1–HG3) oraz z kopolimeru bezładnego metakrylanu *N,N*-dimetyloaminoetylu i metakrylanu eteru monometylowego di(glikolu etylenowego) (PDMAEMA-co-PDEGMA), różniące się zawartością procentową DEGMA oraz M_n (tabela 1, próbki KG1–KG4).

Tabela 1. Charakterystyka otrzymanych polimerów gwiazdzistych

Tabela 1. Characterization of obtained star polymers

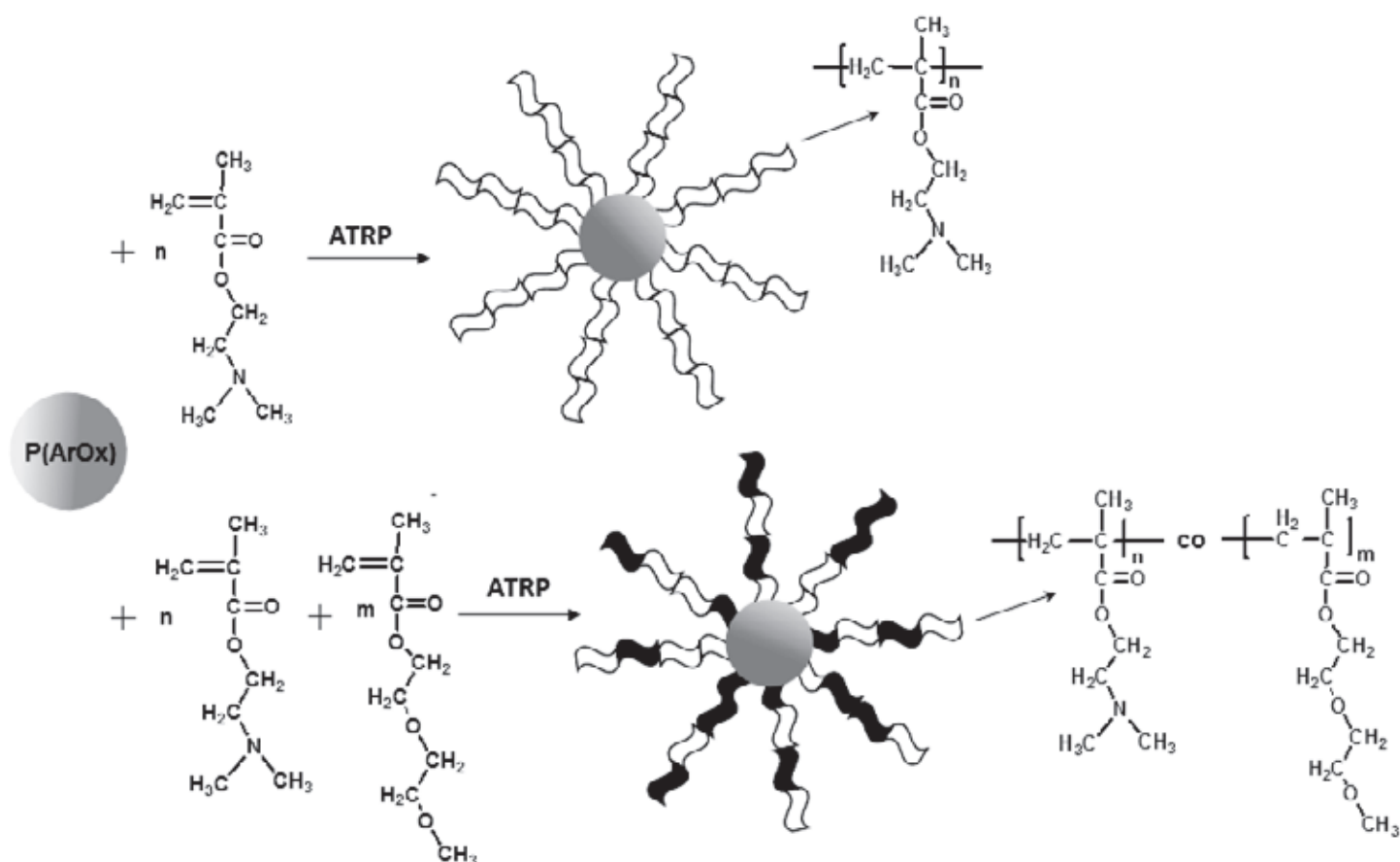
Symbol próbki	DP_{ram} ^{a)}	$M_{nGPC-MALLS}$ ^{b)} g/mol	M_w/M_n	dn/dc cm ³ /g	Zawartość DEGMA ^{c)} % mol.
HG1	18	100 000	1,69	0,084	-
HG2	79	370 000	1,54	0,065	-
HG3	98	450 000	1,84	0,063	-
KG1	46	230 000	2,70	0,083	11
KG2	51	254 000	2,65	0,083	20
KG3	71	350 000	2,39	0,072	30
KG4	43	226 000	2,55	0,076	40

^{a)} Obliczone z M_n wyznaczonego metodą GPC-MALLS.

^{b)} $M_{nGPC-MALLS}$ wyznaczone w DMF metodą GPC-MALLS.

^{c)} Obliczona na podstawie widm 1H NMR.

Właściwości hydrodynamiczne polimerów gwiazdzistych determinują ich zastosowanie w roli nośników substancji biologicznie aktywnych. Za pomocą pomiarów metodą DLS zbadano zachowanie uzyskanych polimerów w roztworach organicznych, jak i w środowisku wodnym, w tym ich agregację i jej zależność od warunków środowiska (pH i temperatury). Wymiary nanostruktur gwiazdzistych badano w acetonie, który wykazuje silne powinowactwo zarówno do rdzenia jak i ramion, oraz w roztworach selektywnych, wykazujących powinowactwo jedynie do ramion – w wodzie, etanolu oraz w pożywce do hodowli komórek DMEM. Wyniki zebrano w tabeli 2. Ze względu na potencjalne wykorzystanie otrzymanych gwiazd jako nośników, istotne było zbadanie zachowania takich gwiazd w medium stosowanym do eksperymentów biologicznych – pożywce do hodowli komórek DMEM. Należy tutaj zaznaczyć, że w literaturze brakuje danych na temat zachowania polikationów w pożywkach – nawet badania układów, które mają być stosowane w środowisku stosowanym do eksperymentów biologicznych, prowadzone są jedynie w wodzie lub buforach. Ze względu na obecność różnego rodzaju bioskładników i soli w pożywce ta-



Schemat A

kie badania okazały się niezbędne dla prawidłowej oceny struktur tworzących się w roztworze.

Obliczono również długość konturową ramion wszystkich otrzymanych makrocząsteczek z całkowicie rozprostowanymi ramionami, mnożąc stopień polimeryzacji ramienia (DP_{ram}) przez 0,252 nm (długość jednej powtarzającej się jednostki monomerycznej zawierającej dwa atomy węgla w szkielecie monomeru winylowego [25]).

W przypadku polimerów gwiazdowych z ramionami z homopolimeru DMAEMA (HG1-HG3, tabela 1), jak i tych z ramionami z kopolimeru DMAEMA i DEGMA (KG1-KG4, tabela 1) najmniejsze rozmiary makrocząsteczek stwierdzono w acetonie. Porównując zmierzone wartości promienia hydrodynamicznego ($R_h^{90^\circ}$) nanostruktur w acetonie i obliczonej długości konturowej ramion całkowicie rozprostowanych łańcuchów można stwierdzić, że PDMAEMA występują w roztworze jako izolowane makrocząsteczki. Natomiast PDMAEMA-*co*-PDEGMA mogą być obecne w roztworze jako pojedyncze cząsteczki lub jako niewielkie agregaty kilku z nich. Wartości $R_h^{90^\circ}$ w rozpuszczalnikach selektywnych, wykazujących powinowactwo tylko do ramion, są większe niż te otrzymane w acetonie, co świadczy o agregacji makrocząsteczek w tych rozpuszczalnikach. Natomiast $R_h^{90^\circ}$ we wszystkich rozpuszczalnikach selektywnych (w wodzie po bezpośrednim rozpuszczeniu, etanolu i pożywcze DMEM) są do siebie zbliżone, co świadczy o tym, że cząsteczki zachowują się w nich podobnie. Jedynie polimery z ramionami z kopolimerów o mniejszej

zawartości DEGMA (KG1 i KG2, tabela 2), po bezpośrednim rozpuszczeniu w wodzie, tworzą dwa rodzaje cząstek. Prawdopodobnie są to pojedyncze makrocząsteczki i większe agregaty. Podobne zachowanie obserwowali wcześniej także inni badacze [8–10], zarówno w przypadku polimerów gwiazdowych z ramionami z homopolimeru DMAEMA jak i z kopolimerów DMAEMA-*b*-[metakrylan (glikol heksaetylenowy)] o różnej liczbie ramion (od 7 do 72) i długości ramion ($DP_{ram} = 10$ –100). Po rozpuszczeniu bezpośrednio w wodzie, obserwowano zarówno pojedyncze makrocząsteczki jak i ich agregaty.

Rozkłady rozmiarów wszystkich otrzymanych w pracy polimerów gwiazdowych, niezależnie od rozpuszczalnika, wyrażone jako $\frac{\mu_2}{\Gamma^2}$, mieszczą się w zakresie 0,2–0,3.

Wpływ pH na zachowanie kopolimerów gwiazdowych w roztworach wodnych

W celu zbadania wpływu pH na PDMAEMA otrzymane polimery rozpuszczano bezpośrednio w wodzie, a pH ustalano poprzez dodanie do roztworu odpowiedniej ilości 5-proc. roztworów KOH lub HCl. Następnie metodą DLS badano $R_h^{90^\circ}$ i rozkłady rozmiarów gwiazd w roztworze. Wyniki podano w tabeli 3. Grupy aminowe w cząsteczkach polimeru w środowisku kwaśnym ulegają protonowaniu. Stopień sprotonowania jest zależny od wartości wartości pK grup aminowych. W przypadku polimerów gwiazdowych zawierających DMAEMA pK = 7–8 [8, 9].

T a b e l a 2. Promienie hydrodynamiczne ($R_h^{90^\circ}$) nanostruktur badanych polimerów gwieżdzistych w różnych rozpuszczalnikach
T a b l e 2. Hydrodynamic radii ($R_h^{90^\circ}$) of the stars in different solvents

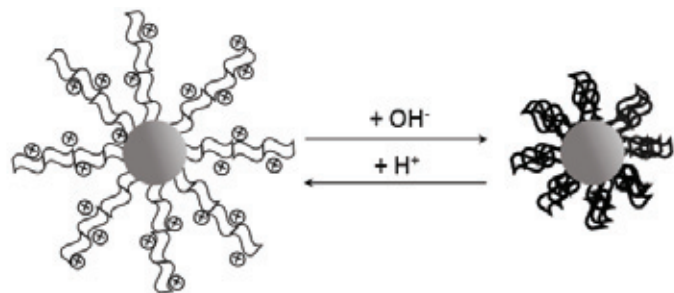
Symbol próbki	Długość konturowa ramion ^{a)} , nm	$R_h^{90^\circ}$, nm			
		aceton	woda ^{b)}	etanol	DMEM
HG1	4,5	7,0	15,0	14,5	12,5
HG2	19,9	9,4	19,0	15,0	19,5
HG3	24,7	14,5	22,5	21,2	20,1
KG1	11,6	13,6	7,6; 33,5	21,3	24,5
KG2	12,9	14,1	6,8; 30,5	29,0	26,3
KG3	17,9	14,4	19,5	20,0	20,0
KG4	10,8	14,2	18,8	18,5	18,0

^{a)} Obliczone dla całkowicie rozprostowanych ramion.

^{b)} Wyznaczone po bezpośrednim rozpuszczeniu gwiazdy w wodzie.

W środowisku kwaśnym, trzeciorzędowe grupy aminowe ramion są całkowicie sprotonowane. Odpychanie elektrostatyczne pomiędzy naładowanymi dodatnio ramionami gwiazd powoduje ich rozciąganie, co skutkuje zwiększeniem rozmiarów cząsteczek. W środowisku alkalicznym, niesprotonowane grupy aminowe w łańcuchach PDMAEMA nie odpychają się elektrostatycznie, co powoduje skłębianie łańcuchów na skutek tworzenia się wiązań wodorowych pomiędzy łańcuchami i w rezultacie zmniejszanie rozmiarów [7]. Wpływ pH na kształt i rozmiary makrocząsteczek PDMAEMA pokazano na schemacie B.

Wpływ pH na $R_h^{90^\circ}$ otrzymanych PDMAEMA jest widoczny w przypadku HG1–HG3 (tabela 3). Podobne zależności opisano także w literaturze dla polimerów



Schemat B

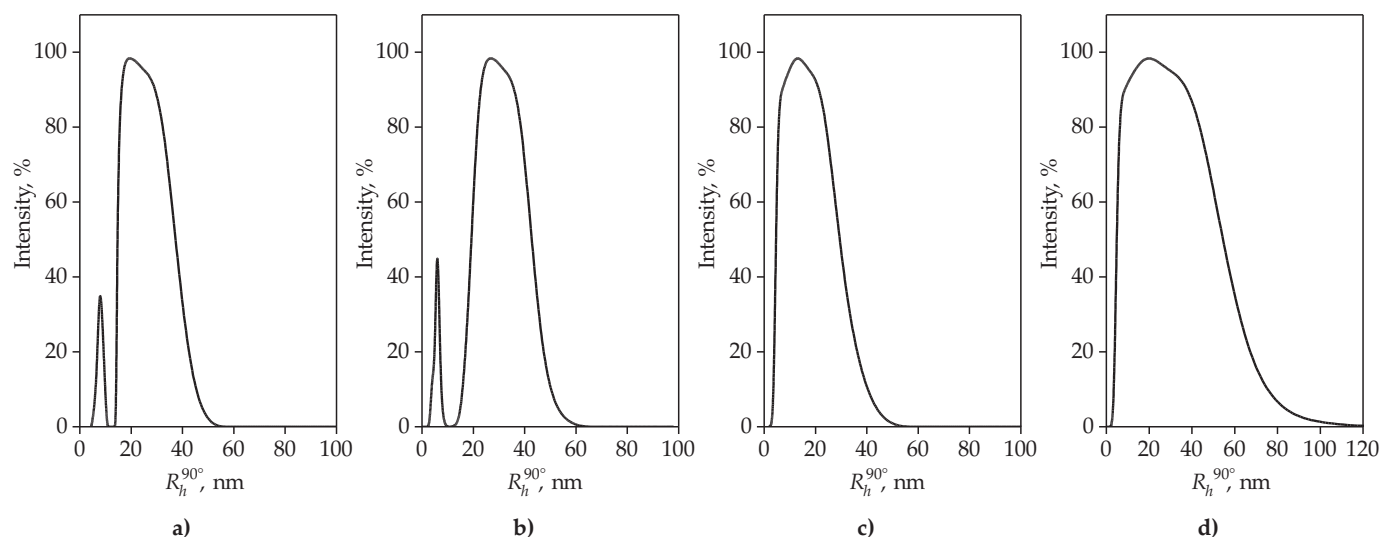
z ramionami z kopolimeru blokowego ϵ -kapolaktanu i DMAEMA oraz poliestrowym rdzeniem [11], a także dla polimerów z ramionami z PDMAEMA i rdzeniem z hiperzgałęzionego polieteru [6]. Otrzymane w ramach tej pracy makrocząsteczki HG1–HG3 wraz ze zwiększaniem wartości pH, zmniejszają swoje rozmiary ok. dwukrotnie. W całym badanym zakresie pH obserwowano monomodalny rozkład rozmiarów. Przy pH powyżej 13,5 obserwowano wytrącanie się cząstek PDMAEMA z roztworu.

W roztworach polimerów z ramionami z kopolimerów bezładnych DMAEMA i DEGMA (KG1–KG4, tabela 3), wpływ pH na rozmiary makrocząsteczek był bardziej złożony niż w roztworach PDMAEMA. Makrocząsteczki kopolimerowe o mniejszej zawartości DEGMA w ramionach (KG1 i KG2, tabela 3) tworzą w roztworze kwaśnym dwie populacje cząstek, natomiast w roztworze zasadowym tylko jedną populację. Jest to dobrze widoczne na rys. 1, który pokazuje rozkład $R_h^{90^\circ}$ na przykładzie próbki KG1 w roztworach o różnym pH. Na tej podstawie można sądzić, że gwiazdy KG1 i KG2 w kwaśnym pH występują w roztworze zarówno jako pojedyncze makrocząsteczki jak i jako agregaty.

Pojedyncze makrocząsteczki KG1 i KG2 nieznacznie zmniejszają swoje rozmiary ze wzrostem pH od 2 do 7, na skutek częściowej deprotonacji grup aminowych, podob-

T a b e l a 3. Promienie hydrodynamiczne ($R_h^{90^\circ}$) nanostruktur badanych polimerów gwieżdzistych w roztworach wodnych w zależności od pH
T a b l e 3. Hydrodynamic radii ($R_h^{90^\circ}$) of the stars in aqueous solutions of different pH

Symbol próbki	$R_h^{90^\circ}$, nm									
	pH \approx 2	pH \approx 4	pH \approx 6	pH \approx 7	pH \approx 8	pH \approx 9	pH \approx 10	pH \approx 11	pH \approx 12	pH \approx 13
HG1	21,8	20,4	17,3	-	15,0	12,2	-	-	10,0	-
HG2	25,0	24,0	20,5	-	19,0	15,3	-	-	12,5	-
HG3	29,0	26,5	23,6	-	22,5	18,4	-	-	16,3	-
KG1	12,2; 20,4	9,5; 22,4	9,5; 27,1	7,6; 33,5	-	18,6	19,4	25,6	24,8	27,0
KG2	9,8; 21,5	9,4; 29,7	6,8; 30,0	6,8; 30,5	-	14,6	21,3	22,9	25,2	26,3
KG3	22,1	20,2	20,1	19,5	-	13,3	13,1	13,2	13,6	14,8
KG4	14,5	14,8	16,8	18,8	-	9,5	10,0	9,2	10,3	10,7



Rys. 1. Rozkład promieni hydrodynamicznych (R_h^{90}) makrocząstek KG1 (wyrażony poprzez rozkład intensywności rozpraszania) w roztworze wodnym ($c = 1 \text{ mg/cm}^3$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $\theta = 90^\circ$), przy pH równym: a) 2,5, b) 6,8, c) 9,0, d) 12,0

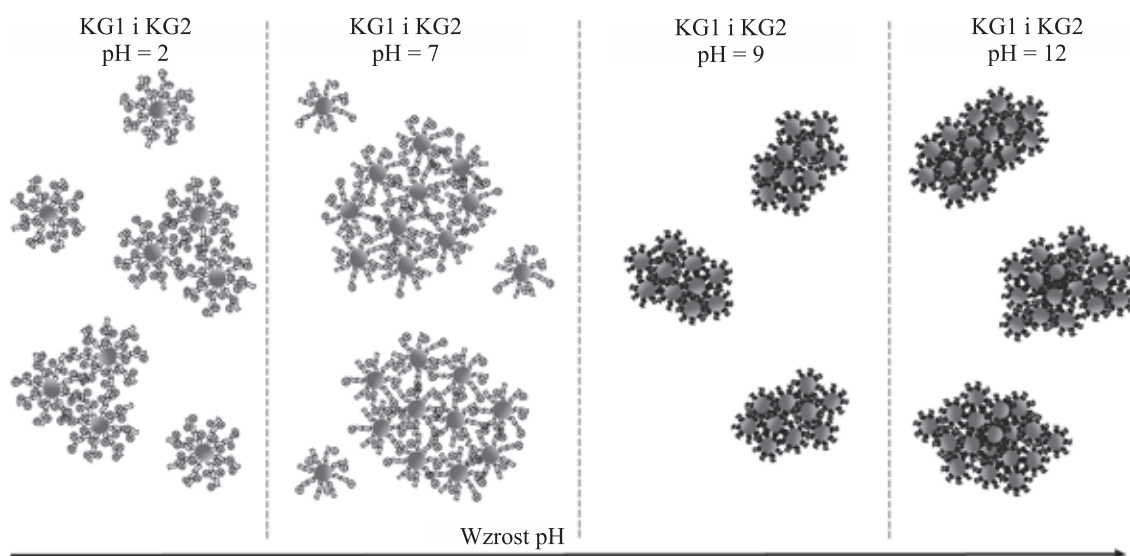
Fig. 1. Distribution of the hydrodynamic radii (R_h^{90}) of stars KG1 (expressed as intensity weighted distribution) in water solution ($c = 1 \text{ mg/cm}^3$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $\theta = 90^\circ$), at different pH values: a) 2.5, b) 6.8, c) 9.0, d) 12.0

nie jak w przypadku PDMAEMA. Natomiast rozmiary agregatów przy takim wzroście pH zwiększają się, co sugeruje, że na skutek deprotonacji i związanej z tym częściowej utraty ładunku, przeważają oddziaływania międzycząsteczkowe i cząsteczki tworzą większe struktury.

W roztworach alkalicznych KG1 i KG2, obserwowano jedną populację nanocząstek, o rozmiarach mniejszych niż agregaty obecne w roztworach kwaśnych. Takie zachowanie sugeruje, że nastąpiła znaczna utrata ładunku grup aminowych i łańcuchy ramion zaczęły się skłębiać, czego wynikiem jest zmniejszenie rozmiarów. Tylko jedna populacja nanocząstek jest widoczna prawdopodobnie dlatego, że bardzo małe rozmiary pojedynczych skłębionych gwiazd są poza zakresem mierzalności stosowanej metody. W roztworach o pH powyżej 8 przewa-

żają hydrofobowe oddziaływania międzycząsteczkowe. Agregaty zaczynają się „skłębiać”, tworząc większe struktury. Opisane powyżej zachowanie makrocząstek PDMAEMA-co-PDEGMA z mniejszą zawartością DEGMA w ramionach w zależności od pH roztworów wodnych przedstawiono na schemacie C.

Makrocząsteczki PDMAEMA-co-PDEGMA o zawartości DEGMA w ramionach równej 30 % mol. (KG3, tabela 3) zachowują się w środowisku kwaśnym podobnie jak makrocząsteczki PDMAEMA. Wraz ze wzrostem pH do ~ 9 wartości R_h^{90} zmniejszają się, natomiast w zakresie pH = 9–13 praktycznie się nie zmieniają. W przypadku cząstek PDMAEMA-co-PDEGMA z największą zawartością DEGMA, równą 40 % mol. (KG4, tabela 3), wartości R_h^{90} zwiększają się ze wzrostem pH w środowi-



sku kwaśnym, a w zasadowym, podobnie jak dla próbki KG3, zmieniają się tylko nieznacznie. Wyniki te wskazują na to, że większa zawartość DEGMA w polimerze gwiazdzistym zapobiega agregacji w środowisku zasadowym. Warto odnotować, że rozmiary wszystkich badanych nanostruktur w roztworach wodnych pozostają w zakresie kilkudziesięciu nanometrów, co jest cechą pożądaną dla ich zastosowań w medycynie [13].

Wpływ temperatury na zachowanie kopolimerów gwiazdzistych w roztworach wodnych

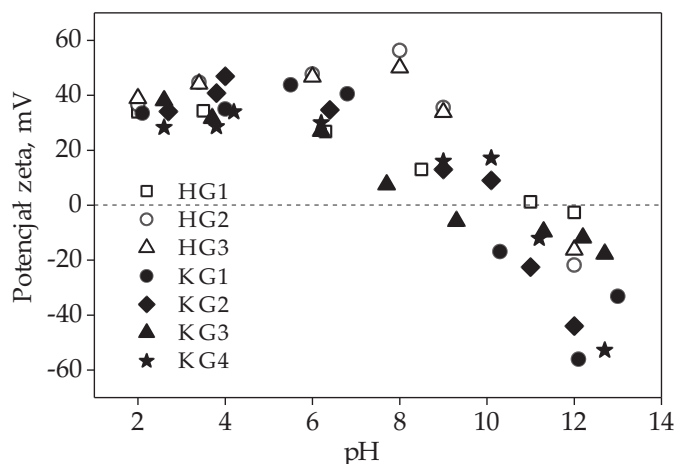
Badania wykazały, że polimery gwiazdziste DMAEMA wykazują termoczułość tylko w roztworach o $\text{pH} = 13$. Podobne zachowanie obserwowano w przypadku łańcuchów PDMAEMA szczepionych na fulerenie C_{60} [26], które w środowisku kwaśnym przestawały reagować na zmiany temperatury, natomiast w warunkach alkalicznych termoczułość odzyskiwały. Jest to spowodowane brakiem ładunku grup aminowych w łańcuchach PDMAEMA w środowisku zasadowym, co umożliwia im skłębianie się [7, 27]. Wartości T_{cp} polimerów gwiazdzistych HG1, HG2 i HG3 wynoszą odpowiednio 55,5, 50 oraz 28 °C. W roztworze o stałym pH wartości T_{cp} maleją wraz ze wzrostem M_n . Plamper i współpr. [7, 27] badali wpływ liczby i długości ramion, M_n oraz pH na termoczułość makrocząsteczek homopolimerowych DMAEMA. Autorzy ci również zaobserwowali zmniejszanie się wartości T_{cp} ze zwiększaniem się M_n w roztworach o $\text{pH} > 8$. Jednak niezależnie od liczby i długości ramion największy wpływ na wartość T_{cp} polimerów gwiazdzistych PDMAEMA ma, według autorów, wartość pH . W przypadku polimerów gwiazdzistych DMAEMA o różnej liczbie ramion stwierdzono znaczne zmniejszenie T_{cp} z ~80 do ~30 °C na skutek zwiększenia pH z 7 do 10 [27]. Otrzymane i opisane w niniejszej pracy kopolimery PDMAEMA-co-PDEGMA nie wykazywały termoczułości w całym badanym zakresie pH , pomimo że zarówno polimery DMAEMA, jak i DEGMA ją wykazują.

Wpływ pH na potencjał zeta kopolimerów gwiazdzistych w roztworach wodnych

Wartości potencjału zeta roztworów wodnych badanych polimerów gwiazdzistych w zależności od pH przedstawiono na rys. 2. Potencjał zeta jest miarą ładunku powierzchniowego nanocząstek i silnie zależy od pH roztworu.

Wszystkie otrzymane polimery gwiazdziste niezależnie od składu chemicznego ramion wykazują spadek potencjału zeta wraz ze wzrostem pH roztworu. Wartości potencjału zeta nanocząstek kopolimerowych w roztworze o określonej wartości pH są mniejsze niż nanocząstek homopolimerowych, co jest prawdopodobnie spowodowane obecnością niejonowego DEGMA w ramionach.

W środowisku kwaśnym potencjał zeta nanocząstek jest dodatni, ponieważ grupy aminowe w takim środo-



Rys. 2. Zależność potencjału zeta nanocząstek otrzymanych kopolimerów gwiazdzistych od pH roztworu

Fig. 2. Dependence of the zeta potential of obtained stars polymers nanoparticles on pH of solution

wisku mają ładunek dodatni. Wraz ze wzrostem pH grupy aminowe są deprotonowane i potencjał zeta maleje, osiągając wartości ujemne po przekroczeniu punktu izoelektrycznego. Wszystkie badane polimery charakteryzowały się ujemnymi wartościami potencjału zeta w roztworach o wysokich wartościach pH . Takie zachowanie obserwowano również w przypadku liniowych łańcuchów PDMAEMA szczepionych na powierzchni PET [28] i tłumaczono to rosnącą, wraz ze wzrostem stężenia jonów OH^- , adsorpcją tych jonów na deprotonowanych łańcuchach PDMAEMA. Ujemne wartości potencjału zeta w środowisku zasadowym obserwowano również w przypadku polimerów gwiazdzistych z ramionami z kopolimeru DMAEMA i metakrylanu (glikolu oligoetylenowego) (OEGMA, $M_n = 475$ g/mol) [29]. Autorzy tłumaczyli takie zachowanie skłębianiem łańcuchów PDMAEMA i ich oddziaływaniem z segmentami OEGMA za pomocą wiązań wodorowych oraz polaryzacją cząsteczek wody pod wpływem POEGMA [29].

WNIOSKI

Metodą ATRP otrzymano 28-ramienne polimery gwiazdziste o strukturze „rdzeń powłoka”, zawierające hydrofobowy, silnie rozgałęziony rdzeń z PARox oraz dwa rodzaje hydrofilowych ramion bądź z homopolimeru DMAEMA lub z kopolimeru bezładnego DMAEMA i DEGMA. Zbadano zachowanie wszystkich otrzymanych polimerów w roztworach.

Selektywność rozpuszczalnika jak i skład ramion ma wpływ na rozmiary cząstek polimerów w roztworach. W rozpuszczalniku wykazującym wysokie powinowactwo zarówno do ramion jak i do rdzenia, PDMAEMA są obecne jako pojedyncze makrocząsteczki, a PDMAEMA-co-PDEGMA jako niewielkie agregaty. W rozpuszczalnikach selektywnych, wykazujących powinowactwo tylko do ramion, wszystkie rodzaje makrocząsteczek wykazują tendencję do agregacji.

Na zachowanie polimerów w roztworach wpływa również pH. Wartości $R_h^{90^\circ}$ nanostruktur PDMAEMA zmniejszają się dwukrotnie na skutek wzrostu pH z 2 do 12 i związanej z tym deprotonacji grup aminowych w ramionach. Natomiast w przypadku kopolimerów PDMAEMA-co-PDEGMA wpływ pH jest zależny od ilości niejonowego DEGMA w ramionach cząsteczek. Mała zawartość DEGMA powoduje, że w roztworze o środowisku kwaśnym występują jednocześnie pojedyncze makrocząsteczki jak i ich agregaty, natomiast w środowisku zasadowym tworzą się niewielkie agregaty. Wartości $R_h^{90^\circ}$ nanostruktur PDMAEMA-co-PDEGMA zawierających powyżej 30 % mol. DEGMA w ramionach w zasadowym zakresie pH zmieniają się nieznacznie co sugeruje, że DEGMA zapobiega agregacji polimerów gwieżdzistych do większych struktur. PDMAEMA wykazywały termoczułość tylko w roztworach o pH = 13, czyli w środowisku, w którym grupy aminowe są całkowicie zdeprotonowane. Wraz ze wzrostem długości ramion w makrocząsteczce wartości T_{cp} malały. Natomiast PDMAEMA-co-PDEGMA w całym badanym zakresie pH nie wykazywały termoczułości.

Otrzymane wyniki wskazują, że polimery gwieżdziste PDMAEMA oraz PDMAEMA-co-PDEGMA mogą być wykorzystane jako nośniki substancji aktywnych biologicznie.

LITERATURA

- [1] Voit B.I., Lederer A.: *Chemical Reviews* **2009**, 109, 5924. <http://dx.doi.org/10.1021/cr900068q>
- [2] Zhou Y., Huang W., Liu J. i in.: *Advanced Materials* **2010**, 22, 4567. <http://dx.doi.org/10.1002/adma.201000369>
- [3] Gao H.: *Macromolecular Rapid Communications* **2012**, 33, 722. <http://dx.doi.org/10.1002/marc.201200005>
- [4] Jones M.-Ch., Ranger M., Leroux J.-Ch.: *Bioconjugate Chemistry* **2003**, 14, 774. <http://dx.doi.org/10.1021/bc020041f>
- [5] Liu H., Farrell S., Uhrich K.: *Journal of Controlled Release* **2000**, 68, 167. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659\(00\)00247-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-3659(00)00247-9)
- [6] Sun X., Jiang G., Wang Y., Xu Y.: *Colloid and Polymer Science* **2011**, 289, 677. <http://dx.doi.org/10.1007/s00396-010-2314-7>
- [7] Plamper F.A., Synatschke Ch.V., Majewski A.P. i in.: *Polimery* **2014**, 59, 66. <http://dx.doi.org/10.14314/polimery.2014.066>
- [8] Georgiou T.K., Vamvakaki M., Patrickios C.S. i in.: *Biomacromolecules* **2004**, 5, 2221. <http://dx.doi.org/10.1021/bm049755e>
- [9] Georgiou T.K., Vamvakaki M., Phylactou L.A., Patrickios C.S.: *Biomacromolecules* **2005**, 6, 2990. <http://dx.doi.org/10.1021/bm050307w>
- [10] Pafiti K.S., Mastroyiannopoulos N.P., Phylactou L.A., Patrickios C.S.: *Biomacromolecules* **2011**, 12, 1468. <http://dx.doi.org/10.1021/bm1014014>
- [11] Zhou J., Wang L., Ma J. i in.: *European Polymer Journal* **2010**, 46, 1288. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2010.03.004>
- [12] Qiu F., Wang D., Wang R. i in.: *Biomacromolecules* **2013**, 14, 1678. <http://dx.doi.org/10.1021/bm4003317>
- [13] Markovsky E., Baabur-Cohen H., Eldar-Boock A. i in.: *Journal of Controlled Release* **2012**, 161, 446. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.12.021>
- [14] Newkome G.R., Moorefield Ch.N., Baker G.R. i in.: *Angewandte Chemie* **1991**, 103, 1207. <http://dx.doi.org/10.1002/ange.19911030945>
- [15] Zhou Y., Yan D.: *Chemical Communications* **2009**, 1172. <http://dx.doi.org/10.1039/B814560C>
- [16] Hong H., Mai Y., Zhou Y. i in.: *Macromolecular Rapid Communications* **2007**, 28, 591. <http://dx.doi.org/10.1002/marc.200600752>
- [17] Mai Y., Zhou Y., Yan D.: *Macromolecules* **2005**, 38, 8679. <http://dx.doi.org/10.1021/ma051377y>
- [18] Radowski M.R., Shukla A., von Berlepsch H. i in.: *Angewandte Chemie International Edition* **2007**, 46, 1265. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200603801>
- [19] Picco A.S., Yameen B., Azzaroni O., Ceolín M.: *Chemical Communications* **2011**, 47, 3802. <http://dx.doi.org/10.1039/C0CC05472K>
- [20] Mendrek B., Sieroń Ł., Libera M. i in.: *Polymer* **2014**, 55, 4551. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2014.07.013>
- [21] Mendrek B., Sieroń Ł., Żymełka-Miara I. i in.: *Biomacromolecules* **2015**, 16, 3275. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.biomac.5b00948>
- [22] Kowalczyk A., Mendrek B., Żymełka-Miara I. i in.: *Polymer* **2012**, 53, 5619. <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymer.2012.10.022>
- [23] Kuckling D., Wycisk A.: *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2013**, 51, 2980. <http://dx.doi.org/10.1002/pola.26696>
- [24] Kowalczyk A., Vandendriessche A., Trzebicka B. i in.: *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2009**, 47, 1120. <http://dx.doi.org/10.1002/pola.23224>
- [25] Hiemenz P.C., Lodge T.P.: "Polymer Chemistry", CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton 2007, str. 5.
- [26] Dai S., Ravi P., Tan C.H., Tam K.C.: *Langmuir* **2004**, 20, 8569. <http://dx.doi.org/10.1021/la048826s>
- [27] Plamper F.A., Ruppel M., Schmalz A. i in.: *Macromolecules* **2007**, 40, 8361. <http://dx.doi.org/10.1021/ma071203b>
- [28] Uchida E., Uyama Y., Ikada Y.: *Langmuir* **1994**, 10, 1193. <http://dx.doi.org/10.1021/la00016a037>
- [29] Huang X., Xiao Y., Lang M.: *Macromolecular Research* **2012**, 20, 597. <http://dx.doi.org/10.1007/s13233-012-0082-6>