



ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН УНИВЕРСИТЕТ
ФАКУЛТЕТ ПО ОРГАНИЧНИ ТЕХНОЛОГИИ
КАТЕДРА „ПОЛИМЕРНО ИНЖЕНЕРСТВО“

Светлана Петрова Петрова

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация

**СИНТЕЗ НА ЛИНЕЙНИ И ЗВЕЗДОВИДНИ БЛОКОВИ СЪПОЛИМЕРИ НА
ОСНОВАТА НА ПОЛИ(ЕТИЛЕНОКСИД) И ПОЛИ(ε-КАПРОЛАКТОН) И
ИЗСЛЕДВАНЕ НА ТЕХНИТЕ ОТНАСЯНИЯ В РАЗТВОР**

за придобиване на образователната и научна степен „доктор“

по научна специалност

„Химия на високомолекулните съединения“

Научни ръководители: проф. д.х.н. Р. Матева
доц. д-р И. Илиев

Научно жури:

1. доц. д-р Маргарита Симеонова - председател
2. чл.-кор. проф. д.х.н. Илия Рашков - рецензент
3. доц. д.х.н. Станислав Рангелов - рецензент
4. проф. д.х.н. Роза Матева
5. доц. д-р Даринка Христова

София, 2011

Дисертационният труд е написан на 119 страници и съдържа 59 фигури, 15 схеми, 14 уравнения и 8 таблици. Цитирани са 385 източника.

Номерата на фигурите, схемите, уравненията и таблиците в автореферата съответстват на тези в дисертацията.

Представеният дисертационен труд е обсъден и приет на защита на заседание на разширен научен съвет на научното звено на катедра „Полимерно инженерство” при ХТМУ – София, състояло се на 25.01.2011 г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се проведе на 19.07.2011 г. от 14 часа в зала 424, сграда „А” на ХТМУ.

Материалите са на разположение на интересувашите се на интернет страницата на ХТМУ и в отдел „Научни дейности”, стая 406, етаж 4, сграда „А” на ХТМУ.

На научните си ръководители проф. д.х.н. Р. Матева и доц. д-р И. Илиев изказвам своята най-искрена и сърдечна благодарност за получените знания и за неоценимата и всестранна помощ, които получих при разработване и оформяне на дисертационната работа.

Благодаря на целия колектив от катедра “Полимерно инженерство” при ХТМУ-София за вниманието, подкрепата и топлата атмосфера по време на моята докторантура.

Част от изследванията в дисертацията са проведени с любезното съдействие на проф. Christine Jérôme от лаборатория Center for Education and Research on Macromolecules (CERM), University of Liège, Belgium, на която най-сърдечно благодаря за уменията които получих по време на престоя ми в нейната лаборатория.

Биологичните изследвания са извършени с помощта на доц. д-р М. Д. Апостолова и Илиян Колев от лаборатория “Медико-Биологични изследвания” при ИМБ-БАН, на които изказвам своята най-сърдечна благодарност.

Изказвам своята най-искрена благодарност към целия колектив от лаборатория “Амфифилни и йоногенни полимери” при ИП-БАН за ценните съвети и подкрепата, която ми оказаха.

Трудовете на докторантката и забелязаните цитати към тях са посочени в средни скоби като горен индекс към всеки раздел от дисертационната работа. Номерът на съответното обозначение съответства на номера на труда в списъка с публикации, цитати и научни съобщения:

[П №] - посочва публикация на докторантката;

[Ц №] - посочва цитата съответстващ на номера на публикацията;

[С №] - посочва съобщение на конференция или симпозиум с участие на докторантката.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ε-CL- ε-капролактон

СМС- критична концентрация на мицелообразуване

DAPI- 4',6-диамино-2-фенилиндол

DLS -динамично или квазиеластично разсейване на светлината

DP- степен на полимеризация

DPH- 1,6-дифенил-1,3,5-хексатриен

ЕО- етиленоксид

FTIR- инфрачервена спектроскопия с форије трансформация

HepG2- човешки хепатоцитни карциномни клетки

HMDI- хексаметилендиизоцианат

MALDI-TOF маспектрометрия- маспектрометрия с лазерно откъсване от матрица и с отчитане на времето на полет на йонизираните частици

MePEOMA- метилетер метакрилат поли(етиленоксид)

ММ- молекулномеханично изследване

ММТ- 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиев бромид

МРЕО- монометил етер поли(етиленоксид)

МРЕО-епоксид- α-метокси-ω-епокси поли(етиленоксид)

[МРЕО(ОН)₂]- α-метокси-ω,ω'-дихидрокси поли(етиленоксид)

M_n-средна бройна молекулна маса

M_w-средна тегловна молекулна маса

M_w/M_n- полидисперсност

NMR- ядрено магнитен резонанс

NR- неутрално червено

PCL- поли(ε-капролактон)

РЕО- поли(етиленоксид)

PhNCO- фенилизоцианат

R_h- хидродинамичен радиус

ROP- полимеризация с отваряне на пръстена

SEC- хроматография с изключване по размер

ТЕМ- трансмисионна електронна микроскопия

THF- тетраhydroфуран

UV-vis спектроскопия- ултравиолетова и видима спектроскопия

ПАВ- повърхностноактивно вещество

УВОД

Едно от приоритетните направления за развитие на полимерната химия в днешно време е свързано с получаването на наноструктурни и биосъвместими полимери. Този тип полимерни материали намират широко приложение в областта на медицината, електрониката, оптиката, както и в редица други екологични технологии. Свойствата на тези материали се определят от тяхната структура, състав, размерност и функционалност.

Синтезът на биосъвместими и биоразградими полимерни материали и техните наноструктурни образувания - мицели, хидрогелове, микропорьозни тънки филми и други е задача с особено голямо значение, която изисква комплексни познания и опит в много научни направления. Приложението на тези полимерни материали е свързано с редица техни уникални свойства, като възможност за контролирано и насочено освобождаване на лекарствени вещества, матрици за тримерно тъканно възстановяване, диагностични агенти и др.

През последните две десетилетия са положени значителни усилия за развитието на различни техники и подходи в полимерния синтез и надмолекулен дизайн, с които се достигна до безкрайно вариране на морфологията и функционалността на този тип полимерни материали. Установена е връзката между множество техни характеристики и свойства, ценни за тяхното приложение в медицината и фармацията.

Амфифилните блокови съполимери са атрактивен клас полимерни материали, притежаващи уникално поведение в разтвор и твърда фаза. Основно тяхно свойство е способността им да се самоорганизират в различни по вид, форма и размер нано- и микрочастици.

В настоящия дисертационен труд ние се насочихме към изследвания върху възможностите за контролиране на различни макромолекулни характеристики на амфифилни полимерни материали изградени от хидрофобни и хидрофилни блокове – поли(ε-капролактон) (PCL) и поли(етиленоксид) (PEO). За целта са приложени различни синтетични подходи, позволяващи модифициране на състава, структурата и архитектурата на този тип полимерни материали. Редица от свойствата на получените съполимери са изследвани, а за обещаващите структури е представено и тяхното потенциално приложение като носители на нискомолекулни лекарствени средства.

ЦЕЛ НА ДИСЕРТАЦИОННАТА РАБОТА

Целта на дисертационния труд е да се синтезират нови добре дефинирани амфифилни блокови съполимери на основата на PCL и PEO с разнообразна архитектура (линейна и звездовидна). На тяхна основа да бъдат получени полимерни мицелни системи и да се илюстрират възможности за приложение им в биомедицината.

За постигане на тази цел бяха поставени следните **задачи**:

1. Да се синтезират и охарактеризират серия от **линейни диблокови** съполимери от вида PCL-b-PEO с прилагане на два различни синтетични подхода.

1.1. Първият подход включва реакция на сдвояване на PCL с постоянна дължина на веригата ($M_n = 2000$) и PEO блок с променяща се дължина.

1.2. Вторият подход включва ROP на ϵ -CL, инициирана с помощта на MPEO.

2. Да се синтезират и охарактеризират серия от **линейни триблокови** съполимери от вида PEO-PCL-PEO с постоянна дължина на средния блок от PCL ($M_n = 2000$) и променяща се дължина на крайните полиетиленоксидни блокове чрез прилагане на реакция на сдвояване.

3. Да се синтезират и охарактеризират серия от **звездовидни** блокови съполимери от вида $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ чрез прилагане на “arm-first” метода с използване на два различни синтетични подхода.

3.1. Първият подход включва получаването на трираменни звездовидни блокови съполимери в триетапен синтез: **а)** синтез на α -метокси- ω -епокси поли(етиленоксид); **в)** модификация на крайната епоксидна група за получаването на α -метокси- ω, ω' -дихидрокси поли(етиленоксид) като макроинициатор; **с)** прилагане на ROP на ϵ -CL и вариране на дължината на PCL блок при използване на различни молни съотношения на ϵ -CL/макроинициатор.

3.2. Вторият подход включва получаването на трираменни звездовидни блокови съполимери в двуетапен синтез: **а)** синтез на α -метокси- ω, ω' -дихидрокси поли(етиленоксид) като макроинициатор с прилагане на известната от органичната химия реакция на присъединяване от *Michael* тип; **в)** прилагане на ROP на ϵ -CL и вариране на дължината на PCL блок при използване на различни молни съотношения на ϵ -CL/макроинициатор.

4. Да се изследват отнасянията във водна среда на получените амфифилни блокови съполимери с линейна и нелинейна архитектура. Да бъдат определени основните характеристики на полимерните мицелите като СМС, размер и форма.

5. Да се направи сравнение на характеристиките (СМС, размер и форма) на мицелите получени от блокови съполимери с разнообразна архитектура.
6. Да се изследват възможностите за приложение на получените полимерни мицели за биомедицински и фармацевтични цели.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

1. Синтез на линейни PCL-b-PEO диблокови съполимери от типа АВ чрез реакция на сдвояване [C 2]

1.1. Синтез на монозащитен с фенилизоцианат PCL (PhNHC(O)O-PCL-OH) (2, Схема 10)

Синтезът на PCL-b-PEO диблокови съполимери е осъществен посредством триетапна процедура (Схема 10).

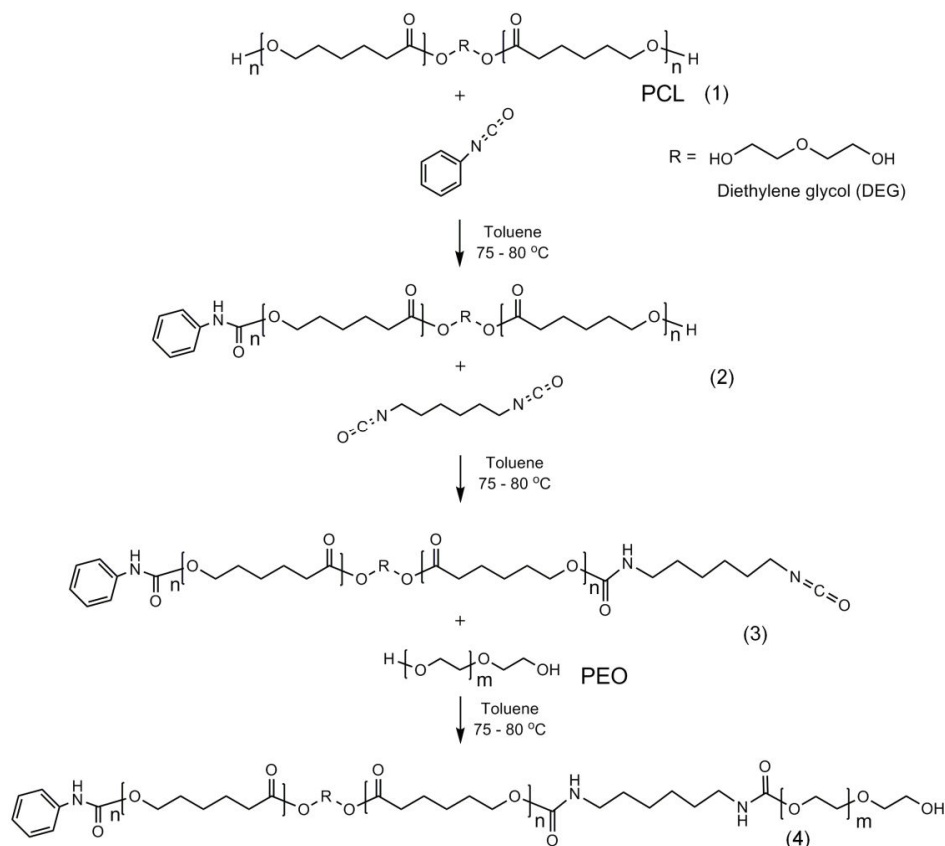
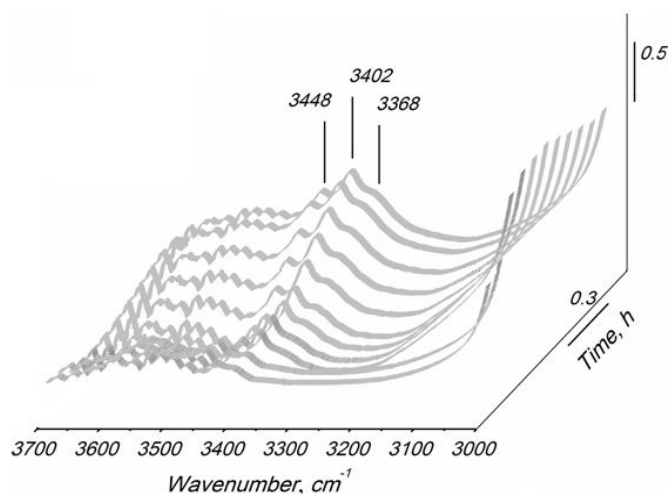


Схема 10. Синтез на PCL-b-PEO диблоков съполимер

Първият етап включва реакция на присъединяване между силно реактивоспособната фенилизоцианатна молекула и PCL диол. Реакцията се извършва при молно съотношение NCO/OH - 1.1:1 (mol/mol). Количественото съотношение между използваните реагенти определя селективното формиране на монозащитен с фенилизоцианатна група PCL (PhNHC(O)O-PCL-OH) (2). Реакцията е проведена в инертна атмосфера, сух толуен и температура 75-80°C. Приложената ниска реакционна температура изключва до голяма степен възможността за протичане на странични реакции, определящи образуването на алофанатни и/или уреа тип връзки. Времето необходимо за количествения добив на PhNHC(O)O-PCL-OH продукт е проследено с помощта на FTIR спектроскопия (Фиг. 23). За целта е изследвана промяната на

адсорбционния профил на проби от реакционната смес в областта $3000\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$. Проследена е промяната на интензитета на ивицата с максимум на поглъщане при 3402 cm^{-1} , характерна за *N-H* трептения (атоми налични в уретанови групи).



Фигура 23. Промяна в интензитета на ивицата на поглъщане на *N-H* уретанова връзка с времето на реакцията определена чрез FTIR спектроскопия

От кинетичните изследвания на реакцията заключихме, че механизмът на реакцията е автокаталитичен. Експоненциалното нарастване на ивицата на поглъщане с максимум при 3402 cm^{-1} е основание за това, че превръщането на изоцианатните групи в уретанови е значително при образуването на минимално количество *N-H* групи (Фиг. 23). Предполага се, че взаимодействието на изоцианатната група с хидроксилната, влизаща в състава на PCL макромолекула се осъществява като кислородният атом от хидроксилната група предимно атакува въглеродния атом от изоцианатната с образуването на уретанова група, чиито *H* атоми поляризират π -електроните на друга изоцианатна група посредством водородно тип свързване (Схема 11).

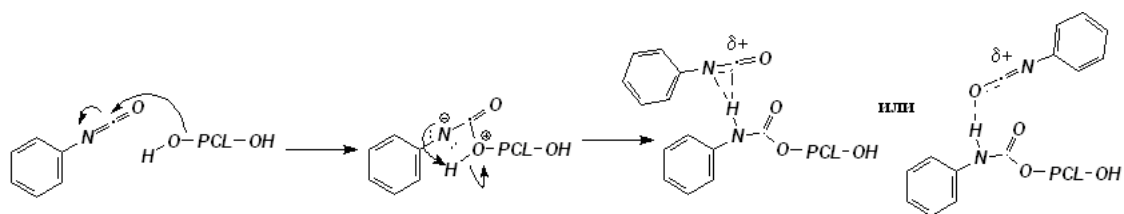
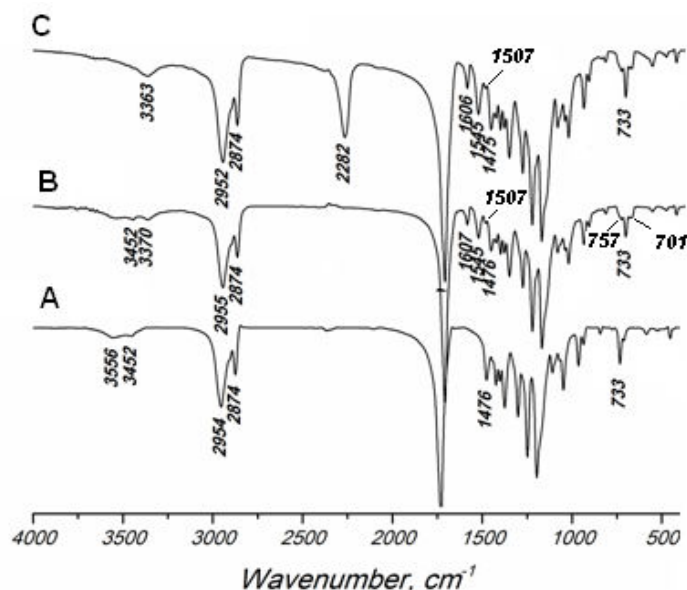


Схема 11. Предполагам механизъм на реакцията между фенилизотианат и PCL диол при автокаталитични условия

В FTIR спектъра на PhNHC(O)O-PCL-OH (M_n 2000 g/mol) (Фиг. 24, **В**) се наблюдават слабо интензивни ивици на поглъщане характерни за $(\text{CH}_2)_n$ полиметиленови фрагменти на въглеродородната PCL верига с $n \geq 3$ при 733 и 1476 cm^{-1}

и силно интензивни ивици с максимум при 2955 и 2874 cm^{-1} характерни за асиметрични и симетрични деформационни трептения на *C-H* метиленови протони.



Фигура 24. FTIR спектри на (A) PCL, (B) PhNHC(O)O-PCL-OH и (C) NCO-завършен PCL предполимер

Наблюдаваната силно интензивна ивица на поглъщане с максимум при 1730 cm^{-1} определя наличието на *-C(O)O-* естерни групи. Освен това в спектъра се наблюдават и силно интензивни ивици на поглъщане характерни за *C-H* ароматни извън равнинни деформационни трептения при 701 и 757 cm^{-1} приписвани за монозаместено ароматно ядро и слабо интензивни ивици с максимуми при 1607 и 1507 cm^{-1} характерни за *-C=C-* *C* деформационни трептения от ароматния пръстен. Появата на ивица с максимум при 1545 cm^{-1} приписваме за *N-H* тип трептения, както и допълнително наблюдаваната ивица във високочестотната област с максимум при 3370 cm^{-1} . Наличието на *C-N* вибрационно поглъщане при 1196 cm^{-1} очаквано е скрито в наличната силно интензивна ивица характерна за PCL блок при аналогично вълново число. Отсъствието на асиметрично деформационно трептене при 2280 cm^{-1} характерно за *-N=C=O* групи и намалената интензивност на ивиците с максимуми при 3452 и 3556 cm^{-1} (Фиг. 24, A) характерни за хидроксилните функционални групи определят завършеността на реакцията между *-N=C=O* и *-OH* групи. При този тип групи се наблюдава образуването на водородни връзки от димерен или вътрешномолекулен тип.

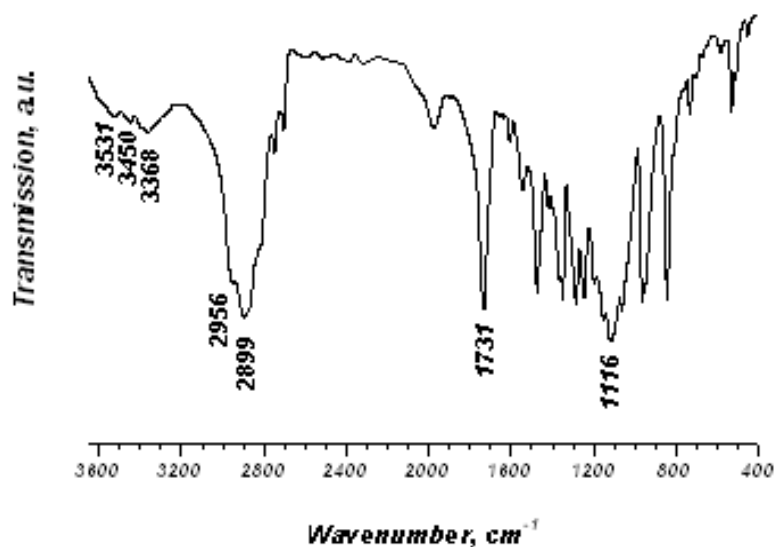
1.2. Синтез на NCO-завършен PCL предполимер (Ph-PCL-NCO) (3, Схема 10)

Вторият етап от синтеза на PCL-b-PEO дблоков съполимер включва реакция на функционализиране на свободната хидроксилна група в PhNHC(O)O-PCL-OH (2) с

нискомолекулният реагент HMDI. Посочената реакция води до формирането на NCO-крайно функционализиран PCL. Реакцията е проведена в толуен при молно съотношение OH/NCO - 1:1 (mol/mol) и температура 75-80°C (Схема 10). Приложени са анхидридни условия за синтез. Получената силно реактивоспособна макромолекула е анализирана с помощта на FTIR спектроскопия в подходящи за целта условия, използване на капилярен слой от инертен въглеродород - нуйол (Фиг. 24, С). От FTIR спектъра на Ph-PCL-NCO компонент (3) се вижда значително увеличаване на интензивността на ивиците с максимум при 3363 и 1545 cm^{-1} . Тези ивици са указание за увеличената концентрация на *N-H* групи в изследваната проба. В спектъра също така се наблюдава и силно интензивна ивица с максимум при 2282 cm^{-1} , характерна за асиметричното деформационно трептене на *-N=C=O* групи.

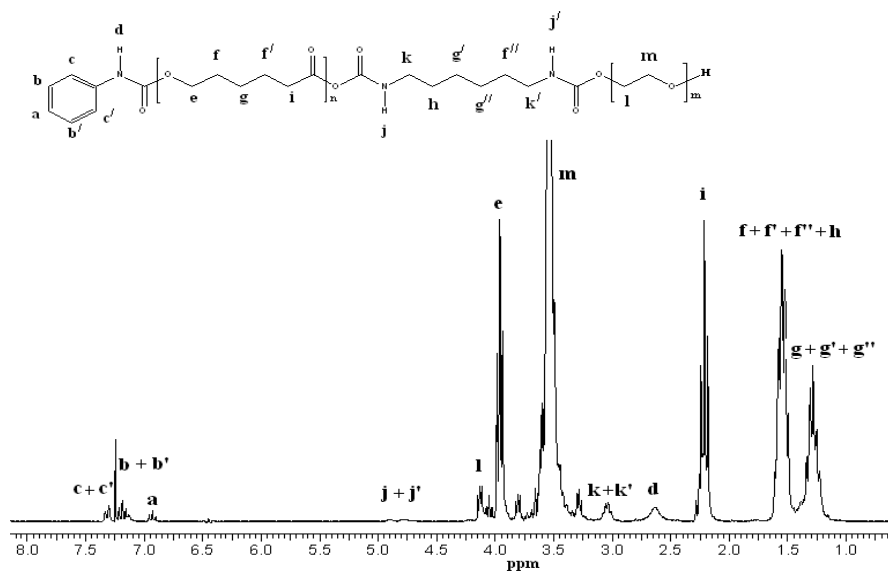
1.3. Синтез на PCL-b-PEO диблокови съполимери посредством реакция на сдвояване (4, Схема 10)

Полученият Ph-PCL-NCO предполимер е използван в третия етап от синтеза на PCL-b-PEO диблоков съполимер (4, Схема 10). За целта е използван хидроксилно завършен телехелен PEO с молекулна маса от 6000 до 15000 g/mol. Реакцията на сдвояване между Ph-PCL-NCO и PEO е използвана за получаването на диблокови съполимери с линейна архитектура. Реакцията е проведена отново в толуен при молно съотношение NCO/OH - 1:1 (mol/mol). Съставът, структурата и други основни характеристики на получените диблокови съполимери са определени с помощта на FTIR, ^1H NMR спектроскопия и SEC. От FTIR спектъра (Фиг. 25) на PCL-b-PEO диблоков съполимер (1a, Таблица 1) се наблюдава силно интензивна ивица на поглъщане с максимум при 1116 cm^{-1} , характерна за *-C-O-C-* валентни трептения на повтарящите се *-O-CH₂-CH₂-* етиленоксидни единици, намиращи се в състава на PEO блок и ивици с ниска интензивност характерни за PCL верига. Разликата между стойностите за интензитета на посочените ивици се определя от огромната разлика между концентрацията на съответните мономерни звена, принадлежащи на PEO и PCL блокове. Отсъствието на *-N=C=O* асиметрично деформационно трептене при 2282 cm^{-1} , е указание за пълното отсъствие на изоцианатни групи в получения продукт и успешното количествено осъществяване на реакцията на сдвояване.



Фигура 25. FTIR спектър на PCL-b-PEO диблоков съполимер (**1a**, Таблица 1)

Освен чрез FTIR спектроскопия, съставът и структурата на получената серия от PCL-b-PEO диблокови съполимери са определени и с помощта на данните от ^1H NMR спектроскопия. На Фигура 26 е представен ^1H NMR спектърът на PCL-b-PEO диблоков съполимер (**1a**, Таблица 1). Сигналите за наличните протони са съответно означени. От спектъра ясно се вижда наличието на силно интензивни сигнали при 1.28 (**g**), 1.55 (**f+f'**), 2.21 (**i**) и 3.96 (**e**) ppm, характерни за метиленовите протони от PCL веригата. Трябва да се отбележи, че метиленовите протони от състава на HMDI, намиращи се в основната полимерна верига на блокския съполимер се припокриват с част от метиленовите протони в PCL веригата.



Фигура 26. ^1H NMR спектър на PCL-b-PEO диблоков съполимер (**1a**, Таблица 1)

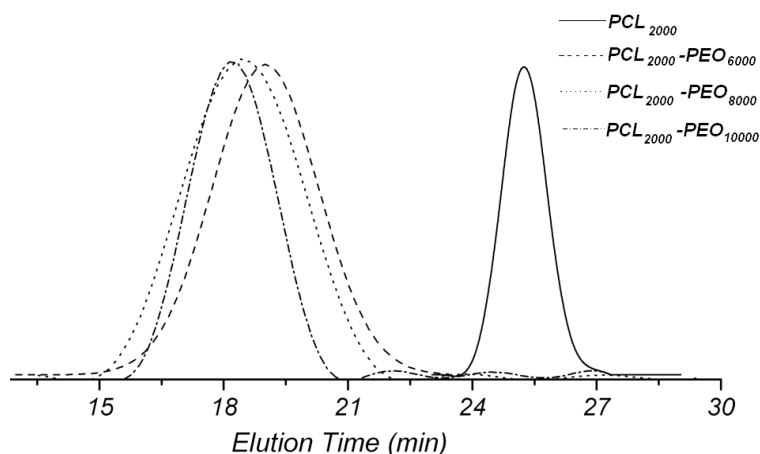
Сигналят при 1.28 ppm, маркиран като ($g' + g''$) се приписва на метиленови протони $-HN-(CH_2)_2-(CH_2)_2-(CH_2)_2-NH-$ от молекулата на HMDI, а сигнал отбелязан като ($f' + h$) при 1.55 ppm на протоните от $-HN-CH_2-\underline{CH_2}-(CH_2)_2-\underline{CH_2}-CH_2-NH-$. Триплетният сигнал отбелязан като (e) при 3.96 ppm (деекраниран от O -атом на естерната група) определя наличието на $\varepsilon-CH_2$ протони. Сигналите 6.93 (a), 7.17 ($b + b'$) и 7.30 ($c + c'$) ppm се отнасят към протоните, локализирани в бензенения пръстен, чийто стойности са характерни за съответните *орто*-, *мета*- и *пара*-протони (сигналят при 6.93 ppm е отнесен за *пара*-, а сигналите при 7.19 и 7.30 ppm за *мета*- и *орто*-). Наблюдаваните отмествания са характерни за $Ph-NHC(O)$ -тип структура. Широк и слабо интензивен сигнал при 2.63 (d) ppm се приписва на протона, влизащ в състава на уретановата група от фенилизоцианатната молекула. Силно интензивният мултиплетен сигнал маркиран като m при 3.55 ppm, определя наличието на пълносиметрични, повтарящи се $-O-CH_2-CH_2-$ единици във веригата на РЕО. Присъствието на два симетрични триплетни сигнала при 3.28 и 3.81 ppm са характерни за $-O-CH_2-\underline{CH_2}-OH$ група локализирана в края на РЕО. Наблюдава се мултиплетният сигнал маркиран като l при 4.13 ppm, съответстващ на метиленовите протони в $C(O)O-\underline{CH_2}-CH_2-O-$ група. Освен това в спектъра се откриват слабо интензивни сигнали при 4.91 (j) и 4.79 (j') ppm, съответстващи на протоните в уретановата група от молекулата на HMDI $-O(O)CHN-(CH_2)_6-NHC(O)O-$. Слабо интензивен мултиплетен сигнал, отбелязан като k и k' се наблюдава при 3.06 ppm, характерен за метиленовите протони от състава на HMDI – $NH-CH_2-(CH_2)_4-\underline{CH_2}-NH-$.

Молекулната маса M_n на получените линейни АВ диблокови съполимери е определена от данните получени посредством 1H NMR спектроскопия. За целта е използвано уравнение 6, а получените стойности са представени в Таблица 1:

$$M_n(NMR) = I_m/4 \times DP_{PEO} + I_i/2 \times DP_{PCL} + 120 + 170 \quad (6)$$

в което с I_m и I_i са отбелязани съответните интегрални стойности на сигналите при 3.55 ppm (метиленови протони за РЕО повтарящи се звена) маркирани като m и 2.21 ppm (метиленови протони за PCL повтарящи се звена), отбелязани като i . DP е степента на полимеризация, съответно за РЕО и PCL. Стойностите 120 и 170 се отнасят за съответните молекулни маси на фенилизоцианатната група и хексаметилендиизоцианат сдояващ агент, влизащи в състава на PCL-b-РЕО съполимери.

Молекулната маса и полидисперсният индекс на получените продукти са определени с помощта на SEC (Фиг. 27).



Фигура 27. SEC криви на PCL и PCL-b-PEO диблокови съполимери

От представената фигура се вижда, че получените SEC криви са мономодални със сравнително тясно разпределение по молекулна маса (от 1.28 до 1.84). Слабо изразената асиметричност на кривите, наблюдавана от страна на големите обеми на елуиране се обяснява с наличието на незначително количество нереагирал PEO. Молекулномасовите характеристики на PCL-b-PEO диблокови съполимери са представени в Таблица 1.

Таблица 1. Макромолекулни характеристики на PCL-b-PEO диблокови съполимери

№	Образец	PCL/PEO ^a (теор., wt%)	Тотална M_n^a (теор.)	M_n^b (NMR)	M_n^c (SEC)	M_w/M_n^c (SEC)
1a	PCL ₂₀₀₀ -PEO ₆₀₀₀	2000/6000	8000	8400	8500	1.84
1b	PCL ₂₀₀₀ -PEO ₈₀₀₀	2000/8000	10000	9900	10490	1.49
1c	PCL ₂₀₀₀ -PEO ₁₀₀₀₀	2000/10000	12000	12350	12470	1.28
1d	PCL ₂₀₀₀ -PEO ₁₅₀₀₀	2000/15000	17000	18230	16000	1.30

^a Теоретични стойности за молекулната маса.

^b M_n е изчислена от данни получени чрез ¹H NMR спектроскопия съгласно уравнение 6.

^c M_n и M_w/M_n -стойности определени от SEC с използването на PS стандарти.

2. Синтез на линейни PEO-b-PCL диблокови съполимери от типа АВ с прилагане на полимеризация с отварянето на пръстена (ROP) на ε-CL (Схема 12)

Синтезът на линейни PEO-b-PCL диблокови съполимери е осъществен и посредством полимеризация с отваряне на пръстена на цикличния мономер ε-CL (Схема 12). Полимеризацията е проведена в присъствието на органометален катализатор - калаен октаноат Sn(Oct)₂.

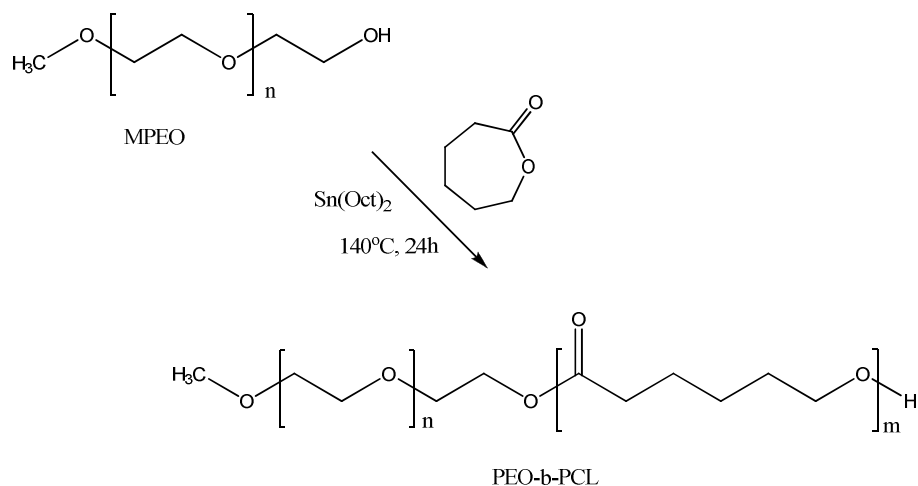


Схема 12. Синтез на PEO-b-PCL диблоков съполимер

Монозащитеният с метокси група PEO (MPEO) е използван като инициатор за полимеризацията. Наличната хидроксилна група в единия край на макромолекулата на MPEO гарантира получаването на диблоков съполимер от типа PEO-b-PCL в състава на крайния продукт. Приложените условия за синтез на PEO-b-PCL полимери (сух толуен и среда от предварително изсушен аргон) са необходими условия за създаването на т. нар., „жив“ полимеризационен край (Схема 12). Количеството добавен мономер в полимеризационната маса е определено от необходимостта за създаване на PCL блокове с различна дължина, респективно маса. Съставът, структурата и молекулната маса на получените диблокови съполимери са определени чрез ¹H NMR, FTIR спектроскопия и SEC (Таблица 2).

Таблица 2. Макромолекулни характеристики на PEO-b-PCL диблокови съполимери

№	Съполимер	[M] ₀ /[I] ₀	M _n ^a (NMR _{PCL})	M _n ^b (теор.)	M _n ^c (NMR)	M _n ^d (SEC)	M _w /M _n ^d (SEC)
1a	PEO-b-PCL 1	8	800	2000	1800	2400	1.16
1b	PEO-b-PCL 2	17	1750	3000	2750	2990	1.15
1c	PEO-b-PCL 3	35	4050	5000	5050	5500	1.18
1d	PEO-b-PCL 4	52	5500	7000	6500	7050	1.20

^a M_n (PCL) определена от данните получените посредством ¹H NMR спектроскопия.

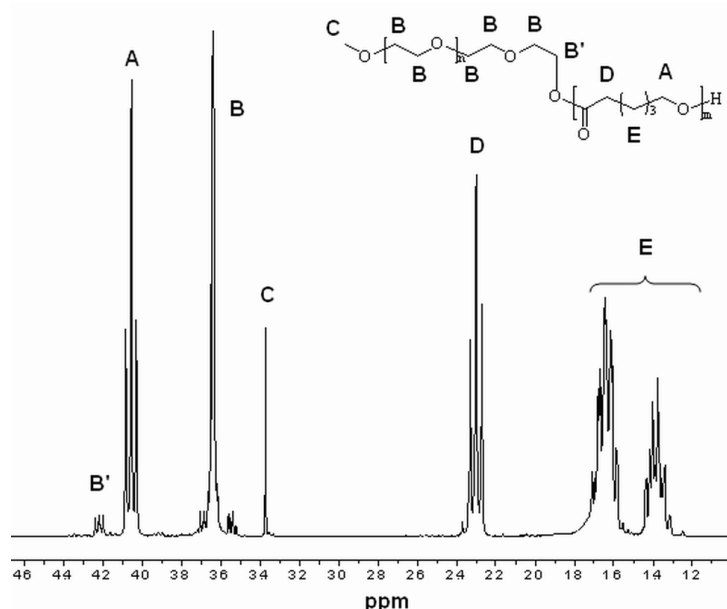
^b M_n (теор.) = [M]₀/[I]₀ × M_{nPCL} + M_{nPEO}.

^c M_n е определена чрез ¹H NMR спектроскопия. Използвано е уравнение 7.

^d M_n и M_w/M_n са определени чрез SEC с използването на PEO стандарти.

На Фигура 28 е представен ¹H NMR спектъра на PEO-b-PCL диблоков съполимер (**1b**, Таблица 2). Силно интензивният мултиплетен сигнал, маркиран като **B**

при 3.64 ppm се приписва на повтарящите се метиленови протони ($-O-\underline{CH_2}-\underline{CH_2}-$) от състава на PEO. Резонансните сигнали при 4.05 (сигнал **A**), 2.30 (сигнал **D**), 1.65 и 1.37 (сигнал **E**) ppm се пречисляват към метиленовите протони от PCL веригата. Освен това се наблюдава сигнал при 3.37 ppm маркиран като **C** отнесен към протоните на крайната метокси група ($\underline{CH_3}-O-$) от PEO. Мултиплетен сигнал маркиран като **B'** при 4.21 ppm е отнесен за метиленовите протони от етиленовата група в състава на PEO, свързана с ϵ -CL мономерни звена. За определяне степента на полимеризация за PCL блок са използвани интегралните стойности на сигнали при 3.64 ppm (**B**), отговарящи за метиленови протони от оксиетиленовата група, влизащи в състава на MPEO и метиленовите протони при 4.05 ppm (**A**), намиращи се в състава на PCL (Таблица 2).



Фигура 28. ^1H NMR спектър на PEO-b-PCL диблоков съполимер (**1b**, Таблица 2)

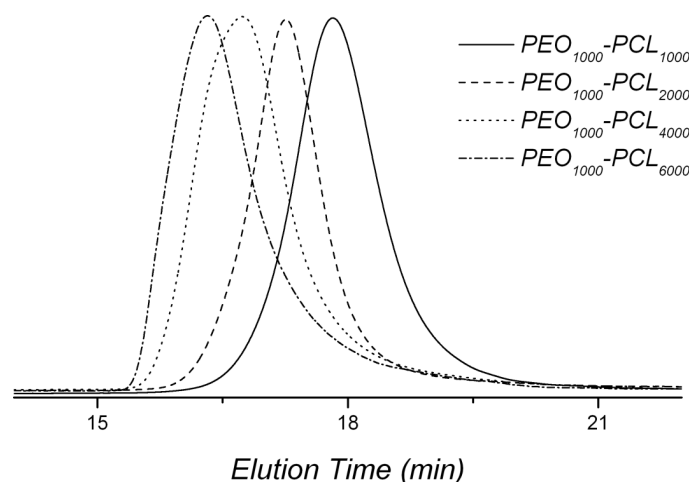
Молекулната маса M_n на всички PEO-b-PCL диблокови съполимери е изчислена с прилагане на уравнение 7:

$$M_n(\text{MNR})[\text{PEO-b-PCL}] = (I_A/2)/(I_B/4) \times \text{DP}_{\text{PEO}} \times 114.14 + M_n \text{ PEO} \quad (7)$$

в което с I_A и I_B са дадени съответните интегрални стойности за метиленови протони от PCL при 4.05 ppm отбелязани като **A**, а с **B** са маркирани протоните от PEO при 3.65 ppm. Стойност 114.14 е молекулната маса на ϵ -CL, DP_{PEO} е степента на полимеризация на PEO и $M_n \text{ PEO}$ е молекулната маса на макроинициатора (Фиг. 28).

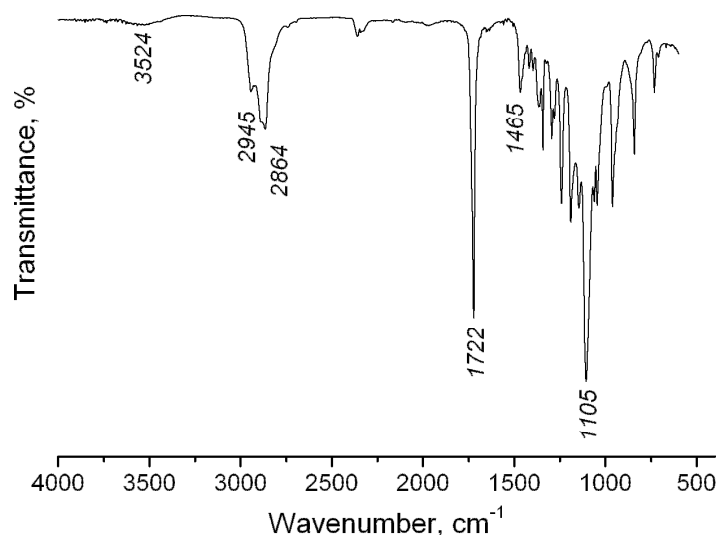
Блоковата архитектура на съполимерите бе доказана чрез прилагане на хроматография с изключване по размер (Фиг. 29). SEC кривите за всички диблокови съполимери са мономодални с тясно разпределение по маса. Степените на дисперсност

са в интервала от 1.15 до 1.20. Единствено при блокови съполимери с по-високи стойности на молекулната маса се наблюдават и малко по-високи стойности за полидисперсия индекс. Не се наблюдават допълнителни пикове, които да съответстват на нереагирал ϵ -CL или хомополимер, което е доказателство за успешното протичане на полимеризационния процес (Таблица 2).



Фигура 29. SEC криви на PEO-b-PCL диблокови съполимери

Структурата на получените блокови съполимери е потвърдена чрез прилагане на FTIR спектроскопия. От спектъра на PEO-b-PCL диблоков съполимер (**1b**, Таблица 2), се наблюдава силно интензивна ивица на поглъщане с максимум при 1722 cm^{-1} , което доказва присъствието на карбонилните групи в PCL блок (Фиг. 30).



Фигура 30. FTIR спектър на PEO-b-PCL диблоков съполимер (**1b**, Таблица 2)

Ивиците с максимум на поглъщане при 1105 и 1465 cm^{-1} се дължат на валентни трептения за $-C-O-C-$ и $-O-C$ връзки. Тази абсорбция показва наличието на повтарящите

се $-O-CH_2-CH_2-$ етиленоксидни звена, намиращи се в състава на РЕО блок. В спектъра се наблюдават $C-H$ асиметрични и симетрични валентни трептения с максимуми при 2945 cm^{-1} и 2864 cm^{-1} , характерни както за ЕО, така и за ϵ -CL мономерни звена. В допълнение, широката ивица на поглъщане при 3524 cm^{-1} се приписва на крайната хидроксилна група ($-OH$) в състава на блоковия съполимер.

3. Синтез на линейни РЕО-PCL-РЕО триблокови съполимери от типа АВА чрез реакция на сдвояване [П 1], [Ц 1, 2, 3], [С 1, 2, 3]

3.1. Синтез на NCO-завършен PCL предполимер (2, Схема 13)

Синтезът на NCO-завършен PCL предполимер (2) е проведен в толуен с молно съотношение NCO/OH - 2:1 (mol/mol) и реакционна температура $75-80^\circ\text{C}$. Приложената температура и инертната атмосфера инхибират в значителна степен обратимостта на реакцията и образуването на алофанатни и уреа тип връзки. Избраният подход за синтез на OCN-PCL-NCO телехелен олигомер, а именно прибавянето на разтвор на PCL към разтвор на HMDI за значително продължителен период от време (над 60 min), позволи намаляване на възможността за образуване на полиестеруретанови структури. Реакционната схема за синтез на NCO-завършен PCL предполимер е представена на Схема 13.

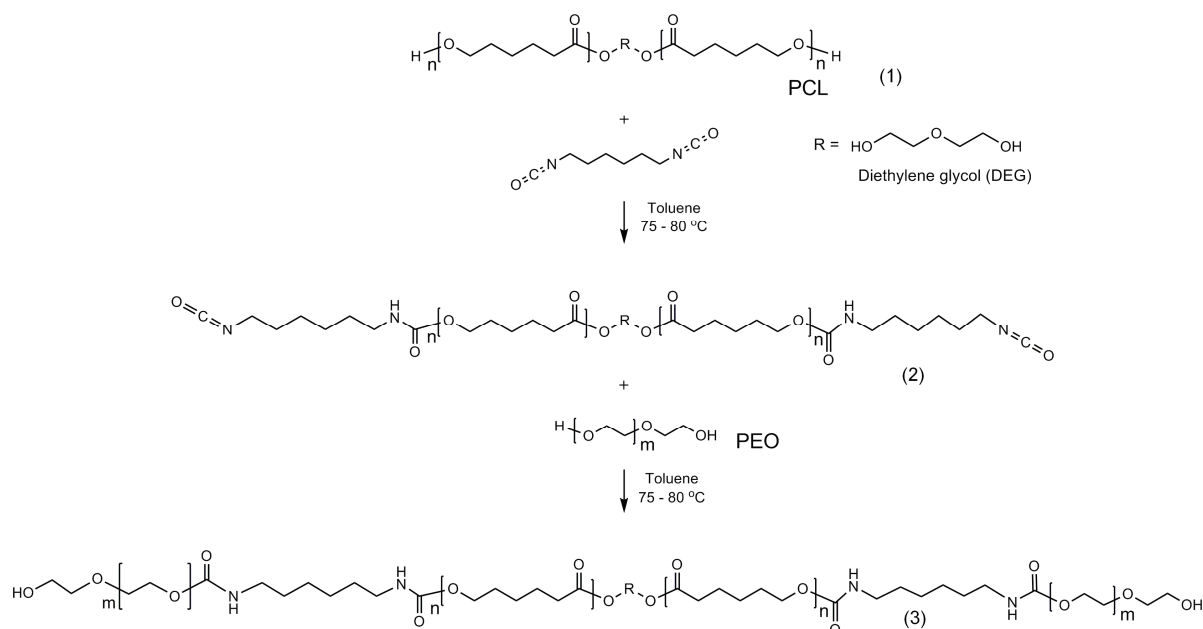
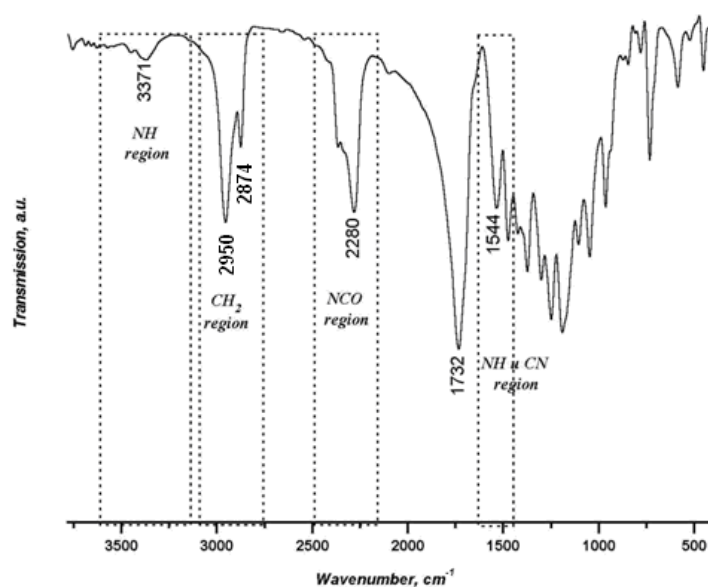


Схема 13. Синтез на РЕО-PCL-РЕО триблоков съполимер

Приложен е FTIR анализ за охарактеризиране състава на получения телехелен олигомер и за проследяване завършеността на реакцията (Фиг. 31). Отново са използвани подходящи за целта условия, а именно приготвя се от изследваните проби

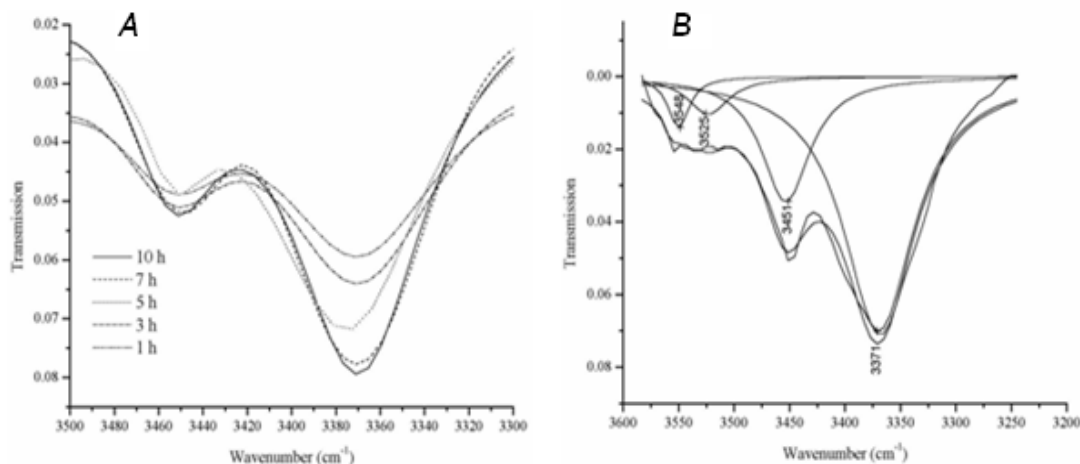
капилярен филм, който се поставя между плочи от KBr. Количественото превръщане на реакцията определихме чрез промените в интензитета на характерните ивици на поглъщане за хидроксилните и изоцианатни функционални групи в проби от реакционната система. В процеса на синтез на OCN-PCL-NCO предполимер за FTIR спектрално изследване са вземани проби на всеки 30-60 min. Установено е, че интензитетът на ивиците характерни за уретанови групи нараства, докато интензитетът на ивиците характерни за *HO*- и *NCO*- намалява. Резултатите от проведения FTIR анализ показаха, че в края на реакцията, интензитетът на ивицата характерна за *OH* групите в PCL достига приблизително нулева стойност, а интензитетът на ивицата, характеризираща изоцианатните групи остава постоянна, но с отлична от нула стойност. Тези данни ни позволиха да установим, че всички налични *OH* групи се изразходват в хода на реакцията (Фиг. 31).



Фигура 31. FTIR спектър на *NCO*-функционализиран PCL предполимер

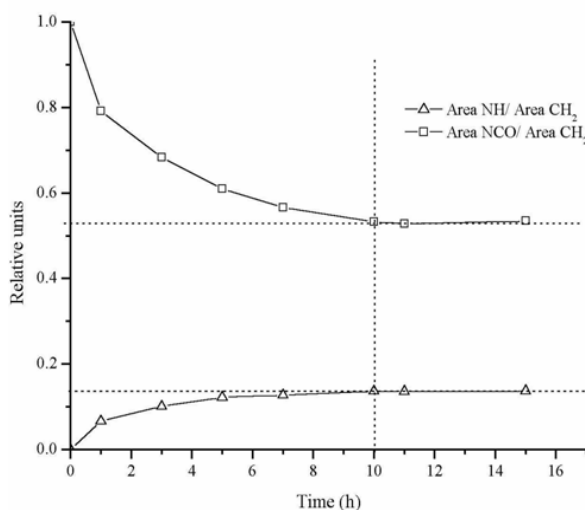
Кинетиката на реакционния процес е определена от съотношението между големините на интегралните площи на характерните ивици с максимуми при 3371 cm^{-1} (*N-H* връзки), $3100\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ (*C-H* асиметрични и симетрични трептения) и 2280 cm^{-1} (*NCO* асиметрични трептения) (Фиг. 31). Известно е, че *N-H* силово трептение е чувствително по отношение на вида и силата на водородните връзки, чиято функционална група формира. Наблюдаваната сложна (съставена от припокриването на множество ивици) ивица в областта $3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ е охарактеризирана чрез приложена деконволуираща стратегия, включваща генерирането на Гаусов тип пикове. За целта е използвана симулация за разлагане на криви от сложен тип чрез Origin софтуер версия

6. Сложната ивица на поглъщане характерна за *N-H* тип връзки на анализирания продукт е показана на Фигура 32, **A**, а съответния и деконволюиран спектър (петия час от началото на реакцията) е представен на Фигура 32, **B**. Ивицата с максимум при 3371 cm^{-1} е характерна за *N-H* групи, свързани координационно с карбонилните групи, влизащи в състава на PCL.



Фигура 32. (A) N-H област от FTIR спектъра на *NCO*-функционализиран PCL предполимер при различно реакционно време; (B) FTIR деконволюиран спектър в *N-H* област на функционализиран с крайни *NCO*-групи PCL - 5 час

От получените стойности на площите на ивици характерни за *N-H*, *C-H* и *NCO*-групи с максимуми съответно при 3371, 2700-3100 и 2280 cm^{-1} (определени след приложена деконволюираща стратегия) е представен реакционният профил на изследваната реакция (Фиг. 33).



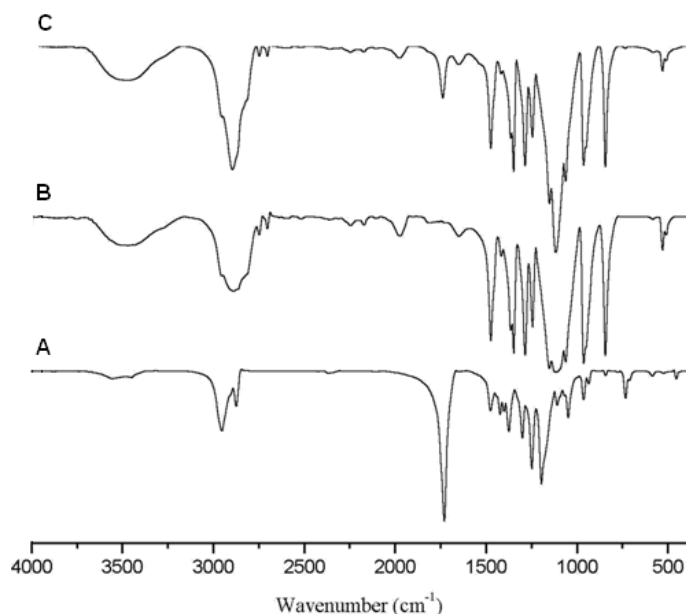
Фигура 33. Изменение на интензивността на пиковите характерни за *NCO*- и *NH*- групи с времето

За целта са използвани следните съотношения $S_{\text{NH}}/S_{\text{CH}_2}$ и $S_{\text{NCO}}/S_{\text{CH}_2}$. От получените криви ясно се вижда, че необходимото време за преустановяване на реакцията е десетия час от нейното начало.

3.2. Синтез на PEO-PCL-PEO триблокови съполимери посредством реакция на сдвояване (3, Схема 13)

Механизмът по който протича реакцията на сдвояване между OCN-PCL-NCO предполимер и телехелния HO-PEO-OH е показан на Схема 13. Молекулната маса на PEO олигомери е варирана от 6000 до 15000 g/mol. Реакцията е извършена в среда от толуен при молно съотношение NCO/OH - 1:2 (mol/mol). За предотвратяване на странични реакции, способстващи формирането на алтерниращ съполимер с постоянно редуващи се PCL и PEO блокове е прибавен толуенов разтвор на OCN-PCL-NCO предполимер към разтвор на PEO в течение на 60 min.

Структурата на получените триблокови съполимери е определена чрез FTIR и ^1H NMR спектроскопия. FTIR и ^1H NMR спектрите на всичките триблокови съполимери показват аналогични ивици и сигнали. На Фигура 34 са съпоставени FTIR спектрите на триблоков съполимер (**1a**, Таблица 3), PCL и PEO ($M_n \sim 6000$).

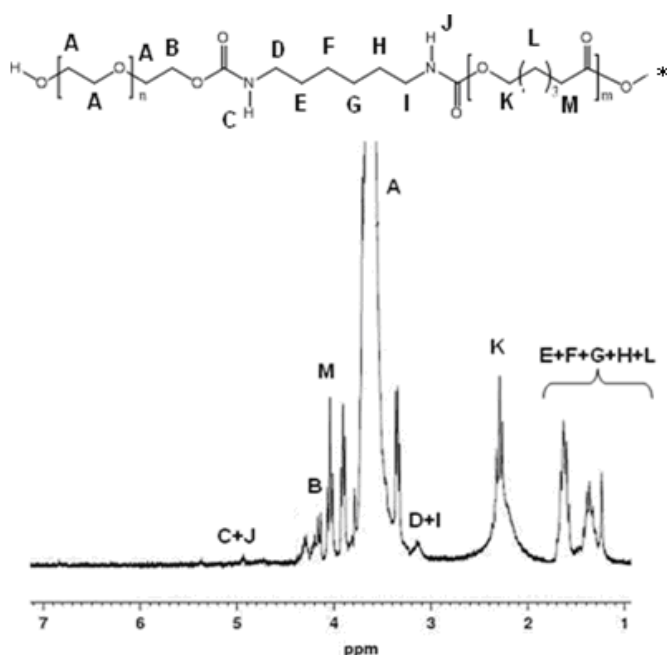


Фигура 34. FTIR спектри на (A) PCL, (B) PEO и (C) PEO-PCL-PEO триблоков съполимер (**1a**, Таблица 3)

В спектъра на триблоковия съполимер се наблюдава силно интензивна ивица с максимум при 1116 cm^{-1} , отнасяща се за $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ валентни трептения на повтарящите се $-\text{OCH}_2-\text{CH}_2-$ етиленоксидни единици в PEO верига. Слабо $-\text{C}=\text{O}$ валентно трептение с максимум при 1739 cm^{-1} доказва наличието на $-\text{C}(\text{O})\text{OCH}_2-$ естерни връзки в повтарящите се единици на PCL блок. Отсъствието на ивица в интервала $2270-2285\text{ cm}^{-1}$

¹ показва, че *NCO*-групите принадлежащи на OCN-PCL-NCO предполимер са реагирали напълно. Слабата абсорбционна ивица с максимум при 1540 cm⁻¹ е доказателство за присъствието на *N-H* функционални групи, характерни за уретановите групи в триблоковия съполимер.

¹H NMR анализите, също така потвърждават състава и структурата на получените триблокови съполимери. На Фигура 35 е показан ¹H NMR спектъра на PEO-PCL-PEO триблоков съполимер (**1a**, Таблица 3) и чрез буквено обозначение са представени съответните сигнали на протоните в структурата на блоковия съполимер.



Фигура 35. ¹H NMR спектър на PEO-PCL-PEO триблоков съполимер (**1a**, Таблица 3) в CDCl₃

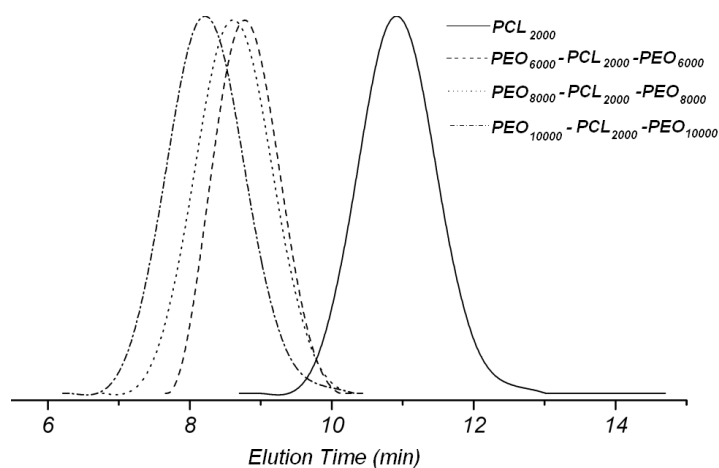
В спектъра се наблюдава присъствие на силно интензивни сигнали, дължащи се на α -, β -, γ -, δ - и ϵ -метиленовите протони, влизащи в състава на PCL верига при 1.38 и 1.64 (L), 2.31 (K) и 4.05 (M) ppm. Освен посочените метиленови групи на PCL веригата, при същите химични отмествания се припокриват и сигнали от HMDI сдвояващ агент, намиращ се в основната полимерна верига на блоковия съполимер. Сигналите при 1.38 и 1.64 ppm, маркирани като (E+F+G+H) се приписват на метиленовите протони от *-HN-(CH₂)₂-(CH₂)₂-(CH₂)₂-NH-* и *-HN-CH₂-CH₂-(CH₂)₂-CH₂-CH₂-NH*, намиращи се в молекулата на HMDI. Силно интензивен мултиплетен сигнал маркиран като A при 3.63 ppm е определен за метиленовите протони от повтарящите се етиленоксидни звена в състава на PEO. Слабо изразен мултиплетен сигнал при 3.13 (D+I) ppm е отнесен за *HN-CH₂-(CH₂)₄-CH₂-NH* от молекулата на HMDI, а сигналят при 4.93 ppm отбелязан като (C+J) се отнася за *-O(O)CHN-(CH₂)₆-NHC(O)O-* протони в уретановите групи.

Молекулната маса M_n на триблоковите съполимери е определена посредством данните получени от ^1H NMR спектроскопия, като за целта е използвано уравнение 8:

$$M_n (\text{NMR}) = I_A/4 \times \text{DP}_{\text{PEO}} + I_K/2 \times \text{DP}_{\text{PCL}} + 2 \times 170 \quad (8)$$

в което с I_A и I_K са означени интегралните стойности на сигналите при 3.63 ppm (сигнал А) и при 2.31 ppm (сигнал К). DP е степента на полимеризация, съответно за PEO и PCL, а стойността 170 е молекулната маса на хексаметилендиизоцианат.

SEC на получените триблокови съполимери показват мономодални пикове с относително тясно молекулномасово разпределение (Фиг. 36). Стойностите за M_n на PEO-PCL-PEO триблокови съполимери и съотношението PEO/PCL блокове са определени от данните получени чрез ^1H NMR спектроскопия и SEC (Таблица 3).



Фигура 36. SEC криви на PCL и PEO-PCL-PEO триблокови съполимери

Таблица 3. Макромолекулни характеристики на PEO-PCL-PEO триблокови съполимери

№	Съполимер	PEO/PCL ^a (теор., wt%)	M_n^a (теор.)	M_n^b (NMR)	M_n^c SEC	M_w/M_n^c SEC
1a	PEO ₆₀₀₀ -PCL ₂₀₀₀ -PEO ₆₀₀₀	12000/2000	14000	14320	16270	1.20
1b	PEO ₈₀₀₀ -PCL ₂₀₀₀ -PEO ₈₀₀₀	16000/2000	18000	18640	20880	1.32
1c	PEO ₁₀₀₀₀ -PCL ₂₀₀₀ -PEO ₁₀₀₀₀	20000/2000	22000	21830	27240	1.35
1d	PEO ₁₅₀₀₀ -PCL ₂₀₀₀ -PEO ₁₅₀₀₀	30000/2000	32000	33200	32400	1.32

^a Теоретични стойности за молекулната маса, определени съгласно количествата на съответните телехелни олигомери.

^b M_n е изчислена чрез ^1H NMR спектроскопия съгласно уравнение 8.

^c M_n и M_w/M_n е определена чрез SEC с PEO стандарти.

4. Контролиран синтез на нелинейни $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовидни блокови съполимери от типа AB_2 чрез ROP на $\epsilon\text{-CL}$ [П 2], [Ц 4, 5], [С 6]

4.1. Синтез на α -метокси- ω -епокси поли(етиленоксид) (3, Схема 14)

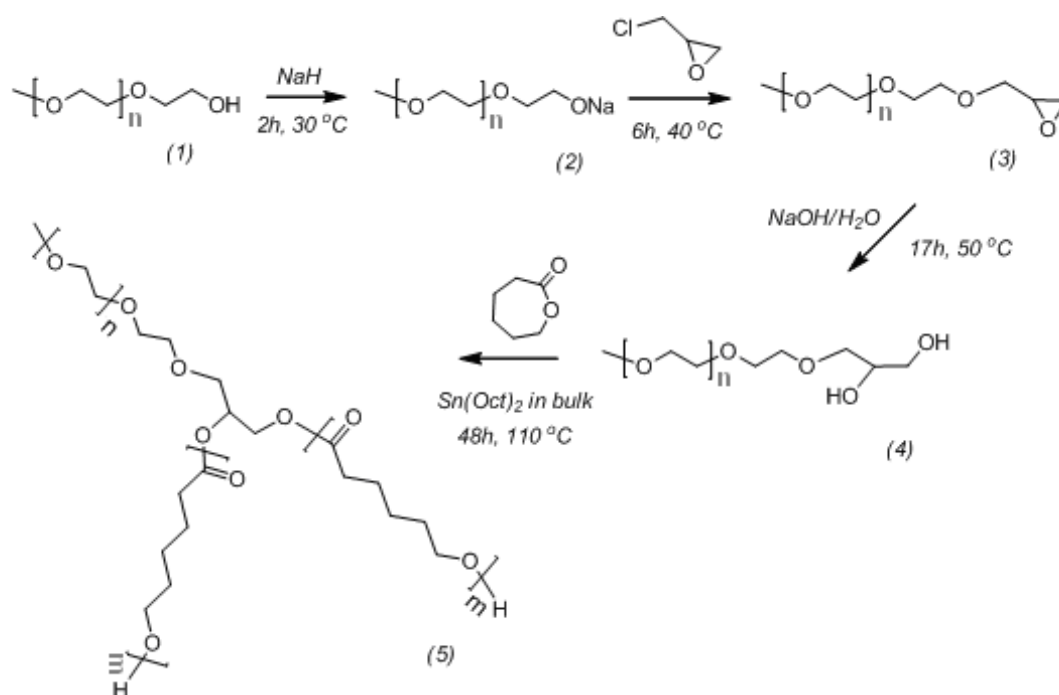
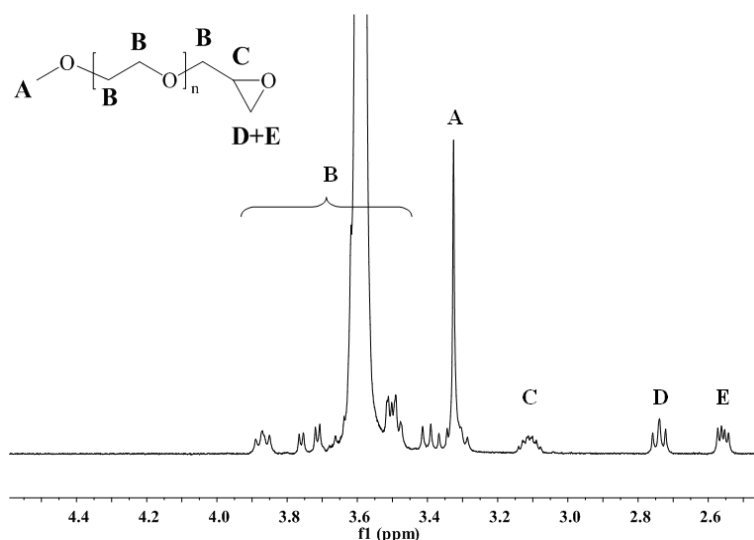


Схема 14. Синтез на [PEO(PCL)₂] звездовиден блоков съполимер

За синтез на [PEO(PCL)₂] звездовиден блоков съполимер от типа AB₂, е използван заместен с епоксидна група на ω-позиция, α-метокси-ω-хидрокси поли(етиленоксид) (MPEO). Синтезът на макромолекулният прекурсор е осъществен, съгласно литература [372, 373]. Първоначално е получена натриево-алкохолатна форма на MPEO (2) с използването на силно реактивоспособния реагент - натриев хидрид и реакционна среда-толуен. Тoluенът позволява селективно утаяване на получения нискомолекулен реакционен продукт - натриев хлорид (NaCl) [376]. Синтезираната натриева форма на MPEO е използвана *in situ* за последвала реакция с нискомолекулният реагент 2-(хлорометил)оксиран.

Съставът и структурата на получения MPEO-епоксид е определена и потвърдена чрез ¹H NMR спектроскопия и MALDI-TOF анализ. На Фигура 37 е показан ¹H NMR спектъра на MPEO-епоксид. Наблюдаваният широк сигнал отбелязан като **B** при 3.65 ppm е характерен за метиленовите протони от PEO верига, а сигналят маркиран като **A** при 3.37 ppm, определя наличието на метилови протони, влизащи в състава на крайната метокси група. Интегралните стойности на тези два сигнала са използвани като стандарти за определяне на превръщането в последвалите стъпки от синтеза на [PEO(PCL)₂] съполимер и степента на полимеризация на ε-CL.



Фигура 37. ^1H NMR спектър на РЕО-епоксид (**1b**, Таблица 4)

Освен това в ^1H NMR спектъра се наблюдават и сигнали отбелязани като **C**, **D** и **E** при 3.15, 2.78 и 2.55 ppm. Те са доказателство за наличието на протони, влизащи в състава на епоксидната група на изследвания продукт.

Епокси-функционализацията в състава на МРЕО е 97%, доказана чрез ^1H NMR спектроскопия (Фиг. 37). Посочената стойност на превръщане е изчислена посредством интегралните стойности за сигнал **A** (протони от метокси групата при 3.37 ppm) и за сигнал **D** (протони от епокси групата при 2.78 ppm) (Таблица 4). Молекулната маса на РЕО-епоксид е изчислена съгласно уравнение 9:

$$M_{n(\text{NMR})} = [(I_B/4)/I_D] \times 44 + 31 + 57 \quad (9)$$

където I_B и I_D са съответно интегралните стойности на сигнали при 3.65 ppm ($\text{CH}_2\text{-O-}$ етиленоксидни звена от РЕО) и при 2.78 ppm ($-\text{CH}_2\text{-епокси}$ крайна група). Стойностите 31 и 57 са съответните молекулни маси на двете функционални групи, намиращи се в края на полимерната верига ($\text{CH}_3\text{O-}$ и $-\text{CH}_2\text{-епоксид}$).

Таблица 4. Макромолекулни характеристики на α -метокси поли(етиленоксид) вериги

№	Образец	Превръщане ^a (%)	M_n^b , (NMR)	M_n^c , (MALDI-TOF)	M_n^d , (SEC)	M_w/M_n^e (SEC)
1a	МРЕО	-	2000	-	1800	1.05
1b	РЕО-епоксид	97	2100	2000	1900	1.05
1c	[МРЕО(ОН) ₂]	97	1800	2000	2000	1.10

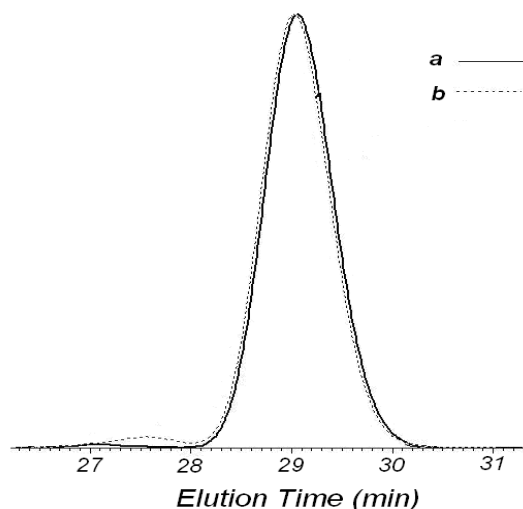
^a Превръщане определено от данните получени чрез ^1H NMR спектроскопия.

^b M_n изчислена от данните получени чрез ^1H NMR спектроскопия съгласно уравнение 9.

^c M_n е определена посредством данните получени от MALDI-TOF масспектроскопия.

^d M_n и ^e M_w/M_n са определени чрез SEC с РЕО стандарти.

На Фигура 38 са представени SEC кривите на МРЕО и α -метокси- ω -епокси поли(етиленоксид).



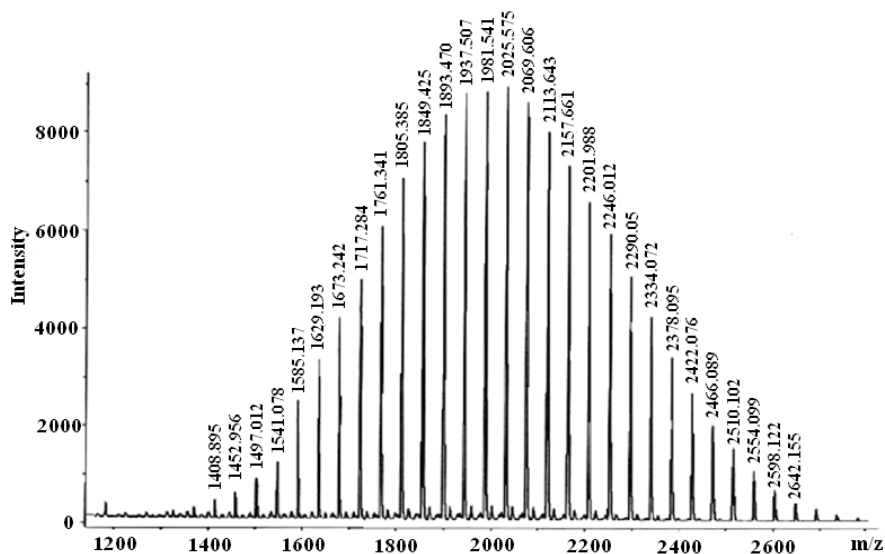
Фигура 38. SEC криви на (a) МРЕО (1a, Таблица 4), (b) РЕО-епоксид (1b, Таблица 4)

Данните показват, че полученият полимерен продукт притежава тясно молекулномасово разпределение (M_w/M_n) - 1.05 (1b, Таблица 4), което е равно на използвания изходен МРЕО. Получените стойности са указание за това, че използваният силно реактивоспособен реагент NaN не променя характеристиките на МРЕО веригата (химическа инертност на наличните групи като полиетерни и метил-етерна).

Средната молекулна маса, чистотата и успешно осъщественият синтез на МРЕО-епоксид са определени в детайли и от данните получени посредством MALDI-TOF масспектроскопия. На Фигура 39 е представен MALDI-TOF спектър на МРЕО-епоксид в областта от молекулни маси/заряд (m/z) – 1200-2800. В получения масспектр разстоянието между сигналите с най-висок интензитет отговаря на масата за единица етиленоксидно звено – 44, влизащо в състава на РЕО. MALDI-TOF спектърът потвърждава и наличието на епокси група, намираща се на ω -място в състава на МРЕО. Също така данните от MALDI-TOF показват ниска полидисперсност на получения продукт (симетрично разпределение по интензитет на получените сигнали) (Фиг. 39). Молекулната маса (M_n) на МРЕО-епоксид е изчислена и от данните получени посредством MALDI-TOF анализа. За целта е използвано следното уравнение:

$$M_n (\text{MALDI-TOF}) = p \times A + X + Y \quad (10)$$

където **A** е означена масата на повтарящите се етиленоксидни звена, **p** е броят на повтарящите се единици, **X** и **Y** са молекулните маси на крайните функционални групи (метокси и метиленоксиран).



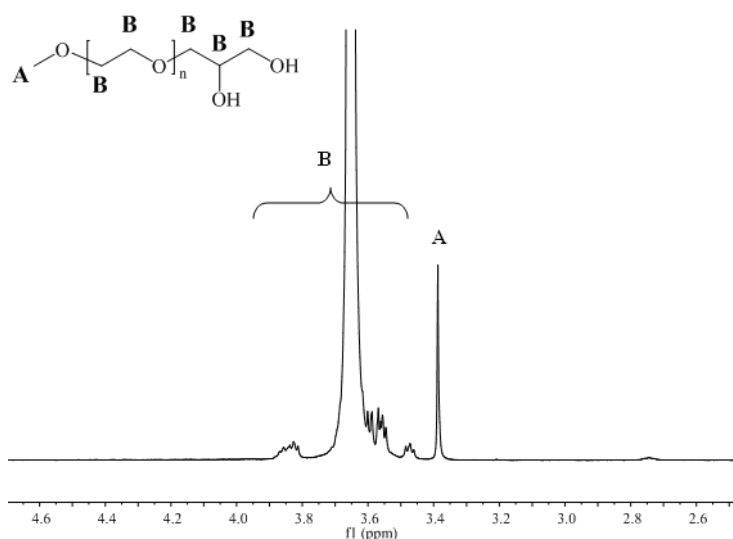
Фигура 39. MALDI-TOF спектър на МРЕО-епоксид (**1b**, Таблица 4)

4.2. Синтез на α -метокси- ω,ω' -дихидрокси поли(етиленоксид) $[MPEO(OH)_2]$ -макроинициатор (4, Схема 14)

Вторият етап от синтеза на $[PEO(PCL)_2]$ съполимер, включва реакция на хидролиза на така полученият МРЕО-епоксид с 1 М воден разтвор на NaOH. Реакцията протича по общия механизъм на нуклеофилно присъединяване на хидроксилната група и отваряне на епоксидния пръстен в МРЕО-епоксид с последващо формиране на α -метокси- ω,ω' -дихидрокси поли(етиленоксид) $[MPEO(OH)_2]$. След пречистване, полученият продукт е анализиран отново с помощта на 1H NMR спектроскопия, SEC и MALDI-TOF анализи.

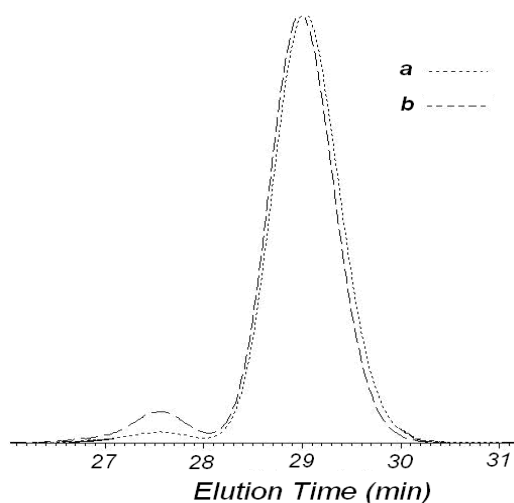
В 1H NMR спектъра на $[MPEO(OH)_2]$ след обработка с воден разтвор на NaOH (Фиг. 40) се наблюдават съществени различия по отношение спектъра на МРЕО-епоксид (Фиг. 37). 1H NMR спектъра потвърждава количественото протичане на процеса на хидролиза и отварянето на епоксидния пръстен. Наблюдава се отсъствието на характерните сигнали за протоните, влизащи в състава на епоксидния пръстен отбелязани като **C**, **D** и **E** при 3.15, 2.78 и 2.55 ppm в спектъра на α -метокси- ω -епокси поли(етиленоксид) (Фиг. 37). За съжаление, сигналите за протоните в полученото диолно звено CH_2-OH , не се наблюдават в спектъра поради това, че влизат в състава на сигнала характерен за метиленови протони на РЕО при 3.65 ppm. Молекулната маса (M_n) на получения $[MPEO(OH)_2]$ макроинициатор е определена чрез отношението

между интегралните стойности на сигнали при 3.65 ppm (CH_2-O - от PEO) и 3.37 ppm ($-O-CH_3$), посредством данните получени от 1H NMR спектъра. Средната молекулна маса е определена и чрез SEC и MALDI-TOF анализи (Таблица 4).



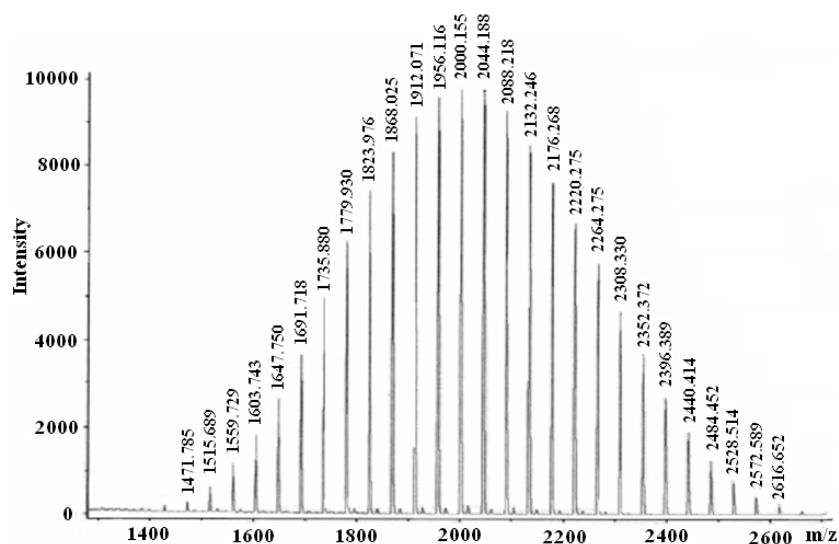
Фигура 40. 1H NMR спектър на $[MPEO(OH)_2]$ макроинициатор (**1c**, Таблица 4)

SEC анализът на MPEO-епоксид преди и след алкална хидролиза с NaOH показва, че молекулната маса на $[MPEO(OH)_2]$ макроинициатор е почти непроменена. Наблюдава се слабо отместване към по-високите стойности за молекулни маси и слабо повишаване на полидисперсия индекс (M_w/M_n) на $[MPEO(OH)_2]$ макроинициатор (крива **b**, Фиг. 41), (**1c**, Таблица 4). В хроматограмата се наблюдава и присъствието на втори пик при по-ниските времена на задържане. Причината за неговата поява вероятно се дължи на онечиствания.



Фигура 41. SEC криви на (a) PEO-епоксид (**1b**, Таблица 4) и (b) $[MPEO(OH)_2]$ (**1c**, Таблица 4)

На Фигура 42 е представен MALDI-TOF спектъра на $[MPEO(OH)_2]$ макроинициатор.



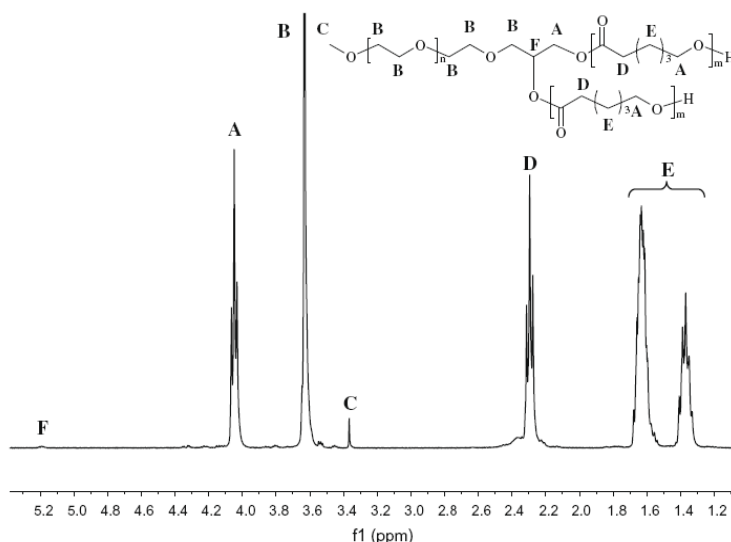
Фигура 42. MALDI-TOF спектър на $[\text{MPEO}(\text{OH})_2]$ макроинициатор (**1c**, Таблица 4)

MALDI-TOF анализът показва мономодално разпределение на стойностите m/z в интервала 1400-2600. Максимумът на гаусиановия пик по разпределение е при M_n MALDI-TOF = 2044 g/mol, което определя положителния ход на реакцията (**1c**, Таблица 4). Също така MALDI-TOF спектърът показва нарастване с 16 Da за молекулната маса M_n на $[\text{MPEO}(\text{OH})_2]$ (уравнение 10), което е потвърждение за успешната хидролиза на епоксидния пръстен в MPEO-епоксид.

4.3. Синтез на AB_2 звездовидни съполимери $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ (5, Схема 14)

За получаването на добре дефинирани звездовидни блокови съполимери е приложен метода “arm first”, при който обикновено се използват вече синтезирани и охарактеризирани полимери с дефинирана функционалност. $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовидните съполимери са успешно синтезирани чрез полимеризация с отваряне на пръстена (ROP) на ϵ -CL, инициирани с помощта на двете хидроксилни групи в състава на $[\text{MPEO}(\text{OH})_2]$ в присъствието на катализатор $\text{Sn}(\text{Oct})_2$. Напълно възможно е използването на двете хидроксилни групи (първичен и вторичен алкохол) да позволяват иницирирането на ϵ -CL в различна степен т.е. получаване на PCL блокове с различна дължина [377]. Въпреки това твърдение, някои автори доказват контролираното протичане на ROP на ϵ -CL, посредством различната киселинност на използваните хидроксилни групи [378, 379]. За получаването на съполимери с различна дължина на PCL блокове са използвани различни молни съотношения между ϵ -CL и макроинициатора. Структурата, съставът и молекулната маса на звездовидните блокови съполимери от вида AB_2 са определени посредством ^1H NMR спектроскопия и SEC анализ.

На Фигура 43 е показан ^1H NMR спектъра на звездовиден блоков съполимер в CDCl_3 . ^1H NMR спектърт показва наличието на сигнали характерни за PEO и PCL вериги. Метиленовите протони от състава на PEO са наблюдавани при 3.65 ppm (сигнал **B**), а метиленови протони характерни за PCL блокове при 4.05 ppm (сигнал **A**), 2.30 (сигнал **D**), 1.63 и 1.37 (сигнал **E**).



Фигура 43. ^1H NMR спектър на $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]_2$ звездовиден блоков съполимер (**2a**, Таблица 5)

Молекулната маса M_n на получената серия от $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]_2$ звездовидни блокови съполимери е изчислена с прилагане на следното уравнение:

$$M_{n(\text{NMR})}[\text{PEO}(\text{PCL})_2] = (I_A/2)/(I_B/4) \times \text{DP}_{\text{PEO}} \times 114.14 + M_{n(\text{NMR})}[\text{MPEO}(\text{OH})_2] \quad (11)$$

където с I_A и I_B са обозначени интегралните стойности за метиленовите протони от PCL отбелязани като **A**, а с **B** са маркирани протоните от PEO при 3.65 ppm. Стойност 114.14 е молекулната маса на ϵ -CL мономер, DP_{PEO} е степента на полимеризация на PEO и $M_{n(\text{NMR})}[\text{MPEO}(\text{OH})_2]$ е молекулната маса на макроинициатора, изчислена от NMR спектъра (Фиг. 40). Получените данни за степента на полимеризация на ϵ -CL са в съгласие с теоретично изчислените стойности и са представени в Таблица 5.

Таблица 5. Макромолекулни характеристики на AB_2 $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]_2$ звездовидни съполимери

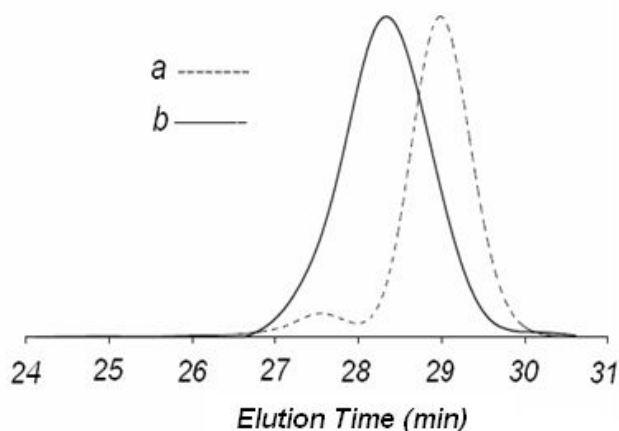
№	Образец	$[M]_0/[I]_0$	M_n^a (теор.)	M_n^b (NMR)	M_n^c (SEC)	M_w/M_n^d (SEC)
2a	$[\text{PEO}(\text{PCL})_2]_1$	4	3000	2700	3200	1.10
2b	$[\text{PEO}(\text{PCL})_2]_2$	8	4000	3700	4400	1.35
2c	$[\text{PEO}(\text{PCL})_2]_3$	17	6000	5700	6300	1.10
2d	$[\text{PEO}(\text{PCL})_2]_4$	26	8000	7500	7700	1.30

$^a M_n(\text{теор.}) = [M]_0/[I]_0 \times M_{w\epsilon\text{CL}} + M_n[\text{MPEO}(\text{OH})_2]$.

$^b M_n$ е изчислена чрез ^1H NMR спектроскопия съгласно уравнение 11.

$^c M_n$ и $^d M_w/M_n$ са определени посредством SEC с PS стандарти.

SEC хроматограмите на $[\text{MPEO}(\text{OH})_2]$ макроинициатор, крива **a** (**1b**, Таблица 4) и $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовиден блоков съполимер, крива **b** (**2a**, Таблица 5) са представени на Фигура 44.



Фигура 44. SEC криви на (a) $[\text{MPEO}(\text{OH})_2]$ (**1c**, Таблица 4) и (b) $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовиден съполимер (**2a**, Таблица 5)

Анализът на получената хроматограма показва, че кривата на звездовидния блоков съполимер е мономодална с тясно молекулномасово разпределение и с максимум отместен към по-ниските времена на задържане, в сравнение с този на $[\text{MPEO}(\text{OH})_2]$. В Таблица 5 са представени стойностите за M_w/M_n на всички звездовидни блокови съполимери. Освен това трябва да се отбележи, че избора от нас синтетичен подход за получаването на $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ трираменен блоков съполимер не изключва възможността за получаването на PCL блокове с различна дължина (иницирана полимеризация от наличните две различни по киселинност хидроксилни групи).

5. Синтез на нелинейни $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовидни блокови съполимери чрез комбиниране на реакция на присъединяване от *Michael* тип и ROP на $\epsilon\text{-CL}$ [C 4,5]

5.1. Синтез на α -метокси- ω,ω' -дихидрокси поли(етиленоксид) $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ -макроинициатор, (2, Схема 15)

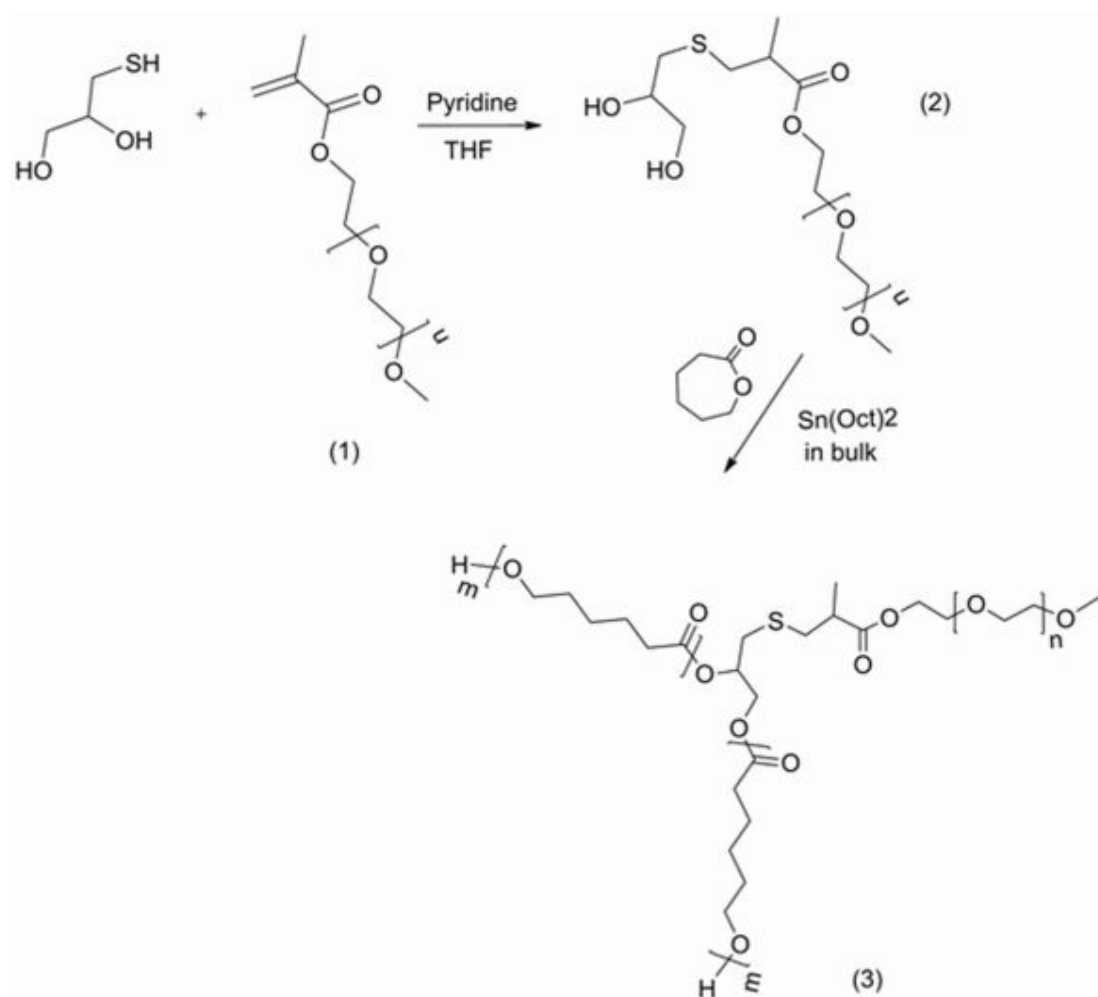


Схема 15. Синтез на $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовиден блоков съполимер

По аналогия с по-горе описаната процедура за синтез на звездовидни $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ блокови съполимери и тук е приложен синтетичният подход “arm first” за получаването на блокови съполимери с аналогична архитектура. За целта е използвана реакция на присъединяване от *Michael* тип като удобен синтетичен подход, позволяващ получаването на α -метокси- ω, ω' -дихидрокси поли(етиленоксид) $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ -макроинициатор (Схема 15).

Реакцията на присъединяване по *Michael* е реакция на нуклеофилно присъединяване на карбанион към α, β -ненаситени карбонилни съединения. Като реагенти за този вид реакция са използвани лесно достъпните съединения - α -метокси- ω -метилметакрилат поли(етиленоксид) (MePEOMA) (електрон-акцепторен енон) с $M_n \sim 1100 \text{ g/mol}$ и 3-меркапто-1,2-пропандиол (нуклеофилен реагент). Реакцията е проведена при меки условия (стайна температура, суха инертна атмосфера и в отсъствието на светлина) в присъствието на пиридин, като високо-активен хомогенен

базичен катализатор и полярна разтворител - THF (разтворител, който солватират и стабилизира йонни интермедиати).

Превръщането на реакцията е приблизително 85% постигнато за време 72 h. Процентното превръщане е определено посредством интегралните стойности на двете крайни функционални групи $\text{H}_2\text{C}=\text{C}-$ ($\delta_{5.57}$ ppm: 1H) и $\text{CH}_3\text{O}-$ ($\delta_{3.39}$ ppm: 3H) (Фиг. 45). След пречистване на получения макроинициатор структурата, състава и молекулната маса са определени чрез ^1H NMR, FTIR и SEC анализи. Получените макромолекулни характеристики за MePEOMA (макромер) и $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ (макроинициатор) са представени в Таблица 6.

Таблица 6. Макромолекулни характеристики на α -метокси поли(етиленоксид) вериги

№	Образец	Превръщане ^a (%)	M_n^b , (NMR)	M_n^c , (SEC)	M_w/M_n^c , (SEC)
1a	MePEOMA	-	1100	1300	1.06
1b	$[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$	85	1250	1400	1.10

^a Превръщането на реакцията е определено чрез ^1H NMR спектроскопия (Фиг. 45).

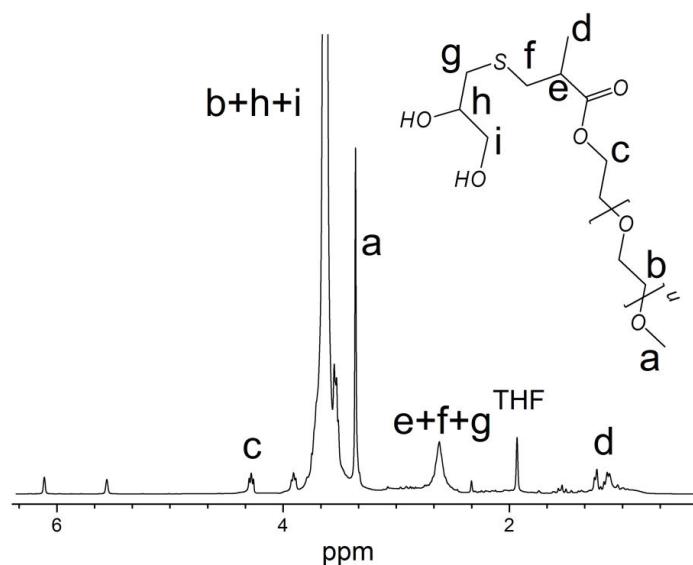
^b M_n е изчислена чрез ^1H NMR спектроскопия съгласно уравнение 12.

^c M_n и M_w/M_n са определени чрез SEC с PEO стандарти.

На Фигура 45 е представен ^1H NMR спектъра на $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ макроинициатор в CDCl_3 . Сигналите маркирани като **e**, **f** и **g** доказват наличието на следните протони: 2.81 ppm $-(\text{CH}_3)\text{CH}-$ (сигнал **e**); 2.73 и 2.46 ppm за **f** протони от $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-$; 2.93 и 2.69 ppm за **g** от $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{S}-$. Сигнал маркиран като **d** при 1.20 ppm отговаря за наличието на CH_3 протони. Също така са маркирани и сигналите на протони **b**, **h** и **i** съдържащи се в широкия и силно интензивен сигнал при 3.65 ppm, съответстващ на метиленовите протони от състава на PEO. Сигналите отбелязани като **c** и **a** са характерни за протоните от $\text{CH}_2-\text{O}-$ при 4.20 ppm и протоните от $\text{CH}_3-\text{O}-$ при 3.39 ppm. Молекулната маса M_n на полученият $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ (**1b**, Таблица 6) е определена от данните получени чрез ^1H NMR спектроскопия. За целта е използвано следното уравнение:

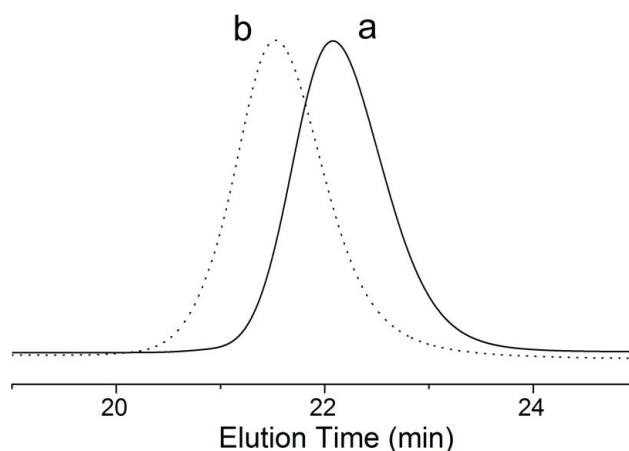
$$M_{n(\text{NMR})} = (I_b/4)/(I_a/3) \times 44 + 31 + 107 \quad (12)$$

в което с I_b и I_a са отбелязани интегралните стойности на сигнали при 3.65 ppm ($-\text{CH}_2-\text{O}-$ етиленоксидни звена от PEO) и 3.39 ppm ($\text{CH}_3\text{O}-$ крайна група). Стойности 31, 107 и 44 са съответно молекулните маси на $\text{CH}_3\text{O}-$, $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$ и $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ функционални единици.



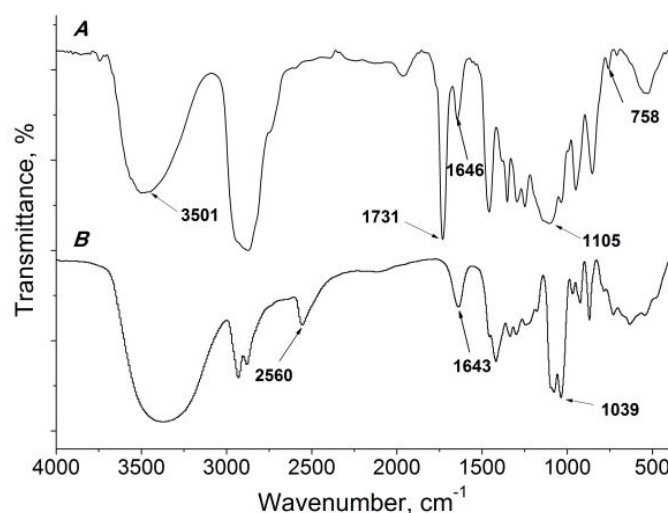
Фигура 45. ^1H NMR спектър на $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ макроинициатор (**1b**, Таблица 6)

SEC анализът на $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ макроинициатора, показва слабо отместване към по-високите стойности за молекулни маси спрямо определената за използвания енон (крива **a**, Фиг. 46) и е отчетено слабо нарастване на полидисперсността (крива **b**, Фиг. 46). Получените резултати показват пълно отсъствие на странични реакции или деструкция по време на реакцията на присъединяване от *Michael* тип.



Фигура 46. SEC криви на (**a**) MePEOMA (**1a**, Таблица 6) и (**b**) $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ (**1b**, Таблица 6)

Химичният състав и структурата на α -метокси- ω,ω' -дихидрокси поли (етиленоксид) макроинициатор са допълнително охарактеризирани чрез FTIR спектроскопия (Фиг. 47).



Фигура 47. FTIR спектри на (A) [MePEO(OH)₂] макроинициатор и (B) 3-меркапто-1,2-пропандиол

Спектърът на [MePEO(OH)₂] (Фиг. 47, A), показва пълно отсъствие на характерните ивици на поглъщане с максимум при 820 cm⁻¹ за -C=C- метакрилатна и 2560 cm⁻¹ за -SH групи, в сравнение с FTIR спектъра на MePEOMA (не е показан) и на 3-меркапто-1,2-пропандиол (Фиг. 47, B). От Фигура 47, A се вижда, че наличните хидроксилни групи локализирани на ω и ω' място в състава на макроинициатора взаимодействат помежду си посредством водородни връзки, което води до появата на широка ивица на поглъщане с максимум при 3501 cm⁻¹. Отсъствието на абсорбция в спектъра при 2560 cm⁻¹ определя количественото протичане на реакцията между тиолната група на 3-меркапто-1,2-пропандиола и еновата функционална група на MePEOMA (Фиг. 47, B). Наличието на S-хетероатом в макромолекулата на [MePEO(OH)₂] определя появата на ивица на поглъщане с максимум при 706 cm⁻¹ характерна за C-S валентни трептения при тиоетери. В спектъра също така се наблюдава и отсъствието на C-H-енови извънравнинни деформационни трептения при 820 cm⁻¹ и характерните за винилиденова =C-H група, валентни трептения с максимум при 3107 cm⁻¹.

5.2. Синтез на [PEO(PCL)₂] звездовидни блокови съполимери (3, Схема 15)

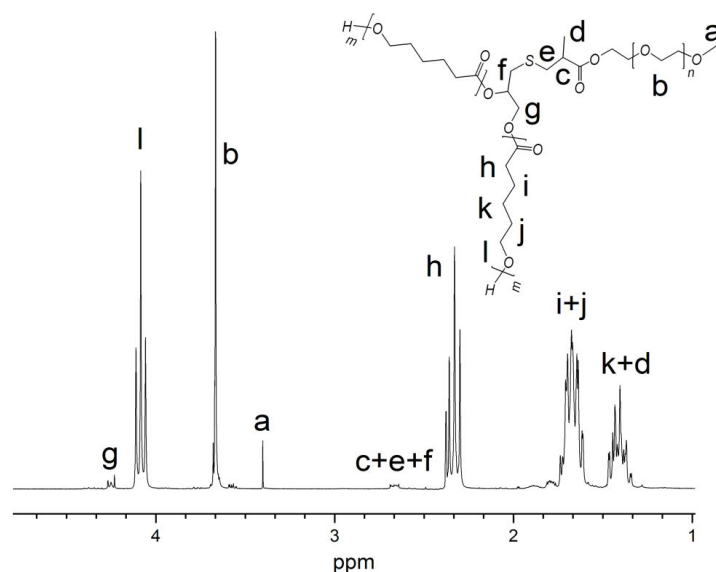
[PEO(PCL)₂] звездовидни блокови съполимери са успешно синтезирани чрез полимеризация с отваряне на пръстена на ε-CL. Полученият α-метокси-ω,ω'-дихидрокси поли(етиленоксид) е използван като макроинициатор, а полимеризацията на ε-CL е осъществена в присъствието на катализатор - Sn(Oct)₂. За получаване на съполимери с различна дължина на PCL блокове са използвани различни молни съотношения между молекулите на ε-CL и използвания макроинициатор. Съставът на

съполимерите, структурата и молекулната маса са анализирани чрез ^1H NMR, FTIR и SEC анализи.

^1H NMR спектърът на $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовиден блоков съполимер в CDCl_3 показва сигнали типични за макромолекулите на PEO и PCL (Фиг. 48). Метиленовите протони от PEO маркирани като **b** са наблюдавани при 3,64 ppm, а сигналът отбелязан като **a** при 3,37 ppm определя наличието на $\text{CH}_3\text{-O}$ протони. Метиленовите протони в PCL веригата са открити при 4,06 ppm **l**, 2,30 ppm **h**, 1,67 ppm **i+j** и 1,38 ppm **k+d**. M_n на получените $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовидни блокови съполимери е определена от ^1H NMR спектроскопия, с прилагане на уравнение 13:

$$M_{n(\text{NMR})}[\text{PEO}(\text{PCL})_2] = (I_l/2)/(I_b/4) \times \text{DP}_{\text{PEO}} \times 114.14 + M_{n(\text{NMR})}[\text{MePEO}(\text{OH})_2] \quad (13)$$

в което с I_l е отбелязана интегралната стойност на сигнала при 4,06 ppm и с I_b , сигнала при 3,64 ppm. Молекулната маса на $\epsilon\text{-CL}$ е 114,14, DP_{PEO} е степента на полимеризация на PEO блок и молекулната маса на $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ определена чрез ^1H NMR спектроскопия.



Фигура 48. ^1H NMR спектър на $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовиден блоков съполимер (**2a**, Таблица 7)

Таблица 7. Макромолекулни характеристики на AB_2 $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовидни съполимери

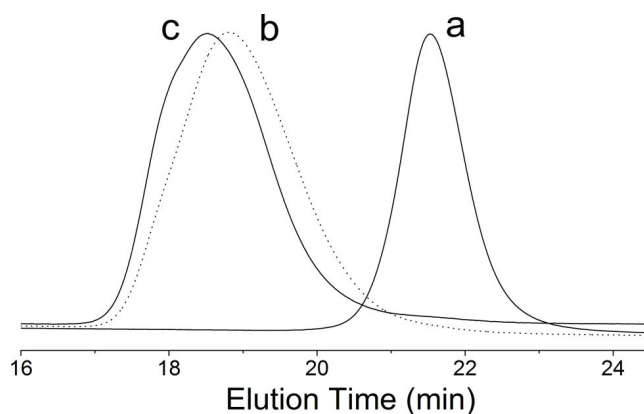
№	Образец	$[M]_0/[I]_0$	M_n^a (теор.)	M_n^b (NMR)	M_n^c (SEC)	M_w/M_n^c (SEC)
2a	$[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ 1	8	3100	2750	3500	1.30
2b	$[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ 2	17	5100	4900	6630	1.45
2c	$[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ 3	26	7100	6500	7900	1.30
2d	$[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ 4	35	9100	8900	9050	1.35

^a M_n (теор.) = $[M]_0/[I]_0 \times M_{w\text{CL}} + M_n[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$.

^b M_n е определена чрез ^1H NMR спектроскопия. Използвано е уравнение 13.

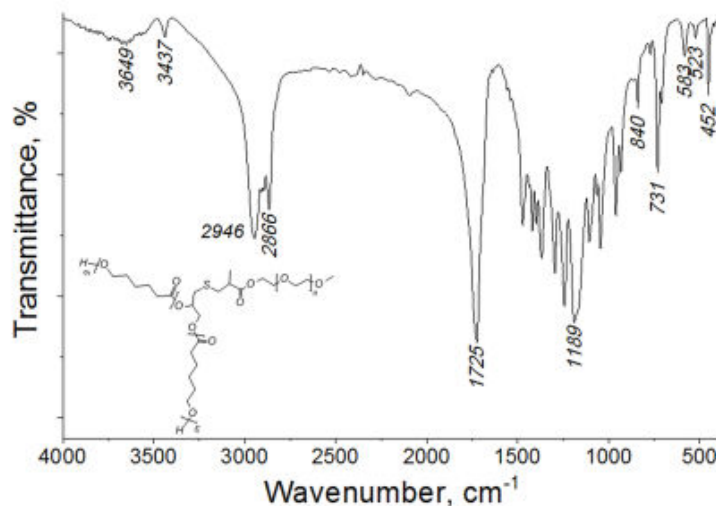
^c M_n и M_w/M_n са определени чрез SEC с PS стандарти.

Молекулните маси и полидисперсните индекси на получените звездовидни блокови съполимери са определени чрез прилагане на SEC. На Фигура 49 са представени SEC кривите на [MePEO(OH)₂] макроинициатор (крива **a**, **1b**, Таблица 6) и на звездовидните блокови съполимери (криви **b** и **c** (образци **2b** и **2c**, Таблица 7)). Получените хроматограми за всеки един съполимер, показват наличието на мономодални ивици с тясно молекулномасово разпределение. Стойностите от молекулните маси и полидисперсните индекси са представени в Таблица 7.



Фигура 49. SEC криви на (**a**) [MePEO(OH)₂] макроинициатор (**1b**, Таблица 6), (**b**) и (**c**) [PEO(PCL)₂] звездовидни блокови съполимери (**2b** и **2c**, Таблица 7)

FTIR спектърът на [PEO(PCL)₂] блоков съполимер е представен на Фигура 50.



Фигура 50. FTIR спектър на [PEO(PCL)₂] звездовиден блоков съполимер (**2a**, Таблица 7)

От спектъра се вижда количественото участие на хидроксилните групи, намиращи се на ω и ω' място в [MePEO(OH)₂]-макроинициатор, участващ в изграждането на PCL блокове. Това е и причината за отсъствието на широката и силно интензивна ивица с максимум при 3501 cm⁻¹, наблюдавана в спектъра на [MePEO(OH)₂] (Фиг. 47, А). В спектъра на Фигура 50 се наблюдава и увеличение на интензитета на ивиците характерни за C-H асиметрични и симетрични валентни трептения с максимуми при

2946 cm^{-1} и 2866 cm^{-1} . Отчетено е и нарастване на интензитета на ивицата, характерна за естерни групи с максимум при 1725 cm^{-1} . Допълнително доказателство за формирането на звездовидния блоков съполимер е появата на тясна и слабо интензивна ивица с максимум при 3437 cm^{-1} . Тази ивица характеризира отсъствието на водородния тип свързване на крайните хидроксилни групи в PCL веригите.

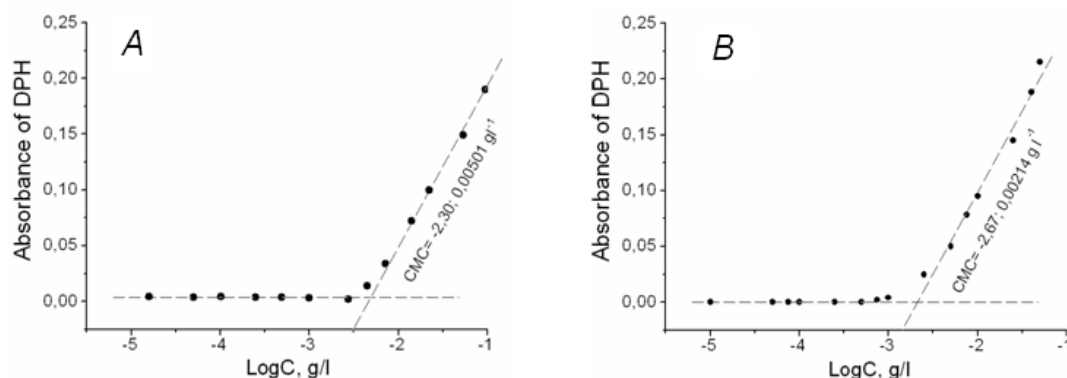
6. Изследване отнасянията на водните разтвори на някои съполимери с линейна диблокова и нелинейна звездовидна архитектура

6.1. Определяне на критичната концентрация на мицелообразуване (СМС) ^{IC 4, 5]}

Различната водоразтворимост на PEO и PCL блокове определя амфифилното отнасяне на получените линейни и звездовидни блокови съполимери във водна среда. Известно е, че блокови съполимери с аналогичен състав образуват наносферични мицели, състоящи се от хидрофобно PCL ядро и хидрофилна PEO обвивка [255, 380].

Посредством някои инструментални методи за анализ, ние определихме надмолекулните характеристики на получените блокови съполимери като: СМС, размер и морфология на формираните полимерни наночастици. СМС е концентрацията при която отделни амфифилни молекули започват да образуват мицели в среда. За определяне на СМС е използван методът на солубилизация на хидрофобното багрило 1,6-дифенил-1,3,5-хексатриен (DPH). Приложена е UV-vis спектроскопия чрез която проследихме промяната в абсорбцията на DPH във водните разтвори на изследваните амфифилни полимери при различни концентрации. UV-сорбиращият хромофор DPH не е водоразтворим, и когато няма мицелообразуване не се наблюдава абсорбция. Стойностите за СМС се определят в резултат от промяната на абсорбционния профил на DPH. Мицели се наблюдават при стойности над СМС, тогава хромофорът се солубилизира в ядрата им, като това се отчита чрез UV-vis спектроскопия в диапазона при 356 nm характерен за багрилото [381]. Kim и съавтори определят, че стойностите за СМС на блокови съполимери силно зависят от тяхната архитектура и те доказват, че мицелообразуването се осъществява по-лесно с нарастване броя на раменете (отделните полимерни блокове) в блоковата структура [160]. Този факт е потвърден и от нас чрез прилагане на експериментални и теоретични данни. За целта синтезирахме блокови съполимери с еднакъв състав и молекулна маса, но с различна архитектура (линейна и звездовидна). Определихме техните критични концентрации на мицелообразуване (Таблица 8). За всички PEO-b-PCL диблокови и [PEO(PCL)₂] звездовидни материали молекулната маса на PEO е постоянна величина, а единствено изменение е постигнато в

дължината на PCL веригите. СМС е определена от пресечната точка на двете прави, допирателни към линейните участъци на получените криви (Фиг. 51).



Фигура 51. Зависимост на DPH абсорбция (при $\lambda = 356$ nm във воден разтвор) като функция от концентрацията $[C]$ на (А) линейен $\text{PEO}_{22}\text{-b-PCL}_{35}$ диблоков съполимер (1c, Таблица 2) и (В) звездовиден $[\text{PEO}_{25}(\text{PCL}_{17})_2]$ трираменен блоков съполимер (2b, Таблица 7)

На фигурата са съпоставени зависимостите от DPH абсорбция при $\lambda = 356$ nm като функция от концентрацията на (А) линейен $\text{PEO}_{22}\text{-b-PCL}_{35}$ диблоков съполимер (1c, Таблица 2) и (В) звездовиден $[\text{PEO}_{25}(\text{PCL}_{17})_2]$ трираменен блоков съполимер (2b, Таблица 7).

Таблица 8. СМС и стандартна свободна енергия (ΔG^0) на мицелообразуване на блоковите съполимери с различна архитектура

№	Образец	CMC ^a g/L	CMC (mol fr)	ΔG^0 (kJ/mol)
1a	$\text{PEO}_{22}\text{-b-PCL}_8$	7.94×10^{-3}	3.90×10^{-6}	-30.84
1b	$\text{PEO}_{22}\text{-b-PCL}_{17}$	6.60×10^{-3}	2.20×10^{-6}	-32.26
1c	$\text{PEO}_{22}\text{-b-PCL}_{35}$	5.01×10^{-3}	1.00×10^{-6}	-34.21
1d	$\text{PEO}_{22}\text{-b-PCL}_{52}$	3.54×10^{-3}	5.00×10^{-7}	-35.93
2a	$[\text{PEO}_{25}(\text{PCL}_8)_2]$	2.80×10^{-3}	9.03×10^{-7}	-34.48
2b	$[\text{PEO}_{25}(\text{PCL}_{17})_2]$	2.14×10^{-3}	4.19×10^{-7}	-36.48
2c	$[\text{PEO}_{25}(\text{PCL}_{26})_2]$	1.05×10^{-3}	1.48×10^{-7}	-39.91
2d	$[\text{PEO}_{25}(\text{PCL}_{35})_2]$	-	-	-

^a Стойности за СМС, получени посредством DPH абсорбция при 356 nm като функция от концентрацията на полимера във вода при 25°C.

Единствено СМС не беше определена за $[\text{PEO}_{25}(\text{PCL}_{35})_2]$ трираменен съполимер, поради неговата трудна разтворимост във вода, дължаща се на по-високата молекулна маса (дължина) на PCL блокове. От таблицата ясно се вижда, че звездовидните съполимери, притежават по-ниски стойности за СМС за разлика от тези на линейните им аналози. При ниски концентрации за всички изследвани блокови съполимери, абсорбцията на DPH е практически непроменена и е близка до нула. С нарастване на концентрацията им, абсорбционният коефициент на UV-сорбиращият хромофор рязко

нараства в отговор на увеличената хидрофобност на средата (формирането на хидрофобни мицелни ядра).

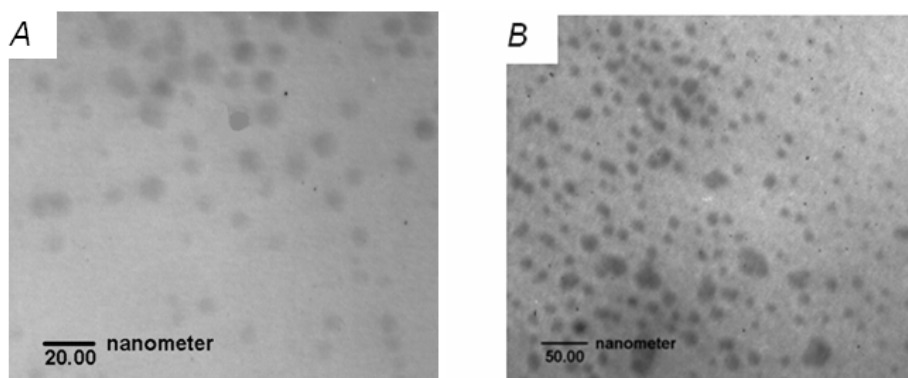
Подобно на нискомолекулните ПАВ и при амфифилните блокови съполимери може да бъде определена стандартната свободна енергия на процеса на самоасоцииране (ΔG^0) в отсъствието на електростатични сили на взаимодействие (отсъствие, определено от нейногенността на изследваните съполимери). Този параметър е изчислен посредством СМС стойности съгласно уравнение 14 (Таблица 8):

$$\Delta G^0 = RT \ln(X_{\text{СМС}}) \quad (14)$$

където R е идеалната газова константа, T е абсолютната температура, а $X_{\text{СМС}}$ е критичната концентрация на мицелообразуване изразена в молни части.

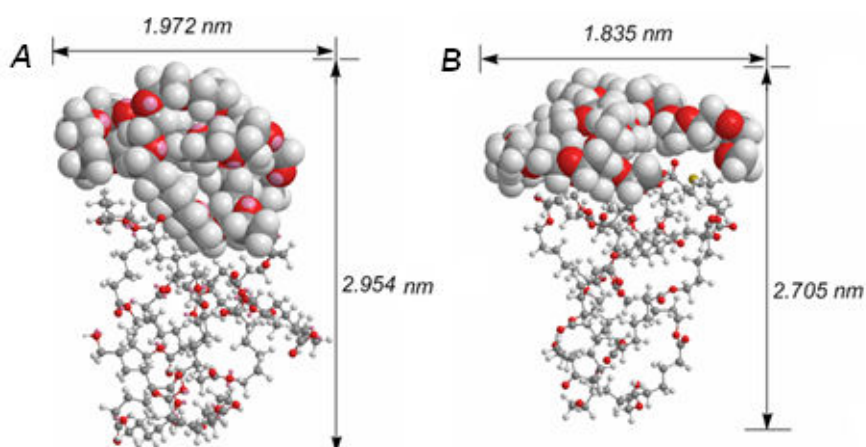
Вижда се, че стойностите за ΔG^0 са отрицателни, което означава, че мицелообразуването на блоковите съполимери във водна среда е спонтанен процес. Освен това с нарастване на дължината, респективно молекулната маса на PCL блок в съполимерния състав, се повишават отрицателните стойности за свободната енергия. Това е указание, че образуването на мицели е много по-лесно, когато блоковите съполимери притежават по-дълги хидрофобни блокове.

Размерът и морфологията на получените мицели е определена чрез трансмисионна електронна микроскопия (ТЕМ). Типичните ТЕМ микрографии на полимерните мицели са представени на Фигура 52. Изследваните полимерни мицели показват ясно изразена сферична форма и за двата изследвани блокови съполимера с линейна и разклонена архитектура. Сферичните мицелни образувания са с диаметър в границите от 15 до 20 nm за PEO₂₂-b-PCL₃₅ диблоков съполимер (Фиг. 52, **A**) и от 10 до 15 nm за [PEO₂₅(PCL₁₇)₂] трираменен звездовиден блоков съполимер (Фиг. 52, **B**). Също така се вижда, че на фона на малките частички изпъкват и големи агрегати, чиито размери са около 35-45 nm (Фиг. 52, **B**).



Фигура 52. ТЕМ микрографии на полимерни мицели получени от (A) PEO₂₂-b-PCL₃₅ диблоков съполимер (1c, Таблица 2) и (B) [PEO₂₅(PCL₁₇)₂] звездовиден съполимер (2b, Таблица 7)

За да се определи влиянието на макромолекулната архитектура върху конфигурационното отнасяне на синтезираните от нас съполимери, бяха приложени и компютърни симулационни изследвания. Определена е специфичната динамика на полимерните вериги с помощта на молекулномеханични (ММ) изчисления (използвано е ММ2 тип силово поле, при което макромолекулата е третирана като сума от атоми, взаимодействащи помежду си, посредством прости аналитични функции). Изчисленията са проведени във вакуум и прилагането на периодични гранични условия. Получените резултати са представени на Фигура 53.



Фигура 53. Определяне влиянието на макромолекулната архитектура върху конфигурационното отнасяне във вакуум на блокови съполимери с (А) линейна и (В) нелинейна архитектура с прилагане на молекулномеханични изчисления

От представената фигура ясно се вижда, че геометричните размери на линейен - PEO₁₀₀₀-b-PCL₂₀₀₀ (Фиг. 53, А) и звездовиден [PEO₁₀₀₀(PCL₁₀₀₀)₂] (Фиг. 53, В) блоков съполимер се различават съществено. Полимерът със звездовидна архитектура притежава по-малка размерност в сравнение с тази на линейния диблоков аналог, при равни по големина молекулна маса и масово разпределение между отделните по филност блокове. И за двата вида макромолекули е приложено периодично транслиране на отделни техни участъци, с цел получаване на приблизително еднаква тяхна съагрегационна пространствена морфология. Допълнително съагрегиране на различните по филност блокове се отчита и при намаляването на големината на общата стерична енергия на разглежданите макромолекули. Освен това е наблюдавано и изменение в конформационното състояние на полиметиленовите фрагменти на PCL вериги на двата съполимера. При линейния блоков съполимер конформацията на посочените фрагменти е цисоидна, а тази на звездовидният блоков съполимер, трансидна. Наблюдаваният ефект вероятно се дължи на стремежа на значително по-дългата PCL верига на линейния съполимер да заеме минимален пространствен обем,

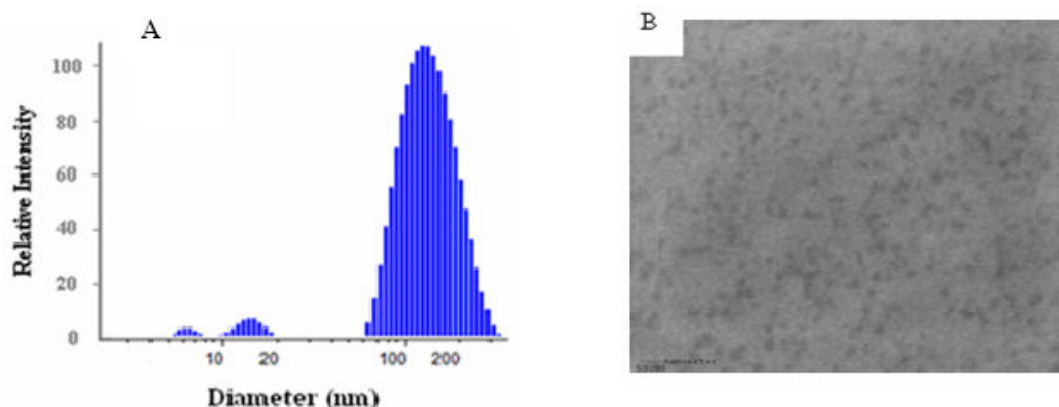
6.2. Изследване на водните разтвори на $[PEO(PCL)_2]$ звездовидни блокови съполимери чрез динамично разсейване на светлината (DLS) [II 2], [III 4, 5], [C 6]

Мицелообразуване
във водна среда

PCL PEO

За целта са използвани 0.25 % (w/w) водни разтвори на съответните съполимери, които са филтрувани през филтър с порьозност 0.2 μm , целящ отстраняването на агрегати с големина над 200 nm. При всички изследвани образци се наблюдава бимодално разпределение. В нашия случай са използвани разтвори с висока концентрация поради факта, че не са проведени предварителни изследвания за определяне стойностите на СМС. Обикновено, бимодалното разпределение се наблюдава при случаите, когато изследваните полимерни разтвори, притежават високи стойности за концентрация т.е. много над тази за СМС. За достигане на евентуално мономодално разпределение е необходимо изследваните полимерни разтвори да бъдат с концентрация близка до тази на СМС.

Разпределението по размер на $[\text{PEO}_{45}(\text{PCL}_8)_2]$ звездовиден блоков съполимер е дадено на Фигура 55, А. Налице са малки агрегати с диаметър 13.3 nm и големи агрегати с диаметър 135 nm (Фиг. 55, А). Получените стойности за средните хидродинамични диаметри на всички изследвани образци са локализирани в интервала от 8.3 до 42.5 nm за малките агрегати, а на тези с по-големи частици в интервала от 90.0 до 176 nm. Наблюдава се тенденция за увеличение на стойностите на хидродинамичния радиус R_H на изследваните звездовидни съполимери с нарастване на дължината (молекулната маса) на техните PCL блокове. Нарастването на дължината на хидрофобните участъци в $(\text{PEO-PCL})_4$ звездовиден блоков съполимер от вида $(\text{AB})_4$, води до увеличение на размера на формираното мицелно ядро и респективно до размера на полимерните агрегати като цяло [381]. При $[\text{PEO}_{45}(\text{PCL}_{26})_2]$ звездовиден блоков съполимер (съполимерът с най-високата молекулна маса) се наблюдава намаление на стойностите за средния хидродинамичен радиус R_H . Наблюдават се малки агрегати с размер 9.7 nm и доминантни частици с радиус 116 nm. Причината за тази аномалия при получените резултати, вероятно се дължи на това, че една молекула от звездовидния блоков съполимер, претърпява или междумолекулно свързване или изграждане на междуверижни мостове при два различни агрегата при тяхното диспергиране в разтвор [381].



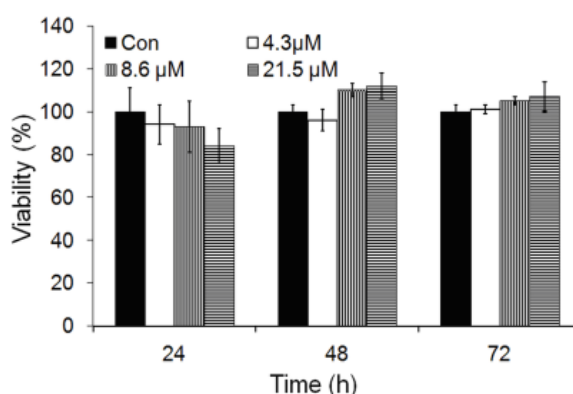
Фигура 55. (А) Определяне на R_H чрез DLS и (В) ТЕМ микрография на мицелите получени във воден разтвор за $[\text{PEO}_{45}(\text{PCL}_8)_2]$ звездовиден блоков съполимер (**2b**, Таблица 5)

Размерът и морфологията на получените мицели са определени чрез ТЕМ. Формираните мицели притежават добре дефинирана и компактна сферична форма. Средният размер на мицелите е в интервала от 20 до 35 nm (Фиг. 55, В).

7. Изследване възможностите за приложение на полимерните мицели получени на основата на $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовидни блокови съполимери като потенциални носители на лекарствени вещества

7.1. Цитотоксичност

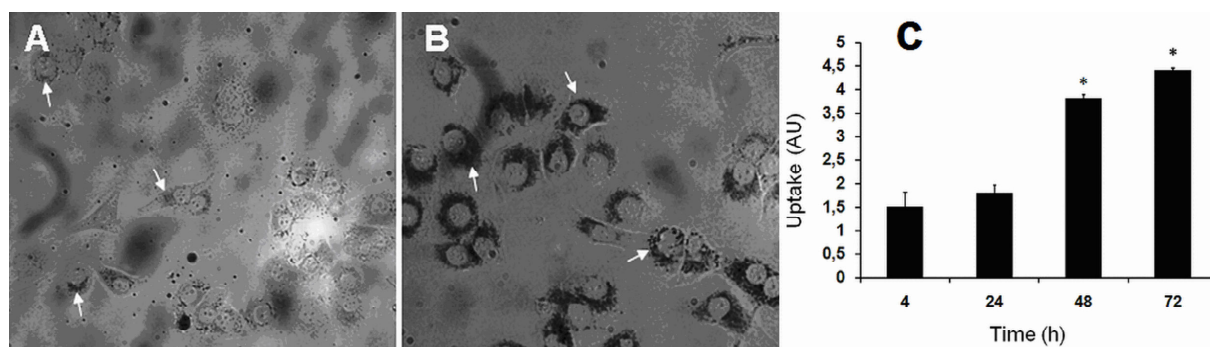
Полимерните мицели получени от звездовидните блокови съполимери (Схема 15, Таблица 7) показват не само задоволителна способност за клетъчно проникване, но и ниска токсичност. МТТ методът, ни позволи да определим цитотоксичността на образуваните полимерни мицели спрямо НерG2 клетъчна линия. Клетъчната жизнеспособност (активност) е представена на Фигура 57. Проведените изследвания при различни концентрации на полимерните мицели, показват отсъствие на цитотоксичен ефект за период от 24, 48 и 72 h. Единствено при най-високите концентрации на мицелните разтвори (21.5 μM) се наблюдава незначително статистическо понижение на клетъчната активност ($p>0.05$) при 24 h. Резултатите са достатъчно основание да считаме, че получените мицели от звездовидни блокови съполимери са биосъвместими и подходящи за приложение в биомедицината и фармацията.



Фигура 57. Активност на НерG2 клетки след инкубационен период на мицелните разтвори при различни концентрации за 24, 48 и 72 h. Представените данни са осреднени стойности от стандартни отклонения за осем независими експеримента

7.2. Клетъчно поглъщане и акумулиране

Клетъчното поглъщане на белязани с NR полимерни мицели е определено посредством светлинна микроскопия (Фиг. 58, А и В). Клетъчната линия НерG2 е избрана като мишена, поради нейната значимост в метаболитния процес на черния дроб и способността и да образува адхерентен клетъчен монослой *in vitro*. Проследено е, че след експозиция на изследвания комплекс с концентрация 4.3 μM за 4 h над изследваната клетъчна линия се достига минимална клетъчна адхезия (Фиг. 58, А), за разлика от поглъщането на посочения комплекс с концентрация 21.5 μM (Фиг. 58, В). Означени са местата на клетките, в които е локализиран комплекса от полимерни мицели и NR. От снетите микроскопски снимки ясно се вижда, че акумулирането на комплекса се осъществява в перинуклеарната област (Фиг. 58, А и В).



Фигура 58. HepG2 клетъчно поглъщане на комплекса мицела-NR, след инкубационен период от 4 h при 37°C: (A) 4.3 μ M, (B) 21.5 μ M. Микроскопските снимки са снети при увеличение $\times 200$ и (C) определяне времето на акумулиране (натрупване) в HepG2 клетките на комплекса мицела-NR с концентрация 21.5 μ M

Проведен е допълнителен анализ за определяне времето необходимо за акумулиране на комплекса мицела-NR в посочената клетъчна линия. За целта е използван инкубационен период от 72 h и последваща екстракция на неадсорбираното количество багрило. Оклюдиралото от изследваните клетки багрило е определено количествено, с помощта на спектрофотометър чрез промяна в интензитета на ивицата на поглъщане с максимум при 540 nm. Поглъщането на комплекса мицела-NR с концентрация 21.5 μ M от хепатоцитна клетъчна линия е показано на Фигура 58, C. Наблюдава се прогресивно нарастване на концентрацията на багрилото във времето. Налице е 1.5 пъти по-висока акумулация при 4 h и 4.5 пъти по-високо съдържание при 72 h, в сравнение с NR без образуван комплекс с полимерни мицели. Осреднените стойности от стандартните отклонения за осем независими експеримента, са представени на Фигура 58, C. Със звездички (*) са отбелязани значителните различия при клетъчното поглъщане наблюдавано при 4 и 24 h, $p < 0.001$.

Субективният характер на акумулиране на блоковите съполимери към HepG2 клетки, може да бъде обяснен, като процес на вътрешна адсорбция на комплекса мицела-NR в чернодробната алвеола чрез ендоцитоза [383-385]. В началото бе наблюдавано присъствие на комплекса NR-полимерни мицели в клетъчната цитоплазма. Единствено съполимерите бяха ендоцитозирани и първоначално открити около нуклеарната мембрана. Освен това бе наблюдавано вграждане в клетъчната линия на голямо количество от неинкубираните блокови съполимери. Съществуването им в стабилно състояние продължава през време на везикуларния пренос (транспорт). Точният механизъм на попадане на блоковите съполимери във вътрешността на клетките не може да се смята за напълно изучен.

ИЗВОДИ

1. Получени и охарактеризирани са серия от PEO-b-PCL линейни диблокови съполимери чрез оригинална синтетична процедура с прилагане на реакция на сдвояване между предварително функционализиран PCL предполимер и PEO. За целта са използвани силно реактивоспособни нискомолекулни съединения, съдържащи изоцианатни функционални групи, за защита и функционализация на крайните хидроксилни групи на PCL блок.

2. Синтезирани са серия от PEO-PCL-PEO линейни триблокови съполимери чрез прилагането на реакция на сдвояване на предварително функционализиран с изоцианатни групи PCL предполимер и PEO. Чрез FTIR спектроскопия е проследена в детайли кинетиката на процеса и необходимото реакционно време, за достигане на оптимален добив на OCN-PCL-NCO телехелен олигомер (предполимер).

3. За първи път са получени [PEO(PCL)₂] трираменни звездовидни блокови съполимери по метода “arm first”. За целта е използвана оригинална триетапна синтетична процедура, включваща получаването на MPEO-епоксид (макромер), [MPEO(OH)₂] (макроинициатор) и прилагане на контролирана полимеризация с отваряне на пръстена (ROP) на ϵ -CL в присъствието на катализатор- Sn(Oct)₂.

4. По метода “arm first” в двуетапна синтеза са получени [PEO(PCL)₂] трираменни блокови съполимери посредством авангарден подход, включващ реакция на присъединяване от *Michael* тип и ROP на ϵ -CL. За целта е използван [MePEO(OH)₂] макроинициатор, получен чрез присъединяването на сярасъдържащ нискомолекулен диол – меркаптоглицерол към MPEO с крайна метакрилатна група.

5. Посредством експериментални и теоретични изследвания са определени и сравнени редица свойства на линейните и звездовидни полимерни аналози, като СМС, размер и морфология на образуваните от тях наноразмерни частици (мицели). Получените звездовидни съполимери са склонни да формират полимерни мицели с много по-малък размер и по-ниски стойности на СМС в сравнение с техните линейни аналози. Доказано е, че полимерните агрегати на двата различни типа съполимери притежават сферична морфология.

6. Биологичните изпитания еднозначно показаха, че мицелите получени от звездовидните блокови съполимери са биосъвместими и подходящи за приложение в областта на биомедицината и фармацията.

СПИСЪК

на научните съобщения, включени в дисертационния труд

Публикации:

[1] **Petrova S**, Miloshev S, Mateva R, Iliev I. “Synthesis of Amphiphilic PEG-PCL-PEG Triblock Copolymers” *J of Univ of Chem Techn Metall* **2008**;43:199-204.

[2] **Petrova S**, Riva R, Jérôme Ch, Lecomte Ph, Mateva R. “Controlled Synthesis of AB₂ Amphiphilic Triarm Star-Shaped Block Copolymers by Ring-Opening Polymerization” *Eur Polym Jnl* **2009**;45:3442-3450.

Постерни съобщения в научни конференции (името на докладващия е подчертано):

1. **S. Petrova**, R. Mateva, *TECHNOMER 2007, 20. Fachtagung uber Verarbeitung und Anwendung von Polymeren*, November 15-17 (2007), Chemnitz Germany-постер.

2. **S. Petrova**, R. Mateva, S. Miloshev, I. Iliev, *Sixth International Conference of Chemical Societies of the South-Eastern European Countries, Sixth National Conference on Chemistry, 16-th National Symposium “Polymer 2008”* September 10-14 (2008), Sofia, Bulgaria –постер.

3. **R. Mateva**, S. Petrova, I. Iliev, *20-th Congress of the Society of Chemists and Technologists of Macedonia Ohrid*, September 17-20 (2008), Ohrid, Macedonia-постер.

4. **S. Petrova**, I. Kolev, S. Miloshev, R. Mateva, *VI-та научно постерна сесия за студенти, докторанти, млади преподаватели и учени*, 21 май (2009), ХТМУ, София-постер.

5. **S. Petrova**, I. Kolev, S. Miloshev, R. Mateva, *TECHNOMER 2009, 21. Fachtagung uber Verarbeitung und Anwendung von Polymeren*, November 12-14 (2009), Chemnitz Germany– постер.

6. **S. Petrova**, R. Riva, Ch. Jérôme, Ph. Lecomte and R. Mateva, *II Постерна сесия: “Младите учени в света на полимерите”*, 3 юни (2010), ИП-БАН, София – постер.

Забелязаните цитати върху научните публикации, включени в дисертационния труд:

[1] Petrova S, Miloshev S, Mateva R, Iliev I. “Synthesis of Amphiphilic PEG-PCL-PEG Triblock Copolymers” *J of Univ of Chem Techn Metall* **2008**;43:199-204.

1) Mathew P, Binulal NS, Nair SV, Selvamurugana N, Tamura H, Jayakumar R. “Novel biodegradable chitosan–gelatin/nano-bioactive glass ceramic composite scaffolds for alveolar bone tissue engineering” *Chemical Engineering Journal* **2010**;158:353-361.

2) Abuilawi F. A., Laoui T., Al-Harhi M., Atieh M. A. Modification and functionalization of multiwalled carbon nanotube (MWCNT) via fischer esterification” *The Arabian Journal for Science and Engineering* **2010**;35:37-48.

3) Vandana M, Sahoo K. S. “Long circulation and cytotoxicity of PEGylated gemcitabine and its potential for the treatment of pancreatic cancer” *Biomaterials* **2010**;31:9340-9356.

[2] Petrova S, Riva R, Jérôme Ch, Lecomte Ph, Mateva R. “Controlled Synthesis of AB₂ Amphiphilic Triarm Star-Shaped Block Copolymers by Ring-Opening Polymerization” *Eur Polym J* **2009**;45:3442-3450.

4) Zhang B-Y, He W-D, Li W-T, Li L-Y, Zhang K-R, Zhang H. “Preparation of block-brush PEG-b-P(NIPAM-g-DMAEMA) and its dual stimulus-response” *Polymer* **2010**;51:3039-3046.

5) Cameron D. J. A. and Shaver M. P. “Aliphatic polyester polymer stars: Synthesis, properties and applications in biomedicine and nanotechnology” *Chemical Society Reviews* **2011**;40(3):1761-1776.