

## AUTOREFERAT

(zgodny z wzorem z Rozporządzenia Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz komunikatem CK nr6/2011)

### 1. IMIĘ I NAZWISKO: Wojciech Wałach

### 2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE:

- 1989**      **magister inżynier** w zakresie specjalności Technologii Polimerów i Tworzyw Sztucznych  
Wydział Chemiczny Politechniki Śląskiej w Gliwicach  
praca dyplomowa:  
„**Polimeryzacja laktydu kwasu mlekowego w obecności wybranych inicjatorów anionowych**”  
promotor: prof. dr hab. inż. Zbigniew Jedliński
- 1998**      **doktor nauk chemicznych**  
Wydział Chemiczny Politechniki Śląskiej w Gliwicach  
temat rozprawy: „**Synteza i struktura polimerów i kopolimerów 2,3-epoksypropanolu**”  
promotor: prof. dr hab. Jolanta Maślińska-Solich

### 3. PRZEBIEG PRACY ZAWODOWEJ – INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

#### Stanowiska:

- |              |   |
|--------------|---|
| Od 1989-1992 | <b>asystent</b> w Zakładzie Polimerów PAN w Zabrze  |
| 1992-1999    | <b>asystent</b> w Laboratorium Separacji Membranowej i Nowych Materiałów w Zakładzie Karbochemii PAN w Gliwicach                            |
| 1999-2004    | <b>adiunkt</b> w Laboratorium Separacji Membranowej i Nowych Materiałów w Zakładzie Karbochemii PAN w Gliwicach                             |
| 2004-2007    | <b>adiunkt</b> w Laboratorium Materiałów Nanostrukturalnych w Zakładzie Karbochemii PAN w Gliwicach   |
| 2007-2009    | <b>adiunkt</b> w Laboratorium Materiałów Nano- i Mikrostrukturalnych w Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych PAN w Zabrze             |
| Od 2009      | <b>starszy specjalista</b> w Laboratorium Materiałów Nano- i Mikrostrukturalnych w Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych PAN w Zabrze |

#### 4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO STANOWIĄCEGO PODSTAWĘ POSTĘPOWANIA HABILITACYJNEGO

##### (a) TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Osiągnięciem naukowym, wynikającym z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.), który przedkładam jako rozprawę habilitacyjną jest:

**jednotematyczny cykl publikacji zatytułowany:**

**„Rozgałęzione polimery oksiranów o kontrolowanej topologii łańcucha – synteza i ich właściwości”**

##### (b) WYKAZ JEDNOTEMATYCZNYCH ARTYKUŁÓW NAUKOWYCH STANOWIĄCYCH OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE, z określeniem procentowanego udziału habilitanta w powstaniu każdej z prac:

*Impact Factor (IF) – odpowiedni do roku publikacji*

H1	W. Wałach, A. Kowalczyk, B. Trzebicka, A. Dworak Synthesis of high-molar mass arborescent-branched polyglycidol via sequential grafting, <i>Macromol. Rapid Commun.</i> 2001; <b>22</b> , 1272-1277.	IF=2,372 (udział własny=70 %)
H2	A. Dworak, B. Trzebicka, A. Utrata, W. Wałach Hydrophobically modified polyglycidol – the control of lower critical solution temperature, <i>Polym. Bull.</i> 2003; <b>50</b> , 47-54.	IF=0,795 (udział własny=40 %)
H3	W. Wałach, B. Trzebicka, J. Justyńska, A. Dworak High molecular arborescent polyoxyethylene with hydroxyl containing shell, <i>Polymer</i> 2004; <b>45</b> , 1755-1762.	IF=2,433 (udział własny=60 %)
H4	B. Klajnert, W. Wałach, M. Bryszewska, A. Dworak, Dz. Shcharbin Cytotoxicity, haematotoxicity and genotoxicity of high molecular mass arborescent polyoxyethylene polymers with polyglycidol-block-containing shells, <i>Cell Biol. Int.</i> 2006; <b>30</b> , 248-252.	IF=1,363 (udział własny=35 %)
H5	A. Dworak, W. Wałach Synthesis, characterization and properties of functional star and dendritic block copolymers of ethylene oxide and glycidol with oligoglycidol branching units, <i>Polymer</i> 2009; <b>50</b> , 3440-3447.	IF=3,573 (udział własny=80 %)
H6	M. Libera, B. Trzebicka, A. Kowalczyk, W. Wałach, A. Dworak Synthesis and thermoresponsive properties of four arm, amphiphilic poly( <i>tert</i> -butyl-glycidylether)-block-polyglycidol stars, <i>Polymer</i> 2011; <b>52</b> , 250-257.	IF=3,438 (udział własny=60 %)
H7	M. Libera, W. Wałach, B. Trzebicka, S. Rangelov, A. Dworak Thermosensitive dendritic stars of <i>tert</i> -butyl-glycidylether and glycidol – Synthesis and encapsulation properties, <i>Polymer</i> 2011; <b>52</b> , 3526-3536.	IF=3,438 (udział własny=50 %)

H8	A. Dworak, A. Kowalczuk-Bleja, B. Trzebicka, W. Wałach Amphiphilic core-shell PEO stars by Williamson etherification reaction Polym. Bull. 2002; <b>49</b> , 9-16.	IF=0,711 (udział własny=25 %)
H9	A. Mendrek, S. Mendrek, B. Trzebicka, D. Kuckling, W. Wałach, H.-J. Adler, A. Dworak Polyether core-shell cylinder – polymerization of polyglycidol macromonomers, Macromol. Chem. Phys. 2005; <b>206</b> , 2018-2026.	IF=2,111 (udział własny 20 %)
H10	M. Jamróz-Piegza, W. Wałach, A. Dworak, B. Trzebicka Polyether nanoparticles from covalently crosslinked copolymer micelles J. Coll. Int. Sci. 2008; <b>325</b> , 141-148.	IF=2,443 (udział własny=35 %)

**Sumaryczny IF powyższych 10 prac wynosi 22,677**

**(c) OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW, OPISANYCH W CYKLU PUBLIKACJI „Rozgałęzione polimery oksiranów o kontrolowanej topologii łańcucha – synteza i ich właściwości”**

**1. WSTĘP**

Tematem rozprawy są badania dotyczące metod i warunków kontrolowanej syntezy rozgałęzionych polimerów oksiranowych o różnej topologii makrocząsteczki oraz zbadanie właściwości takich polimerów.

Mimo, że polimery oksiranów znane są już od XIX wieku, a podstawy dotyczące polimerów rozgałęzionych zostały opracowane przez Flory'ego i Stockmayera w połowie XX wieku, badania rozgałęzionych polimerów oksiranów i opis struktury takich makrocząsteczek stał się możliwy dopiero wraz z upowszechnianiem się metod polimeryzacji żyjącej i kontrolowanej [1-8], pozwalających na precyzyjne wykonanie syntezy makrocząsteczek liniowych i rozgałęzionych.

Rozgałęzienie łańcucha pociąga za sobą zmiany właściwości polimeru, co pozwala w pewnym stopniu modyfikować właściwości materiałów nie zmieniając zasadniczo ich składu chemicznego [9, 10]. W porównaniu z liniowymi analogami, polimery rozgałęzione mają lepszą rozpuszczalność, mniejszą lepkość roztworów, większą liczbę reaktywnych grup końcowych. Cechy te przyczyniły się do rozwoju badań nad polimerami rozgałęzionymi.

Kontrola architektury, masy molowej i grup końcowych polimeru pozwala lepiej dopasować właściwości materiału do konkretnych zastosowań [11]. W wypadku polioksiranów, gdzie grupami końcowymi są grupy hydroksylowe, które mogą być w prosty sposób użyte do modyfikacji, kontrolowane rozgałęzienie makrocząsteczki, a przez to zwiększenie liczby grup końcowych stwarza nowe możliwości aplikacyjne. Jest to widoczne szczególnie w wielu pracach opisujących potencjalne zastosowanie hiperrozgałęzionych polimerów i kopolimerów glicydolu (oksiranu z grupą hydroksylową) do celów biomedycznych [12-21], jednak takie polimery muszą charakteryzować się odpowiednio wysoką jednorodnością pod względem budowy łańcucha. Badania dotyczące metod syntezy takich materiałów są wciąż potrzebne. W literaturze opisane są sposoby syntezy rozgałęzionych polimerów oksiranowych, dotyczące głównie struktur hiperrozgałęzionych, jednak możliwość kontroli parametrów struktury łańcucha, stopnia rozgałęzienia, masy molowej, ilości grup końcowych, jest bardzo ograniczona [22-33]. Pierwszymi pracami, które pokazały, że synteza polimerów glicydolu jest procesem skomplikowanym i prowadzi do mieszaniny oligomerów o złożonym składzie i strukturze były prace Vandenberg [34, 35].

Istotnym problemem podjętym w pracach autora jest określenie metod i odpowiednich warunków syntezy prowadzących do różnych typów rozgałęzionych polioksiranów o kontrolowanej budowie makrocząsteczki, składzie, ilości grup końcowych oraz małej dyspersji mas molowych.

W komentarzu opisane zostaną najważniejsze prace autora dotyczące badań nad kontrolowaną syntezą i właściwościami rozgałęzionych polioksiranów, w których elementami rozgałęziającymi łańcuch są:

- mer lub blok poliglicydolowy, [H1, H2, H3, H4, H5, H7, H10]

- wielofunkcyjny inicjator [H5, H6, H7],
- wielofunkcyjny terminator [H8],
- terminator z grupą, która pozwala na polimeryzację utworzonego na etapie terminacji makromonomeru [H9].

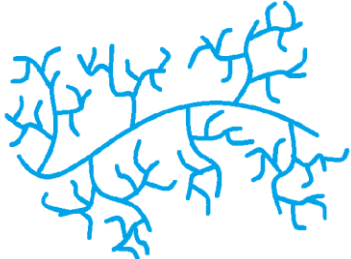
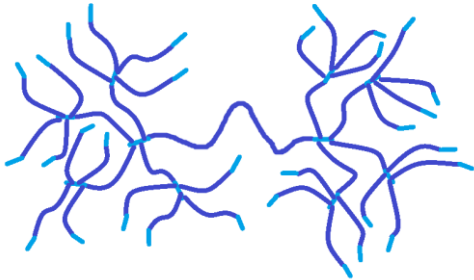
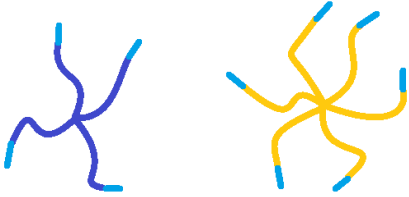
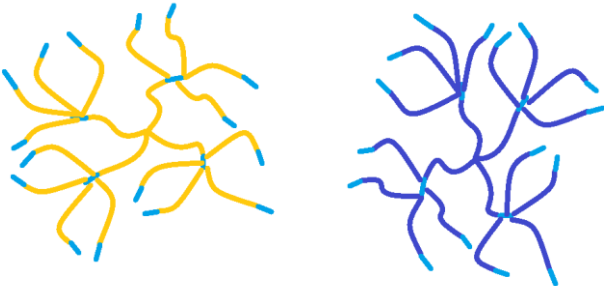

Niektóre z otrzymanych polimerów poddano badaniom biochemicznym w celu określenia ich wpływu na materiał biologiczny (komórki, erytrocyty, DNA).

Kluczem do kontrolowanej syntezy opisywanych polimerów jest anionowa polimeryzacja monomerów oksiranowych, która poprzez dobór odpowiednich warunków może przebiegać w sposób kontrolowany. W większości syntez zastosowano glicydol – oksiran z grupą hydroksylową. Obecność w cząsteczce glicydolu reaktywnej w procesie polimeryzacji grupy hydroksylowej, wymagała użycia monomeru z chronioną grupą hydroksylową, nieaktywną w czasie polimeryzacji, a łatwo i ilościowo odtwarzaną po syntezie makrocząsteczki. W pracach wykorzystano cztery monomery oksiranowe: tlenek etylenu (EO), glicydol (GI) (do syntez użyto eteru 1-etoksyetylowo-glicydylowego EEGE) oraz oksirany hydrofobowe: eter *tert*-butylowo-glicydylowy (ETBG) i eter fenylowo-glicydylowy (FGE).

Do rozgałęzienia łańcucha oprócz glicydolu wykorzystano pentaerytrytol, dipentaerytrytol, inozytol oraz *p*-chlorometylostyren (monomer (CMS) oraz polimer (PCMS)). Do stabilizacji nanocząstek przez utworzenie wiązań kowalencyjnych pomiędzy łańcuchami wykorzystano dimeryzujące pod wpływem światła UV wiązania podwójne w cynamonianie glicydylu (CGI).

W tabeli 1 przedstawiono schematycznie budowę makrocząsteczek polimerów i kopolimerów zsyntezowanych w ramach opisywanych w komentarzu prac. Odpowiednie kolory oznaczają rodzaj monomeru z którego jest zbudowany blok łańcucha polimerowego. Opis znajduje się pod tabelą.

**Tabela 1.** Rozgałęzione polimery oksiranowe opisane w komentarzu

Metoda syntezy, struktura makrocząsteczki, skład i charakter	Schemat
<ul style="list-style-type: none"> <li>- szczepienie i wielokrotne szczepienie</li> <li>- struktura dendrytyczna</li> <li>- homopolimerowe</li> <li>- hydrofilowe</li> </ul> <p>[H1, H2]</p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- szczepienie</li> <li>- struktura dendrytyczna typu „pom-pom”</li> <li>- kopolimerowe</li> <li>- hydrofilowe</li> </ul> <p>[H3, H4]</p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- „core first”</li> <li>- gwiazdy 4 i 6 ramienne</li> <li>- kopolimerowe</li> <li>- hydrofilowe i amfifilowe</li> </ul> <p>[H5, H6]:</p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- szczepienie</li> <li>- gwiazdy dendrytyczne</li> <li>- kopolimerowe</li> <li>- hydrofilowe i amfifilowe</li> </ul> <p>[H5, H7]</p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- terminacja „arm first”</li> <li>- gwiazdy wieloramienne</li> <li>- ramiona homopolimerowe, rdzeń hydrofobowy</li> <li>- amfifilowe</li> </ul> <p>[H8]</p>	

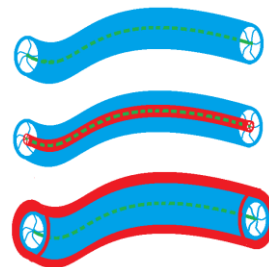
– polimeryzacja makromonomerów

– „bottle-brush”

– kopolimerowe

– hydrofilowe i amfifilowe

[H9]



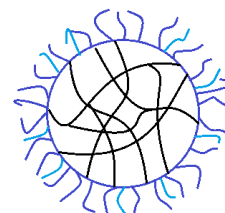
– sieciowanie miceli

– „core-shell”

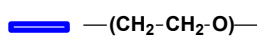
– kopolimerowe

– amfifilowe

[H10]

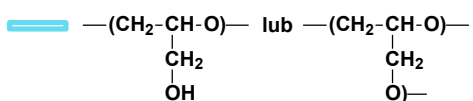


Opis do tabeli 1:



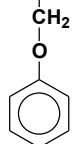
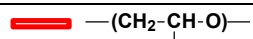
poli(tlenek etylenu)

(PEO)



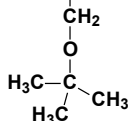
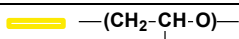
poliglicydol

(PGI)



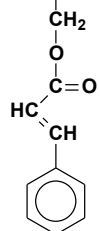
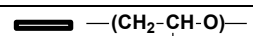
poli(eter fenyloowo-glicydylowy)

(PFGE)



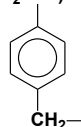
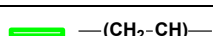
poli(eter *tert*-butylowo-glicydylowy)

(PETBG)



poli(cynamonian glicydylu)

(PCGI)



poli(*p*-chlorometylostyren)

(PCMS)

Większość syntez w omawianych pracach to procesy wieloetapowe, w których wykorzystano różne metody rozgałęziania makrocząsteczek. Do syntezy polimerów dendrytycznych wykorzystano reakcje szczeplenia i szczeplenia wielokrotnego („graft” i „graft on graft”) [H1-H4, H5, H7]. W syntezach gwiazd wykorzystano terminację wielofunkcyjnym rdzeniem („arm first”) [H8] oraz inicjowanie wielofunkcyjnym inicjatorem („core first”) [H5, H6]. Do syntezy polimerów typu „bottle-brush” [H9] zastosowano metodę polimeryzacji makromonomerów, natomiast syntezę stabilnych nanocząstek wykonano poprzez fotosieciowanie micel utworzonych z kopolimerów z modyfikowanym blokiem poliglicydolowym [H10].

Wszystkie opisane prace autora, będące przedmiotem rozprawy skoncentrowane są na określeniu odpowiednich warunków syntezy, które pozwalają na kontrolę topologii makrocząsteczek, wielkości, ilości i rodzaju grup funkcyjnych oraz dyspersji mas molowych. Publikacje omówione w komentarzu są pracami zbiorowymi, w których prace syntetyczne i badania właściwości były wykonane przez autora, prowadzone pod jego nadzorem lub też były konsultowane warunki i sposoby syntez.

## **2. Szczęplenie łańcucha poliglicydolu**

### **➤ Szczęplone polimery glicydolu [H1,H2]**

Prowadzone przez autora badania nad kontrolowaną syntezą rozgałęzionych polioksiranów skupiły się na wykorzystaniu grupy hydroksylowej w merze glicydolu do rozgałęzienia łańcucha polioksiranowego. Obecność w monomerze grupy hydroksylowej komplikuje proces anionowej polimeryzacji tego monomeru. Reakcje przeniesienia na grupę hydroksylową monomeru prowadzą do obniżenia masy molowej polimeru oraz tworzenia niskocząsteczkowych produktów cyklicznych, a to z kolei powoduje utratę kontroli [22]. Synteza hiperrozgałęzionych polimerów glicydolu przez zastosowanie techniki wolnego dodawania monomeru, opisana przez Freya [22, 27], pozwala obniżyć chwilowe stężenie glicydolu a przez to ograniczyć reakcje prowadzące do produktów cyklicznych, jednak uzyskanie rozgałęzionego poliglicydolu o masie molowej powyżej 10 000 g/mol wiąże się ze znacznym wzrostem dyspersji mas molowych ( $\mathcal{D}_M > 2$ ) [27]. Poza kontrolą jest również stopień rozgałęzienia DB, który niezależnie od prowadzenia syntezy wynosi od 0,53 do 0,59.

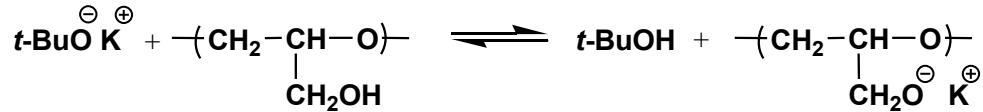
Niezależnie od sposobu prowadzenia polimeryzacji, obecność grupy hydroksylowej prowadzi do polimeru silnie rozgałęzionego o umiarkowanej wysokiej masie molowej. Kontrola procesu jest trudna. W szczególności nie można sterować gęstością rozgałęzień, ich rozkładem, długością bloków liniowych łączących punkty rozgałęzień, itp.

W pracach autora [H1] niniejszej rozprawy został zastosowany inny sposób rozgałęzienia łańcucha polioksiranowego. Aby wyeliminować reakcje przeniesienia, użyty został glicydol z zablokowaną grupą hydroksylową (EEGE), a generowanie rozgałęzień uzyskano przez wielokrotne szczeplenie liniowego łańcucha poliglicydolu po uprzednim usunięciu zabezpieczających grup acetalowych.

Syntezę rozpoczęto od otrzymania liniowego poliglicydolu o masie molowej 10 300 g/mol ( $\mathcal{D}_M = 1,25$ ) przez inicjowanie polimeryzacji EEGE *tert*-butanolanem potasu w tetrahydrofuranie. Liniowy polimer po odblokowaniu grup hydroksylowych i oczyszczeniu został użyty do następnego etapu – szczeplenia.



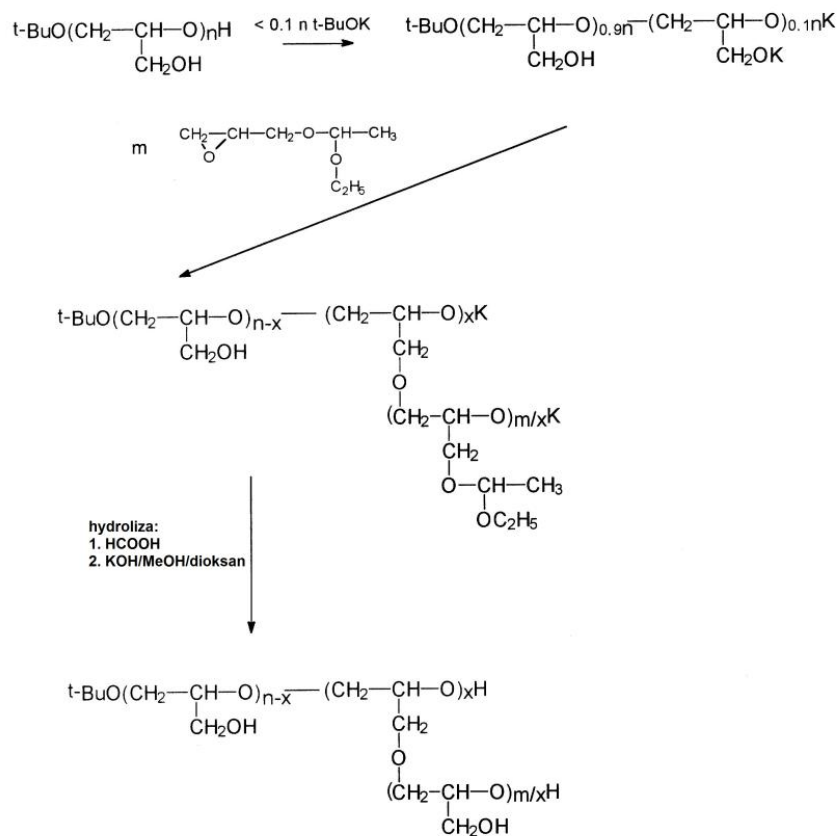
Homogeniczne roztwory wielofunkcyjnego makroinicjatora – poliglicydolu z grupami alkoholowymi otrzymano, jonizując 10 % wszystkich grup hydroksylowych liniowego poliglicydolu. Grupy alkoholowe uzyskano przez reakcję poliglicydolu z *tert*-butanolanem potasu wykorzystując równowagę przedstawioną na schemacie 2.1.



**Schemat 2.1.** Równowaga alkohol – alkohol w układzie *tert*-butanolan potasu / poliglicydol

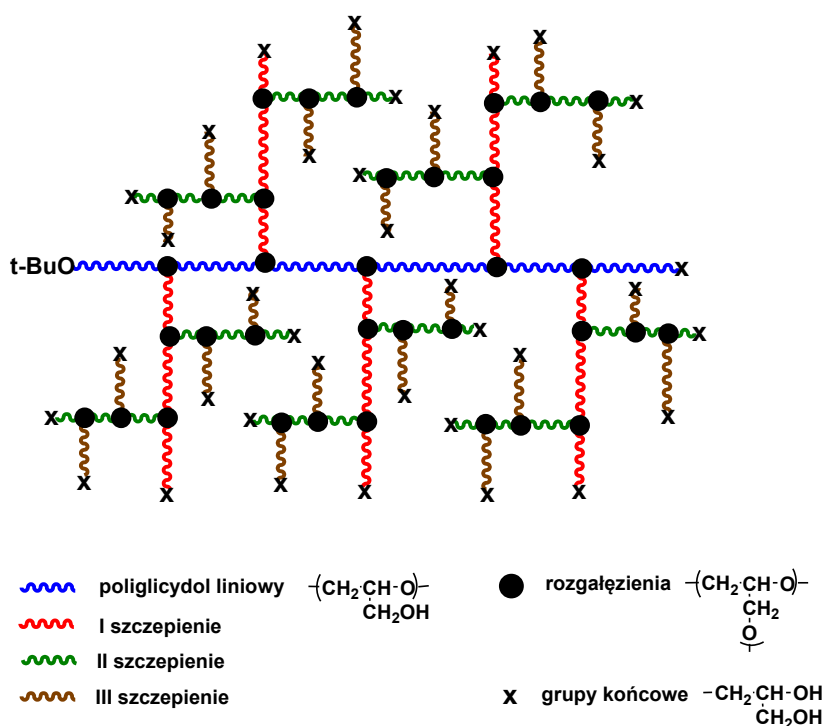
Powstający *tert*-butanol usunięto przez oddestylowanie pod wysoką próżnią razem z prawie całym DMSO. Po ponownym rozpuszczeniu w DMSO makroinicjator użyto do polimeryzacji EEGE.

Reakcja prowadzi do szczepienia łańcuchów EEGE na łańcuchu poliglicydolu, a wymiana pomiędzy wszystkimi grupami alkoholowymi i alkoholowanymi poliglicydolu stwarza możliwość wzrostu na każdej grupie hydroksylowej. Po osiągnięciu prawie całkowitej konwersji monomeru usunięto z pEEGE zabezpieczające grupy acetalowe (schemat 2.2).



**Schemat 2.2.** Szczepienie łańcucha poliglicydolu

Produkt po oczyszczeniu i analizie wykorzystano do inicjowania polimeryzacji EEGE w taki sam sposób jak poprzednio, przeprowadzając kolejne reakcje szczipienia. Wykonano trzykrotne szczipienie, za każdym razem wykorzystując produkt z poprzedniego szczipienia. W ostatnim etapie, prowadzącym do otrzymania polimeru o masie molowej sięgającej dwóch milionów, masa molowa makroinicjatora wynosiła 740 000 g/mol, i aby otrzymać homogeniczny układ inicjujący konieczne było obniżenie stopnia jonizacji grup hydroksylowych do około 7%. Wszystkie produkty kolejnych szczipień po usunięciu zabezpieczających grup acetalowych poddano analizie SEC-MALLS oraz analizie  $^{13}\text{C}$  NMR. Zastosowana metoda szczipienia pozwoliła na uzyskanie trzech generacji polimerów o różnej masie molowej i różnym stopniu rozgałęzienia. Kolejne etapy szczipienia przedstawiono na schemacie 2.3. Kolory obrazują łańcuchy powstałe przy kolejnych etapach szczipienia.



**Schemat 2.3.** Kolejne etapy szczipienia makrocząsteczki poliglicydolu

Wyniki analiz chromatografii żelowej pokazują, że zastosowana metoda pozwala dobrze kontrolować masę molową poliglicydolu (tab. 2.1). Coraz większa dyspersja mas molowych dla kolejnych produktów szczipień wynika prawdopodobnie z coraz większej lepkości mieszaniny reakcyjnej.

**Tabela 2.1.** Charakterystyka produktów szczypania poliglicydolu

Szczypanie	Konwersja monomeru	$M_n$ obl. *	$M_n$ (SEC-MALLS)	$\bar{D}_M$
	%	g/mol	g/mol	
I	>99 %	79 500	82 000	1,25
II	>99 %	707 530	740 000	1,27
III	27 %	1 618 000	1 820 000	1,43

\* Masa molowa obliczona ze stosunku reagentów z uwzględnieniem konwersji monomeru

Określenie architektury makrocząsteczki dla każdego produktu szczypania było możliwe dzięki korelacji wyników otrzymanych ze spektroskopii  $^{13}\text{C}$  NMR oraz SEC-MALLS. Z analizy spektroskopowej wyznaczono stosunek grup końcowych (K) do jednostek liniowych (L). Wiedząc, że każde rozgałęzienie (R) generuje jedną grupę końcową (K) można w oparciu o stopień polimeryzacji DP wyznaczony z SEC-MALLS obliczyć ilość jednostek liniowych w makrocząsteczce stosując wzór:

$$\text{DP} = \text{L} + \text{R} + \text{K} \quad \text{dla odpowiednio dużego DP} \quad \text{R} = \text{K} \quad \text{wtedy} \quad \text{L} = \text{DP} - 2\text{K}.$$

Porównując strukturę polimeru wyjściowego (makroinicjatora) oraz produktu, obliczono również udział szczypanych jednostek liniowych, powstających w każdym etapie, który charakteryzuje wydajność szczypania. Stopień rozgałęzienia polimerów po każdym szczypaniu obliczono ze wzoru:  $\text{DB} = (\text{K} + \text{R}) / (\text{L} + \text{K} + \text{R})$ . Dane przedstawiono w tabeli 2.2.

**Tabela 2.2.** Charakterystyka struktury szczypanych polimerów glicydolu

Szczypanie	Stosunek molowy grup końcowe/liniowe *	Udział szczypanych merów	DB
		%	
I	1/8,5	76	0,19
II	1/11,2	84	0,15
III	1/1,2	89	0,63

\* Wartości wyznaczone z analizy  $^{13}\text{C}$  NMR

Otrzymane informacje dotyczące struktury pokazują, że stosując odpowiednie warunki, można osiągnąć wysoki stopień szczypania łańcucha poliglicydolu, przekraczający 80 % wszystkich merów liniowych. Stopień rozgałęzienia można kontrolować poprzez liczbę cząsteczek monomeru przypadającą na jedno centrum wzrostu – im ten stosunek jest mniejszy, tym krótsze są łańcuchy liniowe i mniejsza ilość jednostek liniowych.

Warunkiem uzyskania kontroli jest zapewnienie homogeniczności mieszaniny reakcyjnej na każdym etapie syntezy w taki sposób, aby dla wszystkich grup hydroksylowych w układzie możliwa była reakcja wymiany protonu między grupami alkoholowymi i alkoholanowymi.

Otrzymano polimery glicydolu „graft- on- graft” o masach molowych sięgających  $2 \times 10^6$  g/mol. Masy te można kontrolować, a ich dyspersja jest niewielka. W literaturze opisano bardzo niewiele syntez polimerów o tak dużych masach molowych przy jednoczesnym zachowaniu kontroli procesu.

Modyfikacja wyżej opisanego szczepionego poliglicydolu przez estryfikację przedstawiona została w pracy [H2]. Reakcja grup hydroksylowych z bezwodnikiem octowym w dimetyloformamidzie, w obecności pirydyny, prowadzi do polimerów glicydolu w których 30 % do 90 % grup hydroksylowych uległo estryfikacji. Zmiana polarności zmienia właściwości polimeru i indukuje termowrażliwość roztworów wodnych estryfikowanego poliglicydolu, przy czym temperatura przejścia zależy nie tylko od stopnia estryfikacji i masy molowej poliglicydolu, ale także od struktury makrocząsteczki. Prawdopodobnie bardziej zwarta budowa makrocząsteczki prowadzi do preferowania estryfikacji łatwiej dostępnych, zewnętrznych grup hydroksylowych, a właśnie ta sfera jest odpowiedzialna za oddziaływanie z rozpuszczalnikiem. W efekcie szczepiony poliglicydol jest bardziej hydrofobowy niż polimer liniowy o tym samym stopniu podstawienia, co wpływa na obniżenie punktu zmętnienia. Dla stopnia estryfikacji, wynoszącego około 45 % różnica ta jest znaczna i wynosi 40 °C.

Przedstawione prace [H1, H2] nad syntezą i modyfikacją szczepionego poliglicydolu pokazują, że możliwa jest kontrola syntezy rozgałęzionego poliglicydolu prowadząca do polimerów o różnej strukturze rozgałęzionego łańcucha i odmiennych właściwościach.

### ➤ **Rozgałęzione kopolimery tlenku etylenu i glicydolu**

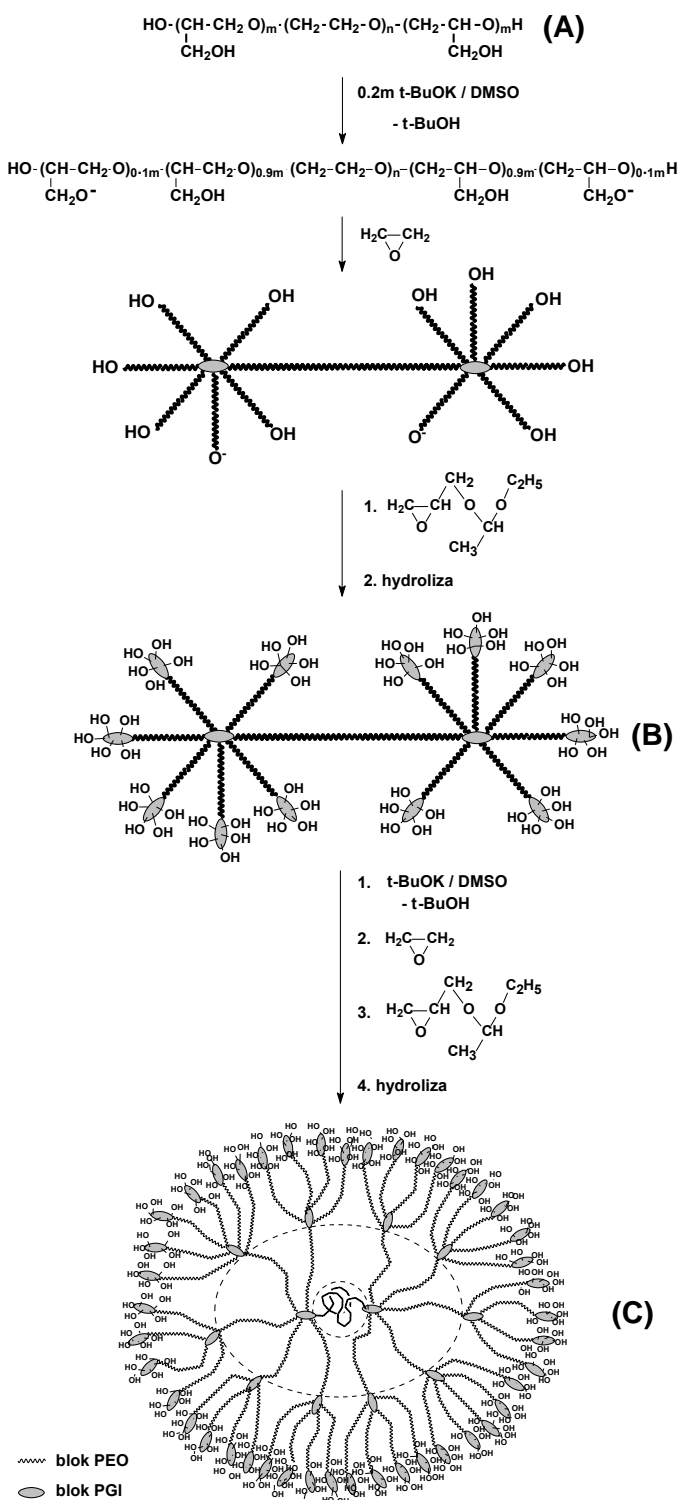
#### ***Kopolimery tlenku etylenu o budowie typu „pom-pom” [H3] [H4]***

Badania opisane w poprzednich pracach prowadzą do silnie rozgałęzionych polimerów. Możliwa jest kontrola stopnia rozgałęzienia, natomiast liczba grup hydroksylowych w makrocząsteczce jest równa stopniowi polimeryzacji. Kolejne badania skierowano więc na opracowanie metod kontrolowanej syntezy funkcyjnych kopolimerów oksiranowych, w których można kontrolować stopień rozgałęzienia makrocząsteczki i jednocześnie zmieniać liczbę grup hydroksylowych. W pierwszym rzędzie skupiono się na kopolimeryzacji glicydolu z tlenkiem etylenu.

W ramach badań opisanych w pracy [H3] przeprowadzono próby zastosowania metody wolnego dodawania monomeru (glicydolu) wykorzystując makroinicjator otrzymany z poli(tlenku etylenu). Stwierdzono, że dominującą i konkurencyjną do wzrostu łańcucha w tych warunkach jest reakcja przeniesienia na grupę hydroksylową glicydolu, co uniemożliwia kontrolę.

Badania skierowano na drogę wieloetapowej syntezy kopolimerów tlenku etylenu i glicydolu [H3] z zastosowaniem monomeru z zablokowaną grupą hydroksylową. W pierwszym etapie syntezy otrzymano triblokowy kopolimer poli(EEGE)-blok-PEO-blok-poli(EEGE), gdzie  $M_n$  bloku PEO wynosiła 4 000 g/mol. Po hydrolizie otrzymano poliglicydol-blok-PEO-blok-poliglicydol (produkt A – schemat 2.4.).

Tak dobrano ilości substratów, aby średnie długości bloków glicydolowych przy pełnej konwersji



**Schemat 2.4.** Etapy syntezy rozgałęzionego kopolimeru tlenku etylenu i glicydolu o budowie typu „pom-pom”

monomeru wynosiły około 6 merów. Uzyskuje się wtedy średnio 7 grup hydroksylowych (6 grup I-rzędowych i jedna grupa II-rzędowa) na końcu łańcucha. W następnym etapie syntezy pozwala to utworzyć średnio 7 rozgałęzień. Otrzymany w pierwszym etapie kopolimer wykorzystano jako makroinicjator do inicjowania polimeryzacji tlenku etylenu, a następnie EEGE. Makroinicjator przygotowano podobnie jak w wypadku szczepienia homopolimerowego łańcucha glicydolowego. Zarówno konwersja tlenku etylenu, jak i później dodanego EEGE wynosiły blisko 100 %, co gwarantowało utworzenie bloków o odpowiednich długościach. Po odtworzeniu grup hydroksylowych w blokach glicydolowych jeszcze raz powtórzono kopolimeryzację stosując otrzymany w poprzednim etapie rozgałęziony kopolimer (produkt B) jako makroinicjator. Przebieg syntezy przedstawiono na schemacie 2.4.

Istotnym elementem prowadzonych badań było potwierdzenie kontroli masy molowej oraz architektury syntezowanych polimerów. Po każdym etapie syntezy oraz usuwaniu grup acetalowych blokujących grupy hydroksylowe w bloku poliglicydolu analizowano produkty wyznaczając masę molową (SEC-MALLS) oraz oznaczając grupy końcowe ( $^1\text{H}$  NMR). Potwierdzeniem struktury makrocząsteczki jest brak grup hydroksylowych pochodzących z bloku PEO po etapie polimeryzacji EEGE oraz brak drugorzędowych i pierwszorzędowych grup hydroksylowych bloku glicydolowego po etapie polimeryzacji tlenku etylenu.

Bezpośrednia analiza  $^1\text{H}$  NMR produktów nie pozwala na odróżnienie sygnałów pochodzących od tych grup, ale po ilościowym

przeprowadzeniu grup hydroksylowych w estry kwasu trójchloroacetylokarbaminowego możliwe jest rozróżnienie grup końcowych i ich analiza ilościowa [36] oraz wyznaczenie na tej podstawie średnich długości bloków utworzonych na każdym etapie syntezy. Korelacja wyników analiz grup końcowych oraz wyników analizy SEC-MALLS z wartościami uzyskanymi z obliczeń stechiometrycznych reagentów pokazała bardzo dobrą zbieżność (tab. 2.3.). Na żadnym z etapów syntezy nie stwierdzono obecności frakcji oligomerycznej.

**Tabela 2.3.** Charakterystyka kolejnych produktów syntezy kopolimeru tlenku etylenu i glicydolu o budowie typu „pom-pom” [H3]

Produkt	$M_n$	$DP_{EO}$	$DP_{GL}$	$M_n$	$\bar{D}_M$	$DP_{EO}$	$DP_{GL}$
Schemat 2.4	Obliczone ze stosunku reagentów			SEC-MALLS		SEC-MALLS i $^1H$ NMR	
A	4 850	90	5,8	5 000	1,10	94	5,9
B	33 180	39	5,2	33 000	1,04	37	5,5
C	195 340	37	4,3	203 000	1,03	36	4,5

$\bar{D}_M$  – dyspersja mas molowych;

$DP_{EO}$  i  $DP_{GL}$  – średni stopień polimeryzacji bloku odpowiednio: tlenku etylenu i glicydolu, w zewnętrznej powłoce; dla produktu A wartość  $DP_{EO}$  oznacza stopień polimeryzacji makroinicjatora PEO

Dla kolejnych produktów syntezy porównano także liczbę odpowiednich elementów w strukturze makrocząsteczki (ilość grup hydroksylowych i rozgałęzień) obliczoną ze stosunku stechiometrycznego substratów z otrzymaną z analiz (tab. 2.4).

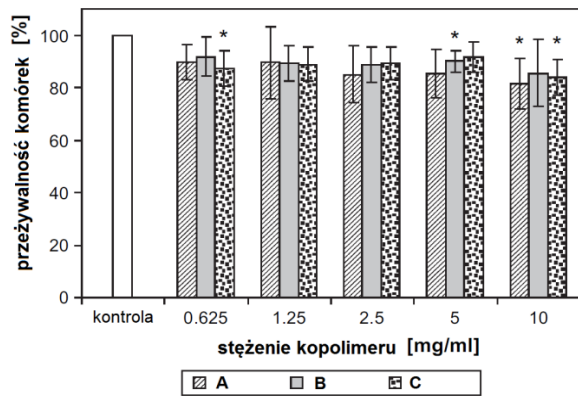
**Tabela 2.4.** Średnie liczby grup hydroksylowych i rozgałęzień w produktach syntezy kopolimeru tlenku etylenu i glicydolu o budowie typu „pom-pom” [H3]

Produkt	$M_n$	Średnia liczba grup OH	Średnia liczba rozgałęzień	Średnia liczba grup OH	Średnia liczba rozgałęzień
Schemat 2.4	SEC-MALLS	Obliczone ze stosunku reagentów		SEC-MALLS i $^1H$ NMR	
A	5 000	13,5	-	13,8	-
B	33 000	84	13,5	89	13,8
C	203 000	446	84	487	89

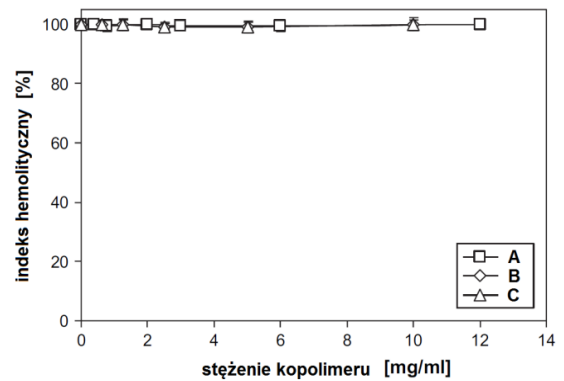
Obok zgodności danych uzyskanych z obliczeń oraz analiz, istotnym wykładnikiem stopnia kontroli polimeryzacji jest dyspersja mas molowych produktów. Dla kopolimerów A, B i C dyspersja jest bardzo mała i mimo wzrostu mas molowych pozostaje na podobnym poziomie (tab. 2.3). Łatwa dostępność centrów aktywnych ze względu na mniej rozgałęzioną strukturę makrocząsteczki i zlokalizowanie centrów wzrostu na końcach mobilnych łańcuchów ułatwia równomierny wzrost łańcuchów na

wszystkich centrach i pozwala uzyskać niską dyspersję mas molowych. Dla opisanych w poprzednim punkcie [H1], bardziej rozgałęzionych homopolimerów glicydolu, o zwartej budowie, gdzie dostęp do centrów aktywnych wewnątrz upakowanej makrocząsteczki jest utrudniony, dyspersja była większa i wzrosła do wartości 1,43 wraz ze wzrostem stopnia rozgałęzienia i masy molowej.

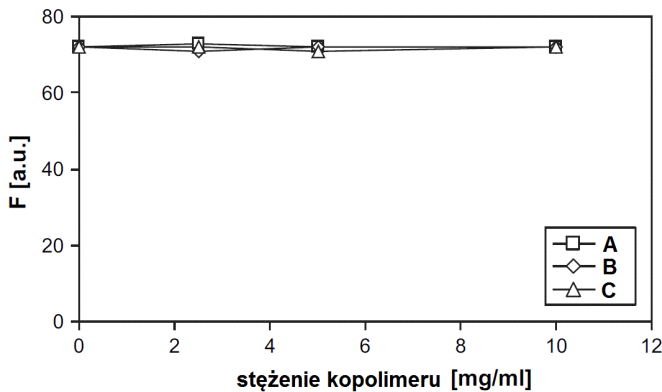
Kopolimery tlenu etylenu i glicydolu są hydrofilowe i bardzo dobrze rozpuszczają się w wodzie oraz niektórych rozpuszczalnikach organicznych. Łatwa kontrola struktury, obecność dużej ilości grup hydroksylowych w zewnętrznej powłoce makrocząsteczki oraz ich dobra rozpuszczalność zwiększa szansę na ich potencjalne wykorzystanie do celów biomedycznych, np. jako składnika systemów dostarczania leków. Podstawą wykorzystania takich nośników do celów biomedycznych jest brak toksyczności tych polimerów. We współpracy z Wydziałem Biofizyki Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego zostały przeprowadzone badania tych kopolimerów [H4] skupione głównie na cytotoxyczności, zdolności do hemolizy i oddziaływania z DNA.



**Rys. 2.1.** Zależność cytotoxyczność kopolimerów tlenu etylenu i glicydolu od stężenia [H4]. Charakterystyka kopolimerów A, B i C w tab. 2.3 i 2.4



**Rys. 2.2.** Zależność indeksu hemolitycznego od stężenia kopolimerów (100 % oznacza brak uwolnionej hemoglobiny z erytrocytów) [H4]. Charakterystyka kopolimerów A, B i C w tab. 2.3 i 2.4



**Rys. 2.3.** Zależność intensywności fluorescencji F kompleksu DNA z bromkiem etydyny od stężenia kopolimerów tlenu etylenu i glicydolu. Charakterystyka kopolimerów A, B i C w tab. 2.3 i 2.4

Testy potwierdziły brak niekorzystnego oddziaływania kopolimerów na komórki (linia komórkowa B14) nawet w stężeniu powyżej 10 g/L (rys. 2.1). W badaniach nie stwierdzono także rozpadu erytrocytów, które były w kontakcie z roztworami badanych polimerów (rys. 2.2). Przeprowadzono również badania wpływu kopolimerów na DNA. Do badań użyto bromku etydyny, który interkaluje DNA. Fluorescencja bromku etydyny interkalowanego między parą zasad jest bardzo silna i osłabia się, gdy inny związek oddziałując z DNA uwalnia bromek etydyny. Osłabienie emisji obserwuje się również, gdy kompleks DNA z bromkiem etydyny zmienia konformację lub agreguje. Dla roztworów kopolimerów o stężeniu do 10 g/L nie stwierdzono zmian fluorescencji kompleksu DNA z bromkiem etydyny (rys. 2.3) co oznacza, że kopolimery nie oddziałują z DNA.

Wyniki te są podstawą do dalszych badań związanych z wykorzystaniem otrzymanych kopolimerów do celów biomedycznych.

### ***Gwieździste i dendrytyczne kopolimery tlenku etylenu i glicydotu [H5]***

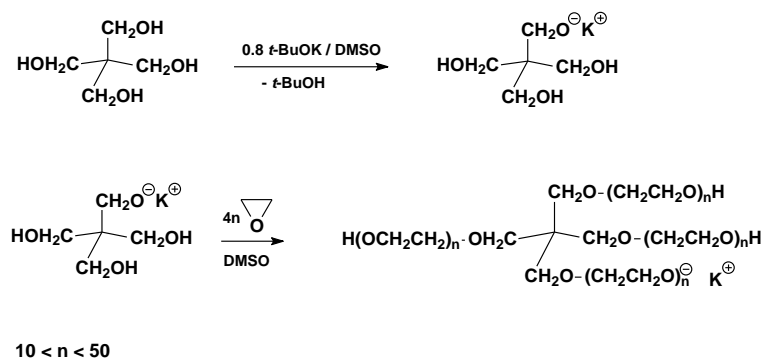
Dobrze kontrolowany proces syntezy kopolimerów tlenku etylenu, w którym inicjatorem jest makrocząsteczka z wieloma grupami hydroksylowymi był punktem wyjścia do prowadzenia badań syntezy kopolimerów tlenku etylenu o gwieździstej strukturze makrocząsteczki z równomiernie rozgałęziającymi się kaskadowo ramionami. Polimery o takiej budowie makrocząsteczki są szeroko opisywane w literaturze. Jako potencjalne zastosowania wymienia się głównie materiały do otrzymywania nanonośników leków [37], do nanoenkapsulacji leków [38, 39], nośników katalizatorów [40], nanoreaktorów itp.

Otrzymanie struktury gwieździstej wymaga zastosowania małych cząsteczkowego związku o więcej niż 2 grupach zdolnych do inicjowania. Aby synteza gwiazd polimerowych była procesem kontrolowanym, dobrze jest utrzymać homogeniczność układu na etapie inicjowania oraz wzrostu łańcucha. W wypadku alkoholanów trudno jest znaleźć odpowiednie warunki dla takiego systemu, ze względu na silną agregację i utratę homogeniczności na etapie sporządzania wielofunkcyjnego inicjatora. W wyniku selekcji do badań zastosowano układ inicjujący oparty na pentaerytrytolu – alkoholu zawierającym cztery pierwszorzędowe grupy hydroksylowe. Homogeniczny roztwór czterofunkcyjnego inicjatora uzyskano przez jonizację pentaerytrytolu w DMSO *tert*-butanolanem potasu – podobnie jak w wypadku bloków oligoglicydolowych, jednak graniczny stopień jonizacji w tym wypadku to około 25 % (jedna grupa w cząsteczce pentaerytrytolu). Przekroczenie tej wartości powoduje wytrącenie się alkoholu i nawet znaczne rozcieńczenie układu nie prowadzi do homogenicznego roztworu. Podobnie jak w wypadku jonizacji grup hydroksylowych w blokach oligoglicydolowych, szybka wymiana alkohol-alkoholan w roztworze DMSO umożliwia inicjowanie przez wszystkie grupy hydroksylowe w układzie.

Syntezy kopolimerów poprowadzono w taki sposób, aby otrzymać dwie populacje gwiazd różniące się strukturą oraz długością ramion. W każdym wypadku pierwszym etapem syntezy było otrzymanie



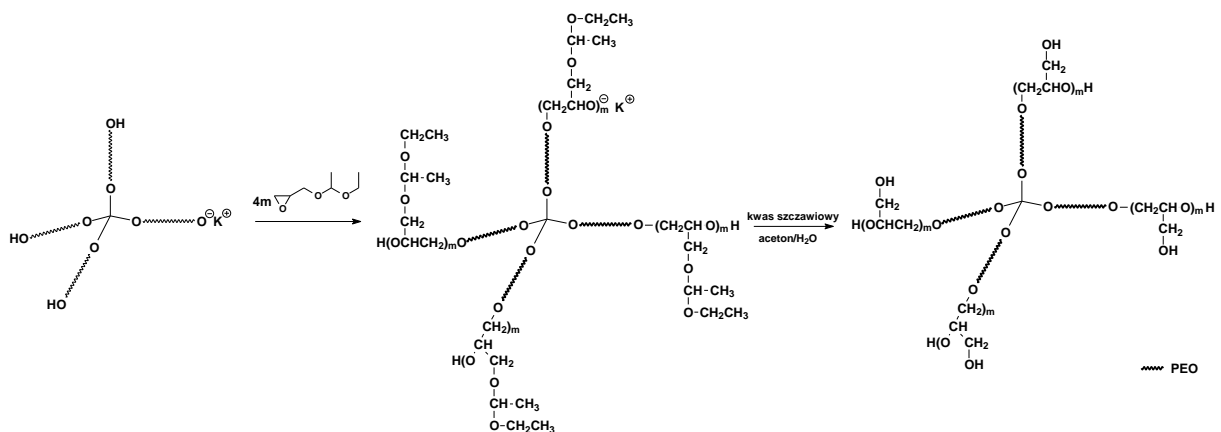
czteroramiennych gwiazd tlenku etylenu (schemat 2.5), przy czym wybrano trzy długości ramion – DP = 10, 30 oraz 50 merów.



**Schemat 2.5.** Synteza gwieżdzistych polimerów tlenku etylenu

Po etapie inicjowania czterofunkcyjnym pentaerytrytolem polimeryzacji tlenku etylenu i osiągnięciu całkowitej konwersji monomeru, do układu dodano EEGE w takiej ilości, aby na końcach ramion utworzyły się oligomeryczne bloki o DP około 5 merów (schemat 2.6).

Po hydrolizie kwasem szczawiowym odtworzono grupy hydroksylowe w blokach glicydolowych na końcach ramion.



**Schemat 2.6.** Synteza gwieżdzistych kopolimerów tlenku etylenu i glicydolu

Synteza była prowadzona podobnie jak dla opisanych wcześniej kopolimerów typu „pom-pom”. Kontrolę tego etapu syntezy potwierdzono wyznaczając masy molowe kopolimerów techniką SEC-MALLS oraz MALDI-TOF i porównując je z masami molowymi obliczonymi ze stosunku reagentów (tab. 2.5).

**Tabela 2.5.** Charakterystyka kopolimerów tlenku etylenu i glicydolu o budowie gwieździstej

	DP <sub>EO</sub> :DP <sub>GL</sub>	M <sub>n</sub>	DP <sub>EO</sub> :DP <sub>GL</sub>	M <sub>n</sub>	M <sub>n</sub> /Đ <sub>M</sub>	
	Obliczono ze stosunku reagentów		Obliczono z <sup>1</sup> H NMR		SEC-MALLS	MALDI-TOF
1.	10,0:6,2	3 720	10,0:6,1	3 600	5 100/1,11	3 670/1,06
2.	30,6:5,7	7 200	28,8:5,5	6 800	8 200/1,01	7 370/1,03
3.	50,6:4,3	10 320	51,9:4,4	10 570	9 200/1,01	

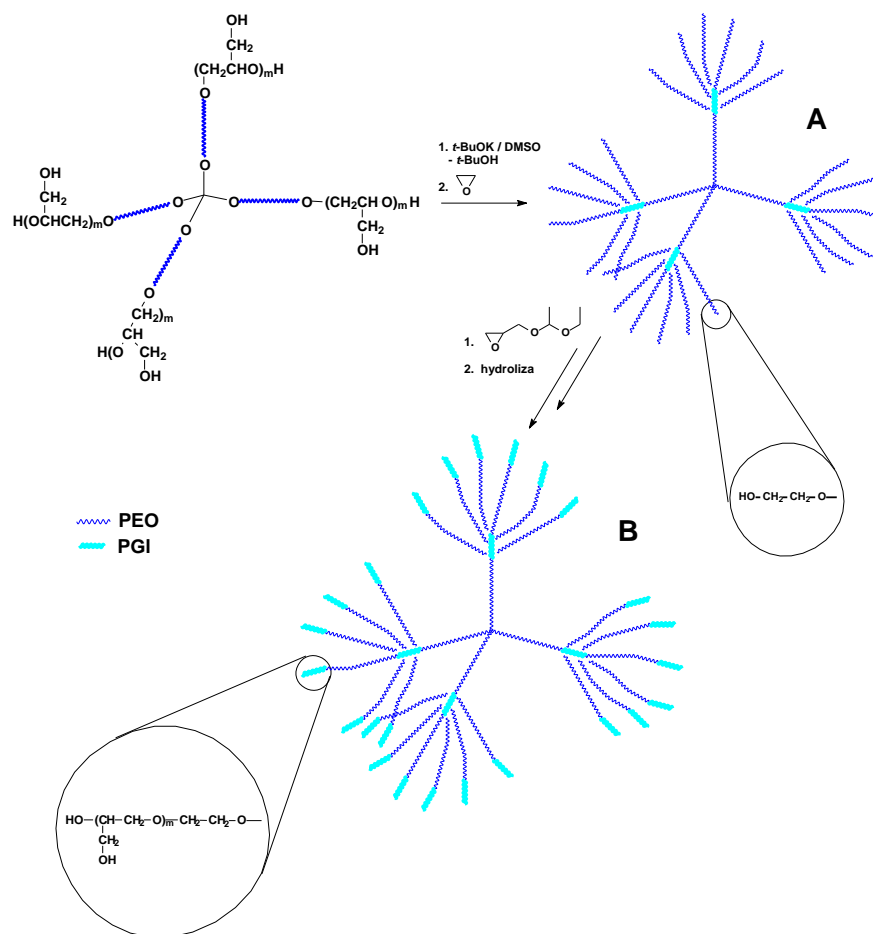
Mała dyspersja mas molowych potwierdza również jednorodność makrocząsteczek kopolimeru pod względem strukturalnym i świadczy o dobrej kontroli syntezy.

Analiza grup końcowych estrów trójchloroacetylokarbaminowych otrzymanych kopolimerów wykonana metodą spektrometrii <sup>1</sup>H NMR potwierdza wyniki dotyczące średnich mas molowych kopolimerów otrzymane innymi metodami analitycznymi (SEC-MALLS, MALDI-TOF). Metoda ta pozwala obliczyć liczbę oraz określić rodzaj grup hydroksylowych w grupach końcowych kopolimerów (I – rzędowej grupy na końcu bloku poli(tlenku etylenu), II – rzędowej grupy na końcu bloku poliglicydolu i I – rzędowej w merze glicydolu). Korzystając z tych wartości obliczono średnie długości bloków oraz średnią masę molową kopolimerów. Zgodność wyników otrzymanych tą techniką z danymi obliczonymi ze stosunków reagentów świadczą o dobrej kontroli syntezy gwiazd kopolimerowych.

Otrzymane kopolimery gwieździste po jonizacji części grup hydroksylowych (poniżej 10 %) użyto jako wielofunkcyjne makroinicjatory do kolejnego etapu syntezy. W tym wypadku zauważono jeszcze silniejszą niż w poprzednich eksperymentach tendencję do tworzenia agregatów nierozpuszczalnych w DMSO w postaci filmów tworzących się na powierzchni roztworu podczas odparowywania rozpuszczalnika. Unikanie wzrostu lokalnego stężenia makroinicjatora jest w tym etapie czynnikiem krytycznym.

Syntezę rozgałęzionych ramion wykonano tak jak w pierwszym etapie syntezy gwiazd. Otrzymano dwie populacje dendrytycznych kopolimerów: A – z rozgałęzionymi ramionami w postaci bloków PEO oraz B – z rozgałęzionymi ramionami kopolimerowymi –PEO-blok-poliglicydol (schemat 2.7).

Stosunek ilości reagentów dobrano tak, aby dla rozgałęzionych ramion kopolimerów obu populacji stopień polimeryzacji bloków PEO wynosił odpowiednio 10, 30, 50, podobnie jak w pierwszym etapie syntezy.



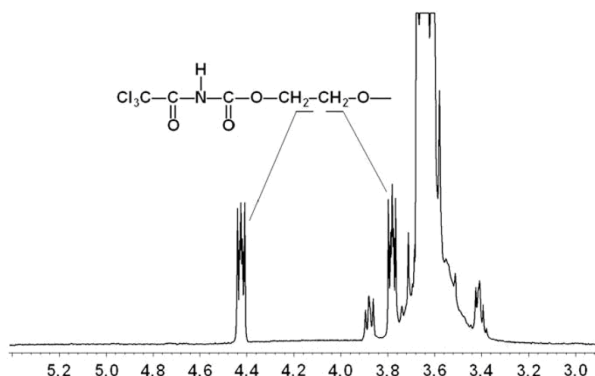
**Schemat 2.7.** Schemat syntezy dendrytycznych kopolimerów gwiazdowych tlenku etylenu i glicydotu

Charakterystykę produktów po hydrolizie przedstawiono w tabeli 2.6.

**Tabela 2.6.** Charakterystyka dendrytycznych kopolimerów gwiazdowych tlenku etylenu i glicydotu

Populacja/ $DP_{EO}$	$M_n$	$M_n/\overline{D}_M$	Ilość grup hydroksylowych w makrocząsteczce	
			Obliczona ze stosunku reagentów	Wyznaczona z widm $^1\text{H NMR}$
A/10	16 500	18 000/1,02	29	28
B/10	29 500	33 700/1,01	209	210
A/30	42 700	46 000/1,05	27	26
B/30	54 500	55 800/1,01	192	180
A/50	58 600	58 000/1,01	21	22
B/50	70 400	67 100/1,01	182	180

W kopolimerach populacji A występują tylko I-rzędowe grupy hydroksylowe na końcu bloków PEO (rys. 2.4), co oznacza, że wszystkie grupy bloku oligoglicydolowego makroinicjatora, pierwszorzędowe oraz końcowe grupy drugorzędowe, są aktywne w inicjowaniu.



**Rys. 2.4.** Widmo  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) kopolimeru dendrytycznego A/30 (tab. 2.6) po reakcji z trójchloroacetyloizocyjanianem

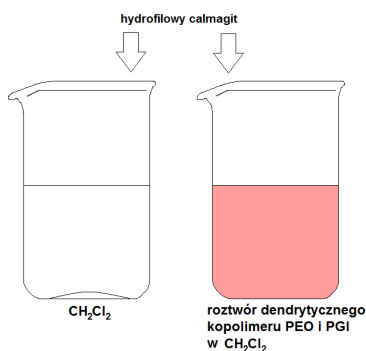
Zbieżność danych uzyskanych z analiz oraz obliczeń i bardzo niska dyspersja mas molowych dendrytycznych gwiazd polimerowych (tab. 2.6) pozwalają ocenić syntezę kopolimerów dendrytycznych jako proces dobrze kontrolowany.

W ramach prowadzonych badań nad polimerowymi gwiazdami dendrytycznymi zbadano ich własności termiczne i zdolności do solubilizacji związków hydrofilowych w rozpuszczalnikach hydrofobowych.

Zaobserwowano, że gwiazdy i gwiazdy dendrytyczne o stopniu polimeryzacji bloków PEO  $\text{DP} = 10$  nie krystalizują nawet w obniżonej temperaturze. Kopolimery gwieździste o dłuższych ramionach PEO krystalizują, i mają temperaturę topnienia niższą od ich liniowych analogów o podobnej masie molowej. Różnica ta rośnie wraz ze wzrostem masy molowej, dla gwiazd o masie około 10 000 g/mol wynosi około 17 °C. Jest to zapewne spowodowane rozgałęzioną strukturą makrocząsteczki i wprowadzeniem do niej elementów oligoglicydolowych, które nie krystalizują.

Rozgałęziona struktura, silnie hydrofilowy charakter bloków glicydolowych, a z drugiej strony rozpuszczalność gwiazd kopolimerowych w rozpuszczalnikach mało polarnych, takich jak węglowodory aromatyczne i chlorowane, stwarza możliwość solubilizacji związków hydrofilowych przez badane kopolimery. Pozwala to uzyskać roztwory związków hydrofilowych w rozpuszczalnikach mało polarnych.

W wyniku badań stwierdzono, że nierozpuszczalny w samym chlorku metylenu hydrofilowy związek modelowy – calmagit rozpuszcza się w roztworach badanych kopolimerów w tym rozpuszczalniku dając barwny, lekko czerwony roztwór (rys. 2.5). Ilość solubilizowanego calmagitu zależy silnie od długości ramion kopolimeru – im dłuższe ramiona tym więcej calmagitu solubilizuje kopolimer. Kopolimery gwieździste rozpuszczają lepiej hydrofilowy związek modelowy niż gwiazdy z ramionami rozgałęzionymi. Porównano również rozpuszczalność związku modelowego w roztworach badanych kopolimerów gwieździstych oraz w roztworach liniowego homopolimeru PEO o podobnej masie molowej.



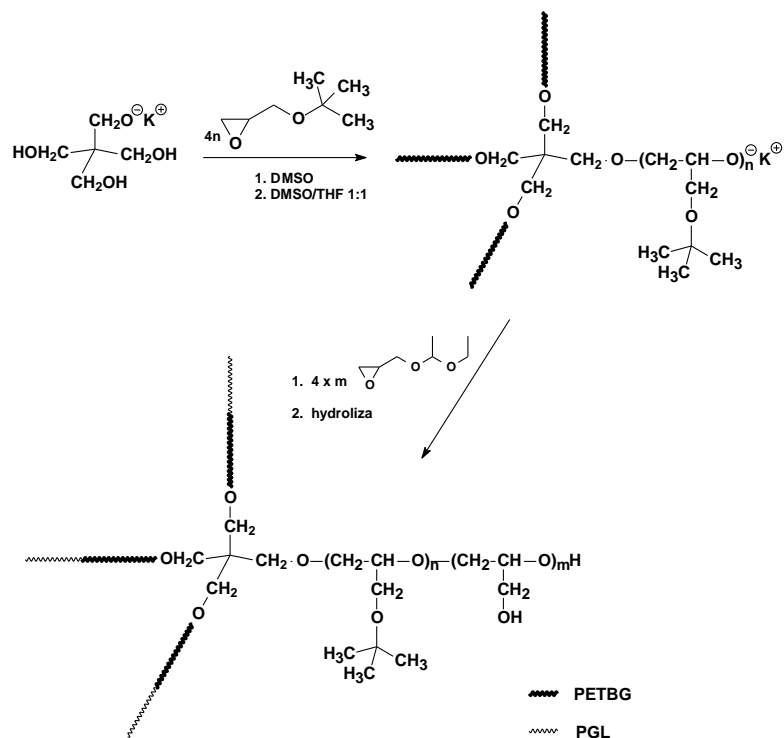
Rozgałęziona struktura makrocząsteczki kopolimeru pozwala rozpuścić prawie dwa razy więcej calmagitu niż liniowy polimer PEO o podobnej masie molowej.

**Rys. 2.5.** Solubilizacja calmagitu w roztworach dendrytycznych kopolimerów gwieździstych tlenku etylenu i glicydotu

### ➤ **Gwieździste i dendrytyczne kopolimery eteru tert-butyloowo-glicydylowego (ETBG) i glicydotu [H6] [H7]**

Opisane w poprzednim punkcie rozgałęzione kopolimery tlenku etylenu i glicydotu są silnie hydrofilowe i bardzo dobrze rozpuszczalne w wodzie. Brak elementów hydrofobowych uniemożliwia jednak oddziaływania ze związkami hydrofobowymi i ogranicza zakres zastosowania takich materiałów. Aby otrzymać polimery rozgałęzione o podobnej architekturze, ale zbudowane z elementów hydrofobowych i hydrofilowych, kolejne badania ukierunkowano na otrzymanie struktur gwieździstych z blokami hydrofobowymi, tworzącymi rdzeń otoczony hydrofilowymi blokami poliglicydolowymi, które zapewniają rozpuszczalność w wodzie. Polimery tego typu, o budowie „core-shell” szeroko opisywane są w literaturze [41-45] i mogą być wykorzystywane jako nanokontenery dla substancji hydrofobowych, pozwalając na transport substancji nierozpuszczalnych w środowisku wodnym. Problemem, jaki należało rozwiązać było odpowiednie dobranie hydrofobowego komonomera oksiranowego oraz stosunku reagentów, aby otrzymać odpowiednio rozluźniony hydrofobowy rdzeń i dostatecznie izolującą rdzeń hydrofilową otoczkę.

Sposób przeprowadzenia syntezy był bardzo podobny do wcześniej opisanych syntez. Wybrany hydrofobowy komonomer – eter *tert*-butyloowo-glicydylowy (ETBG) jest rozpuszczalny w DMSO, jednak w miarę wzrostu łańcucha polimer wytrąca się z tego rozpuszczalnika. Problem ten rozwiązano, prowadząc inicjowanie w roztworze DMSO natomiast dalsze etapy polimeryzacji prowadzono w roztworze DMSO/THF. Taka procedura zachowuje homogeniczność układu, pozwala na dostatecznie szybką wymianę alkohol – alkoholan oraz ułatwia uzyskanie praktycznie całkowitej konwersji monomeru.



**Schemat 2.8.** Synteza kopolimerów gwieżdzystych o ramionach poli(eter *tert*-butylowo-glicydylowy) – blok – poliglicydol

Po etapie polimeryzacji ETBG do „żyjącego” układu dodano EGE i polimeryzację prowadzono dalej, do uzyskania pełnej konwersji drugiego monomeru (schemat 2.8). Pełną charakterystykę produktów wykonano dla gwiazd bezpośrednio po zakończonej polimeryzacji bloku EGE oraz po odblokowaniu grup hydroksylowych w bloku EGE. Otrzymane wyniki dla kopolimerowych gwiazd z ramionami poli(ETBG)-blok-poliGL przedstawiono w tabeli 2.7.

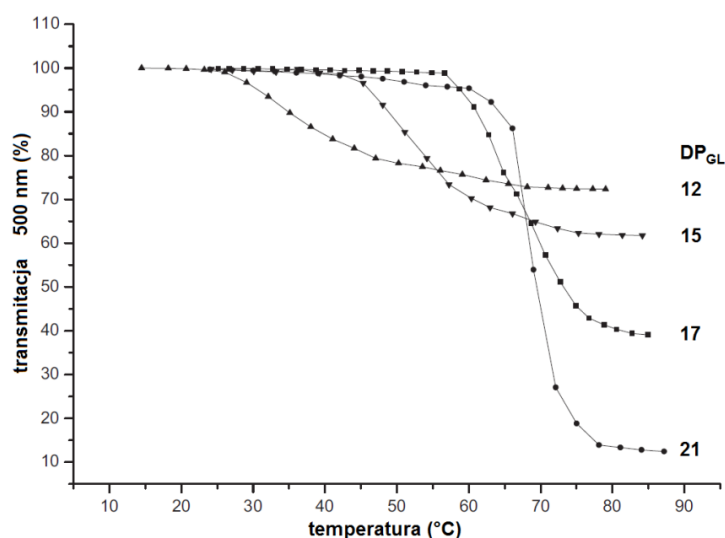
**Tabela 2.7.** Charakterystyka kopolimerów gwieżdzystych o ramionach poli(eter *tert*-butylowo-glicydylowy) – blok – poliglicydol

	DP <sub>ETBG</sub> :DP <sub>GL</sub>		M <sub>n</sub>			D <sub>M</sub>	Udział % wagowy PGL
	Obliczono ze stosunku reagentów	<sup>1</sup> H NMR	Obliczono ze stosunku reagentów	<sup>1</sup> H NMR	SEC-MALLS		
1.	10:7	9,2:6,2	7 400	6 800	8 200	1,02	27
2.	10:12	9,0:11,5	8 900	8 200	9 100	1,01	41
3.	11:15	10,6:15,0	10 300	10 100	11 400	1,03	44
4.	10:17	9,5:16,9	10 400	10 100	11 600	1,03	50
5.	10:21	9,0:20,3	11 550	10 800	12 200	1,03	56

W badaniach dobierano w taki sposób stosunki ilości inicjatora i obydwu monomerów, aby otrzymać kopolimery z ramionami o podobnej długości hydrofobowego bloku ETBG i coraz dłuższym hydrofilowym bloku glicydolowym. Wyniki analiz wskazują, że sposób przeprowadzenia syntezy pozwala na otrzymanie bardzo dobrze zdefiniowanych kopolimerów o małej dyspersji mas molowych i składzie prawie identycznym ze stosunkiem molowym użytych do syntezy komonomerów.

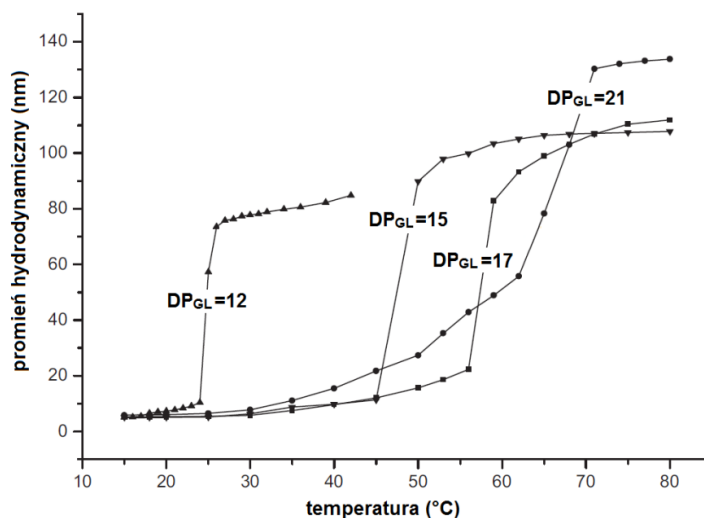
Oprócz badań syntetycznych, wykonana została analiza właściwości zsyntezowanych kopolimerów. W niezależnych badaniach przeprowadzonych przez dr Agnieszkę Kowalczyk określono zachowanie się kopolimerów w roztworach wodnych. Poniżej przedstawiono zależności jakie zaobserwowano pomiędzy sposobem prowadzenia syntezy, uzyskaną budową makrocząsteczki i właściwościami tych kopolimerów.

Stosunek molowy użytych komonomerów bardzo silnie wpływa na właściwości otrzymanych kopolimerów gwieżdzistych w roztworach wodnych. Kopolimer o najmniejszej długości bloku glicydolowego jest nierozpuszczalny w wodzie. Kopolimery o dłuższych hydrofilowych blokach glicydolowych są termowrażliwe. Rozpuszczają się w wodzie w temperaturze pokojowej, a podczas ogrzewania roztwory tych kopolimerów mętnieją. Temperatura przejścia dla tych kopolimerów zależy od długości bloków hydrofilowych i zawiera się w przedziale 26-69°C. Zależności transmitancji od temperatury dla wodnych roztworów rozpuszczalnych kopolimerów przedstawiono na rysunku 2.6.



**Rys. 2.6.** Zależność transmitancji wodnych roztworów kopolimerów gwieżdzistych o ramionach [poli(eter *tert*-butylowo-glicydolowy) – blok – poliglicydol] o DP bloku glicydolowego odpowiednio 12, 15, 17 i 21

Poniżej temperatury przejścia makrocząsteczki rozpuszczalnych w wodzie kopolimerów tworzą micelle. Ogrzanie roztworu polimeru powyżej temperatury przejścia powoduje agregację micel i zmętnienie roztworu. Rozmiary micel oraz agregatów rosną wraz ze wzrostem długości hydrofilowego bloku glicydolowego. Zależność promienia hydrodynamicznego od temperatury przedstawiono na rysunku 2.7.

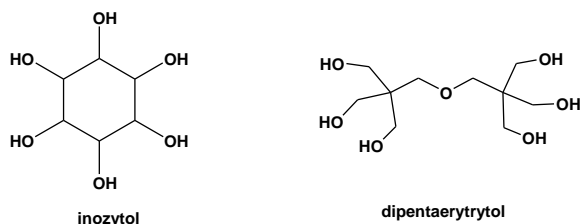


**Rys. 2.7.** Zależność promienia hydrodynamicznego od temperatury w wodzie, dla kopolimerów gwieździstych o ramionach [poli(eter *tert*-butylowo-glicydylowy) – blok – poliglicydol] o DP bloku glicydolowego odpowiednio 12, 15, 17 i 21 (stężenie 2g/L)

Badania właściwości otrzymanych kopolimerów pokazują, że poprzez kontrolę syntezy tych kopolimerów można w sposób przewidywalny i precyzyjny sterować wieloma parametrami odpowiedzialnymi za ich właściwości.

Hydrofilowe bloki poliglicydolowe opisywanych w tym punkcie kopolimerów posiadają znaczną ilość grup hydroksylowych. Wykorzystano je w następnym etapie badań nad kontrolowaną syntezą kopolimerów amfifilowych typu „core-shell”.

Celem było uzyskanie bardziej rozbudowanych i rozgałęzionych gwieździstych makrocząsteczek o większych rozmiarach z wykorzystaniem do syntezy otrzymanych wcześniej gwiazd. Do badań użyto wybrane 4-ramienne kopolimery gwieździste (o DP<sub>GL</sub> = 7 i 12 – patrz tab. 2.7. poz. 1 i 2). Aby zbadać wpływ budowy makrocząsteczki kopolimerów na zdolność enkapsulacji związków hydrofobowych zsyntezowano dodatkowo 6-ramienne gwiazdy kopolimerowe w podobny sposób jak 4-ramienne, wykorzystując jako inicjatory inozytol i dipentaerytrytol.



Oczekiwano, że wykorzystanie jako makroinicjatorów gwiazd kopolimerowych o różnej liczbie ramion i grup hydroksylowych pozwoli w dalszej syntezie otrzymać kopolimery gwieździste o dendrytycznych ramionach i zróżnicowanej gęstości hydrofobowego jądra oraz liczbie hydrofilowych ramion, stanowiących otoczkę makrocząsteczki.



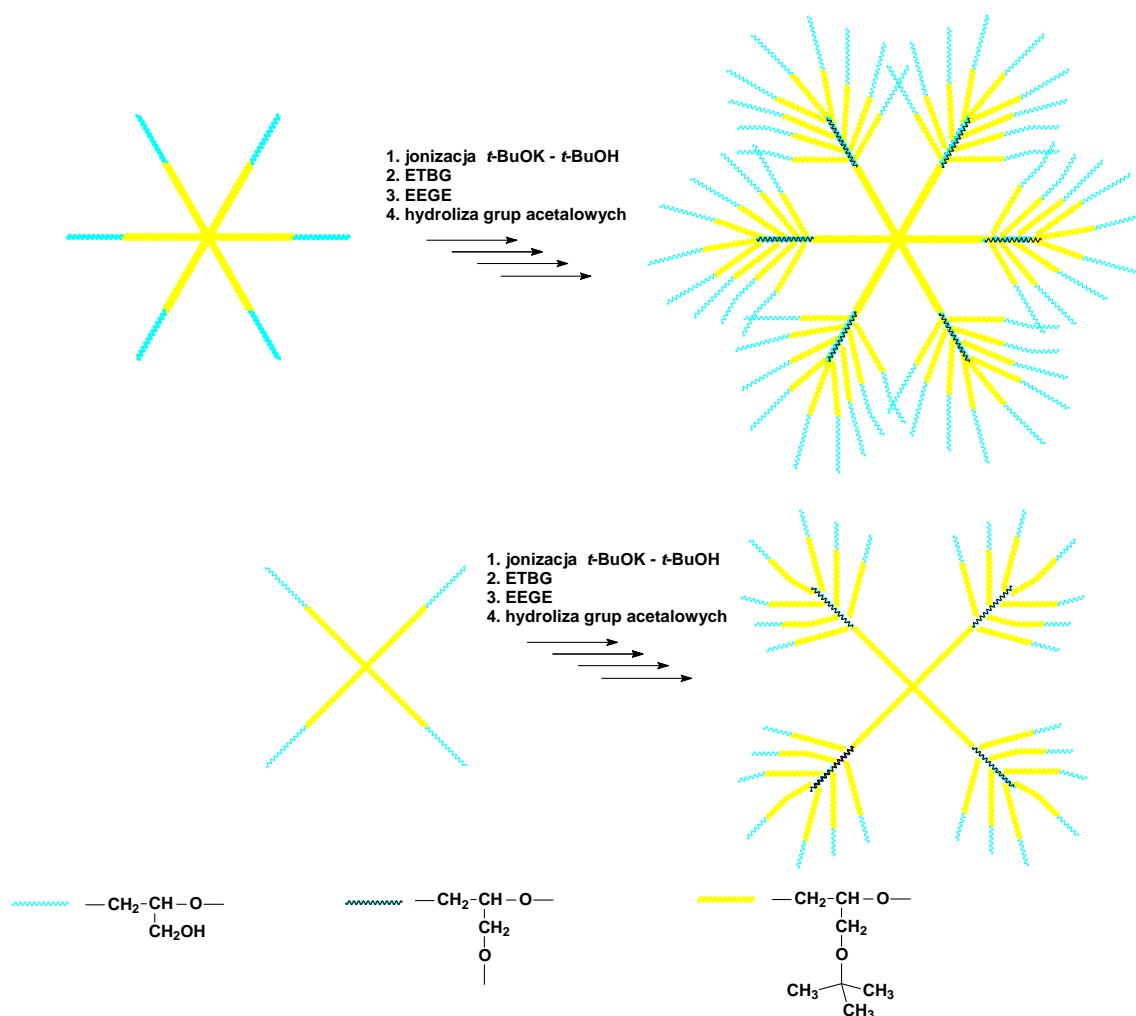
Do następnego etapu syntezy jako inicjatory wykorzystano cztery kopolimery gwieżdziste: dwa 4-ramienne oraz dwa 6-ramienne. Charakterystykę tych kopolimerów przedstawiono w tabeli 2.8.

**Tabela 2.8.** Charakterystyka cztero- i sześcioramiennych, gwieżdzistych kopolimerów poli(eter *tert*-butylowo-glicydylowy) – blok – poliglicydol, wykorzystanych do syntezy kopolimerów dendrytycznych

	Ilość ramion	DP <sub>ETBG</sub> :DP <sub>GL</sub>		M <sub>n</sub>			D <sub>M</sub>	Ilość grup OH
		Obliczone ze stosunku reagentów	<sup>1</sup> H NMR	Obliczone ze stosunku reagentów	<sup>1</sup> H NMR	SEC-MALLS		
1.	4 pentaerytrytol	12:7	12:8	8 400	8 700	8 500	1,02	36
2.	4 pentaerytrytol	10:12	9:11,5	8 900	8 200	9 100	1,01	50
3.	6 inozytol	10:11	11:10,5	13 250	13 200	13 800	1,09	69
4.	6 dipentaerytrytol	12:12	14:14	15 170	17 200	18 000	1,01	90

DP<sub>ETBG</sub> i DP<sub>GL</sub> oznaczają odpowiednio stopień polimeryzacji eteru *tert*-butylowo-glicydylowego i glicydolu w ramionach gwiazd

Syntezę przeprowadzono tak samo, jak dla gwieżdzistych kopolimerów tlenku etylenu i glicydolu, jednak konieczne było zastosowanie bardzo niskiego stopnia jonizacji grup hydroksylowych (poniżej 8 %) oraz prowadzenie polimeryzacji w temperaturze powyżej 60° C. Przebieg syntezy przedstawiono na schemacie 2.9.



**Schemat 2.9.** Synteza gwiazd kopolymerowych o dendrytycznych ramionach poli(eter *tert*-butylowo-glicydylowy)-blok-poliglicydol

Tak jak dla poprzednich syntez amfifilowych kopolymerów gwieździstych konieczne było dodanie THF do mieszaniny reakcyjnej w celu utrzymania jednorodnego roztworu i osiągnięcia dobrej kontroli. Ilości komonomerów dobierano tak, aby uzyskać różne długości bloków hydrofobowych i hydrofilowych w dendrytycznych ramionach gwiazd. Celem takiego doboru stosunku monomerów było otrzymanie kopolymerów dendrytycznych o różnej grubości i gęstości hydrofilowej warstwy zewnętrznej. We wszystkich wypadkach uzyskano bardzo wysokie stopnie konwersji monomeru powyżej 97 %.

Po hydrolizie grup acetalowych uzyskano cztery różne gwieździste kopolimyery o dendrytycznych ramionach i różnej zawartości merów hydrofobowych. Charakterystykę przedstawiono w tabeli 2.9.

**Tabela 2.9.** Charakterystyka gwieżdzistych kopolimerów dendrytycznych eteru *tert*-butylowo-glicydylowego i glicydolu

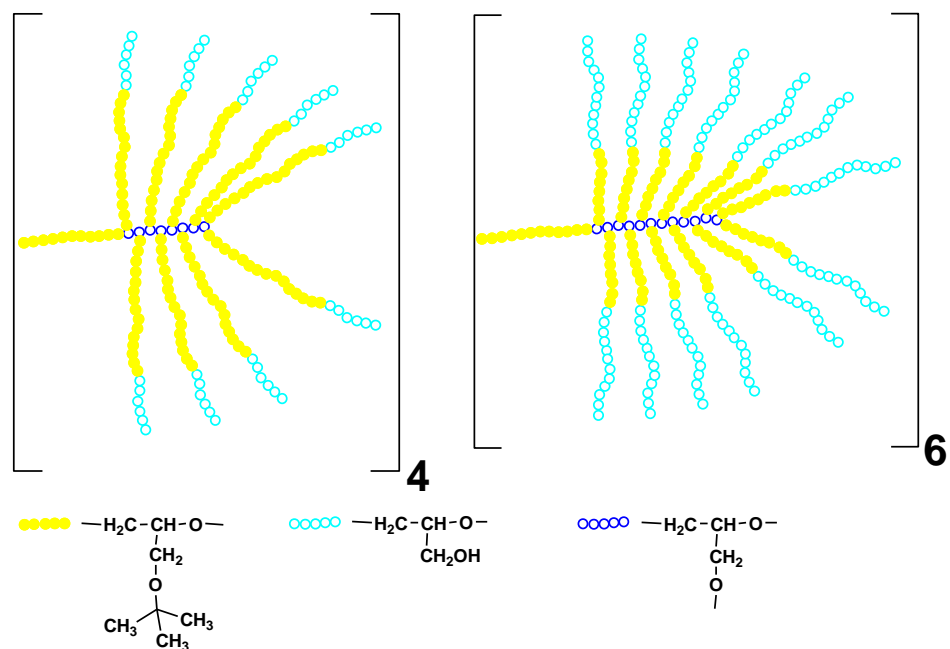
Inicjator *	Skład ramion zewnętrznej powłoki DP <sub>ETBG</sub> :DP <sub>GL</sub>		M <sub>n</sub>			D <sub>M</sub>	Liczba merów [GL] w powłoce (liczba grup OH w powłoce)
	Obliczone ze stosunku reagentów	<sup>1</sup> H NMR	Obliczone ze stosunku reagentów	<sup>1</sup> H NMR	SEC-MALLS		
1.	15:7	14:11	96 200	102 000	88 000	1,02	396 (432)
2.	9:11,5	9:13,5	110 000	117 000	116 000	1,03	675 (725)
3.	12:10	11,5:12	172 000	178 000	198 000	1,09	828 (897)
4.	8,5:12	8:12	197 000	191 000	226 000	1,06	1080 (1170)

\* – inicjator użyty do syntezy; numer odpowiada pozycji z tabeli 2.8.

DP<sub>ETBG</sub> i DP<sub>GL</sub> – stopień polimeryzacji odpowiednio bloku eteru *tert*-butylowo-glicydylowego i glicydolu

Różnice dla wartości wyznaczonych ze stosunku reagentów i z widm <sup>1</sup>H NMR mogą wynikać z niedokładności metody korzystającej z sygnału grup końcowych o małej intensywności. Największa różnica pomiędzy masą molową wyznaczoną z grup końcowych a masą wyznaczoną z SEC-MALLS i obliczoną ze stosunku reagentów występuje dla kopolimeru z pozycji 1 w tabeli 2.9, gdzie intensywność sygnału grup końcowych jest mała, wynikająca z niskiego udziału glicydolu oraz małej liczby rozgałęzień.

Dla wszystkich otrzymanych kopolimerów dyspersja mas molowych jest bardzo niska, (poniżej 1,1) co świadczy, że tak jak w wypadku poprzednich syntez możliwa jest bardzo dobra kontrola mas molowych i składu kopolimeru. Odpowiedni dobór tych parametrów pozwala na kontrolę struktury, wielkości i stopnia upakowania makrocząsteczki, co wpływa bezpośrednio na właściwości tak syntetyzowanych polimerów. Dla zobrazowania różnic pomiędzy budową cztero- i sześcioramiennych dendrytycznych gwiazd o różnej liczbie i długości hydrofilowych bloków na końcu rozgałęzionych ramion przedstawiono na rysunku 2.9 pojedyncze ramiona kopolimerów z tabeli 2.9. z pozycji 1 i 4.



**Rys. 2.9.** Porównanie struktury dendrytycznych ramion kopolimerów blokowych eteru *tert*-butyloowo-glicydylowego i glicydolu z poz. 1 i 4 tablicy 2.9

Większa liczba dłuższych bloków hydrofilowych w rozgałęzieniach ramion gwiazdy, (zaznaczono na rysunku błękitnymi kółkami) oraz sześć zamiast czterech ramion tworzy bardziej szczelną otoczkę hydrofobowego rdzenia.

Zbadano zachowanie się otrzymanych kopolimerów w roztworach. Wszystkie kopolimery rozpuszczają się dobrze w dimetyloformamidzie (DMF), dobrym rozpuszczalniku dla obu bloków, przy czym ich promień hydrodynamiczny zwiększa się od 6,4 do 8,0 nm, zgodnie z rosnącą masą molową kopolimerów.

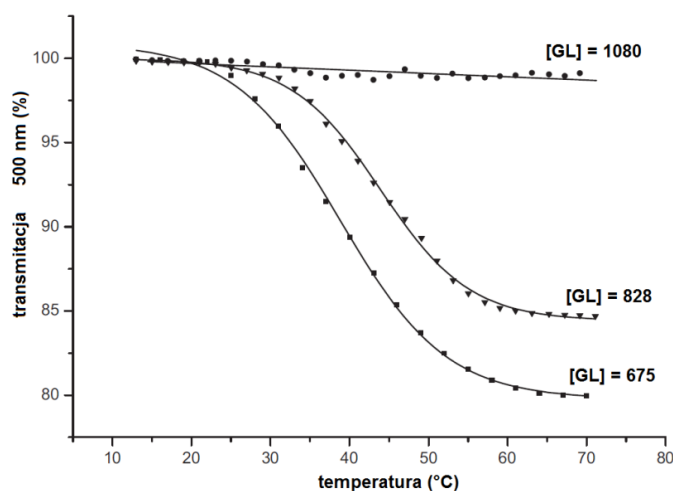
Różnice w budowie omawianych amfifilowych kopolimerów są widoczne w oddziaływaniu tych kopolimerów z wodą. Właściwości kopolimerów w wodzie zależą od liczby rozgałęzień oraz długości bloków hydrofilowych glicydolu. Iloczyn liczby rozgałęzień i stopnia polimeryzacji bloków glicydolowych jest liczbą merów glicydolu w otoczce makrocząsteczki. Kopolimer zawierający najmniej merów glicydolowych tworzy mętne roztwory natomiast pozostałe, w których liczba merów glicydolu jest większa, tworzą roztwory przezroczyste.

W temperaturze pokojowej kopolimery o najmniejszych masach i najmniejszej liczbie merów glicydolu w powłoce (poz. 1-3 tab. 2.10) tworzą w wodzie agregaty, przy czym wielkość agregatów maleje wraz z rosnącą liczbą merów glicydolu w powłoce (tab. 2.10). Kopolimer o najgęstszej hydrofilowej powłoce (największa liczba rozgałęzień i najdłuższe bloki poliglicydolu) (poz.4 tab. 2.10) nie tworzy w wodzie agregatów.

**Tabela 2.10.** Charakterystyka roztworów gwieździstych kopolimerów dendrytycznych eteru *tert*-butyloowo-glicydolowego i glicydolu w DMF i wodzie

Numer kopolimeru w tabeli 2.9	Ilość merów glicydolu w powłoce kopolimeru [GL]	$R_h$ (nm)		
		DMF	H <sub>2</sub> O	
		25 °C	25 °C	55 °C
1.	396	6,4	260	-
2.	675	7,2	20,0	89,0
3.	828	7,6	9,0	17,1
4.	1080	8,0	7,0	6,5

Często obserwowane dla kopolimerów amfifilowych zjawisko termoczulości występuje także w wypadku otrzymanych kopolimerów. Kopolimery 2 i 3 z tabeli 2.9 ([GL] = 675 i 828) są termoczule, przy czym temperatura przejścia ich wodnych roztworów zależy od liczby merów glicydolowych. Kopolimer o największej liczbie merów glicydolowych w zewnętrznej sferze makrocząsteczki, nietworzący w wodzie agregatów (poz. 4. tab. 2.9) nie jest termoczulym.



**Rys. 2.9.** Zależność transmittancji od temperatury dla wodnych roztworów kopolimerów dendrytycznych eteru *tert*-butyloowo-glicydolowego i glicydolu. Wartość [GL] odpowiada liczbie merów glicydolowych w zewnętrznej powłoce kopolimeru

Zależność transmittancji od temperatury dla wodnych roztworów kopolimerów tworzących roztwory przeźroczyste w temperaturze pokojowej, przedstawiono na rysunku 2.9.

Dla cząsteczek amfifilowych decydującym parametrem wpływającym na oddziaływanie z wodą jest masowy udział części hydrofobowych w cząsteczce. W wypadku badanych kopolimerów amfifilowych o oddziaływaniu z wodą decyduje liczba glicydolowych merów w hydrofilowej otoczce, która zależy od stopnia rozgałęzienia makrocząsteczki oraz stopnia polimeryzacji bloku glicydolowego. Liczba merów

glicydotu wpływa na stopień izolacji hydrofobowego rdzenia. Jeżeli jest ona wystarczająco gruba i gęsta, to makrocząsteczki są solwatowane i nie agregują. Widoczne jest to dobrze w wypadku kopolimeru o liczbie merów glicydotu w zewnętrznej otoczce wynoszącej 1080.

Wpływ budowy makrocząsteczek badanych kopolimerów jest także widoczny w zdolności do solubilizacji nierozpuszczalnego w wodzie, hydrofobowego związku modelowego – pyrenu. O ile dla pierwszych trzech kopolimerów, które tworzyły agregaty w wodzie ilość cząsteczek pyrenu na makrocząsteczkę kopolimeru wzrastała od wartości 2,1 do 12,1, to dla ostatniego kopolimeru, który nie agreguje w wodzie ilość rozpuszczonego pyrenu wzrosła do wartości powyżej 53 cząsteczek na makrocząsteczkę kopolimeru. O zdolności kopolimeru do solubilizacji hydrofobowego związku decyduje także odpowiednio rozbudowana hydrofilowa otoczka, pozwalająca izolować hydrofobowy rdzeń z zawartymi w nim cząsteczkami hydrofobowego pyrenu.

Badania opisane w tej części komentarza pokazują, że poprzez precyzyjną syntezę polimeru można otrzymać materiał polimerowy o odpowiednich właściwościach.

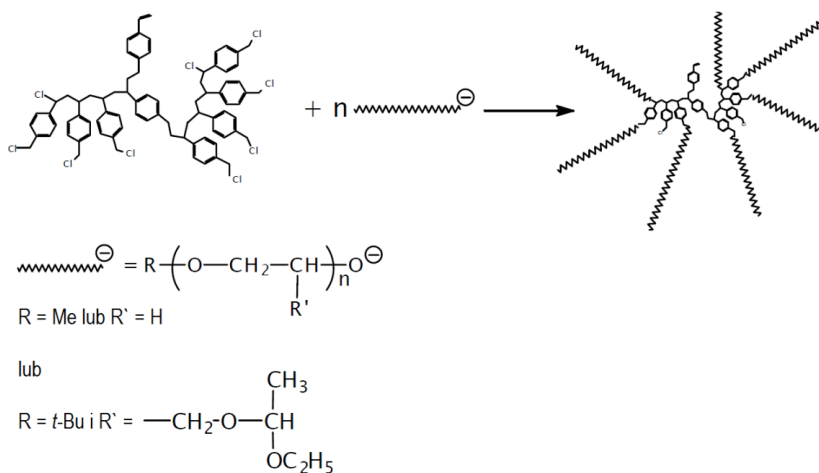
### 3. Struktury polimerowe otrzymane przez terminację „żyjących” łańcuchów polioksiranowych

#### ➤ Gwieździste kopolimery tlenku etylenu i glicydotu o budowie core-shell [H8]

Opisane w punkcie 2 syntezy polimerów gwieździstych metodą „core-first”, dająca kopolimery o przewidywalnej i z góry zaplanowanej strukturze makrocząsteczki są oparte na kontrolowanej polimeryzacji monomeru oksiranowego inicjowanej wielofunkcyjnym inicjatorem. Inną drogą do uzyskania gwieździstych struktur polimerowych jest metoda „arm first”, polegająca na doczepieniu do wielofunkcyjnego rdzenia wcześniej otrzymanych łańcuchów polimerowych – ramion, z aktywnymi grupami na końcu. Metoda ta wydaje się prostsza, ale warunkiem uzyskania kontroli jest dobra wydajność reakcji terminacji łańcuchów z aktywnymi grupami końcowymi wielofunkcyjnym terminatorem.

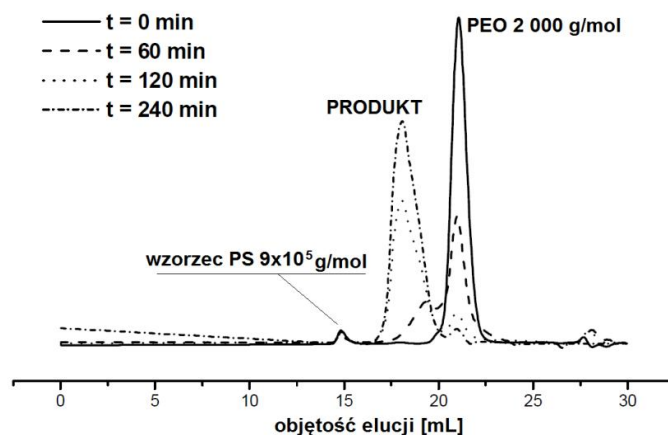
W badaniach autora do syntezy kopolimerów gwieździstych typu „core-shell” zastosowano terminator otrzymany w pracowni w ramach badań nad polimeryzacją *p*-chlorometylostyrenu. Do badań syntetycznych zastosowano poli(*p*-chlorometylostyren) o masie molowej 1400 g/mol, dyspersji 1,38 zawierający średnio dziewięć grup chlorometylenowych w makrocząsteczce.

Syntezę gwiazd o hydrofobowym rdzeniu i hydrofilowych ramionach z poli(tlenku etylenu) i z poliglicydotu przeprowadzono za pomocą reakcji eteryfikacji metodą Williamsona. Łańcuchy polioksiranowe z alkoholową grupą na jednym końcu terminowano poli(*p*-chlorometylostyrenem) (schemat 3.1).



**Schemat 3.1.** Terminacja „żywych” łańcuchów polioksiranowych rozgałęzionym rdzeniem poli(*p*-chlorometylostyrenowym)

Reakcję badano dla różnych długości łańcucha poli(tlenku etylenu) (od  $M_n = 750$  do 5 000 g/mol) oraz dla łańcucha poliglicydylowego z chronioną grupą hydroksylową (pEEGE) o  $M_n = 2\,300$  g/mol. Przebieg reakcji monitorowano poprzez analizę SEC-MALLS pobieranych w równych odstępach czasu próbek. Chromatogramy SEC próbek pobieranych w czasie reakcji PEO o masie  $M_n = 2\,000$  g/mol ze rdzeniem poli(*p*-chlorometylostyrenem) przedstawiono na rysunku 3.1.



**Rys. 3.1.** Chromatogramy SEC mieszaniny reakcyjnej PEO 2 000 g/mol z rozgałęzionym rdzeniem poli(*p*-chlorometylostyrenowym) dla różnych czasów reakcji

Dla związków małowcząstkowych wydajność metody Williamsona jest wysoka, często powyżej 80 %. Prowadzone badania wykazały jednak, że w tym wypadku dla polimerów wydajności nie przekraczają 34 % wszystkich grup chlorometylenowych terminatora. Wydajność ta jest większa dla krótszych łańcuchów natomiast spada wraz ze wzrostem masy molowej liniowego polioksiranu. Wyznaczone masy molowe produktów okazują się jednak dużo wyższe niż wynikałoby to z obliczeń z uwzględnieniem wydajności. Dane przedstawiono w tabeli 3.1.

**Tabela 3.1.** Charakterystyka produktów terminacji „żywych” łańcuchów polioksiranowych rozgałęzionym rdzeniem poli(*p*-chlorometylostyrenowym)

Rodzaj i masa polimeru	$M_n$	$M_n$	$\bar{D}_M$	Liczba sprzężonych rdzeni	Ilość ramion
	Obliczono ze stosunku reagentów i wydajności	SEC-MALLS		Obliczono z analiz SEC-MALLS	
PEO 750	3 849	24 900	3,12	6,5	19
PEO 2 000	6 799	37 800	1,94	5,6	15
PEO 5 000	10 261	69 000	1,71	6,7	12
PEEGE 2 300	9 100	71 000	1,87	7,8	26

Większa masa molowa produktów terminacji wynika ze sprzęgania się hydrofobowych rdzeni w trakcie reakcji eteryfikacji. Dla potwierdzenia rdzenie poli(*p*-chlorometylostyrenu) poddano reakcji z *tert*-butanolanem potasu w warunkach zbliżonych do stosowanych w syntezie polimerów gwiazdowych. Otrzymano usieciowany produkt.

W badaniach nie ustalono, co jest powodem sprzęgania się rdzeni podczas reakcji eteryfikacji. Prawdopodobnym jest, że obecność diaminy (4,4'-dimetylo-2,2'-bipirydyny), która jest używana



w syntezie rdzeni poli(*p*-chlorometylenostyrenu) i częściowo zostaje związana z polimerem może sprzęgać rdzenie poprzez kwaternizację obu atomów azotu diaminy. Niewielki udział atomów azotu w oczyszczonym rdzeniu poli(*p*-chlorometylenostyrenu) potwierdzono przez wykonanie analizy elementarnej tych polimerów.

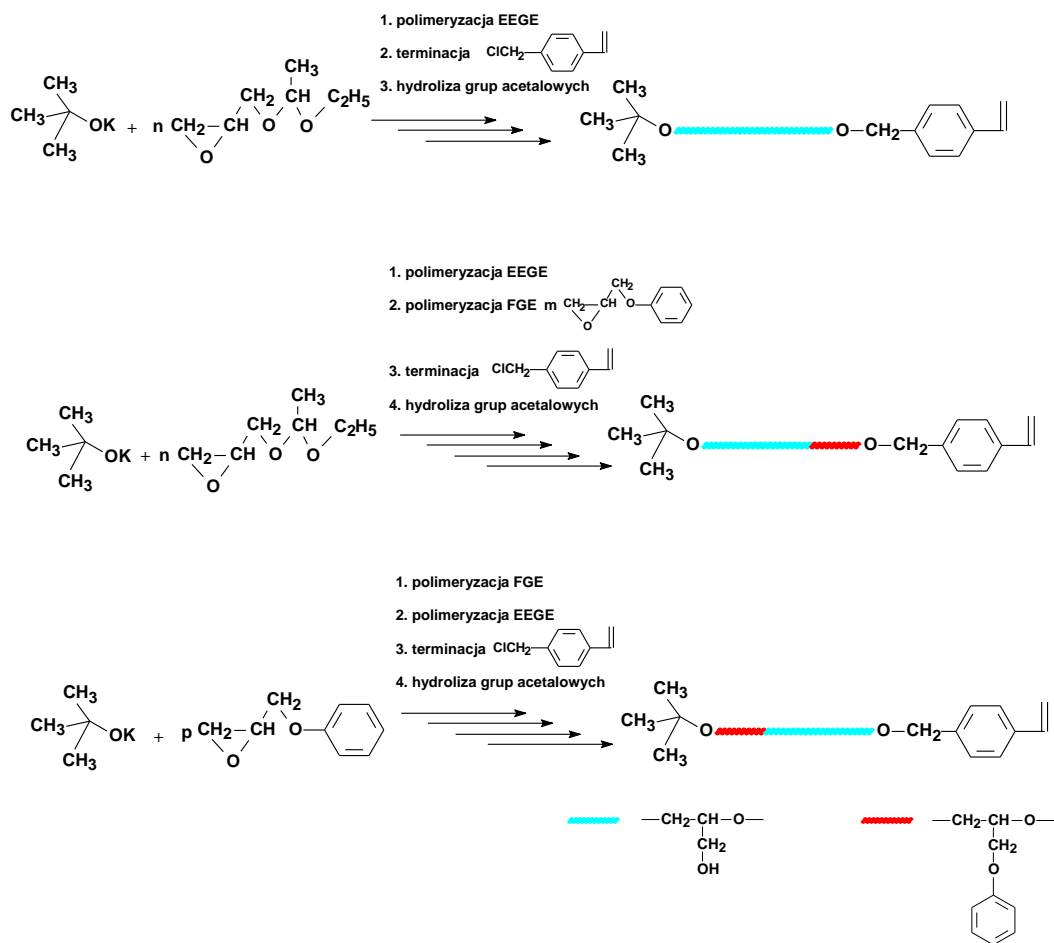
Opisane w tym punkcie badania syntezy gwiazd wskazują, że mimo użycia dobrze zdefiniowanych łańcuchów polimerowych oraz rdzenia o dyspersji mas molowych mniejszym niż 1,4 nie można uzyskać kontroli mas molowych gwiazd ani jednorodności składu. Przeszkodą jest niska wydajność terminacji spowodowana prawdopodobnie stosunkowo małym stężeniem grup alkoholowych oraz izolowaniem grup chlorometylenowych przez już przyłączone łańcuchy polioksiranowe. Dodatkowym problemem jest sprzęganie się rdzeni i tworzenie klasterów zawierających od 5 do 8 rdzeni.

### ➤ **Synteza polimerów typu „bottle-brush” [H9]**

Opisana poprzednio reakcja terminacji łańcuchów polioksiranowych z wielofunkcyjnym terminatorem poli(*p*-chlorometylostyrenem) nie pozwala osiągać dobrych wydajności ani też nie prowadzi do dobrze zdefiniowanych kopolimerów. Celem następnych badań było otrzymanie rozgałęzionych makrocząsteczek typu „bottle-brush” o łańcuchach polioksiranowych z wykorzystaniem jako terminatora monomerycznego *p*-chlorometylostyrenu. Droga ta prowadzi w pierwszym etapie do uzyskania odpowiednich makromonomerów, a przez ich polimeryzację do struktur o kształcie walca, gdzie rdzeniem jest liniowy łańcuch styrenowy podstawiony łańcuchami oksiranowymi.

Badania skierowano na otrzymanie trzech struktur kopolimerów „bottle-brush”: dwie struktury o charakterze amfifilowym (hydrofilowe wnętrze i hydrofobowa powłoka oraz hydrofobowe wnętrze i hydrofilowa powłoka) oraz jedna o hydrofilowym wnętrzu i powłoce.

Do syntezy hydrofobowych bloków wykorzystano eter fenylowo-glicydylowy (FGE), a bloki hydrofilowe otrzymano przez polimeryzację EEGE i hydrolizę grup acetalowych. Syntezę makromonomerów blokowych wykonano stosując polimeryzację sekwencyjną, gdzie drugi komonomer dodano do roztworu „żyjącego” polimeru, po osiągnięciu odpowiednio wysokiej, bliskiej 100 % konwersji pierwszego komonomeru (schemat 3.2). Po uzyskaniu całkowitej konwersji drugiego komonomeru do mieszaniny dodawano *p*-chlorometylostyren. Amfifilowe makromonomery zsyntezowano tak, aby w jednym makromonomerze hydrofobowa część łańcucha *p*FGE znajdowała się przy grupie terminującej, zawierającej polimeryzowalne wiązanie podwójne, a w drugim część hydrofobowa łańcucha była oddzielona od tego wiązania przez hydrofilowy blok glicydolowy.



**Schemat 3.2.** Synteza hydrofilowych i amfilowych makromonomerów oksiranowych

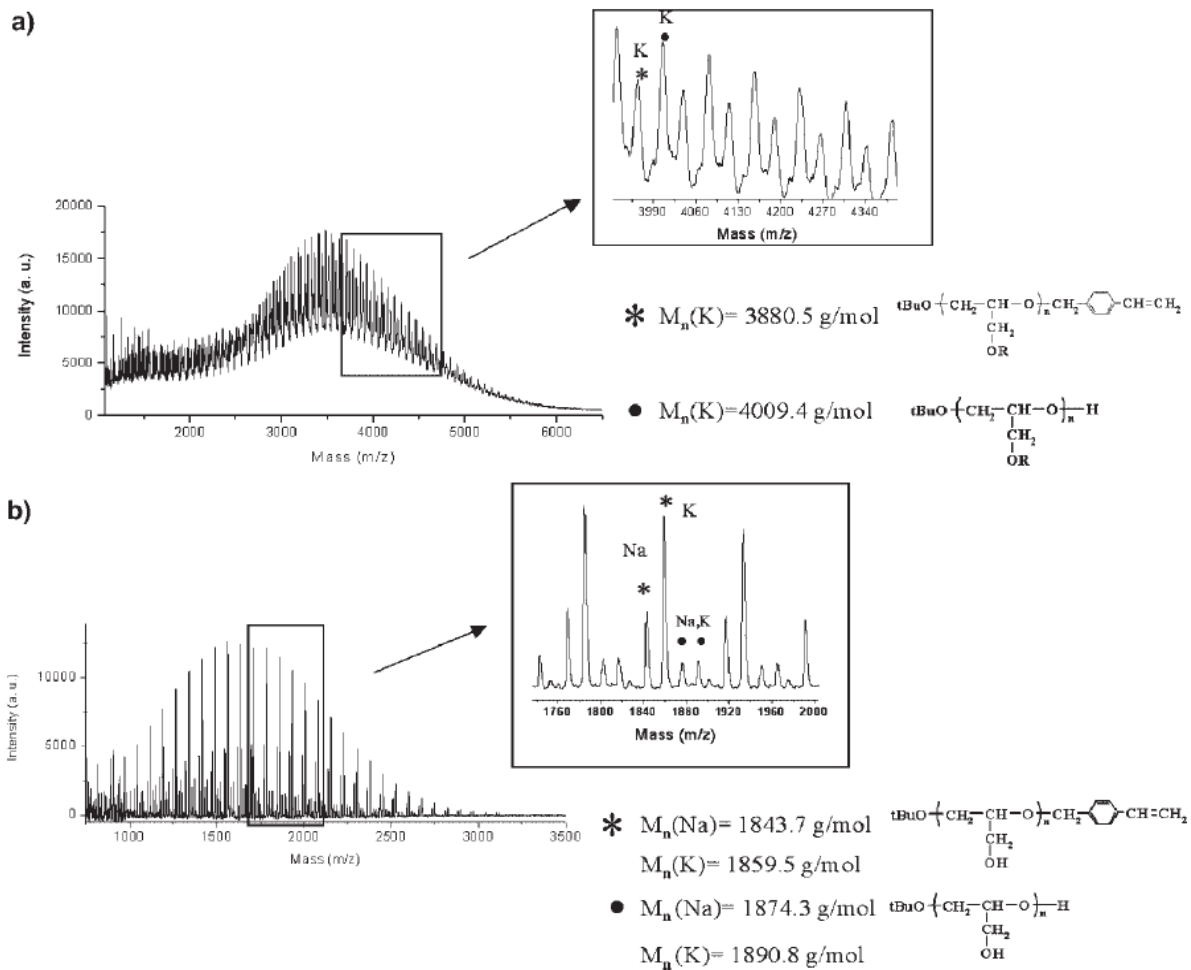
Makromonomery scharakteryzowano przed oraz po hydrolizie grup acetalowych w łańcuchu pEEGE wykorzystując metody <sup>1</sup>H NMR i SEC-MALLS. Uzyskane dane przedstawione są w tabeli 3.2.

**Tabela 3.2.** Charakterystyka hydrofilowych i amfifilowych makromonomerów oksiranowych

		Makromonomery przed hydrolizą grup acetalowych w bloku PEEGE			Makromonomery po hydrolizie grup acetalowych w bloku PEEGE		
		PEEGE-St	PEEGE-b-PFGE-St	PFGE-b-PFGE-St	PGI-St	PGI-b-PFGE-St	PFGE-b-PGI-St
Obliczono ze stosunku reagentów	*DP <sub>PEEGE(GI)</sub>	40	60	52	40	60	52
	DP <sub>PFGE</sub>	–	8	7	–	8	7
	M <sub>n</sub>	6 000	10 000	8 600	3 200	5 800	5 000
Obliczono z <sup>1</sup> H NMR na podstawie styrenowych grup końcowych	*DP <sub>PEEGE(GI)</sub>	55	100	85	60	110	95
	DP <sub>PFGE</sub>	–	15	14	–	17	14
	M <sub>n</sub>	8 100	17 000	14 700	4 600	10 800	9 400
Obliczono z <sup>1</sup> H NMR na podstawie grup inicjatora (t-BuO)	*DP <sub>PEEGE(GI)</sub>	–	–	–	45	66	54
	DP <sub>PFGE</sub>	–	–	–	–	10	10
	M <sub>n</sub>	–	–	–	3 600	6 600	5 700
SEC-MALLS	M <sub>n</sub>	7 000	10 600	9 000	4 100	7 200	6 000
	Đ <sub>M</sub>	1,05	1,10	1,10	1,05	1,10	1,10

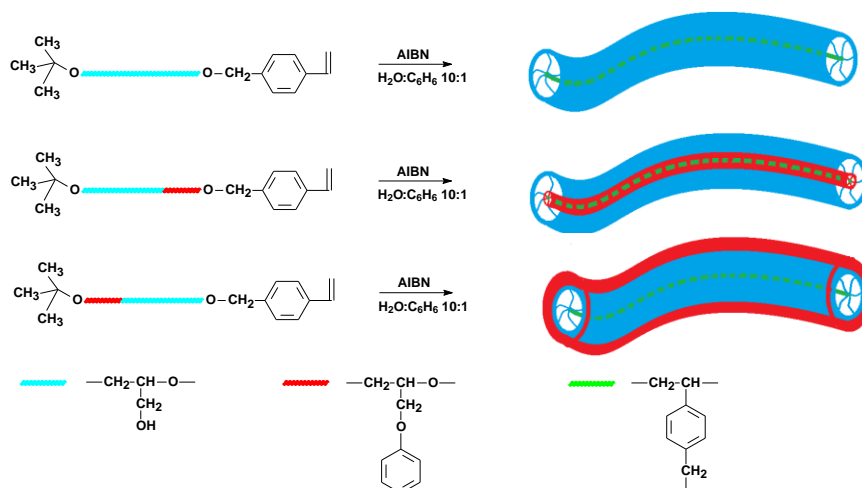
\* – stopień polimeryzacji bloku PEEGE lub po hydrolizie - bloku PGI

Wyznaczenie stopnia polimeryzacji bloków oraz masy molowej makromonomerów na podstawie widm <sup>1</sup>H NMR przeprowadzono dwoma metodami. W jednej wykorzystano sygnały końcowych grup *tert*-butylowych, które pochodzą od wbudowanego inicjatora, w drugiej metodzie użyto sygnały styrenowych grup końcowych z drugiego końca łańcucha, pochodzące z wbudowanego terminatora. Uzyskane wartości różnią się w niektórych wypadkach dość znacznie, przy czym masy molowe uzyskane z intensywności sygnału grupy *tert*-butylowej, pochodzącej z inicjatora są bliższe wartościom uzyskanym z obliczeń ze stosunków reagentów i wyznaczonym metodą SEC-MALLS. W każdym wypadku masy molowe wyznaczone z sygnałów grup styrenowych (terminatora) są wyższe od mas uzyskanych z metody SEC-MALLS. Oznacza to, że nie wszystkie łańcuchy zakończone są grupami styrenowymi, pochodzącymi z *p*-chlorometylostyrenu. Analiza MALDI-TOF makromonomeru PEEGE-St i uzyskanego po hydrolizie PGI-St potwierdza obecność dwóch populacji – jednej zakończonej grupą styrenową a drugiej z końcową grupą OH (rys. 3.2). Świadczy to o niepełnej terminacji „żyjących” łańcuchów *p*-chlorometylostyrenem, nie pozwala jednak na ilościowe określenie wydajności terminacji.



**Rys. 3.2.** Widmo MALDI-TOF: a) makromonomeru PEEGE-St; b) PGI-St - makromonomeru po deprotekcji bloku EEGE

Po hydrolizie otrzymano trzy makromonomery: homopolimerowy – PGI-St, kopolimerowy z hydrofobowym blokiem PFGE w sąsiedztwie grupy styrenowej – PGI-b-PFGE-St oraz kopolimerowy, w którym hydrofilowy blok glicydolowy jest bezpośrednio połączony z końcową grupą styrenową – PFGE-b-PGI-St. Makromonomery poddano polimeryzacji wolnorodnikowej w wodzie stosując jako inicjator AIBN (schemat 3.3).



**Schemat 3.3.** Polimeryzacja rodnicowa makromonomerów oksiranowych

Ze względu na nierozpuszczalność AIBN w wodzie inicjator dodawano do mieszaniny makromonomer/woda w postaci roztworu w benzenie stosując takie stężenia, aby zawsze stosunek rozpuszczalników woda/benzen był równy 10/1. Polimeryzacja zachodzi stosunkowo szybko osiągając konwersje około 50 % już po 3 godzinach.

Próby osiągnięcia wyższej konwersji przez dłuższe prowadzenie polimeryzacji lub dodanie drugiej porcji inicjatora nie zmieniły masy molowej ani konwersji makromonomeru. Dane dotyczące wyników polimeryzacji przedstawiono w tabeli 3.3.

**Tabela 3.3.** Charakterystyka produktów polimeryzacji rodnicowej makromonomerów oksiranowych

Makromonomer	Stężenie makroinicjatora	Konwersja makroinicjatora	Mn	Đ <sub>M</sub>	DP polimakromonomeru
	%	%	SEC-MALLS		
PGI-St	10	50	74 000	1,4	18
	13	50	91 000	1,6	22
	25	49	140 000	1,9	34
	50	47	253 000	2,1	61
PGI-b-PFGE-St	10	50	143 000	1,4	18
	13	48	257 000	2,0	32
	25	50	473 000	2,1	60
PFGE-b-PGI-St	10	53	211 000	2,0	31
	13	53	370 000	2,6	47
	25	49	420 000	3,2	63

Produkty polimeryzacji oddzielono od nieprzereagowanej części makromonomeru stosując dwie metody: frakcjonowanie i dializa. Bardziej skuteczną metodą okazało się dializowanie. Uzyskane frakcje o masie molowej podobnej do makromonomerów poddano analizie MALDI-TOF oraz  $^1\text{H}$  NMR. Z obu analiz wynika, że wydzielona frakcja to łańcuchy o masie molowej podobnej do masy makromonomerów, ale zawierającej na końcu zamiast grupy styrenowej grupę hydroksylową. Zatem z wydajności polimeryzacji oraz analiz frakcji nie ulegającej polimeryzacji można wywnioskować, że wydajność terminacji to około 50 %, zaś konwersja makromonomeru, który jest zakończony grupą styrenową wynosi prawie 100 %.

Wzrost masy molowej oraz dyspersji mas otrzymanych polimakromonomerów wraz ze wzrostem początkowego stężenia makromonomeru oraz wysoka konwersja makromonomeru w polimeryzacji rodnikowej sięgająca 100 % może świadczyć, że makromonomer polimeryzuje w spęcznionych benzenem agregatach o zróżnicowanych rozmiarach, podobnie jak w wypadku opisanych w literaturze amfifilowych makromonomerów PEO [46]. Stężenie lokalne polimeryzowalnej grupy styrenowej jest w takich agregatach dużo wyższe niż w fazie wodnej, a szybkość terminacji jest kontrolowana dyfuzyjnie, ze względu na silnie zagęszczenie otoczenia. W pewnym zakresie jest więc możliwość sterowania masą molową polimakromonomeru zmieniając jego początkowe stężenie, jednak kosztem dyspersji mas molowych.

Polimeryzacja homopolimerowych makromonomerów glicydolowych prowadzi do hydrofilowych polimerów typu bottle-brush o niemal równej długości ramion (rozgałęzień). Kopolimerowe makromonomery dają albo polimery o hydrofobowym wnętrzu i hydrofilowej powłoce (PGI-b-PFGE-St) lub też o hydrofilowym wnętrzu i hydrofobowej powłoce (PFGE-b-PGI-St). Odpowiednie dobieranie bloków w syntezie makromonomerów decyduje w efekcie o charakterze polimakromonomerów typu „bottle-brush”, ich właściwościach i zastosowaniu.

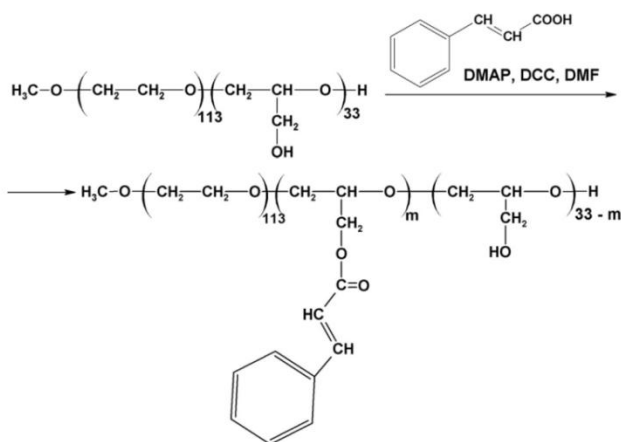
#### 4. Polieterowe nanocząstki otrzymane przez sieciowanie łańcuchów polioksiranowych z wykorzystaniem hydroksylowych grup w bloku poliglicydolowym [H10]

Kopolimery amfifilowe często asocjują w roztworach wodnych tworząc micelle, których rozmiary zależą od wielu czynników związanych z budową kopolimeru, takich jak rodzaj i udział komonomerów w amfifilowym łańcuchu, rozłożenie bloków, obecność dużych hydrofobowych grup końcowych lub stopień podstawienia bloku komonomeru posiadającego boczną grupę funkcyjną.

Micelle takie nie są jednak trwałe. Jedną z metod ich stabilizacji w wodzie jest połączenie łańcuchów tworzących micelle wiązaniami kowalencyjnymi [47-49]. Potencjalne zastosowania otrzymanych tak nanocząstek są bardzo szerokie i zależą od rodzaju użytego kopolimeru oraz sposobu stabilizacji miceli (stabilizacja rdzenia lub powłoki). Obecność w merze glicydolu grupy hydroksylowej pozwala na wprowadzenie do łańcucha grupy aktywnej w reakcji połączenia łańcuchów miceli oraz modyfikacji charakteru kopolimeru.

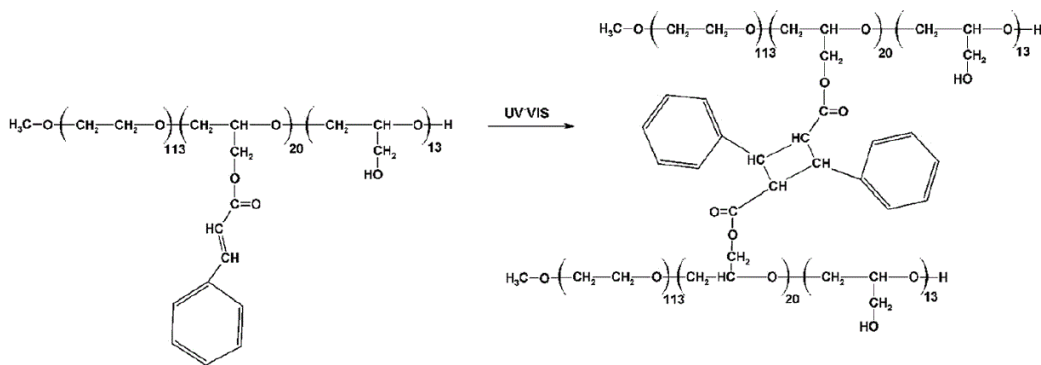
Celem badań było wykorzystanie organizacji amfifilowych kopolimerów oksiranowych w wodzie i utworzenie wiązań między łańcuchami z wykorzystaniem grup hydroksylowych meru glicydolowego do otrzymania stabilnych nanocząstek typu „core-shell”.

Dla badań nad organizacją kopolimerów amfifilowych, prowadzonych w pracowni przez dr hab. Barbarę Trzebicką, opracowano metodę syntezy kopolimerów blokowych składających się z bloku poli(tlenku etylenu) oraz bloku poliglicydolu o małej dyspersji mas molowych  $\bar{M}_n = 1,02$  i dobrze zdefiniowanym składzie. Syntezę wykonano przez inicjowanie polimeryzacji EGE monoeterem poli(tlenku etylenu) 5 000 g/mol z grupą alkoholową z przeciwjonem cezowym. Po hydrolizie grup acetalowych oraz wykonaniu pełnej charakterystyki otrzymanego kopolimeru część grup hydroksylowych została poddana estryfikacji kwasem cynamonowym (schemat 4.1), który pod wpływem promieniowania UV ulega dimeryzacji (schemat 4.2).



Schemat 4.1. Modyfikacja kopolimeru blokowego PEO-b-PGL przez estryfikację kwasem cynamonowym

Estryfikacja kopolimeru blokowego ME-EO<sub>113</sub>-b-GI<sub>33</sub> prowadzi do utworzenia około 20 merów cynamonianu glicydyłu (CGI). Pozwala to na stabilne połączenie kowalencyjne łańcuchów przez utworzenie dimerów z dwóch reszt kwasowych związanych z różnymi łańcuchami. Obecność większej liczby reszt cynamonowych w łańcuchu i ich dimeryzacja z grupami cynamonoilowymi w innych łańcuchach prowadzi do sieciowania, i stabilizuje micelle.



**Schemat 4.2.** Dimeryzacja grup cynamonoilowych w kopolimerach blokowych PEO-b-(GI-ko-CGI)

Charakterystykę modyfikowanych kopolimerów przedstawiono w tabeli 4.1.

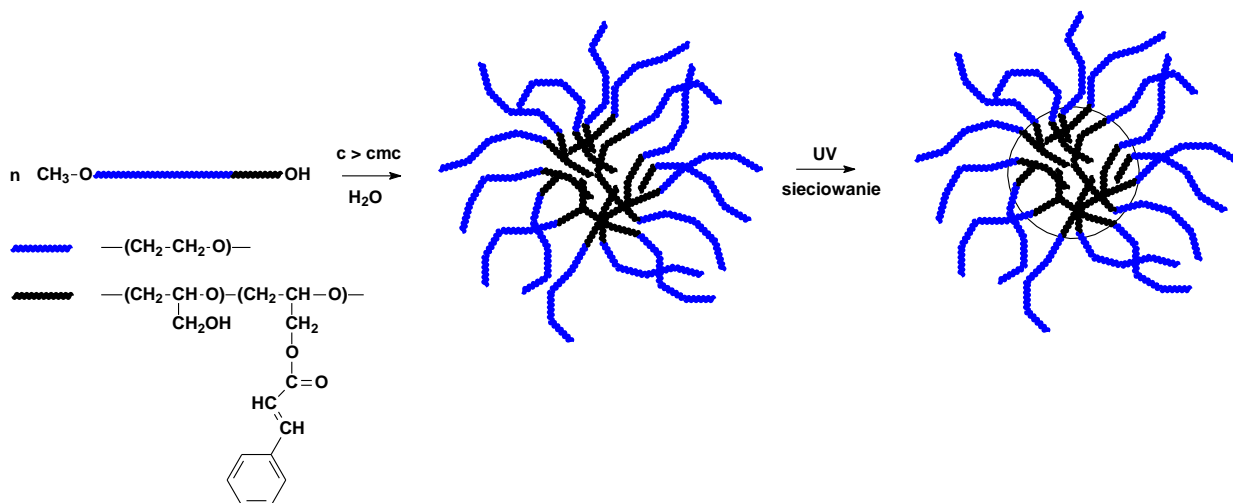
**Tabela 4.1.** Charakterystyka kopolimerów otrzymanych w wyniku modyfikacji kwasem cynamonowym

kopolimer	Mn	Mn	$\bar{M}_w$	% zestryfikowanych grup OH
	<sup>1</sup> H NMR	SEC-MALLS	SEC-MALLS	
ME-EO <sub>113</sub> -b-GI <sub>33</sub>	7 500	7 200	1,02	–
ME-EO <sub>113</sub> -b(GI <sub>13</sub> -co-CGI <sub>20</sub> )	10 100	9 900	1,02	60
ME-EO <sub>113</sub> -b(GI <sub>17</sub> -co-CGI <sub>16</sub> )	9 600	9 400	1,02	48

Amfifilowe kopolimery otrzymane przez estryfikację rozpuszczają się w wodzie, ale po przekroczeniu krytycznego stężenia micelizacji tworzą micelle. Obecny w kopolimerze hydrofilowy blok PEO powinien utworzyć koronę miceli osłaniając rdzeń zbudowany z hydrofobowych bloków estrowych kwasu cynamonowego. Z badań wynika, że promień hydrodynamiczny utworzonych micel zależy od stopnia estryfikacji (od 9,2 do 11,9 nm) i nie zmienia się ze wzrostem temperatury w badanym zakresie od 25 °C do 55 °C.

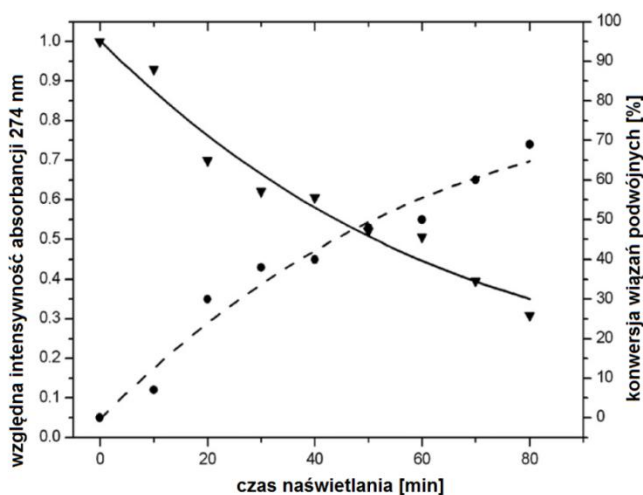


Dla otrzymania nanocząstek poprzez reakcję sieciowania sporządzono roztwory wodne kopolimerów o stężeniu odpowiednio wysokim (2,5 g/L), aby utworzyły się micelle (schemat 4.3.).



**Schemat 4.3.** Tworzenie i stabilizacja micel kopolimerów oksiranowych z grupami cynamonowymi

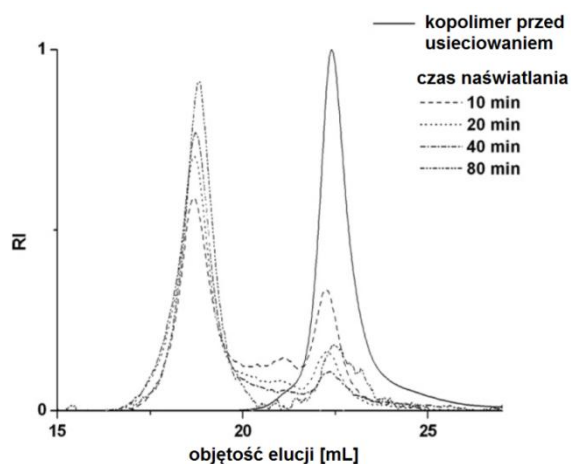
Roztwory te naświetlano promieniami UV o długości 254 nm i badano zanik cynamonowych wiązań podwójnych mierząc absorbancję przy długości fali 274 nm (rys. 4.1).



**Rys. 4.1.** Zależność względnej intensywności absorbancji grup cynamonowych w kopolimerze i ich konwersji, w zależności od czasu naświetlania

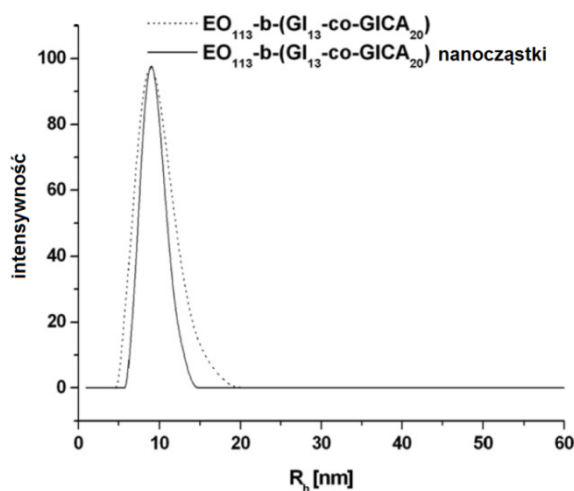
Po 80 minutach prowadzenia reakcji ilość wiązań podwójnych spada do około 25 % ilości początkowej.

Tworzenie się nanocząstek śledzono także poprzez analizę SEC pobieranych w czasie naświetlania próbek mieszaniny (rys. 4.2).



**Rys. 4.2.** Chromatogramy SEC kopolimeru po różnych czasach naświetlania micel utworzonych w wodzie. Nieusieciowane micelle rozpadają się w warunkach analizy SEC i widoczne są jako sygnał pochodzący od kopolimeru

Proces sieciowania micel nie zmienia ich rozmiaru, jedynie nieznacznie obniża dyspersję rozmiarów. Rozkład promieni hydrodynamicznych dla nieusieciowanych micel i nanocząstek po sieciowaniu przedstawiono na rysunku 4.3.



**Rys. 4.3.**  $R_h$  (25 °C, woda) dla kopolimeru ME-EO<sub>113</sub>-b-(G<sub>13</sub>-ko-CGI<sub>20</sub>) przed i po stabilizacji miceli

Badania doprowadziły do otrzymania stabilnych nanocząstek o wielkości około 9 do 12 nm o hydrofilowej powłoce zbudowanej z łańcuchów PEO oraz hydrofobowym rdzeniu. Wielkość nanocząstek zależy od stopnia podstawienia bloku glicydolowego.

## 5. Podsumowanie

Opisane w komentarzu prace doprowadziły do otrzymania rozgałęzionych polimerów oraz kopolimerów oksiranowych o zróżnicowanej architekturze makrocząsteczek (gwiazdy, gwiazdy dendrytyczne i „core-shell”, struktury typu „pom-pom” i „bottle-brush”, polimery hiperrozgałęzione oraz nanocząstki). Opracowana metoda wykorzystania grup hydroksylowych meru glicydolowego do tworzenia rozgałęzień pozwala na wykonanie kontrolowanej syntezy rozgałęzionych polioksiranów o szerokim zakresie mas molowych, małej dyspersji i założonej architekturze. Odpowiednie dobranie rodzaju komonomerów oksiranowych, metody syntezy i stosunku reagentów umożliwia poprzez sterowanie parametrami makrocząsteczki (stopień rozgałęzienia, ilość grup końcowych, rozłożenie rozgałęzień oraz rozłożenie elementów bloków hydrofilowych i hydrofobowych w makrocząsteczce, itp.) otrzymanie materiału o odpowiednich właściwościach dopasowanych do zastosowania.

Polimery i kopolimery zawierające mery glicydolowe posiadają wiele końcowych grup hydroksylowych. Dobierając odpowiednie proporcje reagentów można otrzymać polimery o odpowiedniej ilości grup funkcyjnych – hydroksylowych, które mogą być w prosty sposób wykorzystane do modyfikacji.

Metoda wielokrotnego szczepienia łańcucha poliglicydolowego opracowana przez autora prowadzi do nieopisanych dotąd rozgałęzionych homopolimerów glicydołu o małej dyspersji i o bardzo dużych masach molowych ( $1,8 \times 10^6$  g/mol).

Niektóre polimery opisane w komentarzu są obecnie wykorzystywane do badań nad ich modyfikacją i zastosowaniem do przygotowania powierzchni nieoddziałującej z białkami i komórkami.

## 6. Literatura

1. P. J. Flory, *J. Am. Chem. Soc.*, 1940, **62**, 1561-1565.
2. P. Rempp, E. Franta, J.-E. Herz, *Adv. Polym. Sci.*, 1988, **86**, 145-173.
3. H. L. Hsieh, R. P. Quirk, red. *Anionic Polymerization: Principles and Practical Applications*, Marcel Dekker: 1996.
4. M. K. Mishra, S. Kobayashi, red. *Star and Hyperbranched Polymers*, Marcel Dekker: 1999.
5. N. Hadjichristidis, M. Pitsikalis, S. Pispas, H. Iatrou, *Chem. Rev.*, 2001, **101**, 3747-3792.
6. A. H.E. Müller, K. Matyjaszewski, red. *Controlled and Living Polymerizations: From Mechanisms to Applications*, Wiley-VCH: 2009.
7. S. Penczek, A. Duda, P. Kubisa, S. Słomkowski, „Ionic and Coordination Polymerization” W: „Macromolecular Engineering”, red. K. Matyjaszewski, Y. Gnanou, L. Leibler, Wiley-VCH: 2007.
8. D. Taton, Y. Gnanou, R. Matmour, S. Angot, S. Hou, R. Francis, B. Lepoittevin, D. Moinard, J. Babin, *Polym. Int.*, 2006, **55**, 1138-1145.
9. Ch. Gao, D. Yan, H. Frey, “Promising Dendritic Materials: An Introduction to Hyperbranched Polymers”, 1-26, W: “Hyperbranched Polymers: Synthesis, Properties, and Applications”, Wiley 2011.
10. H. Mori, A. H. E. Müller, P. F. W. Simon, “Linear versus (Hyper)branched polymers”, 973-1005, W: “Macromolecular Engineering”, red. K. Matyjaszewski, Y. Gnanou, L. Leibler, Wiley-VCH: 2007.
11. K. Matyjaszewski, Y. Gnanou, L. Leibler, red., Vol. 4 “Application” W: “Macromolecular Engineering”, Wiley-VCH: 2007.
12. M. Calderon, M. A. Quadir, S. K. Sharma, R. Haag, *Adv. Mater.*, 2010, **22**, 190-218.
13. Q. Wei, S. Krysiak, K. Achazi, T. Becherer, P.-L. M. Noeske, F. Paulus, H. Liebe, I. Grunwald, J. Dervedde, A. Hartwig, T. Hugel, R. Haag, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 2014, **122**, 684-692.
13. H. Mei, Ch. Mingsheng, L. Guolin, P. Yan, W. Dali, W. Jieli, Q. Feng, Z. Xinyuan, S. Jian, *Biomacromol.*, 2012, **13**, 3552-3561.
14. Z. Liu, J. Janzen, D. E. Brooks, *Biomaterials*, 2010, **31**, 3364-3373.
15. A. L. Sisson, R. Haag, *Soft Matter*, 2010, **6**, 4968-4975.
16. J. Derveddea, A. Rausch, M. Weinhart, S. Enders, R. Tauber, K. Licha, M. Schirner, U. Zügel, A. von Bonin, R. Haag, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2010, **107**, 19679-19684.
17. B. R. Spears, J. Waksal, C. McQuade, L. Lanier E. Harth, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 2394-2396.
18. T. Hebishima, E. Yuba, K. Kono, S.-N. Takeshima, Y. Ito, Y. Aida, *Clin. Vaccine Immunol.*, 2012, **19**, 1492-1498.
19. Phrixus Pharmaceuticals Inc, L. Reeve, Compositions containing polyglycidol-based polymers and uses thereof. WO 2009078978 A2.

20. R. A. Shenoi, B. F. L. Lai, M. Imran ul-hag, D. E. Brooks, J. N. Kizhakkedathu, *Biomaterials*, 2013, **34**, 6068-6081.
21. X. Zhang, K. Achazi, D. Steinhilber, F. Kratz, J. Dervedde, R. Haag, *J. Control. Release*, 2014, **174**, 209-2016.
22. A. Sunder, R. Hanselmann, H. Frey, R. Mülhaupt, *Macromolecules*, 1999, **32**, 4240-4246.
23. R. Knischka, P. J. Lutz, A. Sunder, R. Mülhaupt, H. Frey, *Macromolecules*, 2000, **33**, 315-320.
24. A. Sunder, R. Mülhaupt, R. Haag, H. Frey, *Adv. Mater.*, 2000, **12**, 235-239.
25. A. Sunder, H. Türk, R. Haag, H. Frey, *Macromolecules*, 2000, **33**, 7682-7692.
26. R. Haag, J.-F. Stumbe, A. Sunder, H. Frey, A. Hebel, *Macromolecules*, 2000, **33**, 8158-8166.
27. H. Kautz, A. Sunder, H. Frey, *Macromol Symp.*, 2001, **163**, 67-73.
28. F. Wurm, J. Nieberle, H. Frey, *Macromolecules*, 2008, **41**, 1184-1188.
29. D. Wilms, F. Wurm, J. Nieberle, P. Boehm, U. Kemmer-Jonas, H. Frey, *Macromolecules*, 2009, **42**, 3230-3236.
30. X. Feng, D. Taton, E. L. Chaikof, Y. Gnanou, *Macromolecules* 2009, **42**, 7292-7298.
31. Ch. Tonhauser, Ch. Schüll, C. Dingels, H. Frey, *ACS Macro Lett.*, 2012, **1**, 1094-1097.
32. V. T. Wyatt, G. Strahan, *Polymers*, 2012, **4**, 397-407.
33. D. Wan, H. Liu, M. Jin, H. Pu, G. Wang, *Eur. Polym. J.*, 2014, **55**, 9-16.
34. E. J. Vandenberg, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, 1985, **23**, 915-949.
35. E. J. Vandenberg, *J. Macromol. Sci.-Chem.*, 1985, **A22**, 619-630.
36. V. W. Goodlett, *Anal. Chem.*, 1965, **37**, 431-432.
37. M. A. Quadir, R. Haag, *J. Control. Release*, 2013, **161**, 484-495.
38. M. Liu, K. Kono, J. M. J. Frechet, *J. Control. Release*, 2000, **65**, 121-131.
39. Ch. N. Moorefield, G. R. Newkome, *C. R. Chimie*, 2003, **6**, 715-724.
40. Ch. Hajji, R. Haag, *Top Organomet. Chem.*, 2006, **20**, 149-176.
41. H. Liu, S. Farrell, K. Uhrich, *J. Control. Release*, 2000, **68**, 167-174.
42. D. Wang, H. Cheng, Y. Su, F. Qiu, L. Zhu, X. Huan, B. Zhu, D. Yan, F. Guo, X. Zhu, *Polym. Chem.*, 2013, **4**, 85-94.
43. C. Ternat, L. Ouali, H. Sommer, W. Fieber, M. I. Velazco, Ch. J. G. Plummer, G. Kreutzer, H.-A. Klok, J.-A. E. Manson, A. Herrmann, *Macromolecules*, 2008, **41**, 7079-7089.
44. W. Du, Z. Xu, A. M. Nystrom, K. Zhang, J. R. Leonard, K. L. Wooley, *Bioconjugate Chem.*, 2008, **19**, 2492-2498.
45. O. G. Schramm, M. A. R. Meier, R. Hoogenboom, H. P. van Erp, J.-F. Gohy, U. S. Schubert, *Soft Matter*, 2009, **5**, 1662-1667.

46. S. Kawaguchi, K. Ito, Colloids Surface A, 1999, **153**, 173-178.
47. P. Petrov, M. Bozukov, M. Burkhardt, S. Muthukrishnan, A. H. E. Müller, Ch. B. Tsvetanov, J. Mater. Chem., 2006, **16**, 2192-2199.
48. A. Harada, K. Kataoka, Prog. Polym. Sci., 2006, **31**, 949-982.
49. A. Rösler, G. W.M Vandermeulen, H.-A. Klok, Adv, Drug Delivery Rev., 2001, **53**, 95-108.

Waqar Waheed