

ΑΡΙΣΤΕΙΑ Ι

**ΕΡΓΟ: Λειτουργικές Αυτο-οργανούμενες
Νανοδομές από Συμπολυμερή κατά Συστάδες
και Πρωτεΐνες (NANOMACRO) 1129**

ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ ΕΕ2

**ΠΑΡΑΔΟΤΕΟ 2.1: Έκθεση αποτελεσμάτων
σύνθεσης και χαρακτηρισμού συμπολυμερών**



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ, ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ



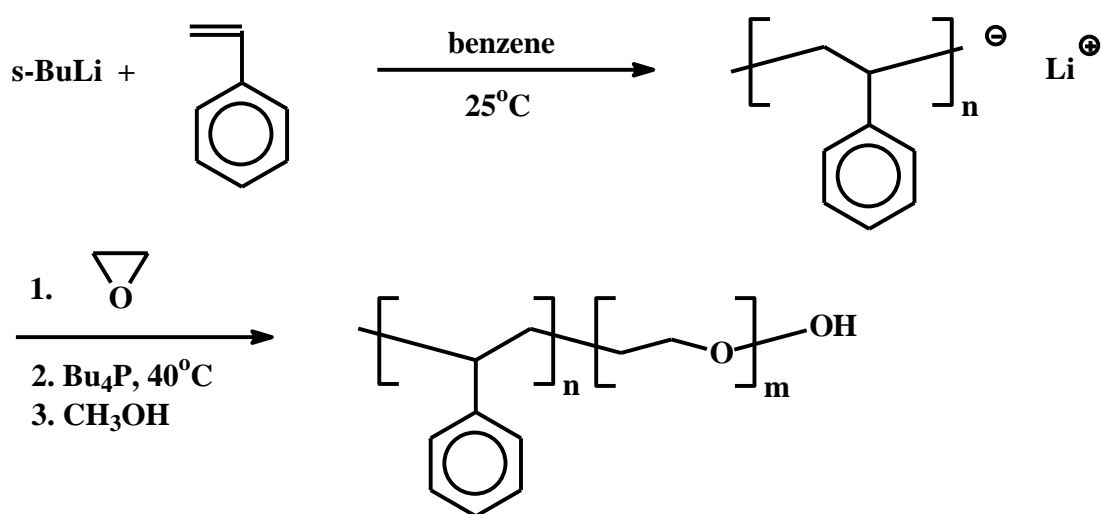
ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



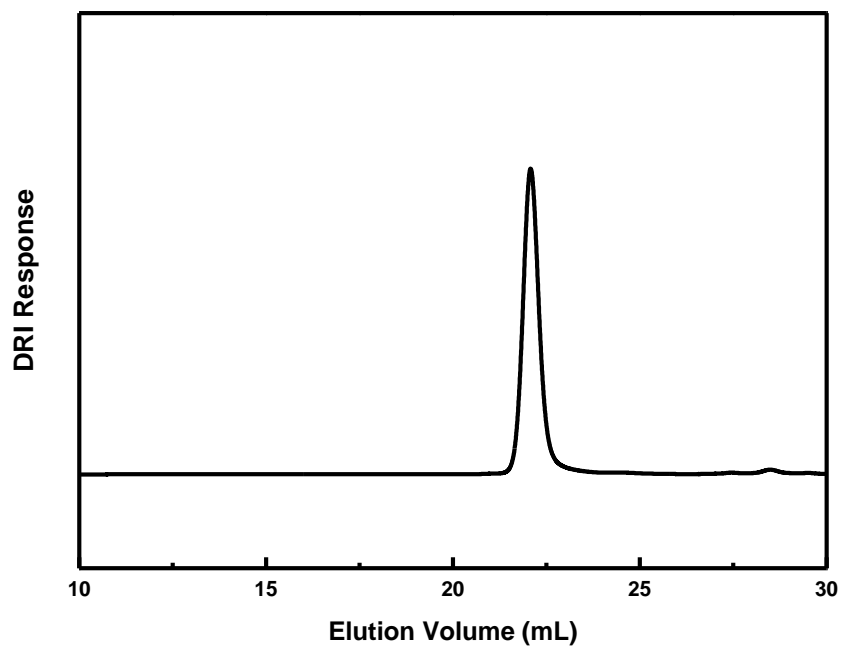
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Στα πλαίσια του προγράμματος NANOMACRO έγινε σύνθεση μιας σειράς συμπολυμερών κατά συστάδες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρασκευή νανοδομών με πρωτεΐνες. Πραγματοποιήθηκε μοριακός χαρακτηρισμός καθώς και μελέτη της αυτοοργάνωσής τους σε υδατικά διαλύματα.

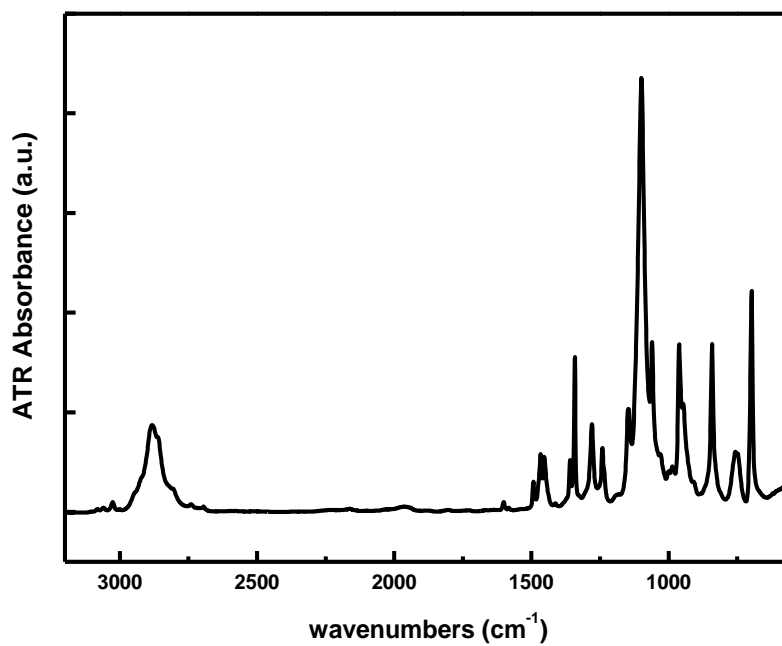
1. Σύνθεση και χαρακτηρισμός ακροδραστικού συμπολυμερούς πολυ(στυρενίου-β-αιθυλενοξειδίου) (PS-PEO-OH) με ακραία υδροξυλομάδα στο ελεύθερο άκρο της συστάδας PEO. Χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές ανιοντικού πολυμερισμού, ξεκινώντας από τη συστάδα PS, δίνοντας συμπολυμερές με μικρή κατανομή μοριακών βαρών και ελεγχόμενο μοριακό βάρος και σύσταση. Η ακραία -OH μετατράπηκε σε τεταρτοταγές άλας αμμωνίου με αντίδραση με γλυσιδυλοτριμεθυλοαμμώνιο χλωρίδιο. Το συμπολυμερές σχηματίζει σφαιρικά μικκήλια με μέση διάμετρο τα 100nm. Δυστυχώς τα μικκήλια αυτά δεν είναι σταθερά και μετά από μερικές ώρες καθιζάνουν.



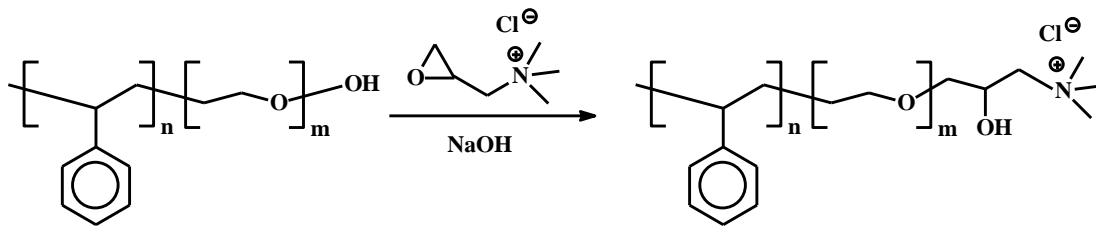
Σχήμα 1. Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PS-PEO-OH.



Σχήμα 2. Χρωματογράφημα SEC του συμπολυμερούς PS-PEO-OH.



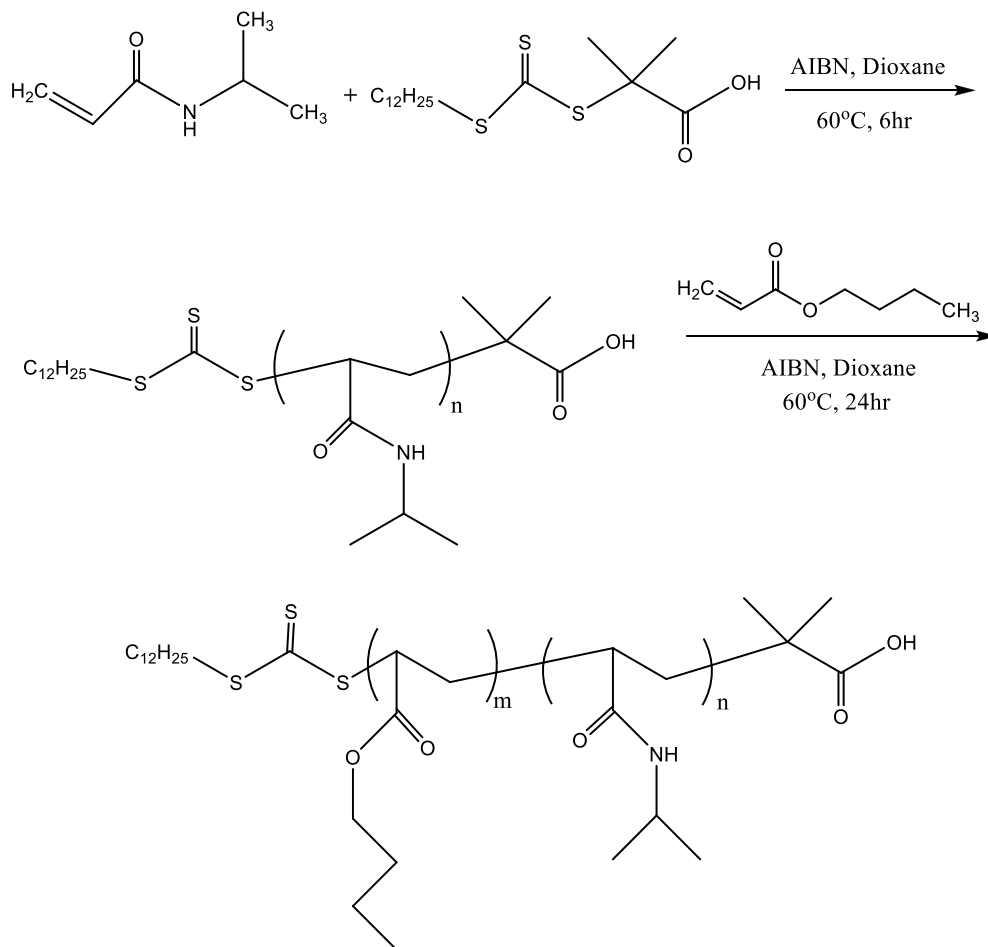
Σχήμα 3. Φάσμα FTIR του συμπολυμερούς PS-PEO-OH.



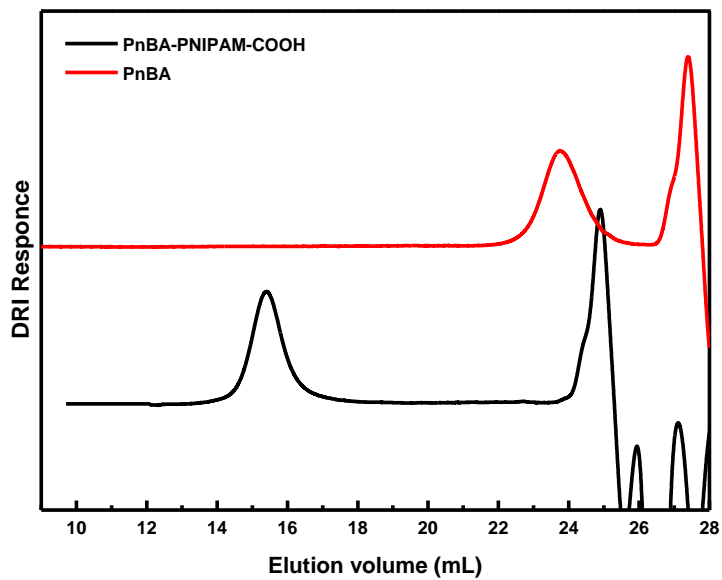
Σχήμα 4. Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PS-PEO-N(CH₃)₃⁺Cl⁻.

2. Σύνθεση και χαρακτηρισμός ακροδραστικών συμπολυμερών πολυ(στυρενίου-*b*-*N*-ισοπροπυλοακρυλαμιδίου) (PS-PNIPAM-*X*), και πολυ(ακρυλικού *n*-βουτυλεστέρα-*b*-*N*-ισοπροπυλοακρυλαμιδίου) (PnBA-PNIPAM-*X*), όπου *X* ακραία -COOH. Χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές ελεγχόμενου ριζικού πολυμερισμού RAFT χρησιμοποιώντας το S-1-δωδεκυλο-S'-(α,α' -διμεθυλο- α'' -οξείκο οξύ)τριθειοκαρβονικό εστέρας ως CTA, ξεκινώντας από τη συστάδα PNIPAM, δίνοντας ομοπολυμερές με μοριακό βάρος 20k. Το ομοπολυμερές αυτό φέρει μια ομάδα -COOH στο ένα άκρο του και μια ανθρακική αλυσίδα με 12 άνθρακες στο άλλο άκρο του. Στη συνέχεια χρησιμοποιώντας την τεχνική του RAFT πολυμερισμού συντέθηκε το συμπολυμερές PnBA-PNIPAM-COOH, με σχετικά μικρή κατανομή μοριακών βαρών και ελεγχόμενο μοριακό βάρος ($M_w=17,000$) και την αναμενόμενη κατά βάρος σύσταση (70% PNIPAM και 30% PnBA). Με αυτό τον τρόπο επιτεύχθηκε η σύνθεση ενός αμφίφιλου δισυσταδικού συμπολυμερούς, το οποίο φέρει μια καρβοξυλομάδα στο ένα άκρο της υδρόφιλης και θερμοευαίσθητης συστάδας του PNIPAM. Για τον μοριακό χαρακτηρισμό των συμπολυμερών χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού και φασματοσκοπικές μέθοδοι (FTIR, NMR). Η αυτοοργάνωση και η θερμική απόκριση των συμπολυμερών μελετήθηκε με δυναμική και στατική σκέδαση φωτός. Παρατηρήθηκε ότι σε υδατικά διαλύματα σχηματίζονται μικρήλια με πυρήνα την υδρόφοβη συστάδα PnBA και κορώνα που αποτελείται από την συστάδα του PNIPAM. Λόγω της συστάδας του PnBA, η οποία προσδίδει πλαστικότητα στον πυρήνα, λόγω του χαμηλού T_g (25°C), αλλά και της παρουσίας της ακραίας -COOH παρατηρείται αύξηση της κρίσιμης θερμοκρασίας μετάπτωσης (LCST) του PNIPAM από τους 32°C στους 35 °C.

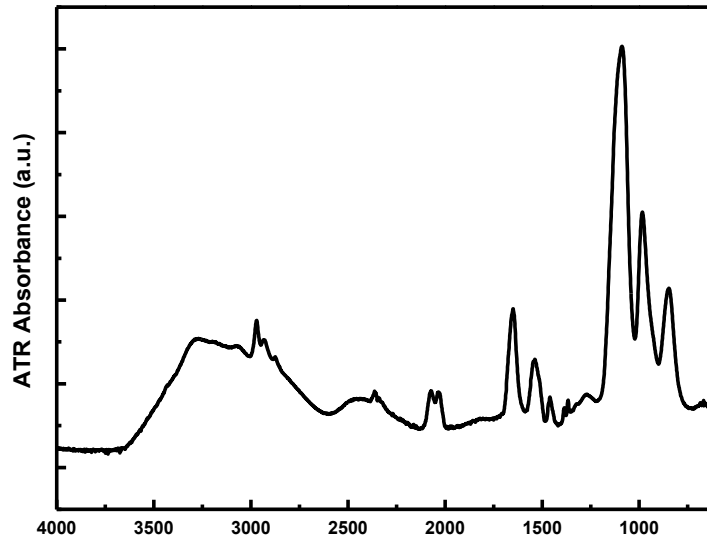
Κατόπιν, έγινε η σύνθεση του ακροδραστικού αποκρίσιμου συμπολυμερούς κατά συστάδες πολυ(ακρυλικού *n*-βουτυλεστέρα-*b*-*N*-ισοπροπυλοακρυλαμιδίου) (PnBA-PNIPAM-COOH 2) με $M_w=10300$ και σύσταση 70% PNIPAM και 30% PnBA. Για τον μοριακό χαρακτηρισμό του PnBA-PNIPAM-COOH 2 χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών και φασματοσκοπικές μέθοδοι (FTIR, NMR). Η αυτοοργάνωση και η θερμική απόκριση του PnBA-PNIPAM-COOH 2 μελετήθηκε με δυναμική και στατική σκέδαση φωτός. Παρατηρήθηκε αύξηση της κρίσιμης θερμοκρασίας μετάπτωσης (LCST) του PNIPAM από τους 32°C στους 42 °C. Αξίζει να σημειωθεί ότι η LCST για αυτό το συμπολυμερές είναι αυξημένη κατά 7 °C σε σχέση με αυτή που παρατηρήθηκε για το αντίστοιχο συμπολυμερές PnBA-PNIPAM-COOH ($M_w=17000$ και σύσταση 70% PNIPAM και 30% PnBA).



Σχήμα 5: Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PnBA-PNIPAM-COOH

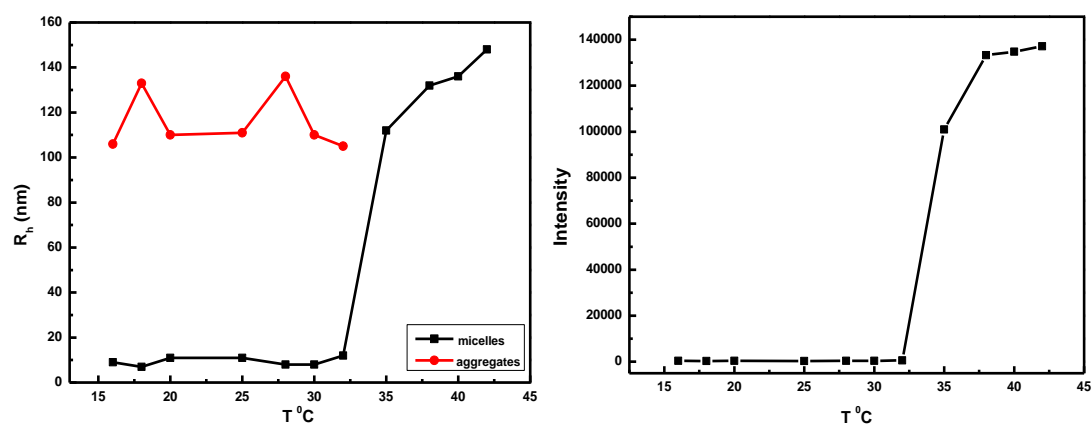


Σχήμα 6: Χρωματογράφημα SEC του συμπολυμερούς PnBA-PNIPAM-COOH.



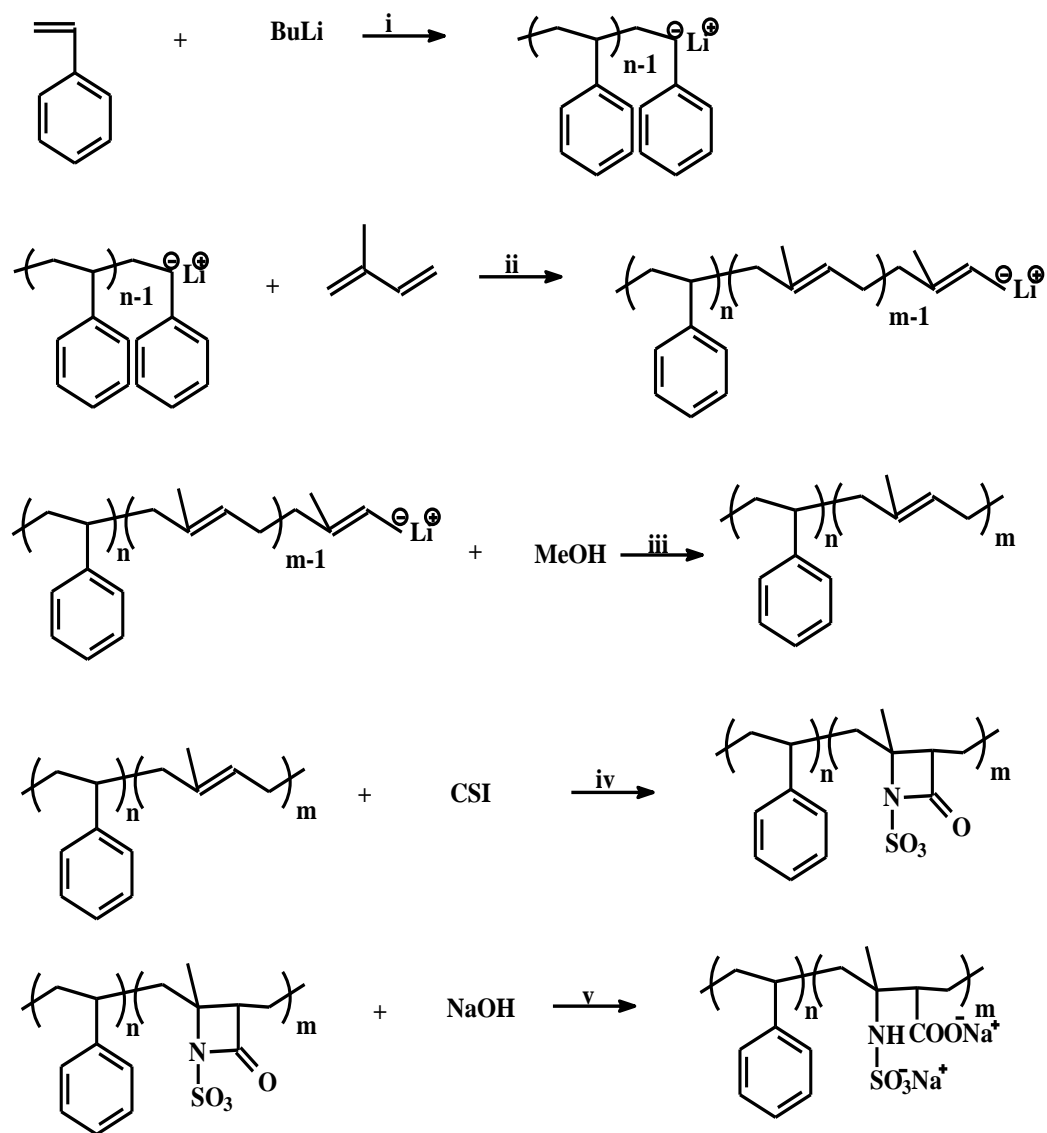
Σχήμα 7: Φάσμα FTIR του συμπολυμερούς PnBA-PNIPAM-COOH

Στη συνέχεια έγινε μελέτη της αυτοοργάνωσης και της επίδρασης της θερμοκρασίας του συμπολυμερούς PnBA-PNIPAM-COOH σε υδατικά διαλύματα με χρήση στατικής και δυναμικής σκέδασης φωτός (SLS και DLS). Το PnBA-PNIPAM-COOH αρχικά σχηματίζει μικηλίες με διάμετρο περίπου 20nm τα οποία συνυπάρχουν με συσσωματώματα διαμέτρου 200 nm λόγω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ακραίων καρβοξυλομάδων στην συστάδα του PNIPAM. Όσο αυξάνεται η θερμοκρασία και μετά το σημείο μετάπτωσης των 32°C, τα συσσωματώματα αυτά σπάζουν και παρατηρείται μια δευτερογενής συσσωμάτωση των αρχικών μικηλίων καθώς σε αυτή την περίπτωση οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστάδων του PNIPAM είναι εξίσου σημαντικές. Η απότομη αύξηση της έντασης σκέδασης πάνω από το σημείο μετάπτωσης των 32°C συνάδει με την δημιουργία ισχυρών συσσωματωμάτων.

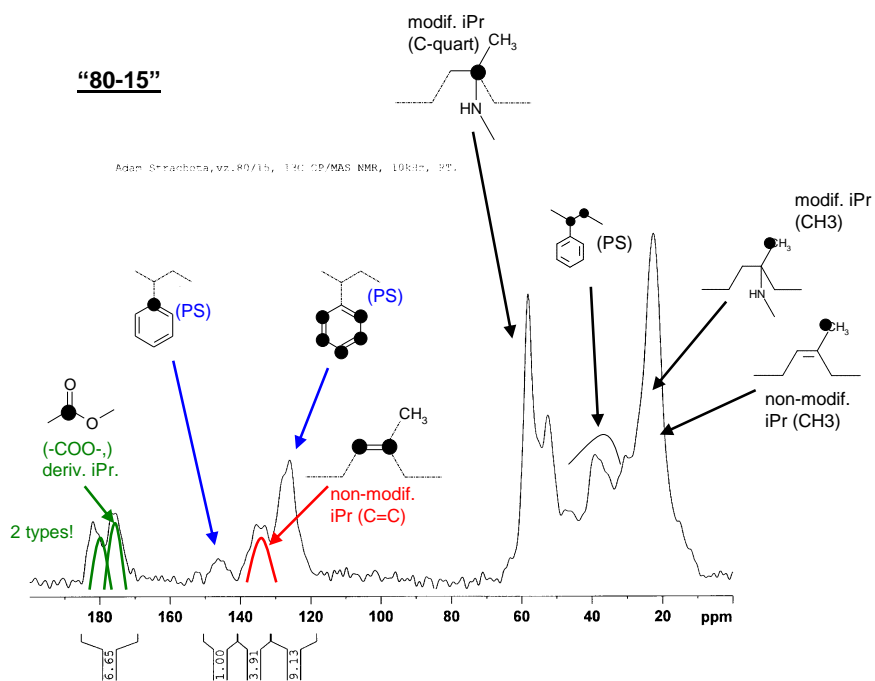


Σχήμα 8: Μέγεθος των μικηλίων και των συσσωματωμάτων του PnBA-PNIPAM-COOH (αριστερά) και η αύξηση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας (δεξιά) σε συνάρτηση με την αύξηση της θερμοκρασίας.

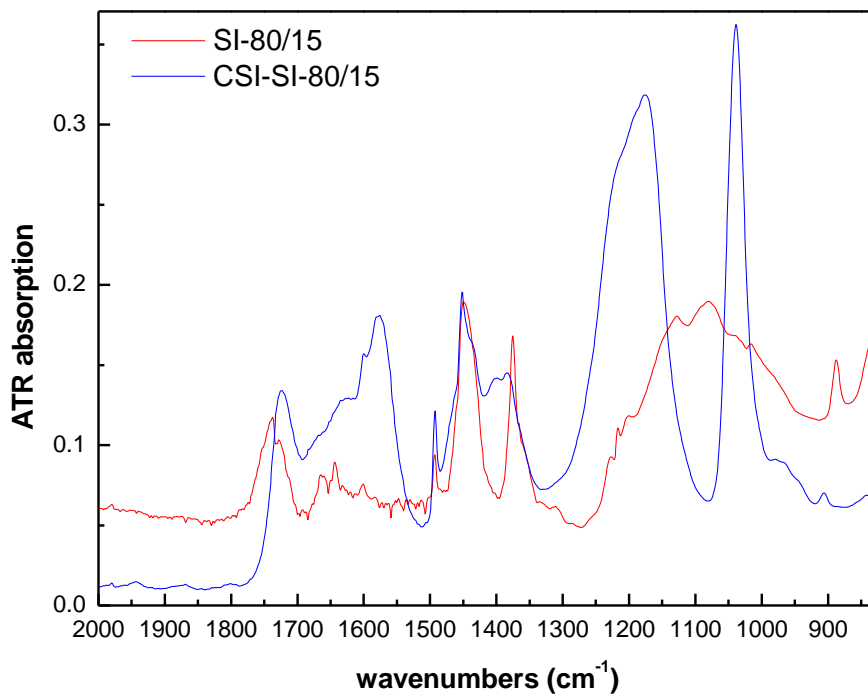
3. Σύνθεση και χαρακτηρισμός αποκρίσιμων συμπολυμερών πολυ(στυρενίου-b-(σουλφάμινο/καρβόξυλο)ισοπρενίου) (PS-SCPI) και πολυ(τριτοταγούς βουτυλοστυρενίου-b-(σουλφάμινο/καρβόξυλο)ισοπρενίου) (PtBS-SCPI). Αρχικά πραγματοποιήθηκε η σύνθεση των προδρόμων συμπολυμερών πολυ(στυρενίου-b-ισοπρενίου) (PS-PI) και πολυ(τριτοταγούς βουτυλοστυρενίου-b-ισοπρενίου) (PtBS-PI) με τεχνικές ανιοντικού πολυμερισμού. Κατόπιν η συστάδα PI μετατράπηκε σε συστάδα πολυ(σουλφάμινο/καρβόξυλο)ισοπρενίου) (SCPI) με εκλεκτική αντίδραση τροποποίησης με ισοκυανικό χλωροσουλφονυλεστέρα (CSI) και βασική υδρόλυση του ενδιαμέσου. Με αυτό τον τρόπο εισάγονται $-SO_3H$ και $-COOH$ ιοντικές ομάδες στη συστάδα PI μετατρέποντάς την σε πολυηλεκτρολύτη και τα τελικά συμπολυμερή σε αμφίφιλα συμπολυμερή. Τα πρόδρομα και τελικά συμπολυμερή χαρακτηρίστηκαν σε μοριακό επίπεδο με φασματοσκοπικές μεθόδους και χρωματογραφία αποκλεισμού μεγεθών. Τα συμπολυμερή σχηματίζουν σφαιρικά μικρήλια κατά τη διάλυσή τους σε υδατικά μέσα, όπως δείχνουν μετρήσεις σκέδασης φωτός. Επιλέχθηκε για χρήση στον σχηματισμό χμαιομορφικών νανοδομών με πρωτεΐνες το συμπολυμερές PtBS-SCPI μιας και σχηματίζει μικρήλια με μεγαλύτερο αριθμό συσσωμάτωσης και επομένως πυκνότερη κορώνα SCPI. Επίσης η μεγαλύτερη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης της συστάδας PtBS, που σχηματίζει τον υδρόφοβο πυρήνα κάνει πιο σταθερή τη νανοδομή των μικρηλίων υπό την επίδραση εξωτερικών παραγόντων, αλλά και κατά την αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες δεν αναμένεται διάσπαση της δομής.



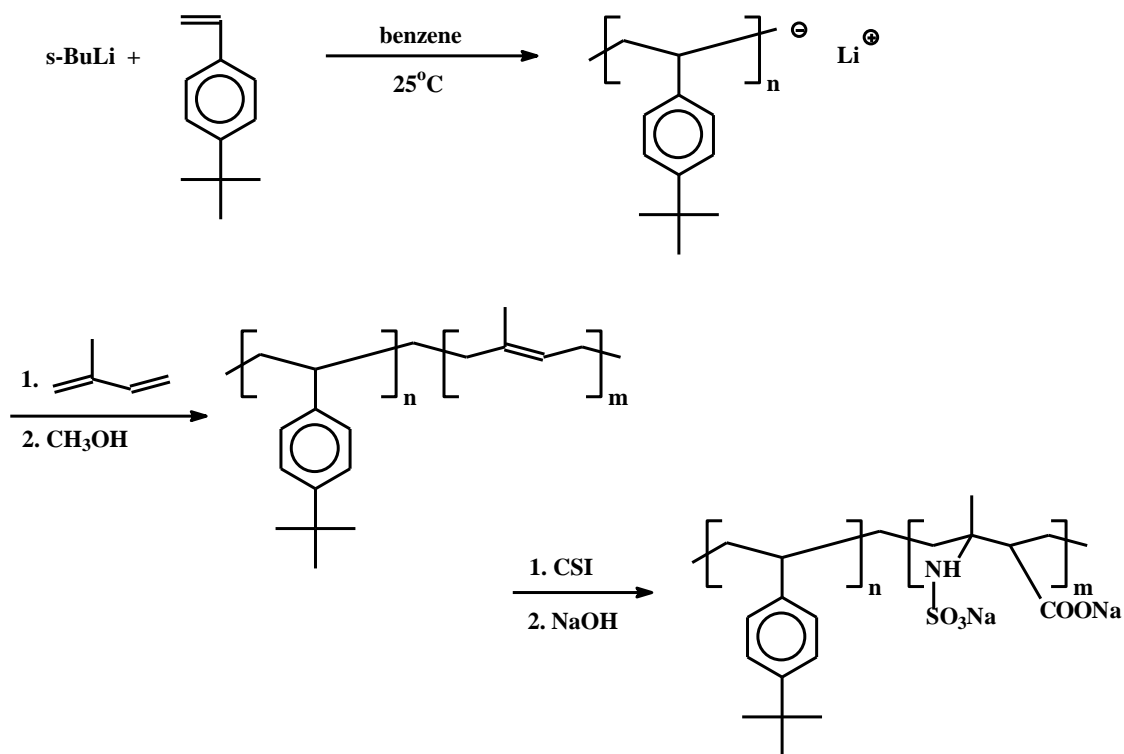
Σχήμα 9. Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PS-SCPI.



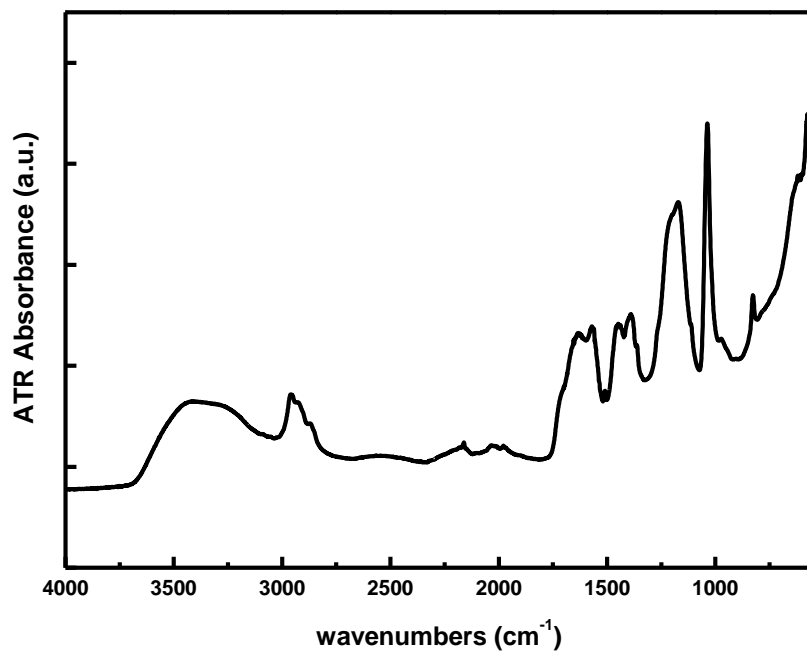
Σχήμα 10. Φάσμα ¹³C-NMR του συμπολυμερούς PS-SCPI.



Σχήμα 11. Φάσμα FTIR των συμπολυμερών PS-PI και PS-SCPI.

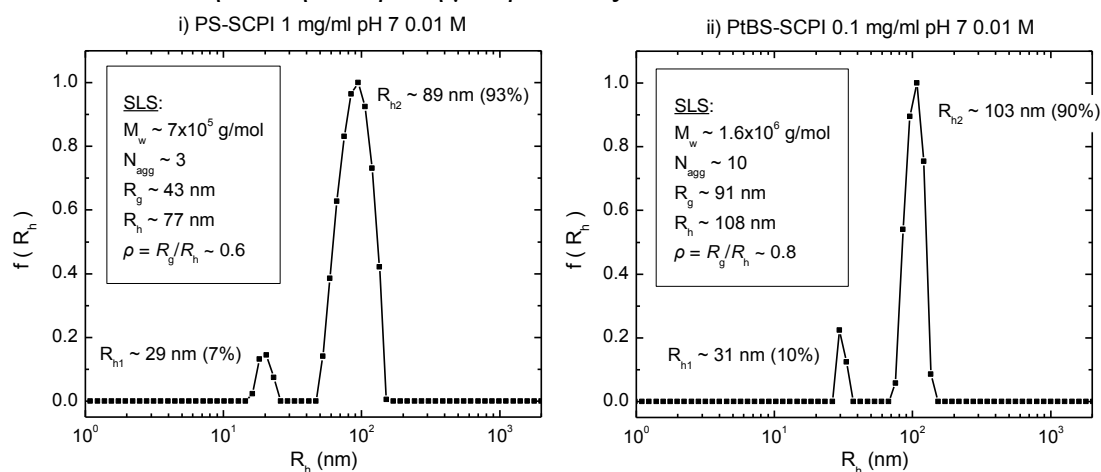


Σχήμα 12. Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PtBS-SCPI.



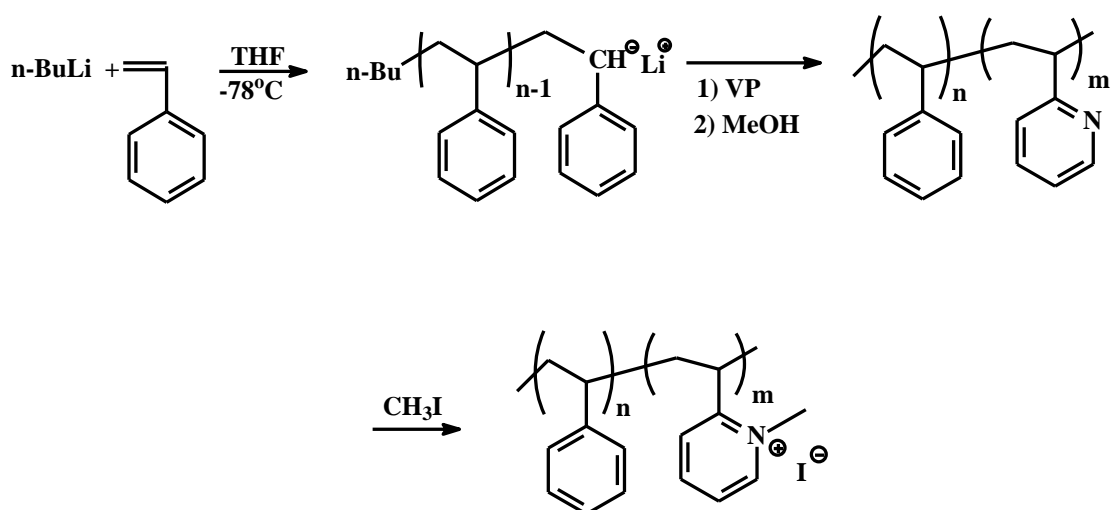
Σχήμα 13. Φάσμα FTIR του συμπολυμερούς PtBS-SCPI

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της αυτοοργάνωσης των αποκρίσιμων δισυσταδικών συμπολυμερών πολυ(στυρενίου-b-(σουλφάμινο/καρβόξυλο)ισοπρενίου) (PS-SCPI) και πολυ(τριτοταγούς βουτυλοστυρενίου-b-(σουλφάμινο/καρβόξυλο)ισοπρενίου) (PtBS-SCPI). Τα συμπολυμερή σχηματίζουν σφαιρικά μικκήλια κατά τη διάλυσή τους σε υδατικά μέσα, τα οποία συνυπάρχουν στο διάλυμα με ελεύθερες μεμονωμένες δισυσταδικές αλυσίδες, όπως διαπιστώθηκε μέσω μετρήσεων δυναμικής και στατικής σκέδασης φωτός. Οι κατανομές των υδροδυναμικών ακτίνων, R_h , του συστήματος για μετρήσεις δυναμικής σκέδασης σε γωνία 90° διαλυμάτων του συμπολυμερούς PS-SCPI συγκέντρωσης 1 mg/ml και του συμπολυμερούς PtBS-SCPI συγκέντρωσης 0.1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M παρουσιάζονται στο Σχήμα 14, ενώ τα αποτελέσματα των αντίστοιχων μετρήσεων στατικής σκέδασης αναφορικά με τις τιμές των M_w , N_{agg} , R_g , R_h , και ρ , παρατίθενται στα ένθετα πλαίσια. Από τα δύο παραπάνω συμπολυμερή, ως καταλληλότερο για χρήση στον σχηματισμό χμιαϊκών νανοδομών με πρωτεΐνες κρίθηκε το συμπολυμερές PtBS-SCPI, καθώς σχηματίζει μικκήλια με μεγαλύτερο αριθμό συσσωμάτωσης και επομένως πυκνότερη πολυηλεκτρολυτική κορώνα SCPI. Επίσης η μεγαλύτερη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης της συστάδας PtBS, που σχηματίζει τον υδρόφοβο πυρήνα, κάνει πιο σταθερή τη νανοδομή των μικκυλίων υπό την επίδραση εξωτερικών παραγόντων αλλά και κατά την αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες.

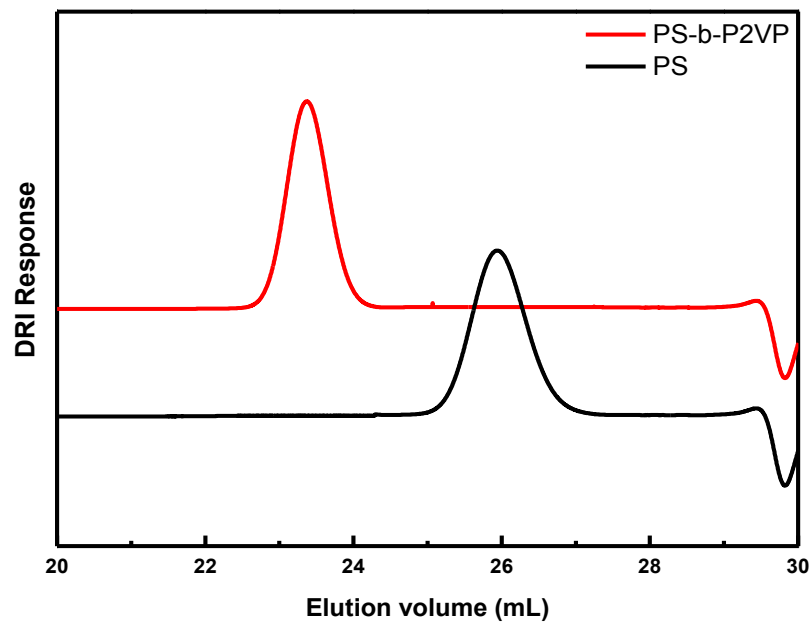


Σχήμα 14: Κατανομές των υδροδυναμικών ακτίνων στις 90° , για διάλυμα του συμπολυμερούς i) PS-SCPI συγκέντρωσης 1 mg/ml και ii) PtBS-SCPI συγκέντρωσης 0.1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M. Στα ένθετα πλαίσια παρατίθενται τα αντίστοιχα αποτελέσματα μετρήσεων στατικής σκέδασης.

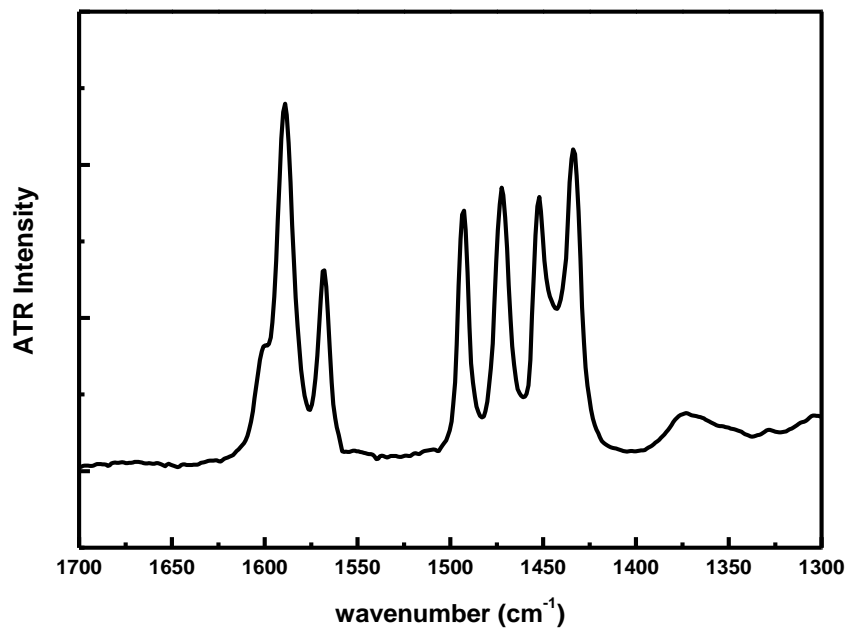
4. Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπολυμερών πολυ(στυρενίου-*b*-2-βινυλοπυριδίνης) (PS-P2VP) με μοριακό βάρος $M_w=70000$ (και κατά βάρος σύσταση 44% PS και 56% P2VP) καθώς και το αντίστοιχο τυχαίο συμπολυμερές με παρόμοιο μοριακό βάρος $M_w=45000$ (και σύσταση 47% PS και 53% P2VP), επίσης έγινε σύνθεση και του πολυ(στυρενίου-*b*-τεταρτοταγούς άλατος 2-βινυλοπυριδίνης) (PS-QP2VP). Χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές ανιοντικού πολυμερισμού, ξεκινώντας από τη συστάδα PS, δίνοντας συμπολυμερές με μικρή κατανομή μοριακών βαρών και ελεγχόμενο μοριακό βάρος και σύσταση, όπως έδειξε ο μοριακός χαρακτηρισμός. Το συμπολυμερές σχηματίζει σφαιρικά μικρήλια σε υδατικά διαλύματα, μετά από προσθήκη διαλύματός του σε THF σε όξινο νερό (pH=3) (η συστάδα PS αποτελεί τον υδρόφοβο πυρήνα και η πρωτονιωμένη συστάδα P2VP (^+HP2VP) την θετικά φορτισμένη κορώνα). Μέρος του PS-P2VP μετατράπηκε σε PS-QP2VP με αντίδραση με μεθυλοϊωδίδιο, που μετέτρεψε τη συστάδα P2VP σε κατιοντικό πολυηλεκτρολύτη (QP2VP). Διάλυση του PS-QP2VP σε DMF και κατόπιν dialysis με νερό, οδηγεί σε σχηματισμό σφαιρικών μικρήλιων με κορώνα τη συστάδα QP2VP, που μπορεί να αλληλεπιδράσει με αρνητικά φορτισμένες πρωτεΐνες σε οποιοδήποτε pH προς σχηματισμό χμαιοικρών 3D νανοδομών.



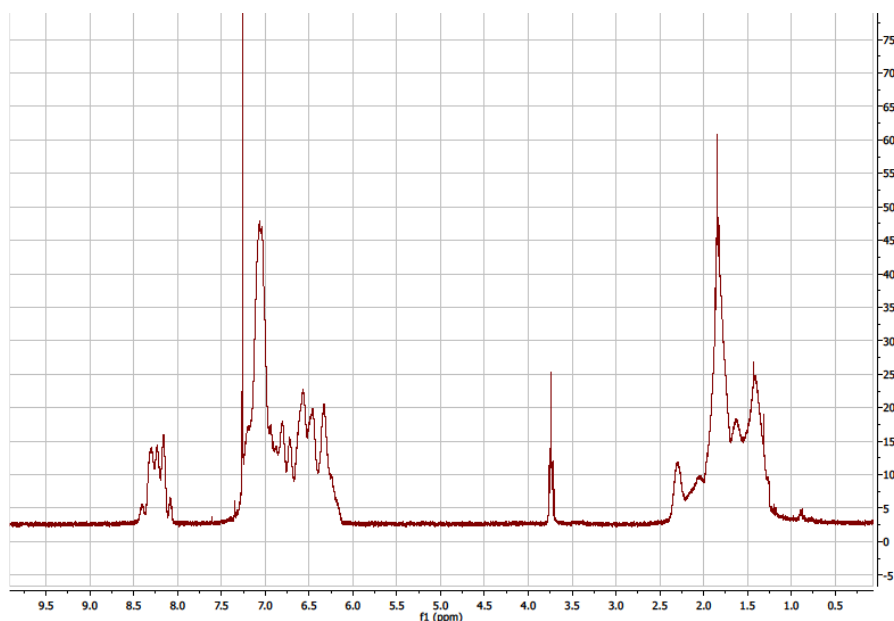
Σχήμα 15. Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PS-*b*-P2VP και του συμπολυμερούς PS-QP2VP.



Σχήμα 16. Χρωματογράφημα SEC του συμπολυμερούς PS-b-P2VP.

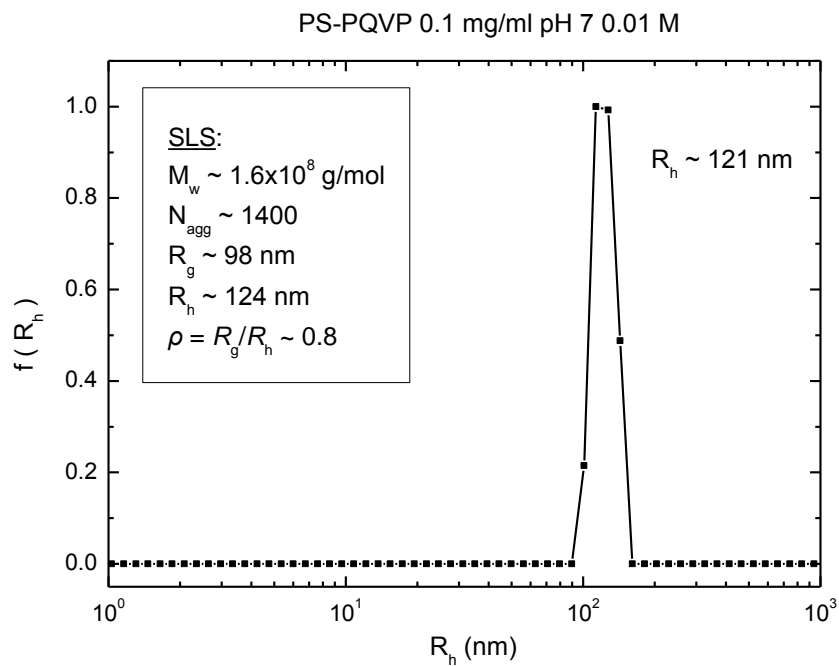


Σχήμα 17. Φάσμα FTIR του συμπολυμερούς PS-b-P2VP.



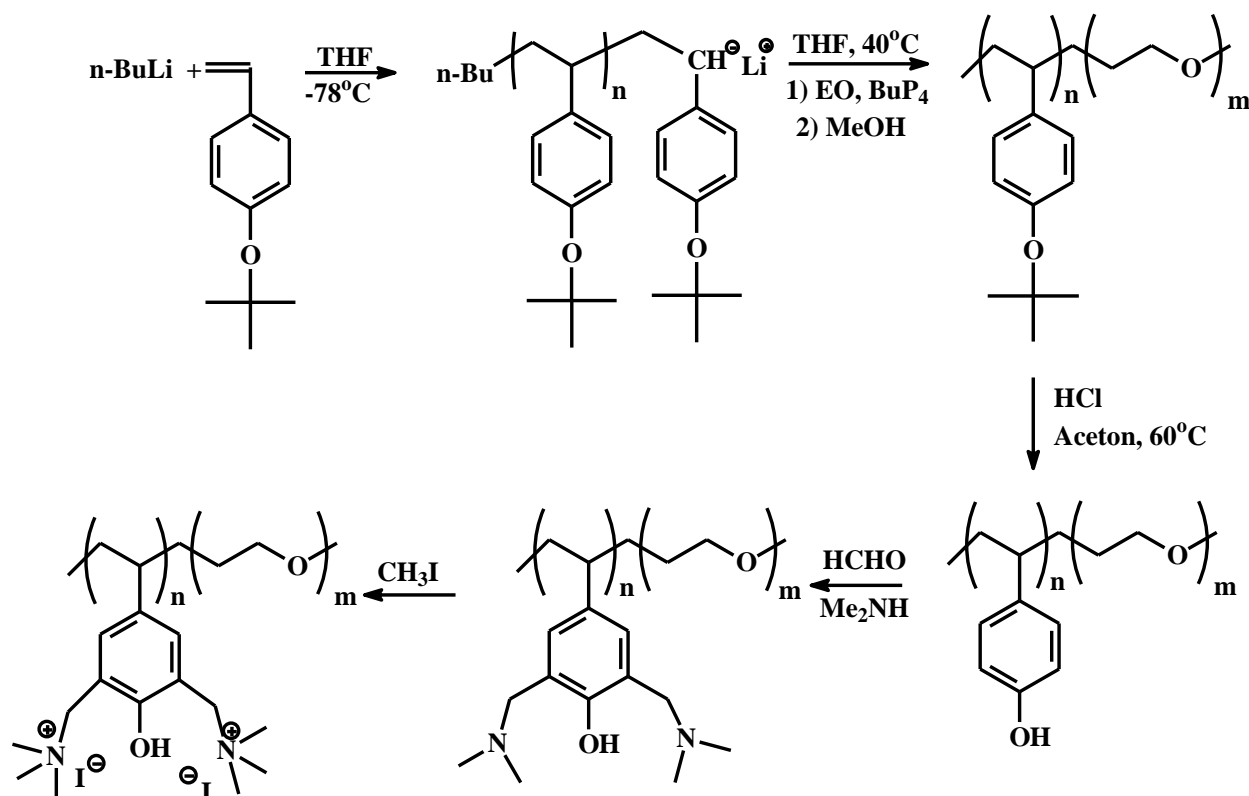
Σχήμα 18: Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπολυμερούς PS-b-P2VP

Ακολούθησε μελέτη της αυτοοργάνωσης ενός συμπολυμερούς κατά συστάδες πολυ(στυρενίου-*b*-τεταρτοταγοποιημένης βινυλοπυριδίνης) (PS-PQVP). Η διαλυτοποίηση του συγκεκριμένου συμπολυμερούς έγινε με χρήση οργανικού συνδιαλύτη DMF, ο οποίος απομακρύνθηκε με τη μέθοδο της διαπίδυσης μέσω ημιπερατής μεμβράνης σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M. Η τελική συγκέντρωση του συμπολυμερούς στο υδατικό διάλυμα ήταν 1 mg/ml. Ενδεικτικές μετρήσεις δυναμικής (DLS) και στατικής (SLS) σκέδασης φωτός διαλύματος σε αραιώση 1:10 ως προς το αρχικό κατέδειξαν ότι στην υδατική φάση το συμπολυμερές PS-PQVP σχηματίζει σφαιρικά μικκύλια με υδροδυναμική ακτίνα $R_h \approx 121$ nm και ιδιαίτερα μεγάλο βαθμό συσσωμάτωσης, $N_{agg} \approx 1400$. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στο υψηλό μοριακό βάρος της υδρόφοβης συστάδας (M_w PS = 50.6 kg/mol). Στο Σχήμα 19 παρουσιάζεται η κατανομή των υδροδυναμικών ακτίνων, R_h , του συστήματος για μετρήσεις δυναμικής σκέδασης σε γωνία 90° , ενώ στο ένθετο πλαίσιο παρατίθενται οι τιμές των M_w , N_{agg} , R_g , R_h και ρ που εξάγονται μέσω των αντίστοιχων μετρήσεων στατικής σκέδασης.



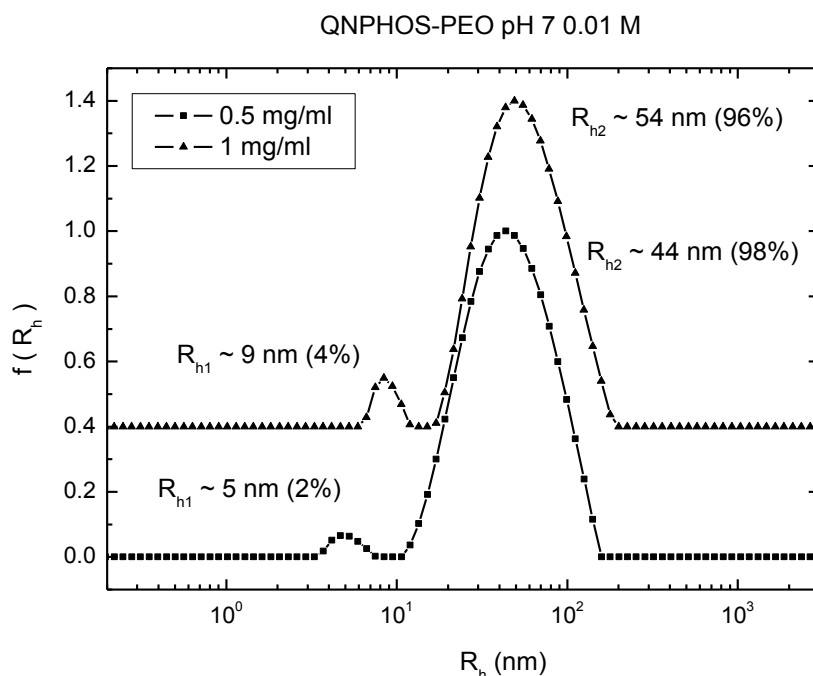
Σχήμα 19: Κατανομή των υδροδυναμικών ακτίνων στις 90°, για διάλυμα του συμπολυμερούς PS-PQVP συγκέντρωσης 0.1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M. Στο ένθετο πλαίσιο παρατίθενται τα αντίστοιχα αποτελέσματα μετρήσεων στατικής σκέδασης.

5. Σύνθεση και χαρακτηρισμός συμπολυμερούς αμμωνιακό άλας του πολυ(3,5-δισ-(διμεθυλαμινο μεθυλένο)υδρόξυ στυρενίου-b-αιθυλενοξειδίου) (QPNPHOS-PEO). Αρχικά παρασκευάστηκε το πρόδρομο συμπολυμερές πολυ(τριτοταγές βουτόξυ στυρενιο-b-αιθυλενοξειδίο) (PtBOS-PEO) με τεχνικές ανιοντικού πολυμερισμού. Το πρόδρομο συμπολυμερές έχει στενή κατανομή μοριακών βαρών και το επιθυμητό μοριακό βάρος και σύσταση. Ακολούθως οι τριτοταγείς βουτόξυ ομάδες της συστάδας PtBOS υδρολύθηκαν σε όξινες συνθήκες και προέκυψε το συμπολυμερές πολυ(υδρόξυ στυρενίου-b-αιθυλενοξειδίου) (PHOS-PEO). Με την εφαρμογή αντίδρασης τύπου Mannich εισήχθησαν δύο ομάδες μεθυλενοδιμεθυλαμίνης σε κάθε βενζολικό δακτύλιο της συστάδας PHOS προς σχηματισμό του συμπολυμερούς πολυ(3,5-δισ-(διμεθυλαμινο μεθυλένο)υδρόξυ στυρενίου-b-αιθυλενοξειδίου) (QPNPHOS-PEO). Οι τριτοταγείς αμινομάδες μετατράπηκαν σε αμμωνιακά άλατα με αντίδραση με μεθυλοϊωδίδιο για να παρασκευαστεί το συμπολυμερές αμμωνιακό άλας του πολυ(3,5-δισ-(διμεθυλαμινο μεθυλένο)υδρόξυ στυρενίου-b-αιθυλενοξειδίου) (QPNPHOS-PEO). Μοριακός χαρακτηρισμός των ενδιάμεσων και τελικού προϊόντος με φασματοσκοπικές τεχνικές κατέδειξε την επιτυχή σύνθεση του συμπολυμερούς QPNPHOS-PEO, με μια κατιοντική συστάδα QPNPHOS (θετικά φορτισμένη σε όλη την χρήσιμη περιοχή pH με δύο θετικά φορτία ανά δομική μονάδα) και μια υδατοδιαλυτή μη φορτισμένη συστάδα PEO.



Σχήμα 20. Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς QPNPHOS-PEO.

Στη συνέχεια έγινε μελέτη της αυτοοργάνωσης του συμπολυμερούς πολυ(3,5-δισ-(διμεθυλάμινο μεθυλένο)υδρόξυ στυρενίου-b-αιθυλενοξειδίου) (QNPPOS-PEO). Αρχικά πραγματοποιήθηκε διάλυση του συμπολυμερούς σε υδατικό ρυθμιστικό διάλυμα με pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M και χαρακτηρισμός με τεχνικές δυναμικής (DLS) και στατικής (SLS) σκέδασης φωτός, συναρτήσεως της συγκέντρωσης. Οι κατανομές των υδροδυναμικών ακτίνων, R_h , του συστήματος για μετρήσεις δυναμικής σκέδασης σε γωνία 90° διαλυμάτων συγκέντρωσης 0.5 και 1 mg/ml παρουσιάζεται στο Σχήμα 21, ενώ τα αποτελέσματα των αντίστοιχων μετρήσεων στατικής σκέδασης αναφορικά με τις τιμές των M_w , N_{agg} , R_g , R_h , και ρ , παρατίθενται στον Πίνακα 1. Όπως διαπιστώνεται, στα διαλύματα του συμπολυμερούς συνυπάρχουν ελεύθερες μεμονωμένες αλυσίδες (κορυφή 1), καθώς και συσσωματώματα αλυσίδων (κορυφή 2), τα οποία χαρακτηρίζονται από σχετικά χαλαρή διαμόρφωση και πιθανότατα σχηματίζονται λόγω των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των αλυσίδων. Μάλιστα, το μέγεθος και ο αριθμός των αλυσίδων που αποτελούν τα συσσωματώματα αυτά εξαρτώνται από τη συγκέντρωση του συμπολυμερούς στο διάλυμα.

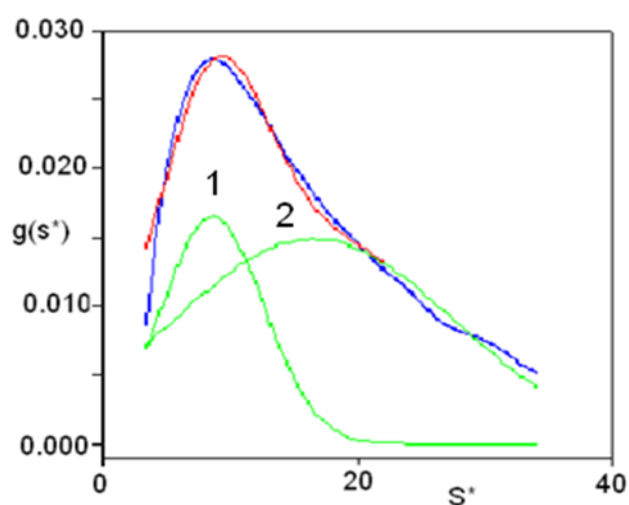


Σχήμα 21: Κατανομές των υδροδυναμικών ακτίνων στις 90° , για διαλύματα του συμπολυμερούς QNPPOS-PEO συγκέντρωσης 0.5 και 1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M.

Πίνακας 1: Αποτελέσματα μετρήσεων στατικής σκέδασης φωτός για διαλύματα του συμπολυμερούς QNPHOS-PEO συγκέντρωσης 0.5 και 1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M.

Συγκέντρωση	M_w (10^5 g mol^{-1})	N_{agg}	R_g (nm)	R_h (nm)	$\rho = R_g/R_h$
0.5 mg/ml	5.1	5	58	42	1.4
1 mg/ml	10.4	11	78.5	57.5	1.4

Επιπρόσθετες μετρήσεις αναλυτικής υπερφυγοκέντρωσης (AUC) για διάλυμα του συμπολυμερούς QNPHOS-PEO συγκέντρωσης 1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M επιβεβαίωσαν το σχηματισμό συσσωματωμάτων πολυμερικών αλυσίδων. Συγκεκριμένα, η ληφθείσα κατανομή του φαινομένου συντελεστή καθίζησης, S^* , που παρουσιάζεται στο Σχήμα 22, αναλύεται σε δύο επιμέρους κορυφές (ένδειξη της ύπαρξης δύο πληθυσμών στο διάλυμα) στις οποίες αντιστοιχούν οι τιμές S^* που παρατίθενται στον Πίνακα 2. Μέσω των τιμών του συντελεστή S^* υπολογίζονται οι αντίστοιχες τιμές του φαινομένου συντελεστή διάχυσης, D^* , καθώς και του ενεργού μοριακού βάρους, M_w , και κατ' επέκταση του αριθμού συσσωμάτωσης, N_{agg} , για κάθε πληθυσμό, οι οποίες επίσης παρατίθενται στον Πίνακα 2.

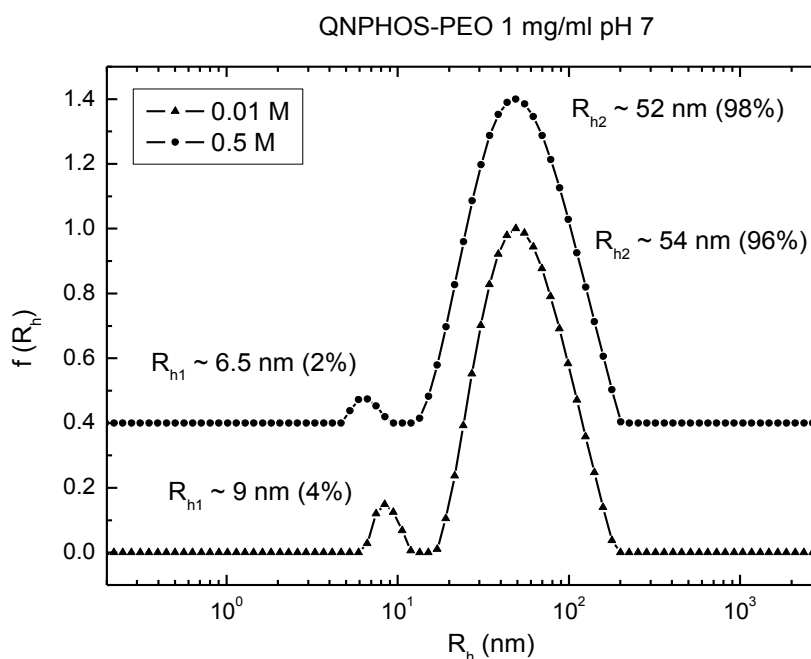


Σχήμα 22: Κατανομή του φαινομένου συντελεστή καθίζησης, S^* , για διάλυμα του συμπολυμερούς QNPHOS-PEO συγκέντρωσης 1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M.

Πίνακας 2: Αποτελέσματα της ανάλυσης της κατανομής του φαινόμενου συντελεστή καθίζησης, S^* , για διάλυμα του συμπολυμερούς QNPHOS-PEO συγκέντρωσης 1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 M.

Κορυφή	S^* (S)	D^* ($10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$)	M_w (10^5 g mol^{-1})	N_{agg}
1	6.6	0.74	10.5	11
2	16	5.5	2.7	3

Τέλος, διαπιστώθηκε ότι η αύξηση της ιοντικής ισχύος του διαλύματος από 0.01 σε 0.5 M φαίνεται να μην επηρεάζει σημαντικά το μέγεθος των δύο πληθυσμών σωματιδίων στο διάλυμα, καθώς και το σχηματισμό των συσσωματωμάτων, όπως φαίνεται στο Σχήμα 23, όπου παρουσιάζονται οι κατανομές των R_h στις 90° , για διαλύματα του συμπολυμερούς QNPHOS-PEO συγκέντρωσης 1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 και 0.5 M.

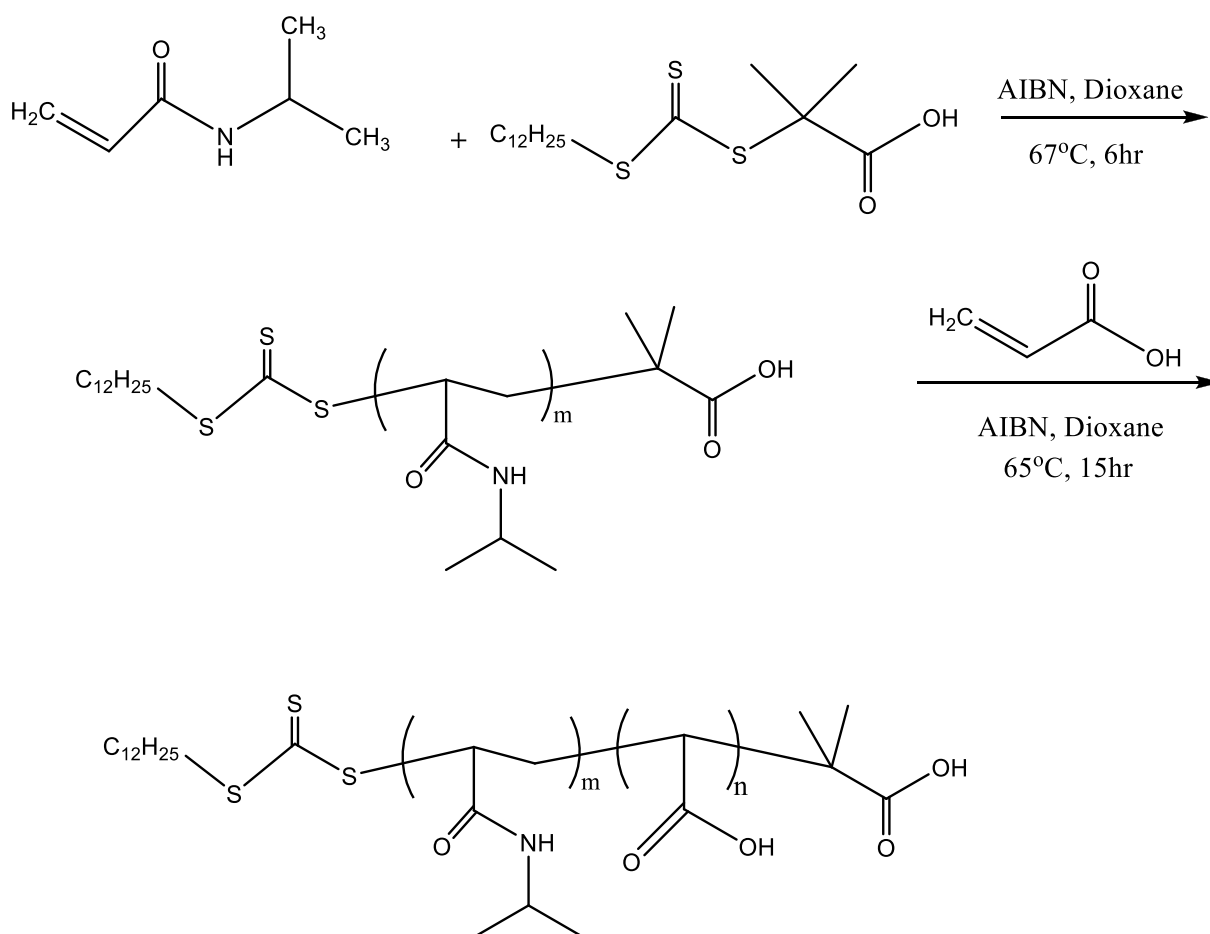


Σχήμα 23: Κατανομές των υδροδυναμικών ακτίνων στις 90° , για διαλύματα του συμπολυμερούς QNPHOS-PEO συγκέντρωσης 1 mg/ml σε pH 7 και ιοντική ισχύ 0.01 και 0.5 M.

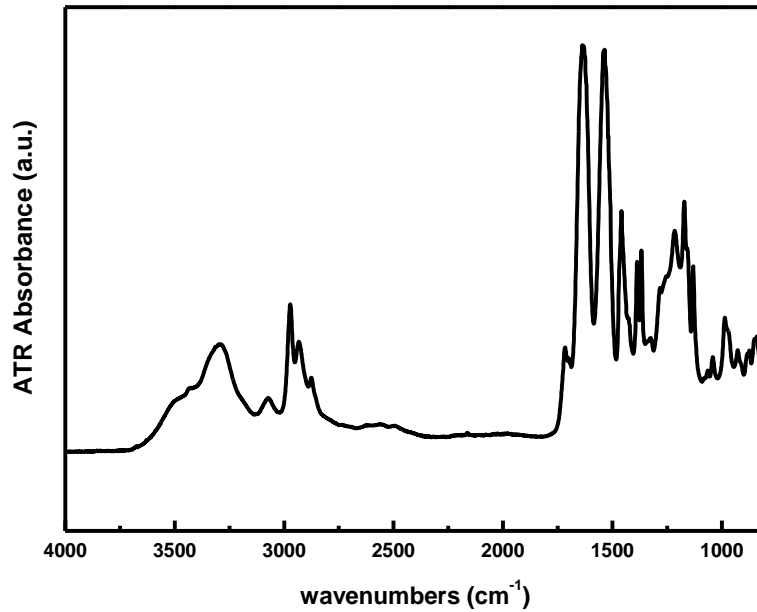
6. Σύνθεση και χαρακτηρισμός των συμπολυμερών PNIPAM-PAA με διαφορετικά μοριακά βάρη και διαφορετικές αναλογίες μεταξύ των δύο συστάδων. Τα μοριακά τους χαρακτηριστικά παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 3). Ο φασματοσκοπικός τους χαρακτηρισμός έγινε με FTIR, NMR.

Πίνακας 3: Μοριακά χαρακτηριστικά των συμπολυμερών PNIPAM-PAA

Συμπολυμερές	M_w	%wt PAA
PNIPAM20k-PAA-1	40000	50%
PNIPAM20k-PAA-2	57000	30%
PNIPAM6k-PAA	7800	30%

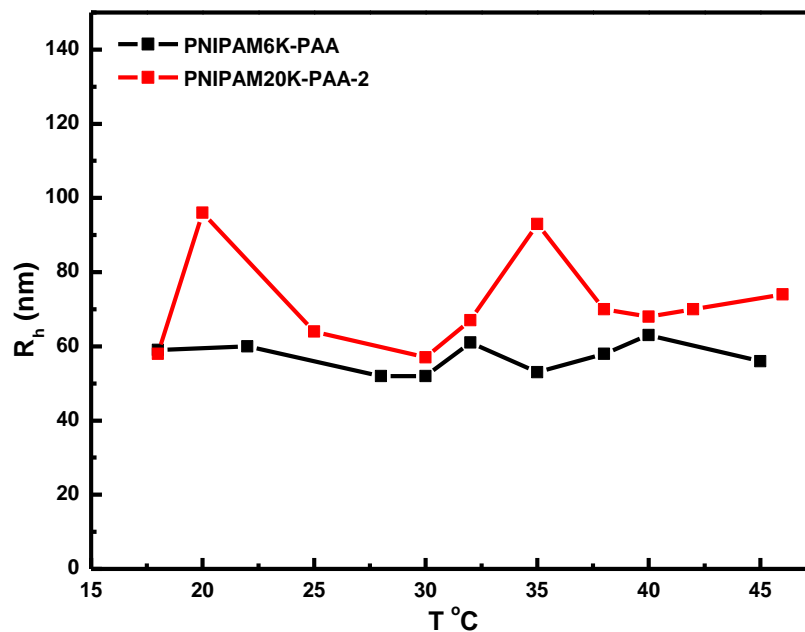


Σχήμα 24: Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PNIPAM-PAA.



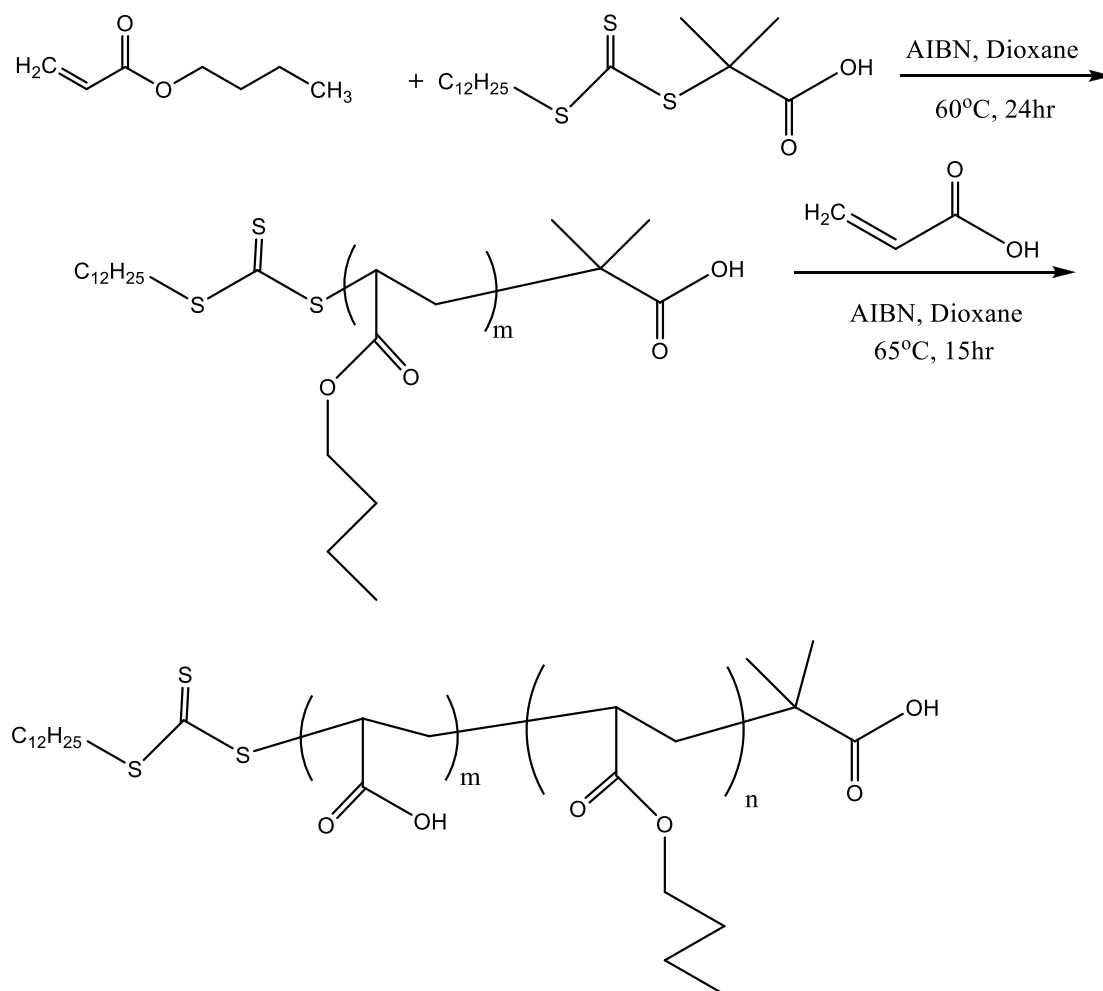
Σχήμα 25: Φάσμα FTIR του συμπολυμερούς PNIPAM-PAA.

Επίσης, έγινε μελέτη της αυτοοργάνωσης των συμπολυμερών αυτών σε υδατικά διαλύματα μεταβάλλοντας το pH και τη θερμοκρασία. Παρατηρήθηκε ότι το μέγεθος των συσσωματωμάτων που σχηματίζεται επηρεάζεται ελάχιστα από την θερμοκρασία, όπως απεικονίζεται στο σχήμα 26, παρόλο που η αύξησή της οδηγεί στην αύξηση της υδροφοβικότητας της συστάδας του PNIPAM. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην ύπαρξη δευτερογενών δεσμών (δεσμών υδρογόνου) μεταξύ των συστάδων που δεν επιτρέπουν την αλλαγή της διαμόρφωσης της συστάδας PNIPAM καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία.



Σχήμα 26: Μέγεθος των συσσωματωμάτων του PNIPAM-PAA σε δύο διαφορετικές αναλογίες σε συνάρτηση με την αύξηση της θερμοκρασίας.

7. Μια σειρά δισυσταδικών συμπολυμερών πολυ(ακρυλικού η-βουτυλεστέρα-β-ακρυλικού οξέος) (PnBA-PAA) με διαφορετικά μοριακά βάρη και διαφορετικές αναλογίες μεταξύ των δύο συστάδων συντέθηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική RAFT πολυμερισμού. Αρχικά έγινε ο πολυμερισμός του PnBA ώστε να προκύψουν δύο ομοπολυμερή PnBA με διαφορετικό μοριακό βάρος, το PnBA3 με $M_w=3200$ και το PnBA12 με $M_w=12000$. Στη συνέχεια, χρησιμοποιώντας το ομοπολυμερές με το μικρότερο μοριακό βάρος PnBA3, συντέθηκαν τα συμπολυμερή PnBA3-PAA με μοριακό βάρος $M_w=6400$ (και σύσταση 50% PAA και 50% PnBA) και PnBA3-PAA με μοριακό βάρος $M_w=21000$ (και σύσταση 85% PAA και 15% PnBA). Επίσης χρησιμοποιώντας το ομοπολυμερές με το μεγαλύτερο μοριακό βάρος PnBA12, συντέθηκαν τα συμπολυμερή PnBA12-PAA με μοριακό βάρος $M_w=24000$ (και σύσταση 50% PAA και 50% PnBA) και PnBA12-PAA με μοριακό βάρος $M_w=40000$ (και σύσταση 30% PAA και 70% PnBA). Συνοπτικά, τα μοριακά χαρακτηριστικά των συμπολυμερών παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.



Σχήμα 27: Συνθετική πορεία για τη σύνθεση των συμπολυμερών PnBA-PAA.

Πίνακας 4: Μοριακά χαρακτηριστικά των συμπολυμερών PnBA-PAA.

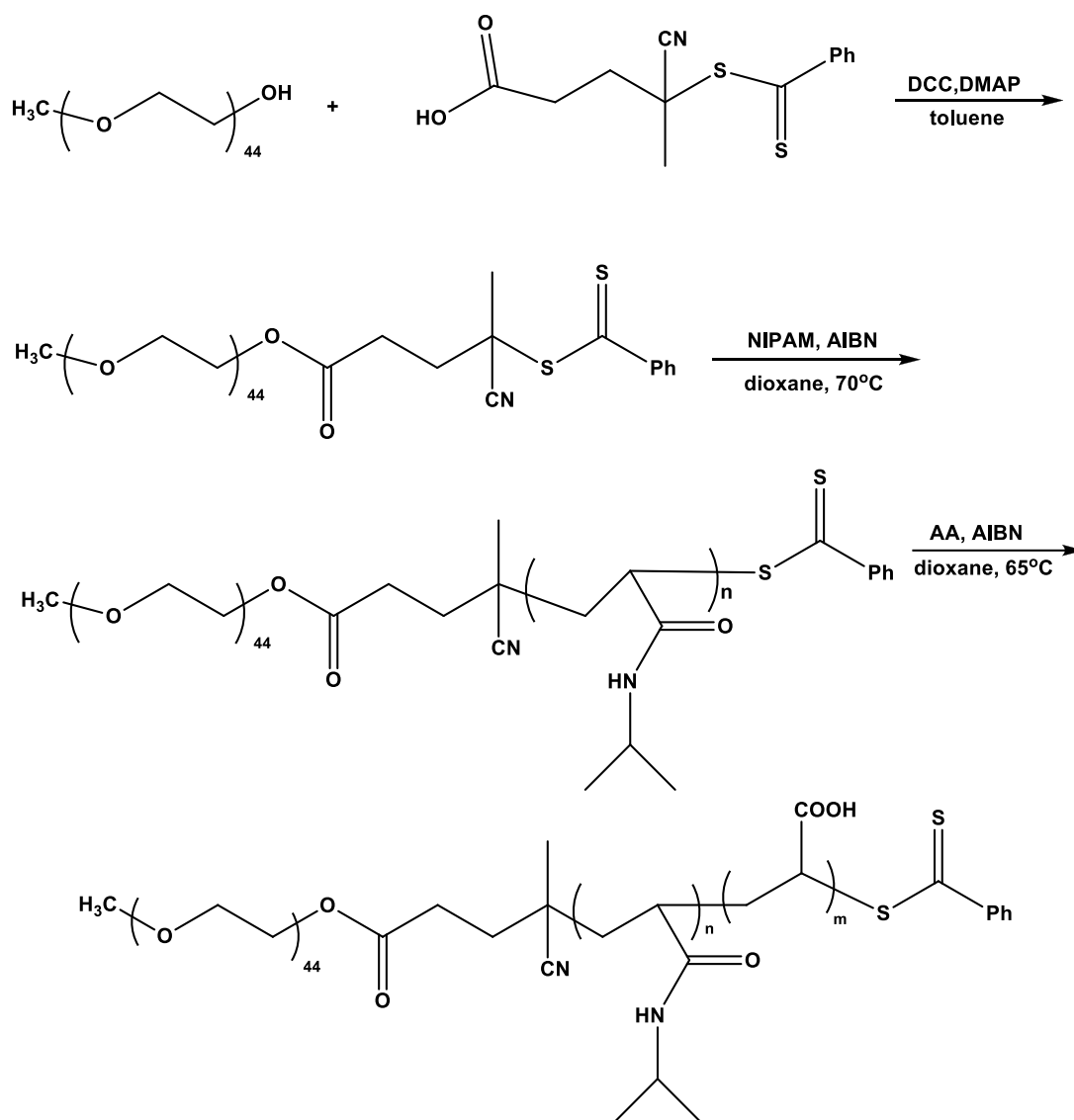
Συμπολυμερές	M_w	%wt PAA
PnBA3-PAA-1	6400	50%
PnBA3-PAA-2	10000	70%
PnBA3-PAA-3	21000	85%
PnBA12-PAA-1	24000	50%
PnBA12-PAA-2	40000	70%

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η αυτοοργάνωση των συμπολυμερών αυτών σε υδατικά διαλύματα καθώς και οι μεταβολές που παρατηρούνται λόγω αλλαγής της ιοντικής ισχύος, όπως αυτή συνοψίζεται στον παρακάτω πίνακα.

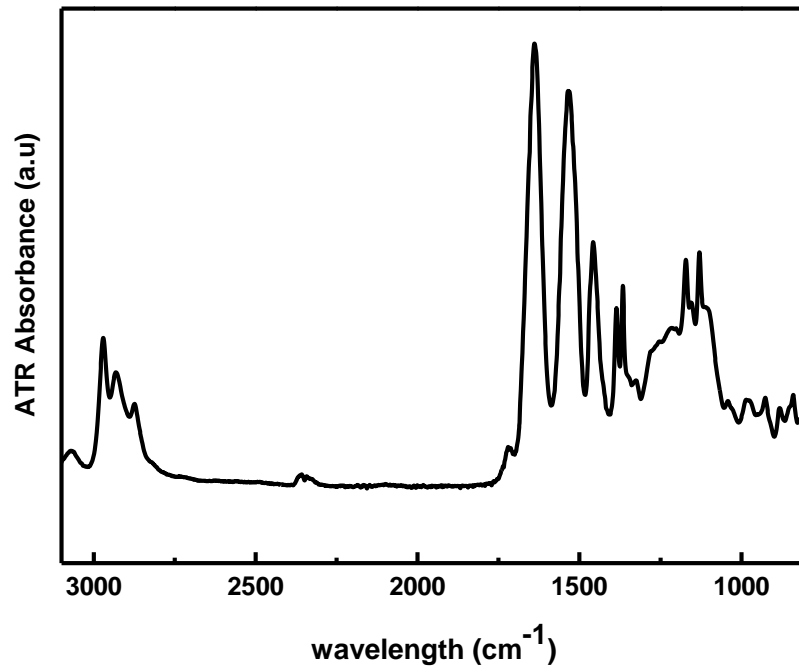
Πίνακας 5: Αυτοοργάνωση των συμπολυμερών PnBA-PAA σε υδατικό διάλυμα και οι μεταβολές που παρατηρούνται λόγω αλλαγής της ιοντικής ισχύος.

Συμπολυμερές	PnBA3-PAA-1 (no salt)	PnBA3-PAA-1 NaCl 0.01M	PnBA3-PAA-1 NaCl 0.1M	PnBA12-PAA-1 (no salt)	PnBA12-PAA-1 NaCl 0.01M	PnBA12-PAA-1 NaCl 0.1M
R_g (nm)	49±2	53±2	55±2	51±2	48±2	55±2
R_h (nm)	62±2	60±2	61±2	80±2	74±2	72±2
$\rho=R_g/R_h$	0.79	0.88	0.90	0.64	0.65	0.76
N_{agg}	230±20	240±20	230±20	75±10	75±10	83±10

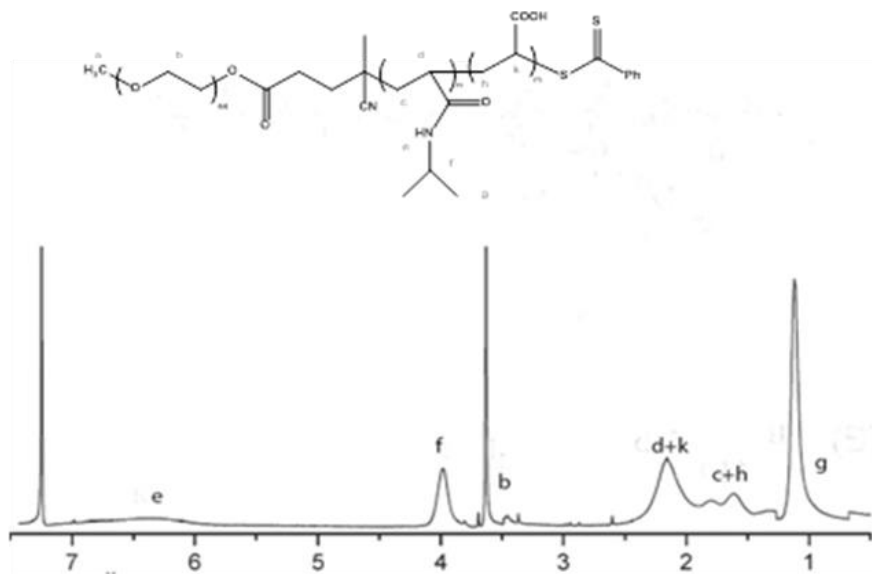
8. Στη συνέχεια, χρησιμοποιώντας την τεχνική ελεγχόμενου ριζικού πολυμερισμού RAFT και το CTA S-1-δωδεκυλο-S'-(α,α'-διμεθυλο-α''-οξικό οξύ)τριθειοκαρβονικό εστέρας, συντέθηκε το τρισυσταδικό συμπολυμερές πολυ(αιθυλενοξείδιο-b-N-ισοπροπυλοακρυλαμίδιο-b-ακρυλικό οξύ) (PEO-PNIPAM-PAA). Το συμπολυμερές που συντέθηκε έχει μικρή κατανομή μοριακών βαρών και συγκεκριμένα Mw=56000 για το PEO-PNIPAM-PAA (25% PAA, 68% PNIPAM και 7% PEO).



Σχήμα 28. Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PEO-PNIPAM-PAA



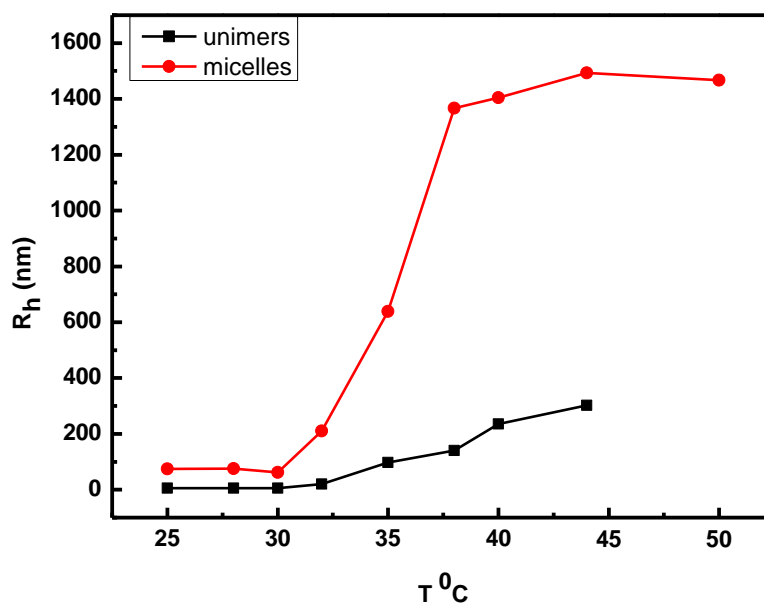
Σχήμα 29. Φάσμα FTIR του συμπολυμερούς PEO-PNIPAM-PAA



Σχήμα 30. Φάσμα $^1\text{H-NMR}$ του συμπολυμερούς PEO-PNIPAM-PAA

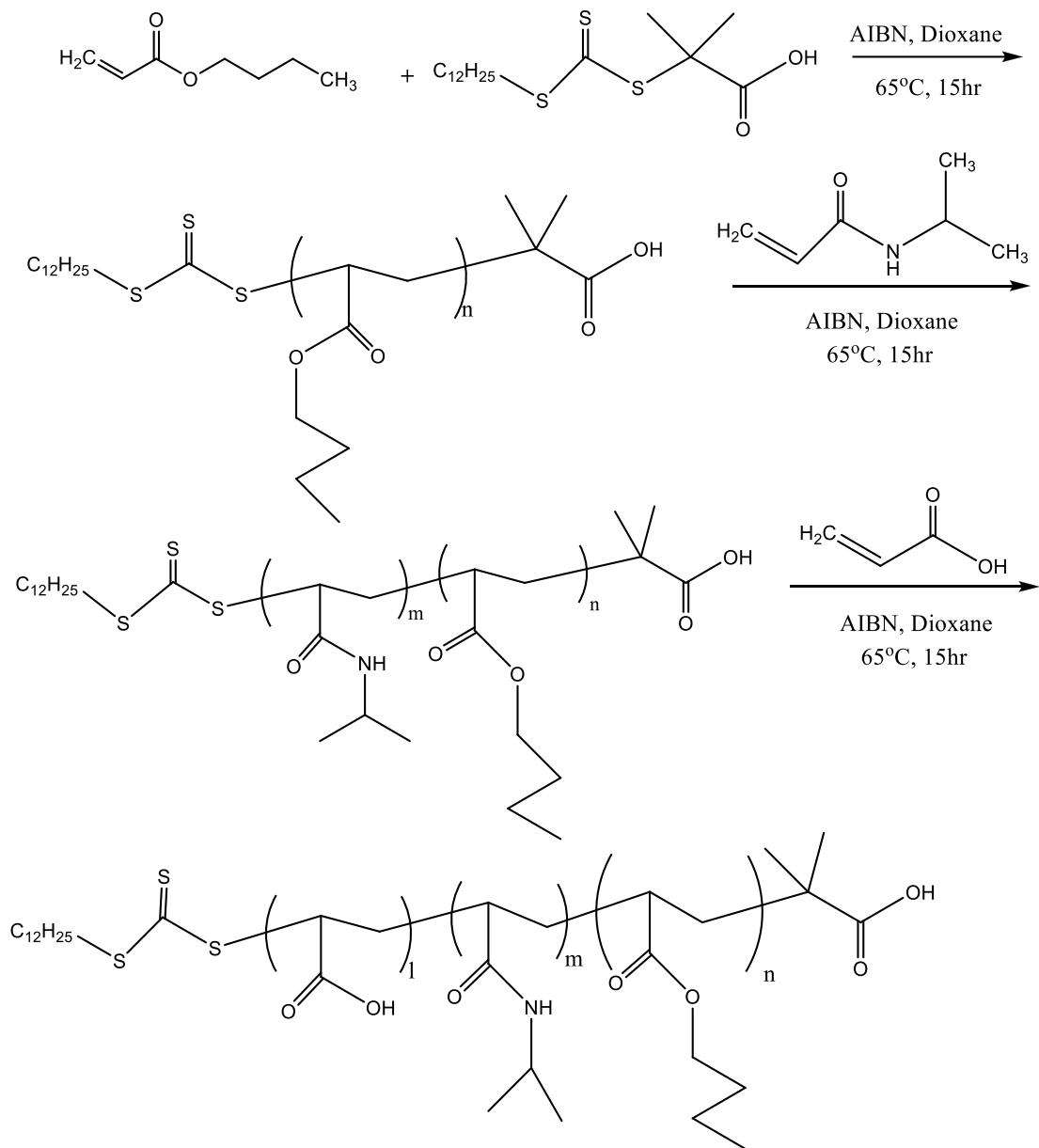
Έγινε μελέτη της αυτοοργάνωσης του PEO-PNIPAM-PAA σε υδατικά διαλύματα χρησιμοποιώντας τις τεχνικές της δυναμικής και στατικής σκέδασης φωτός (DLS και SLS). Παράλληλα, μελετήθηκε και η θερμική του απόκριση. Παρατηρήθηκε ότι η θερμοκρασία LCST είναι στους 32°C όταν το συμπολυμερές διαλυθεί σε νερό και σε pH 7. Σε θερμοκρασίες κάτω από τους 32°C παρατηρούνται τόσο unimers όσο και μεγαλύτερα συσσωματώματα, πιθανόν λόγω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των συστάδων του PEO και των άλλων δομικών μονάδων του συμπολυμερούς που

οδηγούν στην δημιουργία δεσμών H. Καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται και γίνεται μεγαλύτερη των 32°C, το PNIPAM γίνεται υδρόφοβο με αποτέλεσμα να σχηματίζονται συσσωματώματα με μέση διάμετρο μεγαλύτερη του 1μm όπως παρατηρείται στο σχήμα 31.

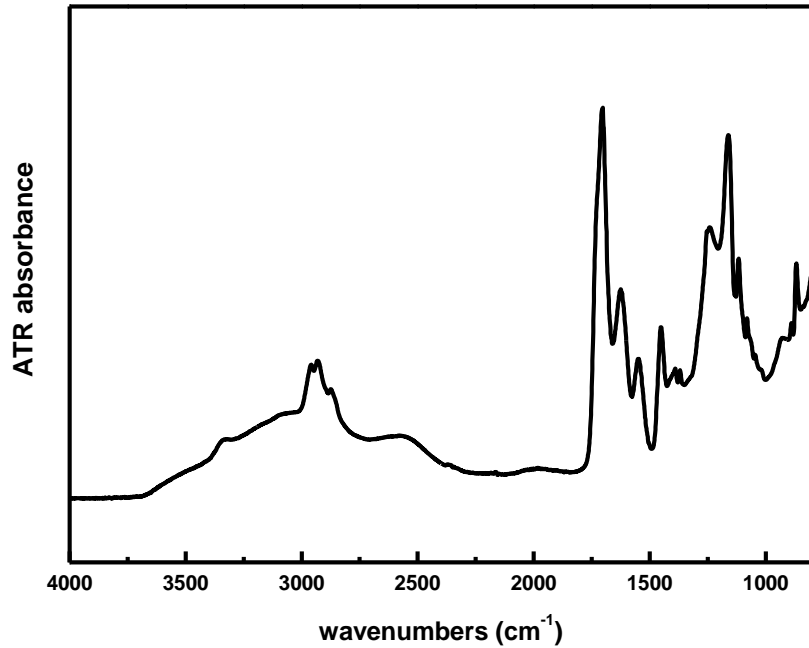


Σχήμα 31: Μέγεθος των unimers και των συσσωματωμάτων του PEO-PNIPAM-PAA σαν συνάρτηση της θερμοκρασίας.

9. Χρησιμοποιώντας την τεχνική ελεγχόμενου ριζικού πολυμερισμού RAFT και το CTA S-1-δωδεκυλο-S'-(α,α'-διμεθυλο-α''-οξείκο οξύ)τριθειοκαρβονικό εστέρας, συντέθηκε το τρισυσταδικό συμπολυμερές πολυ(ακρυλικός n-βουτυλεστέρας-b-N-ισοπροπυλοακρυλαμίδιο-b-ακρυλικό οξύ) (PnBA-PNIPAM-PAA). Το συμπολυμερές που συντέθηκε έχει μικρή κατανομή μοριακών βαρών και συγκεκριμένα $M_w=47000$ (με σύσταση 50% PAA, 46% PNIPAM και 4% PnBA).

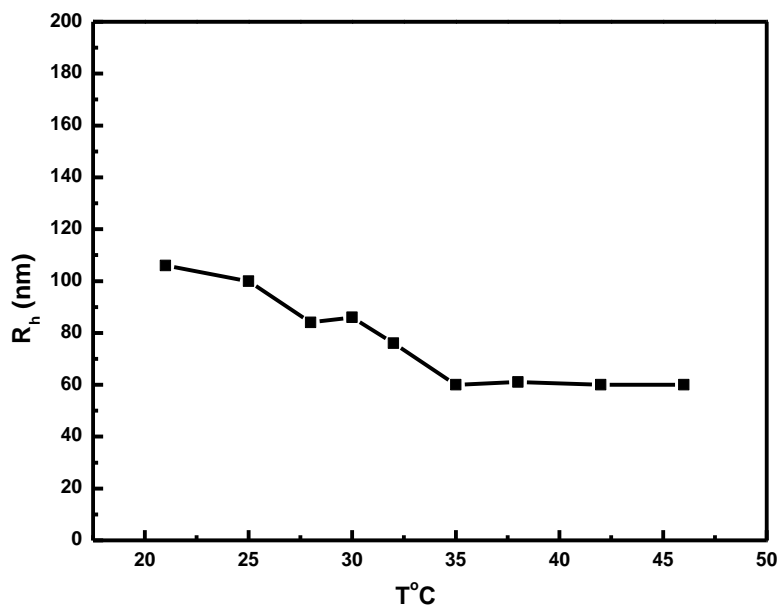


Σχήμα 32: Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PnBA-PNIPAM-PAA.



Σχήμα 33: Φάσμα FTIR του συμπολυμερούς PnBA-PNIPAM-PAA.

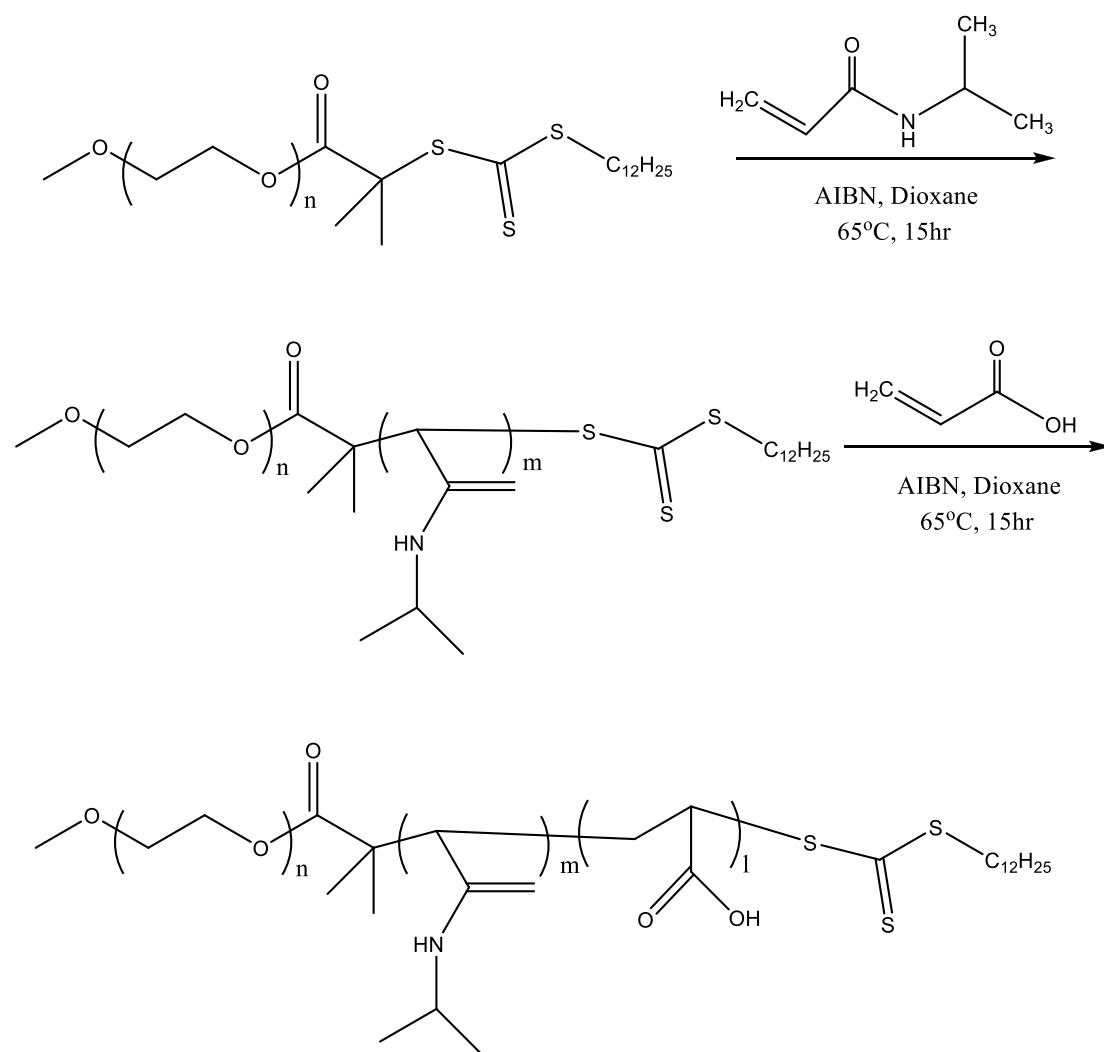
Έγινε μελέτη της αυτοοργάνωσης PnBA-PNIPAM-PAA σε υδατικά διαλύματα χρησιμοποιώντας τις τεχνικές της δυναμικής και στατικής σκέδασης φωτός (DLS και SLS). Παράλληλα, μελετήθηκε και η θερμική του απόκριση. Παρατηρήθηκε ότι σε υδατικά διαλύματα σχηματίζονται μικρήλια με πυρήνα την υδρόφοβη συστάδα PnBA, με εσωτερική στοιβάδα στην κορώνα το θερμοαποκρίσιμο PNIPAM και εξωτερική κορώνα που αποτελείται από την συστάδα του PAA. Τα μικρήλια αυτά είναι χαλαρά συνδεδεμένα μεταξύ τους και εμφανίζουν μέση διάμετρο περίπου 200nm. Αυξάνοντας την θερμοκρασία πάνω από τους 32°C παρατηρείται μείωση του μέσου μεγέθους των μικηλίων στα 120nm καθώς το PNIPAM γίνεται υδρόφοβο με αποτέλεσμα να συρρικνώνεται το μέγεθός τους.



Σχήμα 34: Μέγεθος των μικηλίων του PnBA-PNIPAM-PAA σαν συνάρτηση της θερμοκρασίας

Με την ίδια μέθοδο, συντέθηκε το θερμοαποκρίσιμο τρισυσταδικό συμπολυμερούς πολυ(ακρυλικού οξέος-b-ακρυλικού n-βουτυλεστέρα-b-N-ισοπροπυλοακρυλαμιδίου) (PAA-PnBA-PNIPAM) με μοριακό βάρος $M_w=16000$ και σύσταση 41% PAA, 16% PnBA και 43% PNIPAM.

11. Έγινε επιπλέον η σύνθεση ενός τρισυσταδικού συμπολυμερούς πολυ(αιθιλενογλυκόλη-b-N-ισοπροπυλοακρυλαμιδίου-b-ακρυλικό οξύ) (PEG-b-PNIPAM-b-PAA) χρησιμοποιώντας την τεχνική ελεγχόμενου ριζικού πολυμερισμού RAFT και το PEG-CTA (Poly(ethylene glycol) methyl ether 2-(dodecylthiocarbonothioylthio)-2-methylpropionate). Το τρισυσταδικό συμπολυμερές PEG-b-PNIPAM-b-PAA έχει σύσταση 25% PEG, 56% PNIPAM και 20% PAA, ενώ το μοριακό του βάρος είναι $M_w=20800$. Αρχικά, έγινε η σύνθεση και ο πολυμερισμός του δισυσταδικού PEG-b-PNIPAM παρουσία του PEG-CTA και του AIBN ως απαρχητή σε διαλύτη 1,4-διοξάνη. Στη συνέχεια, αφού απομονώθηκε το συμπολυμερές PEG-b-PNIPAM, έγινε η σύνθεση του τρισυσταδικού συμπολυμερούς PEG-b-PNIPAM-b-PAA με πολυμερισμό του ακρυλικού οξέος.



Σχήμα 35: Συνθετική πορεία για τη σύνθεση του συμπολυμερούς PEG-b-PNIPAM-b-PAA.

Το συμπολυμερές παρουσιάζει παρόμοια συμπεριφορά σε υδατικά διαλύματα με το αντίστοιχο PEO-b-PNIPAM-b-PAA.

Τα συμπολυμερή που παρασκευάστηκαν σε αυτή την ενότητα εργασίας χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή αυτοοργανούμενων 3D και 2D χημικών νανοδομών με προτεΐνες στις άλλες ενότητες εργασίας του έργου.