

Міністерство освіти і науки України  
Національний університет "Львівська політехніка"

На правах рукопису

УДК 541.64; 544.773.432; 66.095.26-922.3

ТАРАС РОМАН СТЕПАНОВИЧ

**СИНТЕЗ ПСЕВДОПОЛІАМІНОКИСЛОТ РОЗГАЛУЖЕНОЇ БУДОВИ ТА ФОРМУВАННЯ  
ВОДНИХ НАНОРОЗМІРНИХ ДИСПЕРСІЙ.**

02.00.06 - *хімія високомолекулярних сполук*

Дисертація на здобуття наукового ступеня  
кандидата хімічних наук

Науковий керівник –  
доктор хімічних наук,  
старший науковий співробітник

**Самарик В.Я.**

*Ідентичність всіх примірників дисертації*

ЗАСВІДЧУЮ:

Секретар спеціалізованої

вченої ради



/О. Г. Будішевська/

Львів-2016

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....	6
ВСТУП.....	8
РОЗДІЛ 1. ....	13
(ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД).....	13
1.1. Капсулювання лікарських форм та біологічно активних речовин. Системи пролонгованої дії і доставки ліків. ....	13
1.2. Псевдополіамінокислоти. Синтез, властивості, призначення. ....	16
1.3. Мікрогідрогелі. Одержання, властивості та застосування. ....	21
1.4. Гіперрозгалужені полімери. ....	25
1.5. Огляд реакцій поліконденсації. ....	28
РОЗДІЛ 2. ....	31
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА. ....	31
2.1. Вихідні речовини, матеріали та їх характеристики.....	31
2.2. Методики проведення синтезів та експериментів. ....	34
2.2.1. Методики синтезів N – захищених амінокислот. ....	34
2.2.2. Методика синтезу дієстерів на основі N-захищених амінокислот та спиртів оксипропіленового ряду або 1,4-бутандіолу. ....	35
2.2.3. Синтез структурованих полімерів на основі N-лауроїлглутамінової, N-стеароїлглутамінової кислот та спиртів оксіетиленового/оксипропіленового ряду та 1,4-BDO і гліцеролу як зшивача. ....	36
2.2.4. Синтез структурованих полімерів на основі дієстерів GluSt-DPG-GluSt, GluL-DPG-GluL, GluL-1,4-BDO-GluL, поліетиленгліколів та гліцеролу.....	37
2.2.5. Синтези Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /APTES/полімерна оболонка.....	37
2.3. Методики аналізів. ....	39
2.3.1. Хроматографічні дослідження.....	39
2.3.2. Аналіз спиртових груп гліцеролу.....	40

2.3.3. Аналіз карбоксильних груп GluSt. ....	42
2.3.4. Аналіз утворення ангідридних груп GluSt. ....	42
2.3.5. Мікроскопування водних дисперсій структурованих полімерів. ....	43
2.3.6. Визначення розмірів частинок структурованих полімерів методом світлорозсіювання. ....	44
2.3.7. Визначення «водного числа» структурованих полімерів. ....	45
2.3.8. Визначення «вікна розчинника». ....	45
2.3.9. Визначення активності ферментного препарату BAN 480L. ....	46
2.3.10. Визначення активності ферментного препарату BAN-480L. ....	46
2.3.11. Визначення кількості структурованого полімеру прищепленого до поверхні магнетиту. ....	47
2.3.12. Визначення кількості абсорбованого ферментного препарату BAN-480L за допомогою $Fe_3O_4/APTES/B(GL)_2B-1500$ . ....	48
2.3.13. Визначення стабілізації емульсій типу м/в структурованими полімерами $B(GL)_2B-1500$ . ....	48
2.3.14. Визначення гідроксильного числа ....	49
2.3.15. ПМР-спектроскопія. ....	49
2.3.16. ІЧ-спектроскопія з перетворення Фур'є ....	49
2.3.17. Дослідження методом малокутового розсіювання нейтронів (SANS).....	49
2.3.18. Визначення розміру частинок дисперсної фази методом динамічного світлорозсіювання (DLS). ....	50
2.3.19. Термогравіметричні дослідження ....	50
РОЗДІЛ 3. ....	51
НЕРІВНОВАЖНА КОПОЛІКОНДЕНСАЦІЯ N-ПОХІДНИХ ДИКАРБОНОВИХ $\alpha$ -АМІНОКИСЛОТ З ДІОЛАМИ ПОЛІОКСІЕТИЛЕНОВОГО ТА ПОЛІОКСИПРОПІЛЕНОВОГО РЯДУ В ПРИСУТНОСТІ ГЛІЦЕРОЛУ ....	51

3.1. Обґрунтування методу синтезу структурованих полімерів на основі дикарбонових $\alpha$ -амінокислот, двоатомних спиртів та гліцеролу. ....	51
3.2. Основні закономірності ко-поліконденсації N-похідних глютамінової кислоти з діолами поліоксіетиленового та поліоксипропіленового ряду в присутності гліцеролу. ....	53
3.2.1. Поліестери з різним ступенем структурування .....	54
3.2.2. Вплив умов проведення процесу поліконденсації на основні характеристики одержаних поліестерів.....	60
3.2.3. Хімізм поліконденсації N-похідних глютамінової кислоти з поліолами різної природи в присутності гліцеролу за реакцією Стегліха. ....	69
3.2.4. Підтвердження структури одержаних поліестерів та ЯМР-дослідження зразків поліестерів.....	75
3.3. Кінетичні закономірності формування розгалужених псевдополіамінокислот поліестерного типу в умовах поліконденсації за реакцією Стегліха. ....	83
3.3.1. Нефелометричне дослідження швидкості нагромадження дициклогексилсечовини (DCU). ....	83
3.3.2. Кінетичні особливості витрати гідроксильних груп. ....	89
РОЗДІЛ 4. ....	99
ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ОДЕРЖАНИХ ПОЛІЕСТЕРІВ .....	99
4.2. Дослідження водних дисперсій одержаних поліестерів методом динамічного світлорозсіювання. ....	100
4.3. Дослідження морфології частинок дисперсної фази методом малокутового нейтронного розсіювання (SANS). ....	108
4.3.2. Аналіз по модель-незалежному методу Гіньє.....	109
4.3.3. Модель-залежні аналізи кривих розсіювання SANS.....	112
4.4. Вплив співвідношення компонентів реакційної суміші на значення водного числа. ....	120
4.5. Цитологічні дослідження .....	123

РОЗДІЛ 5.....	127
НАПРЯМКИ ПРАКТИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ОДЕРЖАНИХ РОЗГАЛУЖЕНИХ/ПЕРЕХРЕСНОЗШИТИХ ПСЕВДОПОЛІАМІНОКИСЛОТ.....	127
5.1. Створення магнітокерованих частинок на основі перехресно-зшитих псевдополіамінокислот поліестерного типу. ....	127
5.1.1. Формування сітки мікрогелю ковалентно прищепленої до магнетиту.....	127
5.1.2. Дослідження по абсорбції ферментного препарату BAN-480L за допомогою структурованого поліестеру B(GL) <sub>2</sub> B-1500. ....	131
5.2. Стабілізація емульсій типу м/в структурованими кополіестерами. ....	136
ВИСНОВКИ.....	146
ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА .....	148

### ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

1.	Glu	Глутамінова кислота
2.	St -	Стеаринова (гептадеканова) кислота
3.	L -	Лаурилова (додеканова) кислота
4.	DEG	Діетиленгліколь
5.	DPG	Дипропіленгліколь
6.	1,4-BDO	1,4-бутандіол
7.	PEG або ПЕГ	Полюксіетиленгліколь, поліетиленетердіол
8.	PPG або ППГ	Полюксіпропіленгліколь, поліпропіленетердіол
9.	ДЦК, DCC	N,N'-дициклогексилкарбодімід
10.	ДЦС, DCU	N,N'-дициклогексилсечовина
11.	ДМФА, DMFA	N,N-Диметилформахід
12.	ДМАП, DMAP	4-Диметиламінопіридин
13.	GluSt	2-(гептадеканоїламіно)пентадіонова кислота (N-стеарилглутамінова кислота)
14.	GluL	2-(додеканоїламіно)пентадіонова кислота (N-лаурилглутамінова кислота)
15.	Glu(A)-DPG/1,4-BDO-Glu(A))	Діестер N-захищеної глутамінової кислоти і дипропіленгліколю (або 1,4-бутандіолу)
16.	APTES	3 - амінопропілтриетоксисилан
17.	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	Магнетит
18.	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /APTES	Модифікований магнетит 3-амінопропілтриетоксисиланом
19.	Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /APTES/полімерна оболонка	Модифікований магнетит із прищепленою до його поверхні полімерною оболонкою



## ВСТУП

Природні та синтетичні полімери широко використовуються як системи доставки лікарських засобів. Синтетичні полімери володіють високою гнучкістю в плані їх синтезу та модифікації з метою забезпечення універсальних властивостей для контрольованого вивільнення лікарського препарату та біосумісності. Використання таких матеріалів пов'язане з їх міцністю [1], пористістю [2], розміром частинок [3], аморфністю [4], біосумісністю [5], та здатністю до розчинення [6] і т.д. Для того, щоб зрозуміти, передбачити та підтвердити використання полімерних матеріалів як систем доставки лікарських засобів ведуться спроби створити їх на основі речовин, які в першу чергу є не токсичними для організму, а також не токсичними є продукти їхнього метаболізму.

Полімерні частинки мікро- та нанометричного розміру, активно використовуються в тканинній інженерії, доставці ліків, виробництві біосенсорів через їх розміри, біосумісність, керовані біологічні, хімічні, механічні властивості.

Ще однією характерною особливістю, що дозволяє використовувати мікро- та нанорозмірні частинки в медичних цілях є відносна простота в керованості їх розмірів як на стадіях одержання (мікромолдинг, фотолітографія і т.д.) так і в середовищах їх терапевтичної дії (рН, температура).

Окремо варто відмітити деревовидні макромолекули – дендримери, оскільки вони володіють високою ємністю відносно препаратів які вони транспортують. Комбінування складу макромолекул дендримерів дозволяє коригувати гідрофільно-ліпофільні властивості, тим самим забезпечуючи високу гнучкість і широкий спектр властивостей таких макромолекул. Деревовидні макромолекули широко застосовуються для транспорту генів (зокрема ДНК) в клітини без пошкодження або деактивації. Дендримери такого типу повинні бути не токсичними і не пригнічувати живі клітини організму.



**Актуальність теми.** Дисертаційна робота присвячена розробленню методу одержання псевдополіамінокислот поліестерного типу з розгалуженою структурою макромолекул, здатних до формування самостабілізованої водної дисперсії з нанорозмірними частинками дисперсної фази. Псевдополіамінокислоти на даному етапі вважаються одними з найбільш перспективних полімерних матеріалів для систем доставки терапевтичних препаратів, так як вони відповідають практично всім вимогам, що висуваються до даного класу матеріалів. Значна кількість дослідницьких робіт на сучасному етапі присвячена розробці нових систем доставки терапевтичних препаратів на основі псевдополіамінокислот. На кафедрі органічної хімії Національного університету «Львівська політехніка» розроблено метод одержання псевдополіамінокислот поліестерного типу на основі N-заміщених дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот, їх поліконденсації з поліолами поліоксіетиленового та поліоксипропіленового ряду та показано, що за їх колоїдно-хімічними, токсикологічними властивостями та здатністю солубілізувати водонерозчинні біологічні сполуки даний клас може з успіхом використовуватись як дисперсні системи доставки терапевтичних препаратів. Одержання розгалужених полімерів даного класу є логічним продовженням цих робіт, яке націлене на розширення області їх використання, завдяки покращеному контролю за розмірами частинок дисперсної фази.

**Мета та завдання роботи.** Метою даної роботи є синтез нових псевдополіамінокислот на основі N-заміщених дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот з поліолами різної природи з розгалуженим полімерним ланцюгом та дослідження їх властивостей та властивостей створених на їх основі водних дисперсій.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- дослідити особливості перебігу поліконденсації ряду N-похідних дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот з поліолами різної природи за реакцією Стегліха в присутності розгалужувача ланцюга;

- створити методику одержання поліестерів на основі N-похідних дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот з поліолами різної природи з розгалуженим ланцюгом, які здатні до формування у водному середовищі самостабілізованої дисперсії;

- на основі дослідження колоїдно-хімічних властивостей одержаних дендримерних поліестерів розробити методику одержання самостабілізованих водних дисперсій;

- дослідити основні властивості водних дисперсій на основі одержаних дендримерних поліестерів.

**Об'єкт дослідження.** Синтез псевдополіамінокислот розгалуженої будови незворотною активованою поліконденсацією за реакцією Стегліха та створення на їх основі самостабілізованих водних полімерних дисперсій з нанорозмірними частинками дисперсної фази.

**Предмет дослідження.** Предметом дослідження є поліестери, що одержані поліконденсацією N-заміщених дикарбонових кислот з поліолами поліоксіетиленового ряду та поліоксипропіленового ряду в присутності гліцеролу як розгалужувача ланцюга, та водні дисперсії, що одержані на їх основі.

**Методи дослідження.** ІЧ-, ЯМР- та мас-спектрометрія, динамічне світлорозсіювання (DLS), малокутове розсіювання нейтронів (SANS), фотоколориметрія, визначення поверхневого натягу, функціональний аналіз, елементний аналіз, термогравіметричний аналіз, титриметричні методи аналізу.

**Наукова новизна.** Основні наукові результати, висунуті на захист, полягають у тому, що:

- за реакцією Стегліха в присутності трифункційного розгалужувача ланцюга (гліцеролу) вперше одержано в м'яких умовах розгалужені і перехресно зшиті поліестери з контрольованою кількістю розгалужень та зшивок; за розробленою методикою одержано розгалужені та перехреснозшиті поліестери на основі N-заміщених похідних дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот та поліолів поліоксіетиленового та/або поліоксипропіленових рядів; .

- поліестери на основі N-заміщених похідних дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот та поліолів поліоксіетиленового та/або поліоксипропіленових рядів володіють поверхнево активними властивостями та здатні утворювати в водному середовищі самостабілізовані частинки дисперсної фази нанометричного розміру з концентрацією дисперсної фази до 20%;

- частинки дисперсної фази одержаних поліестерів мають ієрархічну структуру, базовою одиницею якої є молекули розгалуженого поліестеру, що формують у водному розчині об'ємні статистичні фрактали;

- розміри частинок дисперсної фази залишаються постійними в широкому діапазоні концентрації і становлять, в залежності від складу поліестеру, 10 - 1500 нм;

- частинки дисперсної фази здатні зворотно солюбілізувати препарати білкового походження без порушення структури та при збереженні їх активності; солюбілізуюча здатність за ферментним препаратом кислої  $\alpha$ -амілази становить 7÷8 грам на грам поліестеру;

**Практичне значення отриманих результатів.** Одержані поліестери на основі N-заміщених похідних дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот та поліолів поліоксіетиленового та поліоксипропіленового ряду належать до класу псевдополіамінокислот, які на даному етапі вважаються одними з найбільш перспективних полімерних матеріалів медичного та біомедичного призначення. Наведені в роботі результати досліджень формування на основі одержаних поліестерів водних дисперсій, їх здатності солюбілізувати білкові та біологічно активні препарати у поєднанні з дослідженнями цитотоксичності, дозволяють стверджувати, що одержаний полімерний матеріал можна використовувати як основу для систем доставки терапевтичних препаратів та ад'ювантів вакцин.

Окремий інтерес для виробництва косметичних препаратів на водній основі представляє розроблена в межах даної роботи стабілізуюча система для одержання концентрованих та висококонцентрованих емульсій ефірних олій з одночасною функцією закріплення запаху.

**Особистий внесок здобувача.** Полягає в аналізі літературних джерел, постановці та проведенні експериментів із синтезу розгалужених псевдо-поліамінокислот та дослідженні їх колоїдно-хімічних властивостей. Обговорення, узагальнення експериментального матеріалу та формулювання висновків проводилось автором з д.х.н., с.н.с. Самариком В.Я. та д.х.н., проф. Вороновим С.А. Частина експериментального матеріалу була отримана здобувачем разом з к.х.н., н.с. Тарнавчиком І.Т. і Вороновим А.С., (університет Північна Дакота, м. Фарго).

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи доповідались на 5-и вітчизняних та 6-и міжнародних конференціях.

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 10 статей, 9 з яких у фахових виданнях України, у тому числі одна в журналі, що входить до наукометричних баз, та одна у виданні іноземної держави. Опубліковано 11 тез доповідей на українських та міжнародних конференціях, а також патент України на винахід та патент України на корисну модель.

## РОЗДІЛ 1. (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД)

### **1.1. Капсулювання лікарських форм та біологічно активних речовин. Системи пролонгованої дії і доставки ліків.**

Все більшої популярності набувають системи транспортної доставки лікарських засобів на основі природних та синтетичних полімерних матеріалів. Системи доставки ліків класифікують в залежності від типу носія, його морфологічних особливостей і агрегатного стану. Згідно цієї класифікації носії поділяють на: наносуспензії, ліпосоми, змішані міцели, кристалічні структури (ліотропи), мікроемульсії, наноемульсії, нанокапсули, полімерні наночастинки, тверді ліпідні наночастинки, [7]. В свою чергу кожен з таких класів носіїв можна ділити на підкласи, так наприклад, полімерні наночастинки, як носії лікарських засобів, можуть бути представлені у вигляді наногідрогелів, дендримерів, міцел.

Перші полімерні наночастинки – міцели, були розроблені між 1960-1970р. минулого сторіччя для медичного застосування [8, 9, 10]. Такі міцели були одержані в процесі полімеризації [11, 12, 13]. З того часу ці об'єкти набували все зростаючої уваги, і про них сформувався уявлення, як про потенційні носії для малорозчинних у воді лікарських препаратів. Це пов'язано з тим, що вони мають здатність солюбілізувати олеофільні сполуки, якими в основному є лікарські препарати, у своєму внутрішньому ядрі і при цьому мають такі характеристики, як невеликий розмір (<100 нм) і здатність уникати захоплення ретикулоендотеліальною системою (RES). Міцели часто порівнюють з носіями природного походження, такими, як віруси або ліпопротеїни. Всі ці носії мають подібну структуру «ядро-оболонка», яка дозволяє захищати їх вміст під час транспортування у організмі до цільової клітини, таких як ДНК для вірусів, або нерозчинні у воді лікарські препарати для ліпопротеїнів і міцел. Сьогодні вважається, що саме полімерні міцели є одним з найбільш вигідних і перспективних носіїв для доставки нерозчинних у воді лікарських препаратів.

Активно використовуються як системи доставки ліків біополімери: білки [14, 15, 16] та полісахариди [17, 18, 19]. Їх переваги полягають у високій біосумісності, здатності до деградації в організмі та подальшого виведення, подібності до позаклітинного матриксу.

Основними природними полімерами в системах доставки ліків є колаген, желатин, фібрин, хітозан, альгінат, целюлоза. Альгінат, який добувають з морських водоростей, є привабливим через його низьку токсичність, розчинність у воді і простому хімізму гелеутворення в присутності іонів кальцію. Альгінатні гідрогелі були використані як каркаси в інженерії тканин для відновлення хрящів [20], регенерації печінки [21], а також у перев'язувальних засобах [22]. Хітозан, який отримують з хітинових екзоскелетів ракоподібних, є біосумісним і має низьку токсичність, його використовують в процесах інженерії шкіри і кісткової тканини [23, 24, 25].

Синтетичні полімери відкривають значно ширші можливості до модифікації структури, контрольованого вивільнення та розподілу в тканинах. Дендримери - одні з найперспективніших носіїв лікарських засобів. Вони здатні переносити молекули лікарської речовини як всередині такі і адсорбовані на своїй поверхні [26, 27, 28].

Таблиця 1.1.

{ TA \s "табл. 1.1." } Деякі приклади розумних полімерів [29].

Подразник	Полімер	Вивільнена речовина
pH	полі(метакрилат-g-етиленгліколь) (p(MMA-g-EG))	Інсулін
Електричне поле	полі(метакрилова кислота) (PMA)	Пілокарпін і рафіноза
Концентрація глюкози	полі(метакрилова кислота-со-бутилметакрилат)	Інсулін
Температура	мікрочастинки хітозану, плуроніку	Індометацин
Концентрація морфіну	метилвініловий етер-со-малеїновий ангідрид	Налтрексон
Концентрація сечовини	метилвініловий етер-со-малеїновий ангідрид	Гідрокортизон

Полімери, які застосовуються для контрольованого вивільнення лікарських засобів називають терапевтичними полімерами або ж «розумними полімерами»

[29, 30, 31]. Такі полімери спеціально розроблені під цільовий транспорт лікарських речовин до органу-мішені. Вони уже досить активно використовуються в фармакології та представлені у широкому спектрі на ринку. Короткий список таких полімерів наведено в табл.1.1.

Як видно з табл.1.1. «розумні полімери» здатні реагувати на певний подразник, такий як рН, електричне поле, концентрація глюкози і т.д. і тим самим вивільняти лікарські речовини в середовища в які вони доставляються.

Основними вимогами до полімерів, які використовуються для доставки лікарських засобів, є не токсичність для організму, безпечна екскреція носія після вивільнення лікарських препаратів, контрольований розмір частинок, їх підвищена проникність, гнучкість, розчинність і вивільнення терапевтичних агентів з метою досягнення питомої активності при заданій швидкості і часі.

Література описує кілька механізмів вивільнення лікарського засобу [32]. Одним з таких механізмів є контрольоване вивільнення шляхом набухання. Гідратація полімеру призводить до збільшення об'єму полімеру, в результаті чого збільшуються і розміри пор і лікарські препарати вивільняються дифузійно. Вивільнення лікарського засобу також можливе шляхом деструкції полімеру. Поступова гідратація полімерної поверхні може викликати його гідролітичне розщеплення з вивільненням його вмісту. Характеристика зв'язків по їх здатності до гідролізу у водних середовищах наведена на рис. 1.1.

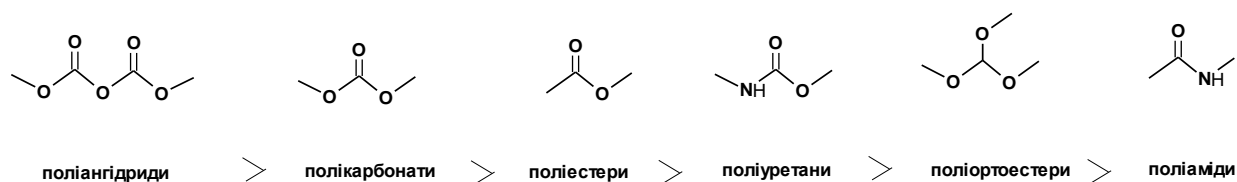


Рис. 1.1. Лабільність зв'язків до гідролізу у водних середовищах [29]

Згідно рис. 1.1. найвищою здатністю до гідролізу володіють поліангідриди, найменшою здатністю поліаміди.

Окрім усіх вище зазначених переваг терапевтичних полімерів як носіїв лікарських засобів у них є і ряд недоліків. Першим з таких недоліків можна вважати наявність токсикологічного ефекту. Відомо, що реакція імунної системи на

наночастинки залежить від токсичності мономерів з яких вони були синтезовані, і від розмірів самих наночастинок. Зокрема, наночастинки з діаметром  $\geq 200$  нм сильніше активують системи комплементу і швидше елімінуються з кровоносної системи. Вважається також, що із зменшенням діаметру наночастинки зростає її токсичність внаслідок збільшення питомої поверхні. Це в свою чергу призводить до активації окисно-відновних процесів, у яких беруть участь атоми наночастинок, і утворення вільних радикалів.

## 1.2. Псевдополіамінокислоти. Синтез, властивості, призначення.

Для одержання імунотолерантних носіїв лікарських засобів в останні десятиліття активно розвивається розробка псевдополіамінокислот.

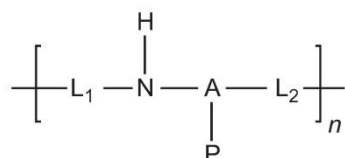


Рис. 1.2. Структура псевдополіамінокислот, де Н-N-A – це амінокислота, а  $L_1$  та  $L_2$  – прищеплені групи, та P – захисна група [33].

Основною особливістю псевдополіамінокислот є те, що вони побудовані на основі амінокислот та діолів, діізоціанатів, діамінів, з'єднаних між собою не амідними зв'язками, що зумовлює відсутність реакції організму на чужорідний білок.

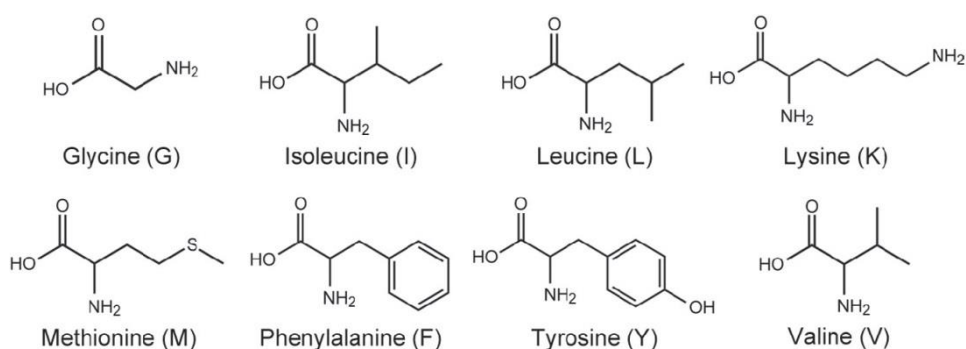


Рис. 1.3. Найпоширеніші амінокислоти для синтезу псевдополіамінокислот

Псевдополіамінокислоти вперше були розроблені авторами Kohn і Langer [34, 35, 36]. Структуру таких псевдополіамінокислот наведено на рис. 1.2.



Найпоширенішими амінокислотами для синтезу псевдополіамінокислот на сьогоднішній день є тирозин, лізин, гліцин, фенілаланін, лейцин, валін, ізолейцин, метіонін, (рис. 1.3).

Вибір амінокислоти в синтезі псевдополіамінокислот залежить від властивостей, які необхідно отримати, а саме олеофільності, статистичності, теплових характеристик, наявності бокових ланцюгів, здатних до зшивання або модифікації, тощо. Принципову схему одержання і модифікації псевдополіамінокислот наведено на схемі 1.1.

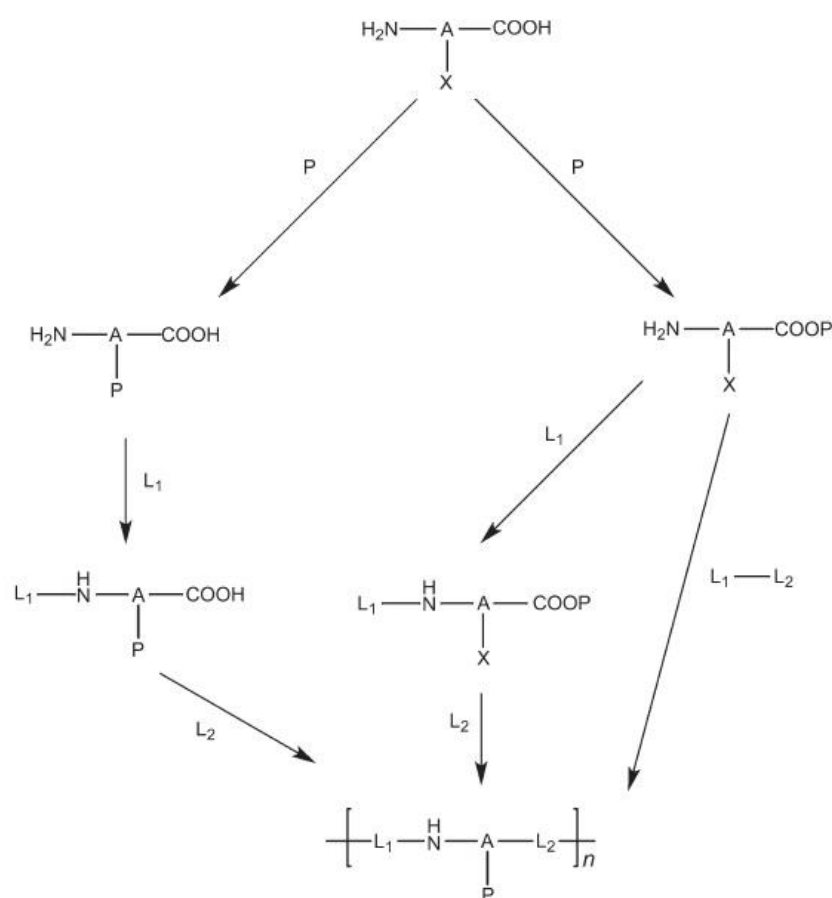


Схема 1.1. Отримання псевдополіамінокислот, де P – захисна група,

$L_1$  – диізоціанат, поліол або діамін,  $L_2$  – дикарбонова кислота, диізоціанат,  $L_1 - L_2$  – форполімер [33].

Амінокислоти, такі як фенілаланін, лізин та тирозин, використовуються для надання синтезованій псевдополіамінокислоті олеофільної природи. Фенольні групи тирозину чудово підходять для естерифікації. Наявність двох термінальних аміногруп може бути використано для формування диізоціанатів [33].

Псевдополіамінокислоти класифікують по типу функціональних груп, які утворюються між прищепленими групами  $L_1$  та  $L_2$ . До цих функціональних груп належать: естерні, амідні, карбонатні, уретанові.

*Псевдополіамінокислоти на основі естерних груп*

Естерні групи є найбільш поширеними для синтезу псевдополіамінокислот, через добре описані методи поліконденсації та наявності безлічі активаторів та каталізаторів. В табл. 1.2. наведено найтипівіші псевдополіамінокислоти та групи дослідників, якими вони були одержані.

Таблиця 1.2.

Псевдополіамінокислоти на основі естерних зв'язків [33]

Дослідник	Амінокислота (А)	Прищеплена група 1 ( $L_1$ )	Прищеплена група 2 ( $L_2$ )	Захисна група (Р)
Schakenraad et all. [37, 38]	гліцин	Молочна кислота	-	-
Won et all. [39]	фенілаланін, лейцин, валін, ізолейцин або метіонін	1,3-пропандіол 1,4-бутандіол 1,6-гександіол	адипіноїлхлорид або себацоїлхлорид	-
Mallakpour and Zeraatpishen [40, 41]	валін, лейцин, тирозин або фенілаланін	тримілітовий ангідрид	N,N'- (піромелітоїл)-біс- диметилестер тирозин	метанол
Chu and Guo [42]	фенілаланін	сукцинат, адипінат або себацінат	фумарат	-
Kohn [ 43]	тирозин	дезамінотирозин	сукцинатна кислота, глутарова кислота, адипінова кислота, 3- метиладипінова кислота, діоксооктандіолова кислота або себацінова кислота	метанол, етанол, ізопропанол, бутанол ізобутанол, гексанол, октанол, фенол
Sengupta and Lopina [44, 45 ]	тирозин	дезамінотирозин	фосфат	гексанол або етанол

Наявність гідроксильних груп (серин, треонін, тирозин) є ідеальним для трьох типів реакцій по одержанню псевдополіамінокислот, наведених по схемі 1.1.

Першими роботами які стосуються одержання псевдополіамінокислот поліестерного типу, були роботи по синтезу поліестерів на основі серину. Так, в

цих роботах синтез поліестерів на основі серину проводили полімеризацією в розчині N-Z-L серину та іншими методами [46, 47, 48, 49, 50]. В роботі [48] показано, що реакція етерифікації серину не дозволяє отримати псевдополіамінокислоти з молекулярними масами вище 600 Да через перебіг реакції β-елімінування в боковому ланцюзі. Псевдополіамінокислоти з молекулярними масами 4000-16000 Да вдалося отримати реакцією з розкриттям циклу β-лактону N-Z-L-серину в розчині.

Групою дослідників, Varrea, Zylstra та іншими у 1993р. опубліковано роботу по одержанню амінофункційних поліестерів на основі кополімерів похідних лізину з молочною кислотою. Синтез поліестерів здійснювали кополімеризацією з розкриттям циклів функційних лактидів. Такі полімери були розроблені з метою створення нових матеріалів для тканинної інженерії з покращеною адгезією клітин [51]. Разом з тим, відомості про кополімери на основі лізину, аспарагінової,

гліколевої та молочної кислот були опубліковані японськими авторами в 1997 році [52, 53], які використовували подібний підхід для синтезу цих кополімерів. Структурну будову мономерів та отриманих продуктів наведено на схемі 1.2.

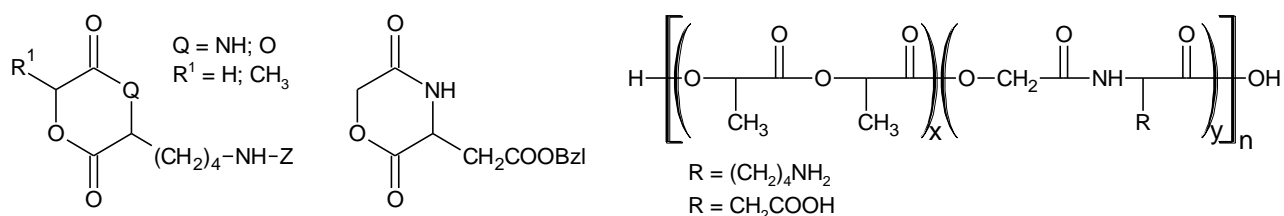


Схема 1.2. Структура мономерів для синтезу функційних поліестерів та кінцевих продуктів на їх основі [52, 53, 125].

В роботі [52] показано, що поліестери на основі амінокислот та їх кополімери з молочною кислотою, краще піддаються гідролізу ніж гомополімер молочної кислоти. Цими ж авторами в роботі [53] показано можливість одержання біодеградабельних частинок з позитивно зарядженою поверхнею на основі блок кополімерів лізину та молочної кислоти, (схема 1.2).

У роботі [54] описаний метод синтезу біодеградабельних амфифільних триблок-кополімерів полі(молочна кислота)-ко-(гліколева кислота)-альт-(L-глутамінова кислота)-блок-полі(етиленгліколь)-блок-полі(молочна кислота)-ко-

(гліколева кислота)-альт-(L-глутамінова кислота) з термінальними карбоксильними групами кополімеризацією з відкриттям циклу L-лактиду з (3s)-(бензоксикарбонілетил)-морфолін-2,5-діоном у присутності дигідроксил-полі(етиленгліколю) як макроініціатора у об'ємі при 403К та октоата стануму як каталізатора з подальшим каталітичним гідруванням. Такі кополімери здатні формувати міцели у водному розчині з залежністю критичної концентрації міцелотворення від складу кополімеру. Наявність термінальних карбоксильних груп у складі кополімеру дає можливість використовувати їх для подальшої модифікації, залежно від кінцевого призначення (носії лікарських засобів, інженерія тканин), [55].

Також розроблені амінофункційні поліестери на основі капролактону [56]. Дані полімери були синтезовані на основі нового мономеру –  $\gamma$ -(бензил-карбамат)- $\epsilon$ -капролактону, (схема 1.3).

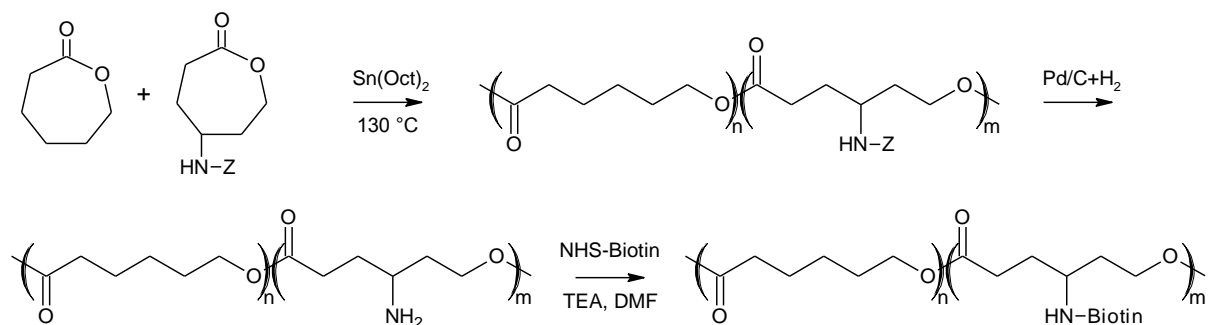


Схема 1.3. Синтез псевдополіамінокислот на основі N-захищеної аспарагінової кислоти [125].

Карбоксибензильна група зі складу полімеру видалялась дією водню на паладієвій черні для одержання полімеру з вільними аміногрупами. До амінофункційного кополіестеру було прищеплено біотин в якості модельного об'єкта.

Одним із методів, за яким зараз найчастіше одержують естери та тіоестери є реакція Стегліха. Перша публікація по даній реакції 1978 року пропонує одержувати естери та тіоестери в м'яких умовах на основі карбонових кислот та спиртів або тіолів [57]. В умовах реакції Стегліха використовували активатор карбоксильних груп – N,N'-дициклокарбодіїмід та каталізатор-диметиламінопіридин, що підвищував швидкість прямої реакції та пригнічував утворення побічних продуктів.

Реакція Стегліха була успішно використана для одержання поліестерів на основі молочної кислоти [58, 59], полі(лактиду) [60], полі( $\epsilon$ -капролактону) [61], полі(гідроксибутирату) [62].

Таким чином реакцію Стегліха можна успішно використовувати для синтезу лінійних поліестерів.

*Використання псевдополіамінокислот на основі естерних зв'язків.*

Псевдополіамінокислоти на основі естерних зв'язків є привабливими біоматеріалами, виходячи з концепції лактид-со-гліколід. Контроль часу деградації є ключовою причиною для розробки цих полімерів в якості транспортних засобів лікарських препаратів та каркасів в тканинній інженерії. Одними з перших псевдополіамінокислот, про які згадувалося в літературі були кополімери на основі гліцину та молочної кислоти [37,38]. Час деградації цього полімеру становить близько 10 тижнів, гліцин при цьому може вивільнятися як *in vivo* так і *in vitro*. Незабаром після розробки цього полімеру, Yun успішно приготував наночастинки [63, 64] і мікросфери.

### **1.3. Мікрогідрогелі. Одержання, властивості та застосування**

Гідрогелями називають перехресно-зшиті полімерні сітки, які не розчиняються у воді, проте добре в ній набухають. Мікрогідрогелі з розмірами 100-200 мкм знаходять широке застосування в тканинній інженерії [65, 66, 67], транспортуванні лікарських засобів [68, 69, 70, 71], у виготовленні біосенсорів [72].

Гідрогелі можуть бути синтезовані з широкого спектру природніх або синтетичних полімерів [73]. Найбільш поширені природні гідрогелі включають фібрин, гіалуронову кислоту, арагозу і альгінат. Подібно до них, синтетичні гідрогелі можуть бути одержані зшиванням з використанням полі(етиленгліколю), полівінілового спирту, і полістиролу.

Мікрогідрогелі можуть бути одержані різними методами, в тому числі мікромолдингом, емульгуванням, крапельним методом. схематичні зображення методів одержання мікрогідрогелів наведено на рис. 1.4.

Комбінування методів одержання та методів зшивання визначає механічні, фізичні та хімічні властивості мікрогідрогелю.

*Емульгування.* Емульгування є найбільш поширеним методом одержання мікрогідрогелів. В процесі емульгування, як правило, найчастіше використовують двохфазну систему шляхом змішування двох різнорідних речовин, таких, як розчин форполімеру гідрофільного гідрогелю та олеофільної фази. Зміна в'язкості рідини і швидкості зсуву визначає розміри одержаних мікросфер гідрогелю.

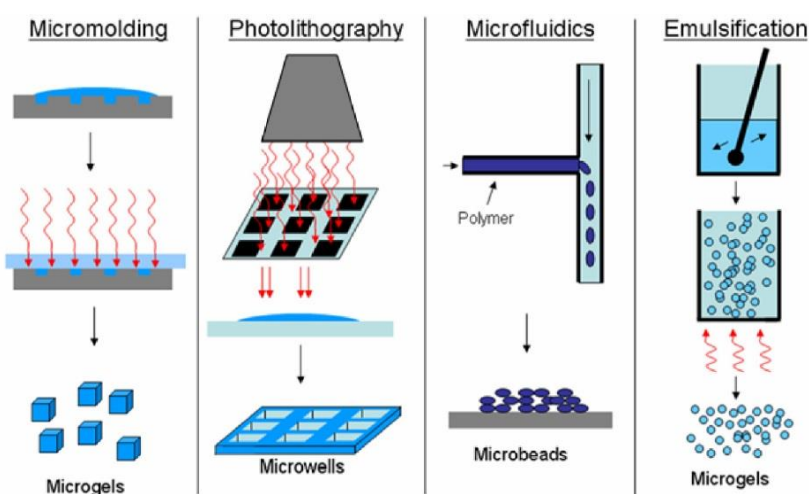


Рис. 1.4. Методи одержання мікрогідрогелю [74]

Мікросфери форполімеру пізніше можуть бути структуровані різними методами, такими як нагрівання або опромінення. Групою дослідників Reis та іншими були розроблені мікрогідрогелі на основі альгінату для доставки інсуліну[75]. Alexakis та колеги на основі структурованого хітозаном альгінату розробили мікрогідрогелі для капсулювання ДНК [76]. Емульгування також може бути використане для капсулювання клітин в мікрогель [77].

*Фотолітографія.* Поширеним методом для виготовлення мікрогідрогелів контрольованих розмірів і форм є фотолітографія. В цьому методі мономер майбутнього гідрогелю змішують з фото ініціатором, який при дії ультрафіолетового світла каталізує реакцію зшивання. В одному з методів фотолітографії тонку плівку мономера гідрогелю та фотоініціатора поміщають під фотошаблон, який містить непрозорі сегменти. Фотошаблон потім піддають дії

ультрафіолетового світла, світло проникає до мономерів під шаблоном в місцях з прозорими сегментами і в цих місцях відбувається структурування. Цей метод може бути використаний для отримання мікрогелів різних розмірів і форм, що залежить від особливостей фотошаблону. Фотолітографія на шаблоні для фотозшиваючих мономерів також може бути використана для локалізації клітин і генерування клітинно-навантажених мікроструктур. Цей метод також може бути використаний для генерування складних комплексів, комбінуючи декілька типів клітин в матриці гідрогелю [78, 79]. Незважаючи на переваги фотолітографії вона має і ряд недоліків. Для прикладу фотолітографією можна контролювати вихід мікрогелів в межах однієї партії.

*Мікромолдинг.* Одним з перспективних методів одержання мікрогелів є мікромолдинг[80, 81, 82]. В більшості методів мікромолдингу використовують мікрошаблон для збереження відтворюваності зразків. Форма шаблону в такому методі визначає форму і розміри отриманого мікрогелю. На сьогоднішній день методом мікромолдингу можна одержувати мікроструктури з розмірами меншими ніж 1 $\mu$ m. Для одержання мікророзмірних гідрогелів мономери гідрогелю наносять на матрицю, яку виготовляють зі скла або силікону. Після цього матрицю піддають опроміненню і отримують таким чином мікрогідрогелі.

*Мікрорідинний крапельний метод.* Крапельне формування мікрогелю з мікрорідинними каналами всередині може бути використане для формування високо гомогенних мікрогелів. В одній із технік крапельного формування розчин форполімера вводиться у великий мікрорідинний канал заповнений текучою рідиною в якій міститься зшиваючий агент. Мономери гелю подаються перпендикулярно до потоку зшивача і у великому каналі відбувається формування мікрогелю [83].

*Властивості мікрогідрогелів.* Медицина та тканинна інженерія вимагають точного контролю механічних властивостей мікрогідрогелів. Механічні властивості мікрогідрогелів є функцією багатьох параметрів, таких як тип гідрогелю, концентрація і щільність зшивок.

Синтезовані мікрогідрогелі мають три основні властивості: частка набухлого полімеру  $v_{2s}$ , розмір  $\xi$  полімерних сіток, середня молекулярна маса  $\bar{M}_c$  між секційних зшивок полімерного ланцюга [84]. Останнім найбільш важливим визначальним фактором у формуванні гідрогелю є те, наскільки окремий розчин гідрогелю є перехресно-зшитим. Це в свою чергу може вплинути на хімічні та механічні властивості [85]. Для визначення  $\bar{M}_c$  гідрогелів приготовлених в неіоногенному водному розчиннику може бути використана теорія Флорі-Реннера, яка описується рівнянням :

$$\frac{1}{\bar{M}_c} = \frac{2}{\bar{M}_n} - \frac{(\bar{v}/V_1)(\ln(1-v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi_1 v_{2,s}^2)}{v_{2,r} \left( \left( \frac{v_{2,s}}{v_{2,r}} \right)^{1/3} - \frac{v_{2,s}}{2v_{2,r}} \right)} \quad (1.1)$$

Де  $V$  питомих об'єм полімеру,  $V_{2,r}$  стан релаксації полімеру,  $V_1$  молярний об'єм води [86]. Теорія Флорі-Реннера для гідрогелів розчинених у протонному водному розчиннику є більш складною:

$$\frac{V_1}{4IM_r} \left( \frac{v_{2,s}^2}{v} \right) \left( \frac{K_a}{10^{-pH} - K_a} \right)^2 = (\ln(1-v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi_1 v_{2,s}^2) + \frac{V_1}{v \bar{M}_c} \left( 1 - \frac{2\bar{M}_c}{\bar{M}_n} \right) v_{2,r} \left( \left( \frac{v_{2,s}}{v_{2,r}} \right)^{1/3} - \frac{v_{2,s}}{2v_{2,r}} \right) \quad (1.2)$$

$$\frac{V_1}{4IM_r} \left( \frac{v_{2,s}^2}{v} \right) \left( \frac{K_b}{10^{pH-14} - K_b} \right)^2 = (\ln(1-v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi_1 v_{2,s}^2) + \frac{V_1}{v \bar{M}_c} \left( 1 - \frac{2\bar{M}_c}{\bar{M}_n} \right) v_{2,r} \left( \left( \frac{v_{2,s}}{v_{2,r}} \right)^{1/3} - \frac{v_{2,s}}{2v_{2,r}} \right) \quad (1.3)$$

Де  $K_a$  і  $K_b$  константи дисоціації кислоти і лугу,  $I$  – іонна сила,  $M_r$  елементарна ланка молекулярної маси [87]. Ця теорія дозволяє формувати індивідуальний дизайн гідрогелів і мікрогідрогелів з наперед заданими механічними і хімічними властивостями. Відстань між макромолекулярними ланцюгами є ще однією важливою характеристикою гідрогелю. Ці відстані називаються порами. Гідрогелі, як правило розділені на три класи по пористості: (i) непористі, (ii) мікропористі, (iii) макропористі. Полімерна сітка або розмір пор конкретного гідрогелю може бути розрахований використовуючи наступне рівняння:



$$\xi = v_{2,s}^{-1/3} \left( \frac{2C_n \bar{M}_c}{M_r} \right)^{1/2} l \quad (1.4)$$

Де,  $C_n$  – характеристичне співвідношення Флорі і  $l$  – довжина основного ланцюга полімеру [87]. Змінюючи такі фактори, як розмір пор або молекулярну масу між зшивками можна конструювати гідрогелі із заданими тепловими, дифузійними або механічними властивостями. Змінюючи розмір пор, молекулярну масу, можна отримати високоструктурований або слабоструктурований гель, (рис. 1.5).

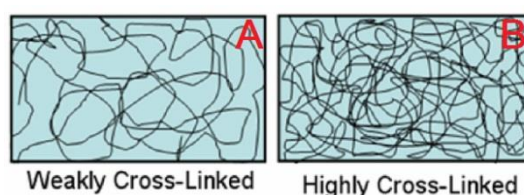


Рис. 1.5. Приклади гелю з низьким А і високим В ступенем структурування [74]

#### 1.4. Гіперрозгалужені полімери

Гіперрозгалужені полімери – це новий клас полімерів, які володіють широким спектром властивостей, що дозволяє використовувати їх для транспорту лікарських препаратів.

Абсолютно розгалуженими, або на 100% розгалуженими полімерами є дендримери. Дендримери при тому є абсолютно симетричними, функціональні групи в такому типі полімеру розміщені на поверхні та/або всередині сфери. Це робить дендримери ідеальними для доставки ліків а також у багатьох інших випадках. Основними типами дендримерів є лінійно-дендритні гібриди (linear-dendritic hybrids), дендронізовані полімери (dendronized polymers), дендримери типу зірчатих макромолекул (Macro Dendritic), гіперрозгалужені полімери (hyperbranched polymers), багатоланкові зірчаті полімери (multiarm star polymers), гіперрозгалужені полімери, типу зірчатих макромолекул (hyperbranched polymer like star macromolecules), [88], (рис. 1.6).

Гіперрозгалужені полімери стають все більш популярними останні 20-30 років. Властивості таких полімерів включають хорошу розчинність, низьку в'язкість

розчину, термостійкість і безліч кінцевих функціональних груп [89]. У 1980-х роках Кім та Вебстер використали термін гіперрозгалужені полімери для опису макромолекул із випадковою конфігурацією типу ланка-ланка [90]. Такі макромолекули містять структурні угруповання і складаються з лінійних, дендритних і термінальних елементарних ланок.

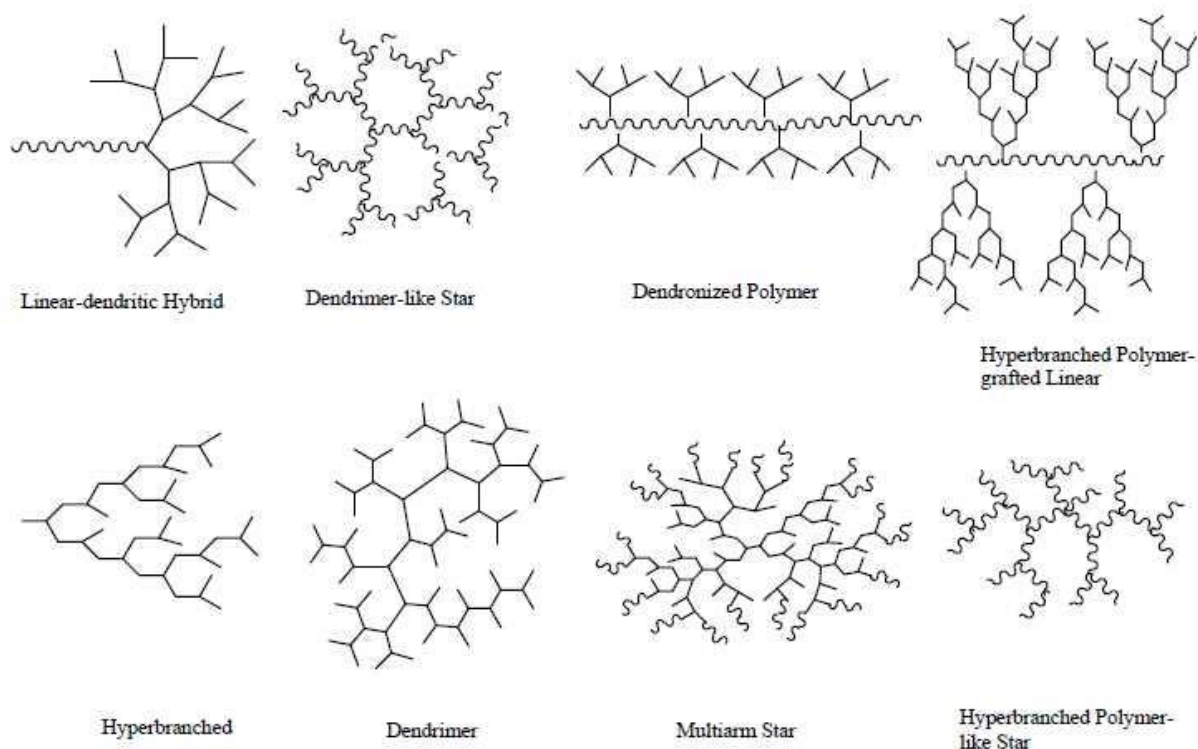


Рис. 1.6. Типи розгалужених полімерів [88, 91]

В роботах, які публікувались в останні десятиліття описано дослідження структури та властивостей гіперрозгалужених полімерів. Одержання таких полімерів пов'язане з рядом складностей, в основному через багатостадійність їх синтезу, що в кінцевому варіанті приводить до високої вартості таких продуктів.

Так у випадку дендримерів стадії їх синтезу можна відобразити схемою 1.4

Техніки синтезу гіперрозгалужених полімерів можна розділити на дві основні категорії. Перша категорія полягає у використанні одного мономера, в такому випадку синтез гіперрозгалуженого полімеру проводиться полімеризацією мономера  $AB_x$ ,  $AB^*$ , або латентного  $AB_x$ . Другий тип синтезу гіперрозгалужених полімерів проводять з використанням двох поліфункціональних мономерів.

Відповідно до такого типу механізму, де пропонується використовувати один мономер, одержання гіперрозгалуженого полімеру можна проводити за однією із чотирьох схем:

- 1) Поліконденсацією мономерів типу  $AB_n$ . За цією схемою отримують широкий спектр гіперрозгалужених полімерів, а саме поліфеноли, поліестери, поліаміди, полікарбонати.
- 2) Самоконденсацією мономерів  $AB^*$ . Таким способом одержують полістирол, поліакрилову, поліметакрилову кислоти.
- 3) Мультирозгалуженням з розкриттям циклу мономерів  $AB^*$ . Таким способом отримують поліаміни, поліетери та поліестери.
- 4) Полімеризацією з переносом протона. Отримують полісилоксани, поліестери із епоксидними або гідроксильними кінцевими групами.

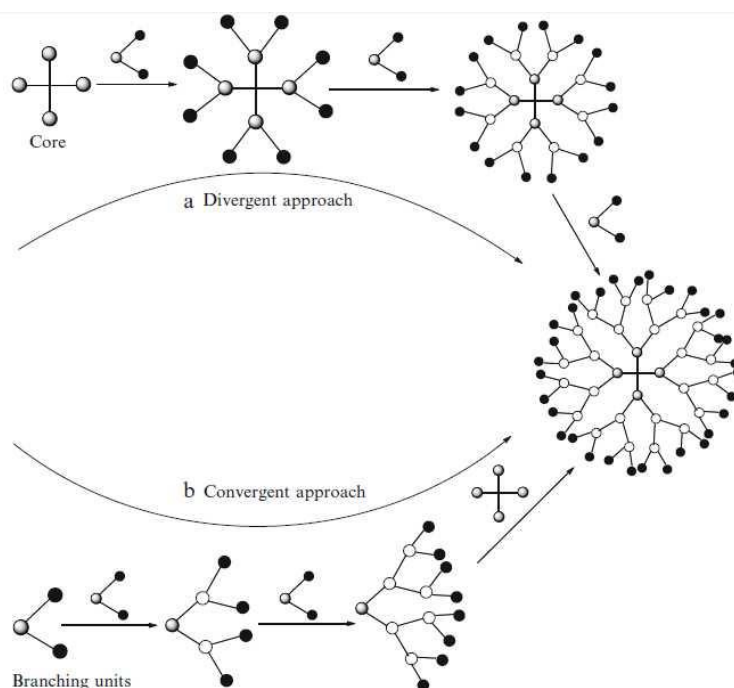


Схема 1.4. Два найбільш поширені методи синтезу дендримерів: (а) формування розгалужень у генераціях та (б) об'єднання розгалужень попередніх генерацій [33]

Метод з використанням двох мономерів теж можна розділити на два підкласи на основі селективних пар мономерів та різній реакційній здатності цих мономерів.

- 1) 'A<sub>2</sub>+ B<sub>3</sub>' – даний тип полімеризації включає використання двохфункційного та трифункційного мономера. Він прийнятний для синтезу більшості типів полімерів, включаючи поліаміди. Полікарбонати та поліуретани.
- 2) Методика мономерних пар 'A<sub>2</sub>+ B<sub>3</sub>', яка передбачає комбінацію методів з використанням одного мономера та 'A<sub>2</sub>+ B<sub>3</sub>'. Використовується для одержання більшості типів гіперрозгалужених полімерів, таких як полі(сульфонамінів), полі(естерамінів), поліуретанів.

Гіперрозгалужені полімери володіють властивостями, подібними до дендримерів. Використання гіперрозгалужених полімерів базується на відсутності заплутаності між полімерними ланцюгами і великим числом функціональних груп [92, 93]. Функціональність гіперрозгалужених полімерів дозволяє керувати термічними та реологічними властивостями розчинів полімерів в широкому діапазоні, що відкриває можливості для застосування високорозгалужених полімерів.

Окремий інтерес серед розгалужених полімерів представляють розгалужені поліестери. Вони одержуються в основному полімеризацією з розкриттям кільця, для прикладу так одержують розгалужені поліестери на основі лактидів. У той час як лінійні поліестери отримують на основі моно- або двохатомних спиртів, для отримання гіперрозгалужених поліестерів використовують спирти з функціональністю  $f \geq 3$ . В загальному кількість розгалужень в полімері визначається кількістю спиртових груп поліолу. В літературі описано використання гліцеролу, пентаеритриту, сорбітолу, маннітолу як агентів розгалуження для одержання розгалужених полімерних макромолекул [94,95,96,97,98,99,100,101,102,103].

Окрім того розгалужені поліестери одержують в присутності ліпази, яка виступає каталізатором такого процесу [104,105,106,107,108,109].

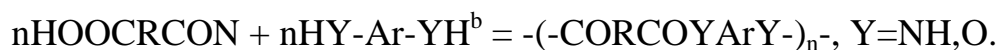
### **1.5. Огляд реакцій поліконденсації**

Процеси поліконденсації прийнято розділяти на два основні типи: високотемпературні та низькотемпературні. Високотемпературна поліконденсація реалізується при 200-300°C у розчині або ж середовищі розчинника, який має високу температуру кипіння. Попри те, високотемпературна поліконденсація у

більшості випадків протікає з невисокою швидкістю і супроводжується великою кількістю побічних реакцій, які призводять до руйнування функціональних груп (і відповідно до порушення їх еквімолярності). У багатьох випадках, наприклад при використанні ароматичних діамінів високомолекулярні поліаміди не утворюються взагалі.

У подібних випадках більш ефективним є метод низькотемпературної поліконденсації, який найчастіше реалізується в діапазоні температур від -30 до +50°C у середовищі органічного розчинника або міжфазно. В залежності від методу активації мономерів, можна виділити 5 основних різновидів:

1. Метод «скелетної активації», який базується на введенні в скелет дикарбонової кислоти гетероатомів (O,S,N) в положенні  $\alpha$  і  $\beta$  до карбоксильної групи поліестеру.
2. Метод активованих циклів. Більшість біфункційних мономерів, які містять в своєму складі в якості функціональних груп різні гетероцикли – лактони, азалактони, циклічні карбонати в результаті проявляють високу активність, ніж їх лінійні аналоги і вступають в реакції з нуклеофілами. При цьому утворюються високомолекулярні поліаміди, а також з різноманітними функціональними групами.
3. Метод прямої поліконденсації (активація *in situ*). Реакція між дикарбоновими кислотами, протікає в м'яких умовах в присутності різноманітних агентів конденсації (B).



4. Метод організованих молекулярних множин. Було показано, що значного пришвидшення процесу вдається досягнути шляхом формування організованих молекулярних множин – міцелярної або рідкокристалічної фази. Або введенням в реакційне середовище різноманітних матриць. В такого типу системах пришвидшення досягається або за рахунок зручного взаємного розміщення або ж за рахунок збільшення локальної концентрації. Варто відмітити, що формування організованих

молекулярних множин не тільки пришвидшує реакцію але і міняє її напрямок.

5. Метод активованих поліестерів і амідів. На відміну від методу активованих алкілових ефірів, даний метод базується на активації груп які від'єднуються .

Процеси активованої поліестерифікації протікають в середовищі дихлоретану при 25-60°C, з використанням триетиламіну в якості каталізатора (4моля на 1 моль діолу). Було встановлено, що високомолекулярні плівкові поліестери утворюються лише при поліконденсації активованих естерів аліфатичних кислот з бісфенолами. Варто відмітити, що саме цей клас поліестерів важко отримати за допомогою традиційних поліконденсаційних методів з використанням відповідних аліфатичних дихлорангідридів, які активно вступають в різноманітні побічні реакції, в тому числі з акцептором (третинним аміном). Таким чином активована поліконденсація з одного боку розширює синтетичні можливості поліконденсаційного методу синтезу поліестерів. З іншої сторони відкриває цікаві перспективи для вивчення процесів акцепторно-каталітичної поліконденсації [110].

В основному активовані діестери карбонових кислот отримують за схемою:



Схема 1.5. Одержання діестерів карбонових кислот.

Таким чином можна стверджувати що активована поліконденсація дикарбонових α-амінокислот має суттєві переваги у порівнянні з високотемпературною, оскільки протікає при вищій швидкості і характеризується меншою кількістю побічних реакцій.

## РОЗДІЛ 2.

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

#### 2.1. Вихідні речовини, матеріали та їх характеристики

*Глутамінова кислота (Glu)* (L-аміноглутарова кислота) – безбарвні кристали, емпірична формула -  $C_5H_9NO_4$ , молярна маса - 147,13 Да, густина – 1,4601 (293°C). Для L-ізомеру  $T_{пл}$  – 520-522 К. При 25°C  $pK_{a1}=2,19$  ( $\alpha$ -карбоксільна група),  $pK_{a2}=4,25$  ( $\gamma$ -карбоксільна група),  $pK_b=9,67$  (аміногрупа). Погано розчиняється у воді та етанолі, не розчиняється в діетиловому ефірі. Глутамінова кислота належить до числа найбільш широко поширених амінокислот і має велике значення в обміні речовин. У великих кількостях присутня в тваринних і рослинних білкових продуктах. Головний попередник глутаміну, проліну, аргініну і глутатіону. Є потенційним джерелом енергії. Важлива кислота для обмінних процесів у мозку і для обмінних процесів інших амінокислот.

Для синтезів сушили у вакуум ексикаторі над фосфорним ангідридом до постійної маси.

*Стеаринова (гептадеканова) кислота (St)* – безбарвні кристали, емпірична формула –  $C_{18}H_{36}O_2$ , молярна маса - 284,49 Да, густина – 0,848.  $T_{пл}$  – 343 К.  $T_{кип}$  – 560 К. Погано розчиняється у воді, при нагріванні розчиняється в спиртах та ефірах. Використовували без додаткової очистки.

*Лаурилова (додеканова) кислота (L)* безбарвні кристали, емпірична формула –  $C_{12}H_{24}O_2$ , молярна маса - 200,3 Да, густина 0,88 г/см<sup>3</sup>,  $T_{пл}$  – 317 К,  $T_k$  - 571,9 К. У воді розчиняється погано, розчиняється в спиртах та ефірах. Використовували без додаткової очистки.

*Діетиленгліколь (DEG)* (Aldrich) - прозора в'язка рідина. Гігроскопічний, з солодкуватим смаком. Молярна маса 106,12 Да, густина 1,118 г/см<sup>3</sup>, температура плавлення  $T_{пл}=280,8$  К, Температура кипіння  $T_k=517-518$  К. Розчинний у воді, нижчих спиртах, ацетоні, аніліні, фенолі і хлороформі. Обмежено розчинний у бензолі, діетиловому етері і чотирихлористому вуглеці. Погано розчинний в мінеральних і рослинних оліях.

*Дипропіленгліколь (DPG) (Aldrich).* Прозора, в'язка рідина без запаху. Гігроскопічна. Змішується з водою. Практично нетоксичний, застосовується в фармацевтичній, харчовій і парфюмерній промисловості. Молярна маса 134,17 Да, густина  $1,024 \text{ г/см}^3$ , температура плавлення  $T_{пл} = 233\text{К}$ , температура кипіння  $T_{к} = 505\text{К}$ .

*Поліетиленгліколі (PEG або ПЕГ)* (поліетери етиленгліколю) середньої молярної маси 300, 400, 1000, 1500, 2000 Да. В залежності від середньої молярної маси полімери - 300-1000 Да в'язкі рідини, 1500-2000 Да - пастоподібні або тверді речовини. Змішуються з водою. Розчинні в багатьох органічних розчинниках: бензолі, чотирихлористому вуглеці, хлороформі, диметилформаміді, ацетонітрилі.

Відповідність молекулярної маси функціональності перевіряли визначенням кількості функціональних груп модифікованим методом Огга, Портера [111].

Перед використанням поліетиленгліколі осушували азеотропною відгонкою води з бензолом.

*Поліпропіленгліколі (PPG або ППП)* (поліетери пропіленгліколю). Поліпропіленгліколі з молярною масою 150-2000 Да – в'язкі прозорі рідини; температура склування  $T_c$  від 198 до 213 К; коефіцієнт полідисперсності  $K_b$  1,25; розчинні в кетонах, бензолі, толуолі, хлорованих вуглеводнях. Поліпропіленгліколі з молярною масою до 400 Да змішуються з водою; Розчинність у воді поліпропіленгліколів вищої молярної маси різко зменшується і складає, 15,2, 1,5 і 0,15% для поліпропіленгліколів з молярною масою 750, 1000 и 2000 Да відповідно.

Відповідність молекулярної маси функціональності перевіряли визначенням кількості функціональних груп модифікованим методом Огга, Портера [111].

Перед використанням поліетиленгліколі осушували азеотропною відгонкою води з бензолом.

*Гліцерол (G або Glycerol)* – прозора, безбарвна, дуже в'язка рідина, солодкувата на смак, емпірична формула  $C_3H_8O_3$ , молярна маса – 92,09 Да. Густина  $1,261 \text{ г/см}^3$ .  $T_{пл.} = 290,95\text{К}$ ,  $T_{кип.} = 563,15\text{К}$ . Гігроскопічна рідина.



*1,4-бутандіол* (1,4-BDO) – прозора рідина. Типовий двохатомний спирт.  $T_{пл.} = 289,15\text{K}$ ,  $T_{кип.} = 503,15\text{K}$ ,  $n_{20D} = 1,445$ , густина  $1,017\text{ г/см}^3$ .

Для очистки від домішок води до відповідного гліколю додавали бензол та відганяли азеотропну суміш бензол-вода (342 К), далі відганяли бензол (353,1 К). Залишки бензолу видаляли у вакуумі до постійної маси зразка гліколю.

*N,N'-дициклогексилкарбодіімід* (ДЦК або DCC) (Aldrich) - білі (блідо-жовті) кристали, емпірична формула –  $C_{13}H_{22}N_2$ , молярна маса – 206,33 Да, температура плавлення  $T_{пл} - 305-308\text{ К}$ , температура кипіння  $T_{кип} - 428\text{ К}$  (при 11 мм рт.ст.), не розчиняється в ацетоні, розчиняється в бензолі, хлорованих вуглеводнях. Вміст основної речовини не менше 99,0%, використовувався без додаткової очистки.

*N,N-Диметилформамід* (ДМФА) - при стандартних умовах мало в'язка прозора рідина, емпірична формула -  $C_3H_7NO$ , молярна маса – 73,09 Да, температура кипіння  $T_{кип} - 426\text{ К}$ , температура плавлення  $T_{пл} - 334\text{ К}$ , густина -  $0,9445\text{ г/см}^3$ . Для очистки від води та інших домішок ДМФА перемішували з КОН і переганяли у вакуумі над СаО,  $n_d^{25} = 1,4269$ . Перед використанням N,N-диметилформамід очищали згідно методики [112].

*Дициклогексилсечовина* (DCU) – емпірична формула –  $C_{13}H_{24}N_2O$ , молярна маса – 224.34 Да, температура плавлення  $T_{пл} - 504-508\text{ К}$ , не розчиняється в спирті, хлороформі, бензолі, діетиловому етері, мало розчинна в ДМФА.

*4-Диметиламінопіридин* (ДМАП або DMAP), 99% (Alfa Aesar), емпірична формула –  $C_7H_{10}N_2$ , молярна маса – 122.17 Да,  $T_{пл}=386-387\text{ К}$ . Безбарвна кристалічна речовина з характерним запахом. Відомий під назвою «каталізатор Стегліха». Розчинний у воді, полярних та неполярних органічних розчинниках.

*Тіоніл хлорид* – прозора рідина з характерним різким запахом; емпірична формула –  $SOCl_2$ , молярна маса – 118,97 Да,  $T_{пл}=173,5\text{ К}$ ,  $T_{к}=348,6\text{ К}$ ,  $d^{20}=1,638\text{ г/см}^3$ . Очищали перегонкою описаній по методиці [112].

*(3-амінопропіл)триетоксисилан* (APTES) – аміносилан, який часто використовують для силанізації поверхні, або ж для функціоналізації поверхні

аміногрупами. Формула –  $C_9H_{23}NO_3Si$ , молярна маса – 231,37 Да.  $T_{пл} = 203,15K$ ,  $T_{кип.} = 490,15K$ . Виробник – Sigma Aldrich. Використовували без додаткової очистки.

*Ферментний препарат BAN 480L* – в'язка рідина коричневого кольору з характерним запахом. Маса сухої речовини складає 55,34%. Основна речовина – кисла  $\alpha$ -амілаза, яка одержується глибинною ферментацією штаму *Bacillus amyloliquefaciens*, систематична назва альфа-D-глюкан, глюкано-гідролази (ЕС 3.2.1.1). Стабілізатори – хлорид натрію, гліцерол. Декларована активність 480KNU/g. Густина –  $1,25г/см^3$ . Виробник – компанія Novozymes.

*Магнетит* – змішаний оксид, загальної формули  $Fe_3O_4$ . Синтез нанорозмірного магнетиту проводили згідно методики [113], запропонованої Shao S-Y та колегами. Єдина відмінність полягає в тому, що замість хлориду заліза (II) тетрагідрату,  $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ , було використано сульфат заліза (II) гептагідрат,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ .

## **2.2. Методики проведення синтезів та експериментів**

### **2.2.1. Методики синтезів N – захищених амінокислот**

#### **2.2.1.1. Методика очистки глютамінової кислоти**

Технічну глютамінову кислоту очищали перекристалізацією. У нагрітій до 323K воді диспергували кислоту і доводили рН розчину до значення 4,5, додаючи 2N розчин NaOH. При цьому утворювався прозорий розчин глютамату натрію. До розчину додавали приблизно 4% від маси глютамінової кислоти, активованого вугілля і перемішували протягом 30 хвилин при температурі 353 K. Розчин охолоджували і після фільтрування одержували прозорий, ледь зеленуватий розчин. Додаючи розбавлену хлороводневу (10%) кислоту, встановлювали рН 3,2. Після цього з розчину упродовж доби при температурі 10-12°C виділявся осад чистої глютамінової кислоти. Осад відфільтровували і промивали холодною водою. Отриману вологу кислоту сушили у вакуум ексикаторі спочатку над безводним хлористим кальцієм, а потім над фосфорним ангідридом до постійної маси.

### 2.2.1.2. Методика синтезу N-стеароїл, N-лауроїлглутамінової кислот

Синтез проводять в чотиригорлому реакторі ємністю 1л (1,5л), який оснащений механічною мішалкою, зворотнім холодильником і двома крапельними лійками об'ємом 100 і 150 мл.

В реактор вносять наважку глютамінової кислоти масою 41,05 г (0,279 моль), диспергують в 120 г води і при перемішуванні додають 279 мл 2М розчину NaOH. При цьому відбувається розчинення глютамінової кислоти. До розчину додають 280 мл ацетону, температуру піднімають до 303 К, і при перемішуванні прикапують одночасно 88 г (0,29 моль) стеароїлхлориду, 63,5 г (0,29 моль) лауроїлхлориду і 140 мл 2М розчину NaOH. При цьому контролюють рН реакційної маси, яке повинно бути в межах 10-11 і, при потребі, коректують швидкість дозування одного з реагентів.

Після закінчення дозування реагентів, реакційну масу перемішують ще протягом 2 год при 303 К. Реакційна маса може бути гетерогенною. Потім вміст реактора вивантажують в стакан і додають 92 г 10% розчину HCl і перемішують протягом 3 год. Після витримки підкислену реакційну масу фільтрують на фільтрі Бюхнера, промивають 0,1Н водним розчином HCl і максимально відтискають на фільтрі. Отримують вологі кристали N-стеароїл-глутамінової (GluSt) кислоти (N-лауроїл-глутамінової кислоти (GluL)).

Висушену до постійної маси N-лауроїл-глутамінову кислоту очищають від домішки лауринової кислоти промивкою гексаном.

Вихід продукту складає 80-90%. Вміст основної речовини 98-99,8% (визначають титриметрично).

### **2.2.2. Методика синтезу діестерів на основі N-захисених амінокислот та спиртів оксипропіленового ряду або 1,4-бутандіолу.**

У двогорлий реактор, оснащений зворотнім холодильником з хлоркальцієвою трубкою, двома крапельними лійками та мішалкою завантажують N-лауроїлглутамінову кислоту (GluL) / N-стеароїлглутамінову кислоту, дипропіленгліколь / поліпропіленгліколь – 400 / 1,4 – BDO. Мольне співвідношення

між реагентами 1:0,48 відповідно. Як розчинник використовували метилен хлористий в кількості 50мл. Реакційну суміш нагрівають до 328 К при інтенсивному перемішуванні та осушують від слідів води за допомогою насадки Діна-Старка. Після цього реакційну суміш залишають охолонути до кімнатної температури, додають 6,67 мл диметилформаміду. Реакційну масу нагрівають до 318 К. Вихідна кислота при цьому повністю розчиняється. Повільно прикапують розчин тіонілу хлористого в 17 мл метилену хлористого. Витримують 30 хвилин. Потім додають триетиламін і витримують ще 6 години при тій же температурі. Мольні співвідношення між тіонілом хлористим та триетиламіном відносно кислоти 1,25/1,49 відповідно.

Розчин розбавляють у 2 рази метиленом хлористим і промивають дистильованою водою по 10 мл до рН промивних вод 5. Одержаний розчин сушать від домішок води над прокаленим  $MgSO_4$  протягом 10 год. Після цього осад фільтрують, а фільтрат упарюють досуха. Одержують кінцевий продукт з домішками вихідної GluSt (визначено ТШХ).

Для очищення від домішок GluL одержаний продукт розчиняють у мінімальній кількості хлороформу і висаджують GluL метанолом. На 1 мл хлороформу потрібно 11 мл метанолу. Утворений осад центрифугують, фугат упарюють та після сушіння у вакуум ексікаторі одержують кінцевий продукт. Структуру отриманих естерів підтверджували  $^1H$  ЯМР спектроскопією та  $^{13}C$ -спектроскопією. Вихід 85-88 %.

### **2.2.3. Синтез структурованих полімерів на основі N-лауроїлглутамінової, N-стеароїлглутамінової кислот та спиртів оксіетиленового/оксипропіленового ряду та 1,4-BDO і гліцеролу як зшивача.**

В тригорлий реактор, оснащений магнітною мішалкою, двома крапельними лійками завантажують N-лауроїлглутамінову кислоту / N-стеароїлглутамінову, дипропіленгліколь/поліпропіленгліколь – 1000 / 1,4-BDO, поліетиленгліколь – 1500/600/400 та гліцерол. Мольне співвідношення між реагентами 1:1,05:0,45:0,11 відповідно. Як розчинник використовували метилен хлористий в кількості 17,5 мл. Реакційну суміш охолоджують до 278 К і прикапують N,N'-

дициклогексилкарбодііміду (DCC) в 9 мл метилену хлористого. Витримують реакційну масу при 278 К 30хв, після чого прикапують 4-диметиламінопіридин (DMAP) в 9мл метилену хлористого. Мольні співвідношення DCC та DMAP відносно N-захищеної кислоти 2,1/0,125 відповідно. Після прикапування розчину DMAP, температуру піднімають до 283 К і витримують 4 години при інтенсивному перемішуванні. Після цього реакційну суміш залишають на 12год.

Для очистки продукту від DCU, реакційну масу фільтрують, фільтрат упарюють. Після цього продукт розчиняють в 5 мл метилену хлористого, додають 0,1 мл води і активно перемішують впродовж 30хв., після чого повторно фільтрують і упарюють фільтрат досуха.. Вихід продукту складає 95,5%. Структуру отриманих структурованих поліестерів підтверджували <sup>1</sup>H ЯМР спектроскопією

#### **2.2.4. Синтез структурованих полімерів на основі діестерів GluSt-DPG-GluSt, GluL-DPG-GluL, GluL-1,4-BDO-GluL, поліетиленгліколів та гліцеролу.**

В реактор оснащений магнітною мішалкою та двома крапельними лійками завантажують GluSt-DPG-GluSt / GluL-DPG-GluL / GluL-1,4BDO-GluL, гліцерол та поліетиленгліколь – 1500/600/400. Мольне співвідношення між реагентами 1/0,11/0,95 відповідно. Як розчинник використовували метилен хлористий в кількості 5мл. Реакційну суміш охолоджують до 278 К і прикапують N,N'-дициклогексилкарбодіімід (DCC) в 2,5 мл метилену хлористого. Витримують реакційну масу при 278 К 30хв, після чого прикапують 4-диметиламінопіридин (DMAP) в 2,5мл метилену хлористого. Мольні співвідношення DCC та DMAP відносно N-захищеної кислоти 2,1/0,125 відповідно. Після прикапування розчину DMAP, температуру піднімають до 283,15К і витримують 4 години при інтенсивному перемішуванні. Після цього реакційну суміш залишають на 12год. Подальше виділення продукту проводять як і в попередній методиці.

#### **2.2.5. Синтези Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/APTES/полімерна оболонка.**

2.2.5.1. Модифікація нанорозмірного магнетиту 3-амінопропілтриетоксисиланом, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/APTES.

За основу по модифікації поверхні магнетиту 3-амінопропілтриетоксисиланом (APTES), було використано роботу Bordbar A.K. та колег [114].

В тригорлий реактор оснащений механічною мішалкою, крапельною лійкою та барботером аргону поміщають 10мл осушеної від води дисперсії магнетиту в хлороформі ( $T=0,0114\text{г/мл}$ ). Реакційну масу нагрівають до 333К при інтенсивному перемішуванні і прикапують суміш, яка складається із 5мл АРТЕS (0,0214 моль), 6,65мл 25% р-ну аміаку у воді, та 8,35 безводного етанолу. Після прикапування реакційну масу витримують 6 год. при нагріванні і інтенсивному перемішуванні. Після цього модифікований магнетит  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$  промивають безводним етанолом в полі магнітних сил. Після промивки етанолом,  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$  диспергують в хлороформі, відганяють при 332 К азеотроп етанол-хлороформ на насадці Діна-Старка. В результаті отримують модифікований магнетит 3-амінопропілтриетоксисиланом в хлороформі.

#### 2.2.5.2. Модифікація поверхні магнетиту поліестером.

В тригорлий реактор оснащений магнітною мішалкою, та крапельними воронками поміщають 0,5г (0,49ммоль) діестеру GluL-1,4BDO-GluL, 0,005г гліцеролу (54,3мкмоль), 0,707г (0,47ммоль) поліетиленгліколю-1500. Реагенти розчиняють у 5 мл хлороформу, додають 3,11мл дисперсії  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$  у хлороформі ( $T=0,0052\text{г/мл}$ ). Реакційну суміш охолоджують до 278 К при інтенсивному перемішуванні та прикапують 0,21г (1,02ммоль) DCC в 2,5мл хлороформу, витримують 30хв, після чого прикапують 0,00749г (66,8мкмоль) DMAP в 2,5мл хлороформу, піднімають температуру до 288К і витримують 4 години при цій температурі та інтенсивному перемішуванні.

Виділення  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$ /полімерна оболонка проводили в полі магнітних сил за допомогою неодимового магніту. Отриманий магнетит-із полімерною оболонкою на поверхні промивали хлороформом. Структуру  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$ /полімерна оболонка підтверджували за допомогою ІЧ – спектроскопії.

## 2.3. Методики аналізів

### 2.3.1. Хроматографічні дослідження

Хроматографічні дослідження витрати спиртових груп діетиленгліколю та дипропіленгліколю проводили за допомогою газо-рідинного хроматографа марки Селміхром-1. Умови хроматографії:

термостат колонок - 190°C

детектор - 215°C

випарник - 218°C

струм ДТП – 150мА

напруга - 1000,0мВ

Довжина колонки – 1м. Адсорбент – CHROMATON N-AW 0,160-0,200мм (15% carbowax 6000). Газ носій – гелій. Витрата газу – носія 2,25л/год. Внутрішній стандарт (мітка) який використовували в хроматографії – DMAP – каталізатор поліконденсації.

#### 2.3.1.1. Визначення співвідношень калібрувальних коефіцієнтів хроматографії.

Для визначення співвідношень калібрувальних коефіцієнтів в бюкс з притертим корком відважували 0,135г (1,01ммоль) DPG; 0,125г (1,18ммоль) DEG у 3,743мл метилену хлористого. Окремо готували 0,448г (2,17ммоль) DCC в 3,078мл метилену хлористого та 0,023г (0,205ммоль) DMAP в 3,078 мл метилену хлористого. Розчини охолоджували до 278 К і швидко змішували, зразу ж після моменту змішування відбирали 0,08 г реакційної суміші у хроматографічний бюкс із попередньо внесеним в нього 0,1мл метанолу, який виступає стоп-розчином реакції поліконденсації.

Таблиця 2.1.

Співвідношення основних калібрувальних коефіцієнтів

$k_{DPG1}/k_{DMAP}$	$k_{DPG2}/k_{DMAP}$	$k_{DPG1}+k_{DPG2}/k_{DMAP}$	$k_{DEG}/k_{DMAP}$
0,680	0,622	0,638	0,953

Таким чином співвідношення калібрувальних коефіцієнтів, визначених хроматографією наведено в табл.2.1.

### 2.3.1.2. Аналіз спиртових груп діетиленгліколю

Для аналізу спиртових груп діетиленгліколю в реактор, оснащений магнітною мішалкою і двома крапельними лійками загрузжали 0,4г (0,97ммоль) GluSt, 0,125г (1,18ммоль) діетиленгліколю в 4,2мл метилену хлористого. Реактор охолоджували до 278К і швидко вводили 3,98г розчину (w=10,68%) DCC в метилені хлористому та 4,16г розчину (w=0,715%) DMAP в метилені хлористому. Після цього відбирали проби у попередньо приготовлені хроматографічні бюкси, в яких містилось по 0,1мл метанолу, в часових проміжках 0-5-10-15-20-25-30-40-60-70-80хв. Після цього в хроматограф кололи по 10мкл проби і визначали площу піка, який відповідає діетиленгліколю.

### 2.3.1.3. Аналіз спиртових груп дипропіленглікою.

Для аналізу спиртових груп в реактор, оснащений магнітною мішалкою і крапельними лійками загрузжали 0,404г (0,977 ммоль) GluSt, 0,115г (0,85ммоль) дипропіленгліколю в 4,87мл метилену хлористого. Реактор охолоджували до 278К і швидко вводили 2,975г розчину (w=14,410%) DCC в метилені хлористому та 3,623г розчину (w=0,838%) DMAP в метилені хлористому. Після цього відбирали проби у попередньо приготовлені хроматографічні бюкси, в яких містилось по 0,1мл метанолу, в часових проміжках 0-3-6-10-12-15-20-30-40-50-60-80хв. Після цього в хроматограф кололи по 10мкл проби і визначали площу піка, який відповідає дипропіленгліколю.

## 2.3.2. Аналіз спиртових груп гліцеролу

Для аналізу спиртових груп гліцеролу було використано видозмінений Сіггіа метод Поле Меленбахера і Кука [115]. Цей метод дозволяє аналізувати спирти із функціональними групами в положенні -1,2. Метод базується на реакції спиртів із періодатною кислотою, яка взята в надлишку. Реакція гліцеролу із періодатною кислотою наведена на схемі 2.1.



Надлишкова періодатна кислота реагує з йодидом калію, генеруючи вільний йод, який титрується тіосульфатом натрію.

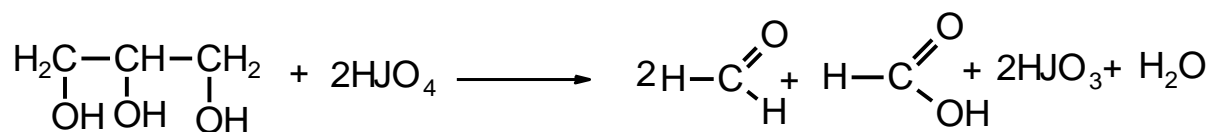


Схема 2.1. Реакція гліцеролу із періодатною кислотою

*Реактиви, які використовувались в даному методі:* 0,026N розчин періодатної кислоти (HJO<sub>4</sub>) в суміші оцтова кислота/вода = 20/80% об.; 20% водн. розчин йодиду калію KJ, 0,05N розчин тіосульфату натрію (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>).

### ***Аналіз спиртових груп гліцеролу (швидка стадія)***

Для аналізу спиртових груп гліцеролу в реактор, оснащений магнітною мішалкою і крапельними лійками загрузають 0,831г (2 ммоль) GluSt, 0,184г (2 ммоль) гліцеролу в 15,6 мл метилену хлористого. Реакційну масу охолоджують до 278 К і вводять 3,28г розчину DCC (w=26,15%) в метилені хлористому після цього прибавляють 2,72г розчину DMAP (w = 1,05%) в метилені хлористому. Після введення розчину DMAP, відбирають по 0,8 мл реакційної маси через 2-3-4-5-6-7 хв. від початку реакції у хімічні стакани, в яких міститься по 10мл 0,02616N розчину періодатної кислоти. Після 30хвилинної витримки проби переносять в комірку для амперометричного титрування, вносять по 2,5мл 20% розчину KJ, витримують 15хв і титрують проби тіосульфатом натрію.

Крім цього проводять титрування холостої проби, для приготування якої в комірці для амперометричного титрування змішують 10мл 0,02616N розчину періодатної кислоти та 2,5мл 20% розчину KJ. Концентрацію спиртових груп гліцеролу, моль/дм<sup>3</sup>, в даному аналізі визначають за формулою:

$$C_{OH} = \frac{3 (V_{хол.} - V_{роб.}) * N * k}{4 V_{проби}} \quad (2.1)$$

Де: V<sub>хол.</sub> – об`єм титранту, який пішов на титрування холостої проби, мл;

V<sub>роб.</sub> – об`єм титранту, який пішов на титрування робочої проби, мл;

$N$  – нормальність розчину титранту, моль/дм<sup>3</sup>;

$k$  – коефіцієнт нормальності розчину титранту.

### ***Аналіз спиртових груп гліцеролу (повільна стадія).***

Загрузки на повільну стадію процесу проводили аналогічно як і в попередньому випадку, проте проби відбирали через 30-60-120-180-240 хв. після початку реакції.

### **2.3.3. Аналіз карбоксильних груп GluSt.**

Паралельно до відбору проб на гліцерол, відбирали проби на аналіз карбоксильних груп GluSt. Завантаження на синтез такі ж як і в методиці 0. На аналіз карбоксильних груп відбирали по 1мл проби з реактора і переносили їх в хімічні стакани в яких попередньо було внесено 5мл 0,05N розчину NaOH. Проби поміщали у шейкер на 12год. Після цього в стакан вносили 10мл суміші ацетон/вода = 70/30% об., після чого титрували 0,1N розчином HCl (зворотнє титрування).

Концентрацію карбоксильних груп, моль/дм<sup>3</sup> визначали за наступним рівнянням:

$$C_{COOH} = \frac{(V_{хол.} - V_{роб.}) \cdot N}{V_{проби}} \quad (2.2)$$

Де:  $V_{хол.}$  – об`єм титранту який пішов на титрування холостої проби, мл.

$V_{роб.}$  – об`єм титранту, який пішов на титрування в робочому досліді., мл.

$N$  - нормальність розчину титранту, моль/дм<sup>3</sup>.

$V$  – об`єм проби, відібраний з реактора для аналізу карбоксильних груп, мл.

### **2.3.4. Аналіз утворення ангідридних груп GluSt.**

Визначення ангідриду, який утворюється на початкових стадіях процесу поліконденсації з використанням активатора карбоксильної групи – DCC проводили згідно стандартної методики морфолінового аналізу[116].

### 2.3.5. Мікроскопування водних дисперсій структурованих полімерів.

2.3.5.1. Приготування водної дисперсії структурованого полімеру для мікроскопування.

Приблизно 0,5г структурованого полімеру диспергують у 2г дистильованої води, при цьому отримують 20% дисперсію полімеру у воді. Отриману дисперсію обробляють ультразвуком, поміщаючи на 5хв в ультразвукову баню марки UM-2.

Після цього дисперсію центрифугують на центрифугі марки MPW-310 протягом 10хв при  $10^3$ об/хв. В результаті центрифугування отримують фугат ( $w=19,35\%$ ), та осад, який являє собою перешитий полімер 0,02г (4% від маси полімеру).

2.3.5.2. Визначення впливу умов центрифугування на кількість осаду який вдається отримати.

Для визначення впливу умов центрифугування готували 16 зразків 20% водної дисперсії полімеру. Перші 8 зразків досліджували при частоті обертання ротора центрифуги 5000об/хв. Для цього в центрифугу поміщали зразки і вмикали центрифугу на 1хв; 1хв; 4хв; 4хв; 5хв; 9хв; 14хв. По проходженні першої хвилини центрифугування виймали пістон із зразком, осад сушили та зважували, у центрифугу поміщають кюветою з дистильованою водою і запускали на наступну хвилину центрифугування і т.д., осад який відокремлювали на центрифугі зважували і визначали відсоток осаду до кількості полімеру яку загрузали в кювету. Наступні 8 зразків досліджували при частоті обертання ротора центрифуги 10000об/хв і 1хв; 2хв; 7хв; 11хв; 17хв; 26хв; 41хв; 55хв.

2.3.5.3. Мікроскопування фугату та осаду після центрифугування.

Фугат, одержаний по методиці 2.3.5.1., мікроскопували на поляризаційно-інтерференційному мікроскопі Biolar PZO Warszawa, оснащений окуляром для фотографування та поляризаційно-інтерференційними об'єктивами. Мікроскопування фугату проводили на об'єктиві 40x/0,65, такий об'єктив дає роздвоєння зображення рівне 12нм. Зразки фугату наносили на каліброване мікрометричне предметне скельце (100мкм) і фотографували за допомогою допоміжного окуляра. Визначення розмірів полімерних частинок, видимих в

оптичний мікроскоп проводили за допомогою програми Altami Studio 3.3. з прив'язкою до мікрометричної шкали.

Осад після центрифугування мікроскопували на предметному скельці як в сухому вигляді так і у вигляді водної дисперсії.

2.3.5.4. Дослідження розмірів частинок дисперсної фази в залежності від умов приготування.

З метою встановлення впливу температури на розмір частинок дисперсної фази, видимої в оптичний мікроскоп готували вісім зразків дисперсії структурованого полімеру як описано в методиці 2.3.5.1. Після цього перші чотири зразки обробляли ультразвуком впродовж 5хв на ультразвуковій бані UM-2 при температурі води в бані 20°C, а наступні зразки обробляли ультразвуком в тих же умовах при 50°C. Після цього проводили визначення розмірів частинок дисперсної фази, видимої в оптичний мікроскоп згідно методики 2.3.5.3.

2.3.5.5. Мікроскопування кристалітів.

На каліброване предметне скельце наносять каплю 10% дисперсії полімеру у воді, з попередньо осадженою ФПП, і залишають для висихання при кімнатній температурі (ізотермічна кристалізація). Зразки мікроскопували за допомогою поляризаційно-інтерференційного об'єктива 20x/0,40 P1. Впродовж висихання зразка на предметному скельці можна помітити формування кристалітів.

**2.3.6. Визначення розмірів частинок структурованих полімерів методом світлорозсіювання.**

Для визначення розмірів структурованих полімерів методом світлорозсіювання, готують 10г 0,1% дисперсії полімеру у воді. Для цього беруть 0,0517г дисперсії (w=19,35%) отриманої згідно методики 2.3.5.1. переносять у хімічний стакан на 15мл і прибавляють 9,848г дистильованої води та диспергують.

Визначення розмірів структурованих полімерів методом світлорозсіювання проводили на приладі ЮНИКО – 1200 при 5-ти різних довжинах хвилі ( $\lambda = 430; 535; 590; 610; 680$ ) з використанням кювети з довжиною оптичного шляху 10мм та розмірами (24\*40мм). Порівняння проводили по 100% пропусканні дистильованої води.

Після цього будували графік в координатах  $\lg D - \lg \lambda$  і визначали показник  $n$  по куту нахилу отриманої кривої. Відповідно до цього показника підбирали показник  $Z$ , згідно табличних даних, та визначали розмір частинок дисперсної фази згідно рівняння Геллера.

### **2.3.7. Визначення «водного числа» структурованих полімерів.**

Для визначення водного числа готують 4% розчин бензолу в діоксані, 2% розчин структурованого полімеру в розчині бензол/діоксан. Після цього прикапують дистильовану воду до розчину полімеру, фіксуючи число мілілітрів води при якому з'являється помутніння розчину. Число мілілітрів води при якому спостерігається помутніння, називається водним числом емульгатора. Водні числа прямо пропорційні числам ГЛБ.

Для вимірювання розсіювання потрібно щонайменше 3мл розчину аналізованої речовини.

Визначення точки помутніння проводили за допомогою спектрофотометра ЛМФ-72М з використанням абсорбційного світлофільтра №12 ( $\lambda=490\pm 10\text{нм}$ ) та кювети з довжиною оптичного шляху 10мм та розмірами (24\*40мм). Порівняння проводили по 4% розчині бензолу в діоксані. В одну кювету вносимо розчин бензолу в діоксані, а в іншу розчин аналізованої речовини. Спочатку вимірюємо розсіювання розчину полімеру, а потім додаємо до нього по 0,3мл дистильованої води при цьому кожен раз вимірюємо розсіювання. Коли значення  $D$  будуть в межах 0,5-0,6 зменшуємо кількість доданої води і вносимо по 0,06мл води до повного помутніння розчину (значення  $D=1,9-2,0$ ).

### **2.3.8. Визначення «вікна розчинника».**

Визначення вікна розчинника описано в роботі John Burke «Solubility Parameters: Theory and Applications [117].

Для визначення «вікна розчинника» готували по 2г 20% розчину полімеру в наступних розчинниках: ацетон/ацетонітрил - 18,63/81,37% об., діоксан, ацетон, бензол/діоксан – 44,76/55,24% об. та прибавляли до цих розчинів осаджувач (вода або оцтова кислота) на приладі для фотоколориметричного титрування, фіксуючи

при цьому об'єм осаджувача при якому спостерігається помутніння розчину. Для наступних комбінацій розчинник – осаджувач ацетон/ацетонітрил - вода, діоксан – оцтова кислота, ацетон - вода, бензол/діоксан – вода., розраховувались константи Хансена та відображались для кожної з комбінацій розчинник-осаджувач на потрібному графіку.

### **2.3.9. Визначення активності ферментного препарату BAN 480L.**

Ферментний препарат BAN 480L являє собою препарат кислотої  $\alpha$ -амілази. Маса сухої речовини складає 55,34%. Визначення активності амілази проводили згідно класичної методики [118].

### **2.3.10. Визначення активності ферментного препарату BAN-480L.**

Для визначення активності ферментного препарату BAN-480L іммобілізованого в полімер, в сім пеніцилінових флаконів на 10 мл поміщали 0,67; 0,51; 0,41; 0,33; 0,25; 0,20г, 10% дисперсії полімеру приготовленої за методикою 2.3.5.1 та по 0,15г ферментного препарату BAN – 480L ( $w_{с.р.} = 55,34\%$ ) в кожен із флаконів. Крім того в пеніцилінові флакони вносили 0,17; 0,27; 0,34; 0,47; 0,42; 0,53г дистильованої води, починаючи з другого флакона. Вміст пеніцилінових флаконів активно перемішували на магнітній мішалці протягом 12год. Після чого 0,1г солюбілізату поміщали в мірну колбу на 100мл і доводили об'єм водою до мітки.

Паралельно до цього в дві пробірки діаметром 2 см<sup>3</sup> і висотою 18см наливають по 10см<sup>3</sup> 1% розчину крохмалю (приготовленого за методикою 2.3.9) і ставлять їх в термостат UTU-4 з температурою 30°C на 10хв. Після цього, не витягуючи пробірок з термостату, наливають у першу пробірку 1см<sup>3</sup> дистильованої води (контрольна проба), а в другу 1см<sup>3</sup> робочого розчину ферменту (робоча проба). Суміші швидко перемішують і витримують в термостаті 10хв (по секундоміру). Потім з реакційних сумішей (контрольної і робочої проби) відбирають по 0,5см<sup>3</sup> розчину і переносять їх в колби з попередньо налитими туди 50см<sup>3</sup> робочого розчину йоду (приготовлених за методикою 2.3.9). Вміст колб перемішують. Отримані розчини набувають наступного кольору: контрольний – зелений, робочий – коричневий.

Безпосередньо після змішування розчинів визначають їх оптичну густину на фотоелектроколориметрі (ЛМФ – 72М), використовуючи світлофільтр №8 ( $\lambda=620\text{нм}$ ) і кювети з товщиною поглинаючого шару 1см. Контрольним розчином в колориметрії являється дистильована вода.

Оптична густина контрольного розчину  $D_1$  відповідає кількості вихідного крохмалю субстрату. Оптична густина досліджуваного розчину  $D_2$  відповідає кількості крохмалю, який залишився після дії ферменту. Різниця між показниками оптичних густин розчинів відповідає гідролізованій кількості крохмалю субстрату.

Кількість гідролізованого крохмалю  $C$  (г) визначають по формулі:

$$C = 0,1(1 - \log_{T_1} T_2) \quad (2.3)$$

Амілолітичну активність  $AC$  (од/г) препаратів бактеріального походження визначають по формулі:

$$AC = \frac{5,885 * C + 0,001671}{n} \quad (2.4)$$

Де  $n$  – кількість ферментного препарату яка була взята для аналізу, мг.

### 2.3.11. Визначення кількості структурованого полімеру прищепленого до поверхні магнетиту.

Визначення кількості структурованого полімеру, прищепленого до поверхні магнетиту, проводили згідно стандартної методики елементного аналізу на вуглець та водень [119].

Після цього розраховували відсоток полімеру від теоретично очікуваної кількості, прищеплений до поверхні за наступною формулою:

$$\%n = \frac{100 \cdot m_M}{m_{n(\text{теор.})}} \cdot \frac{w(C)}{w^*(C) - w(C)} \quad (2.5)$$

Де:  $m_M$  – маса магнетиту, г (0,114г);

$m_{n(\text{теор.})}$  – маса полімеру яку очікуємо тримати в ході синтезу, (1,06г)г;

$w(C)$  – масова частка вуглецю із даних елементного аналізу, %;

$w^*$  (C) – масова частка вуглецю, розрахована із теоретичної ланки, %.

### **2.3.12. Визначення кількості абсорбованого ферментного препарату BAN-480L за допомогою $Fe_3O_4/APTES/B(GL)_2B-1500$**

Кількість абсорбованого ФП визначали термогравіметричним методом.

Для цього 0,05г  $Fe_3O_4/APTES/B(GL)_2B-1500$  поміщали у пеніциліновий флакон на 10мл, після цього у флакон прибавляли 10г ферментного препарату BAN-480L і активно перемішували протягом 12 годин, після цього виділяли і промивали зразок дистильованою в полі магнітних сил. Після цього брали 44мг на термогравіметричні дослідження.

### **2.3.13. Визначення стабілізації емульсій типу м/в структурованими полімерами $B(GL)_2B-1500$ .**

В якості модельного дослідження для стабілізації було використано структурований полімер  $B(GL)_2B-1500$  та лавандову олію, виробництва компанії «Ароматика».

Для солюбілізації лавандової олії в 13 пеніцилінових флаконах на 10мл готували порівняльні зразки, в які вносили по 2г 10% водної дисперсії полімеру з попередньо відокремленою переструктурованою фракцією, приготовленої за методикою 2.3.5.1, та 0,10; 0,20; 0,44; 0,57; 0,80; 0,86; 0,91; 1,17; 1,54; 1,84; 2,45; 4,19; 4,83г олії відповідно. Зразки поміщали на магнітну мішалку та активно перемішували впродовж 12год. Після чого проводили визначення розмірів частинок світлорозсіюванням та мікроскопуванням.

2.3.13.1. Визначення розмірів частинок стабілізованої емульсії лавандова олія/вода мікроскопуванням проводили як описано в методиці 2.3.5.3.

2.3.13.2. Визначення розмірів частинок стабілізованої емульсії методом світлорозсіювання.

Для визначення розмірів частинок стабілізованої емульсії методом світлорозсіювання в пеніцилінових флаконах готували по 10г 0,1% розбавленої водою емульсії, яка містить 0,01г полімеру разом із емульсією та 9,99г води. Заміри розмірів частинок емульсії проводили як описано в методиці 2.3.6.



### 2.3.14. Визначення гідроксильного числа

Визначення гідроксильного числа поліетердіолів, які використовувались для синтезу поліестерів проводили згідно стандартної методики [120].

### 2.3.15. ПМР-спектроскопія.

<sup>1</sup>H ЯМР спектри зразків мономерних фрагментів та структурованих поліестерів отримували у відповідному дейтерованому розчиннику (дейтеробензол, дейтерохлороформ, дейтеорвана вода) при застосуванні приладу JEOL's ECA Series Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectrometer при частоті 400 МГц в автоматичному режимі сканування. Аналіз ПМР-спектрів проводили за таблицями характерних хімічних зсувів, наведених у [121], а також програмою ChemBioDraw Ultra 11.0.1.

### 2.3.16. ІЧ-спектроскопія з перетворення Фур'є

ІЧ спектри зразків модифікованого магнетиту та магнетиту з полімерною оболонкою отримані при застосуванні приладу Thermo Scientific Nicolet 8700. Зразки магнетиту змішували з подрібненим KBr у співвідношенні 1:10 і затискали у таблетку товщиною до 0,1 мм. Аналіз ІЧ-спектрів проводили за таблицями характерних частот поглинання [122, 123, 124].

### 2.3.17. Дослідження методом малокутового розсіювання нейтронів (SANS)

SANS дослідження проводились в Oak Ridge National Laboratory (Tennessee, USA) на приладі Extended Q-Range Small Angle Neutron Scattering Diffractometer (EQ-SANS). Розчини завантажувались в стандартну кварцову кювету товщиною 2 мм, через яку пропускали пучок нейтронів з довжиною хвилі  $\lambda = 6,0 \text{ \AA}$  та розподілом  $\Delta\lambda/\lambda = 1,4$ . Регулюванням відстані від зразка до детектора в межах 4м здійснено вимірювання в діапазоні кутів розсіювання  $0,0048\text{-}0,4 \text{ \AA}^{-1}$ . Поверхні розсіювання нейтронів зразками міцелярних розчинів отримували при постійних температурах 298 К, 318 К та 333 К. Поверхні розсіювання перетворювали в криві розсіювання радіальним усередненням інтенсивності сигналу. Дані SANS були скоректовані на розсіювання порожньої комірки та комірки заповненої чистим розчинником.

Абсолютну інтенсивність на кривих розсіювання визначали калібруванням по стандарту PorsilB.

### **2.3.18. Визначення розміру частинок дисперсної фази методом динамічного світлорозсіювання (DLS).**

Ефективний гідродинамічний радіус частинок дисперсної фази в дисперсіях поліестерів з концентрацією 0,01-0,5% визначали на приладі Particle Sizing Systems Nicomp 380, з роздільною здатністю 3 нм. Заряд частинок вимірювали на приладі Zeta Sizer Nano-ZS90 (Malvern).

### **2.3.19. Термогравіметричні дослідження**

Термогравіметричними дослідженнями визначали кількість солюбілізованої лавандової олії та кількість іммобілізованого ферментного препарату у зразках структурованих кополіестерів. Вимірювання (за кривою ТГ) проводили на приладі Дериватограф Q-1500D системи «Паулік-Паулік-Ердей», Угорщина.

Зразок емульсії лавандове масло/вода, яка була стабілізована структурованими полімерами, аналізували в динамічному режимі в атмосфері кисню або азоту. Маса зразка становила 30 мг, швидкість нагріву 3°/хв; чутливість за шкалою ТГ- 100 мг. Швидкість розкладу 0,4мг/хв. Шкала - 250°С.

Зразок структурованого кополіестеру із іммобілізованим ферментом аналізували в наступних умовах: Швидкість нагріву – 2,5°С/хв, швидкість стрічки 1мм/хв, Шкала - 1000°С, чутливість ваги – 50мг.



В даних роботах показано, що в залежності від умов проведення процесу можна одержати поліестери зі ступенем поліконденсації від 3 до 18.

Описані в роботах [125, 126] дослідження показали, що в результаті поліконденсації N-похідних дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот з діолами поліоксіетиленового та поліоксіпропіленового рядів можна отримати лінійні поліестери, оскільки в реакції поліконденсації використовувались лише біфункціональні комономери. Для того, щоб одержати за даною схемою розгалужені (деревовидні) або перехресно зшиті полімери слід використати трифункційний мономер. Для цього, в межах даної роботи, в якості трифункційного мономеру використовували гліцерол. Схему поліконденсації N-похідних глютамінової кислоти з діолами поліоксіетиленового та поліоксіпропіленового ряду в присутності гліцеролу можна відобразити наступною схемою:

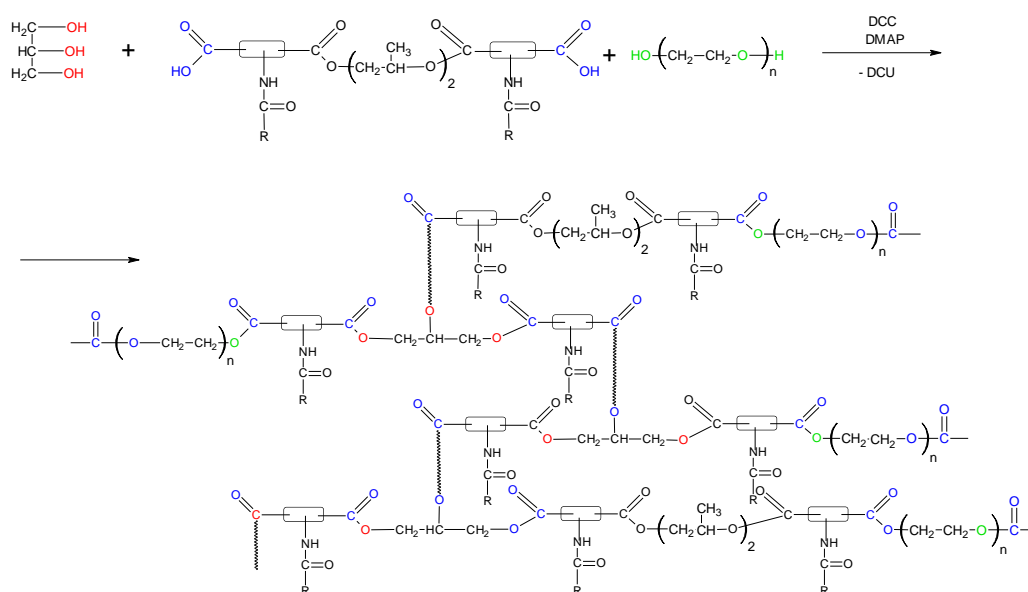


Схема 3.2. Загальна схема поліконденсації N-похідних глютамінової кислоти з діолами поліоксіетиленового та поліоксіпропіленового рядів в присутності гліцеролу.

За схемою 3.2, входження гліцеролу в основний ланцюг поліестеру призводить до включення в нього гідроксильної групи, яка вступаючи в реакцію Стегліха з активованою формою карбоксильної групи призводить до розгалуження поліестерного ланцюга, а на більш глибоких стадіях перетворення, до перехресної зшивки.

Крім того, в роботах [125, 126] показано, що одержані по схемі 3.1 поліестери проявляють найбільшу поверхневу активність і здатність до утворення нано- і мікророзмірної самостабілізованої дисперсної фази при умові одночасного включення в основний ланцюг залишків N-похідної глутамінової кислоти, поліоксіетиленових ланцюгів з молекулярною масою від 600 до 2000 Да та поліоксіпропіленових ланцюгів з молекулярною масою 400 Да. Оскільки входження поліоксіпропіленових ланцюгів в основний ланцюг поліестеру є неоднозначним в межах даної роботи в якості кислотної складової використовували реакційноздатний форполімер на основі дипропіленгліколю – діестер дипропіленгліколю з стеароїл- чи лауроїлглутаміновою кислотою, синтез та очистка якого описано в роботі [125], а загальна структурна формула може бути відображена наступною схемою:

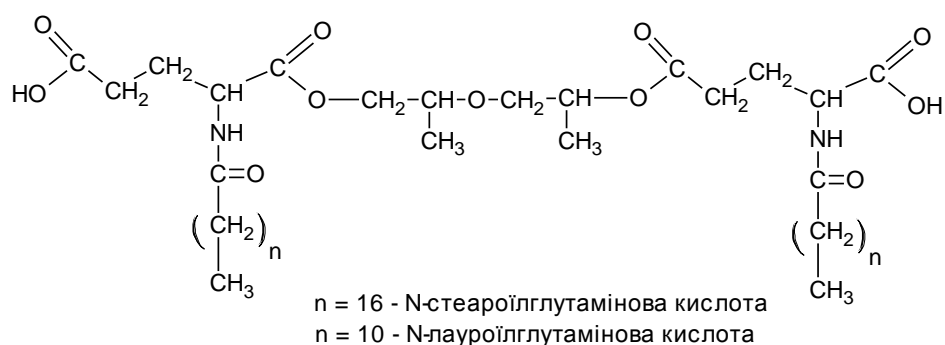


Схема 3.3. Структура діестеру на основі N-похідних глутамінової кислоти та дипропіленгліколю.

Оскільки ланцюг PPG уже входить в кислотну складову, його включення в поліестерний ланцюг уже не визначається реакційною здатністю гідроксильних груп PPG, а процес кополіконденсації за участю даного блока може бути відображений на схемі 3.2.

### 3.2. Основні закономірності ко-поліконденсації N-похідних глутамінової кислоти з діолами поліоксіетиленового та поліоксіпропіленового ряду в присутності гліцеролу.

Методики по одержанню продуктів поліконденсацією в умовах реакції Стегліха наведені в розділі 2. В розділі 2 також наведені основні методики по дослідженню властивостей одержаних продуктів. Згідно з методиками поліконденсацію проводили в розчині при загальній концентрації ко-мономерів від

44,5 до 123 ммоль/дм<sup>3</sup>. Основну масу досліджень проводили при співвідношенні карбоксильних груп до гідроксильних груп 9:10, тобто більшість дослідів, по рекомендації роботи [125], було проведено при незначному надлишку гідроксильних груп. Кількість активатора карбоксильних груп DCC та нуклеофільної добавки DMAP приводили до кількості внесеної на синтез N- захищеної кислоти або ж дієстеру на її основі. Так, для синтезів використовували 2,1 кратний мольний надлишок DCC та 0,125 кратний надлишок DMAP.

Розчинник підбирали, виходячи з умови розчинності N- похідних глютамінової кислоти. Найбільш придатними виявились хлоровані розчинники, тому більшість досліджень проводили в метилені хлористому, зважаючи на простоту його видалення з реакційної маси. Значного впливу на перебіг процесу заміни метилену хлористого на хлороформ виявлено не було. Для перевірки впливу середовища, на перебіг реакції крім хлорованих розчинників досліджували N,N-диметилформаїд. Проведені дослідження показали, що окрім суттєвих незручностей при його видаленні з реакційного середовища, переваг використання даного розчинника не було.

Реакційну суміш готували як описано в методиках 2.2.3 та 2.2.4. Реакцію проводили при 288K впродовж 3 ÷ 4 годин. Після цього, реакційну суміш до виділення продукту, витримували при кімнатній температурі впродовж 12 годин, спостерігаючи виділення DCU. По завершенню реакції DCU виділяли з реакційної суміші фільтруванням, розчинник упарювали. При необхідності, одержаний полімер переосаджували з розчину.

### **3.2.1. Поліестери з різним ступенем структурування**

Проведені дослідження показали, що в результаті перебігу реакції поліконденсації утворюється поліестер з суттєво різним ступенем структурування та розгалуження. Можна стверджувати, що в ході синтезу утворюється три різні форми поліестеру, які суттєво не відрізняються складом, але сильно відрізняються ступенем структурування. Для розділення цих форм поліестерів виділений з

реакційного середовища поліестер диспергували в воді з такого розрахунку, щоб одержати 10÷20% дисперсію.

В більшості зразків частина дисперсної фази за короткий проміжок часу седиментує з розчину в гравітаційному полі. Мікрофотографія цих частинок в полі зору оптичного мікроскопа наведена на рис. 3.1.б.

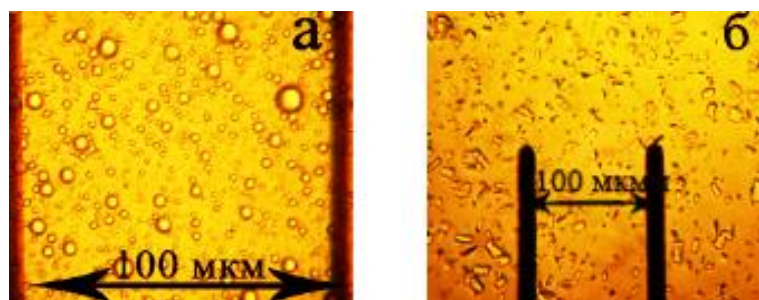


Рис. 3.1. Мікрофотографії зразків структурованих поліестерів

В ході проведених досліджень було встановлено ряд властивостей поліестерів. Вони у всіх випадках мають неправильну форму з усередненим розміром від 3 до 15 мкм зі значною полідисперсністю по розміру. Не піддаються подальшому подрібненню в колоїдних млинах і в полі ультразвукових хвиль. Не утворюють в водній фазі стабільної дисперсії і легко седиментуються як під дією гравітаційного поля так і під дією відцентрових сил. Дані частинки не агломерують та не коалесценціюють. Вони не розчиняються в більшості органічних розчинників та не набрякають в воді. Дуже погано розчиняються при кип'ятінні в водних розчинах кислот та дещо краще – в водних розчинах лугів. Сукупність встановлених властивостей дозволяє вважати дані частинки зшитими молекулами поліестеру, одержаними по схемі 3.2, або частинками зі значною густиною зшивок. При цьому густина зшивок є настільки значною, що подавляє набрякання в воді по при те, що склад поліестеру, як показали дослідження на лінійних аналогах, сильно сприяє гідратації. В подальших обговореннях результатів досліджень в межах даної роботи цю частину одержаного поліестеру будемо називати ФПП.

Крім ФПП, у полі зору оптичного мікроскопа можна побачити частинки правильної сферичної форми. Після видалення седиментацією з дисперсії частинок ФПП, це єдині частинки дисперсної фази, які можна побачити в оптичний мікроскоп

(рис. 3.1.a). Їх середній діаметр залежить від умов синтезу і складу поліестеру та змінюється в межах від 1,5-2,5 $\mu\text{m}$ . Характерний чисельний розподіл частинок приведений на рис. 3.2.

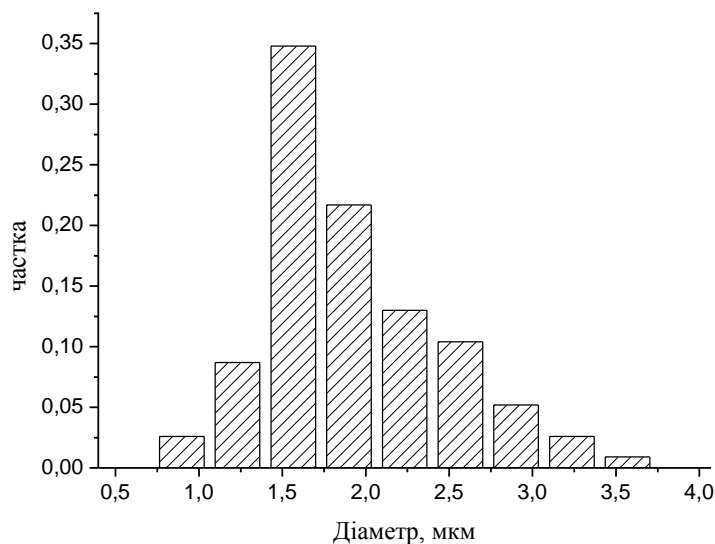


Рис. 3.2. Чисельний розподіл частинок дисперсної фази, які видно в оптичний мікроскоп

Аналіз цього розподілу та розподілів для інших зразків показує, що вони значно відхиляються від нормального, мають статистично значимий позитивний коефіцієнт асиметрії в межах від 0,7 до 2,4. Варто відмітити, що мікроскопування частинок проводилось при 500 кратному збільшенні і граничному розділенні мікроскопа 0,4÷0,5  $\mu\text{m}$ . Таким чином, модальний характер розподілу, наведеного на рис. 3.2, об'єктивно характеризує частинки даного типу, та не є результатом граничного розділення оптичного мікроскопа. Частинки дисперсної фази із сферичною формою спостерігались для більшості зразків синтезованих поліестерів. Для деяких поліестерів, про склад яких буде іти мова нижче, замість сферичних частинок дисперсної фази спостерігали частинки паличкоподібної форми, фотографія яких наведена на рис. 3.3.



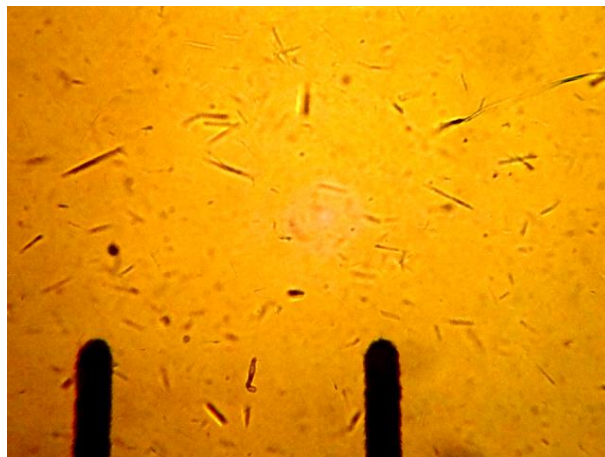


Рис. 3.3. Паличкоподібні частинки дисперсної фази, видимі в оптичний мікроскоп

Частинки паличкоподібної форми мають такий самий діаметр як частинки сферичної форми. Отримані дані дають підстави вважати, що паличкоподібні частинки дисперсної фази формують ті молекули поліестеру, які, через особливості складу, не можуть забезпечити достатню стабілізацію дисперсної фази. Однією з основних властивостей даної дисперсної фази слід вважати її добру стабілізацію в водному середовищі. Сферичні частинки не піддаються подрібненню, але і не було помічено їх агломерації чи коалесценції. Від частинок ФПП їх відрізняє густина, що є близькою до густини води.

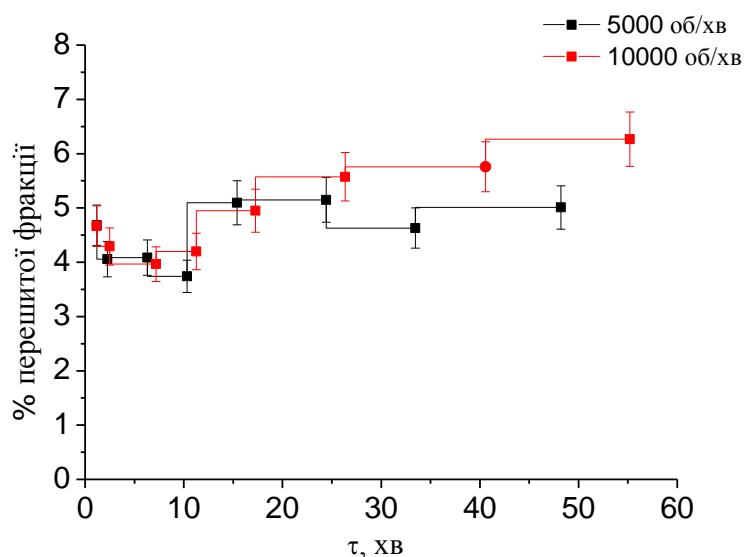


Рис. 3.4. Криві осадження ФПП в полі відцентрових сил

За це свідчить той факт, що, не дивлячись на те, що їх розмір не суттєво менший за розмір частинок ФПП, вони не седиментують в гравітаційному полі і в полі

відцентрових сил. В цьому можна переконатись в ході аналізу кривих, наведених на рис. 3.4 Криві цього рисунку відображають відсоток седиментованих частинок, ФПП із 10% водної дисперсії, яка містить 5÷6% ФПП від часу центрифугування та обертів ротора центрифуги. З наведених кривих можна зробити висновок, що седиментації піддаються лише частинки ФПП (рис. 3.1б).

Такі частинки седиментують практично відразу і збільшення часу та обертів центрифуги практично не призводять до збільшення відсотку седиментованих частинок ФПП. Як можна побачити з рис. 3.1б, сферичні частинки на фотографії практично відсутні. Варто думати, що частинки дисперсної фази сферичної форми, відрізняються від частинок ФПП густиною зшивок. Слід припустити, що частинки дисперсної фази - це поліестер із низьким ступенем структурування сітки. Зокрема, сітка із низьким ступенем структурування не утруднює сегментальну рухливість фрагментів поліоксіетиленгліколю. Це дозволяє їм орієнтуватись на границі розділу фаз в водне середовище, і за рахунок гідратації, утворювати структурно-механічний бар'єр стабілізації. Крім того, сітка із низьким ступенем структурування не пригнічує процес набрякання у воді. В результаті цього, густина частинок наближається до густини води, і частинки не седиментують в гравітаційному полі і в полі відцентрових сил. Відсутність розчинності в воді при значному набряканні, а також їх розміри дозволяють вважати дані частинки мікрогідрогелем. Відповідно до описаних властивостей найбільш вдалою назвою для цих частинок дисперсної фази слід вважати термін ГФ. Тому, не зважаючи на те, що його можна вважати запозиченням, при обговоренні результатів досліджень до цієї частки одержаного поліестеру будемо використовувати термін ГФ.

Описані вище дві фракції одержаних поліестерів, як буде показано нижче, не перевищують 40% від загальної кількості поліестеру. Решту становить макромолекули поліестеру, що формують частинки дисперсної фази невидимі при мікроскопуванні, або є розчинними у воді.

Про наявність частинок з розміром меншим за 400÷500 нм в водних дисперсіях зразків поліестерів свідчить визначення розміру частинок методом

динамічного світлорозсіювання (DLS), який призводить до результатів 8-150нм. Більш детально про розміри і властивості цих частинок буде йти мова при обговоренні результатів динамічного світлорозсіювання і даних малокутового нейтронного розсіювання. На даному етапі обговорення результатів необхідно відмітити, що ця фракція макромолекул поліестеру по своїм властивостям суттєво відрізняється від лінійних макромолекул поліестеру аналогічних по складу, але одержаних при відсутності гліцеролу в реакційній суміші.

На рис. 3.5, продемонстровано формування на поверхні скла впорядкованих структур, які можна назвати кристалітами, при випаровуванні води з 10% водної дисперсії зразків поліестерів одержаних за схемою 3.2 на ранніх стадіях (рис. 3.5а) та на пізніх стадіях (рис. 3.5б) цього процесу.

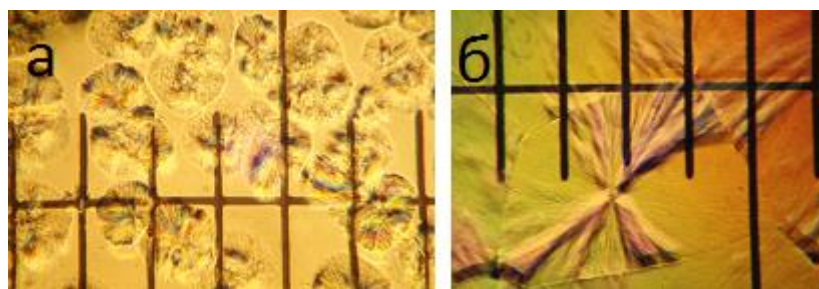


Рис. 3.5. Формування кристалітів в процесі випаровування води з дисперсії поліестеру

Як можна побачити з мікрофотографій, одержані поліестери не формують на поверхні плівки, а викристалізуються в формі кристалітів. Це означає, що при кімнатній температурі вони знаходяться вище температури склування. Слід відмітити, що відповідні лінійні поліестери з аналогічним складом мають температуру склування значно вищу від кімнатної і при випаровуванні води формують рівномірну плівку. Цей факт, а також дані про входження в склад молекул поліестеру залишків гліцеролу і створення умов для розгалуження основного ланцюга, дозволяють зробити висновок, що фракція поліестеру, макромолекули якої є розчинними в воді, або формують частинки дисперсної фази невидимі в оптичний мікроскоп, складається з сильно розгалужених макромолекул поліестеру. Зберігаючи одноманітність назв цю фракцію одержаних поліестерів, що є розчинними в водній фазі або формують, при диспергуванні в воді частинки

дисперсної фази невидимі в оптичний мікроскоп будемо, при подальшому обговоренні в межах даної роботи називати ЗФ.

Таким чином, при проведенні поліконденсації N-заміщених похідних глютамінової кислоти з діолами поліоксіетиленового та поліоксипропіленового рядів або форполімерів (схема 3.1) в присутності гліцеролу за реакцією Стегліха (схема 3.2) одночасно утворюється поліестерні макромолекули з різним ступенем структурування, але приблизно однаковим складом. За властивостями, які проявляють ці макромолекули, в межах даної роботи, їх будемо поділяти на три фракції: макромолекули ЗФ, деревоподібні макромолекули, що розчинні в воді або формують в ній частинки з лінійними нанометричними розмірами; ГФ-перехреснозшиті макромолекули поліестерів з сіткою, яка характеризується низьким ступенем структурування, що формують в водній фазі самостабілізовані частинки дисперсної фази мікрогідрогелю сферичної форми (рідше паличкоподібної); ФПП - макромолекули поліестеру зі значним ступенем зшивки, що формують в водному середовищі частинки дисперсної фази неправильної форми, які не набухають і не стабілізуються в воді та легко седиментують.

### **3.2.2. Вплив умов проведення процесу поліконденсації на основні характеристики одержаних поліестерів.**

Умови проведення процесу поліконденсації повинні в значній мірі визначати властивості одержаного поліестеру. Як найбільш вагомі фактори повинні виступати температура, середовище, співвідношення між компонентами та їх концентрація в реакційному середовищі.

Температура в значній мірі впливає на перебіг процесу формування поліестеру за реакцією Стегліга. В роботі [125], на основі значної кількості експериментального матеріалу, показано, що ефективно утворення поліестеру відбувається в вузькому температурному діапазоні від  $8 \div 20^\circ\text{C}$ . При більш високих температурах, як показано в цій же роботі, спостерігається перебіг значної кількості реакцій за участю активованої форми карбоксильної групи, які призводять до її пасивації і обриву ланцюга поліконденсації, а при температурах нижчих за  $8^\circ\text{C}$  спостерігається

настільки суттєве сповільнення процесу (особливо на глибоких стадіях), що одержання поліестеру стає утрудненим. В межах даної роботи попередніми дослідженнями було показано, що введення в систему в якості структуруючого агенту гліцеролу, не зміщує оптимальної температури синтезу і суттєво не розширює її діапазону. Тому, в роботі, температура не розглядалась, як фактор впливу на перебіг процесу, а більшість досліджень було проведено при 15°C.

Обмеженість розчинності глютамінової кислоти та її N-похідних в більшості доступних та широко вживаних розчинників сильно звужує коло розчинників, які можна використати для реалізації процесу. Крім того, як раніше повідомлялось, не було помічено різниці в перебігу процесу в таких розчинниках як метилен хлористий, хлороформ і N,N-диметилформамід. Тому більшість досліджень проводили в метилені хлористому, а вплив середовища на перебіг процесу більш детально не відслідковувалась.

Виходячи з цього, найбільш вагомими факторами в роботі вважаються вплив співвідношення реагентів в реакційній суміші та природа комономерів. Значну увагу, в межах роботи, звертали на вплив кількості гліцеролу.

Вплив умов проведення процесу на конверсію та вихід поліестеру.

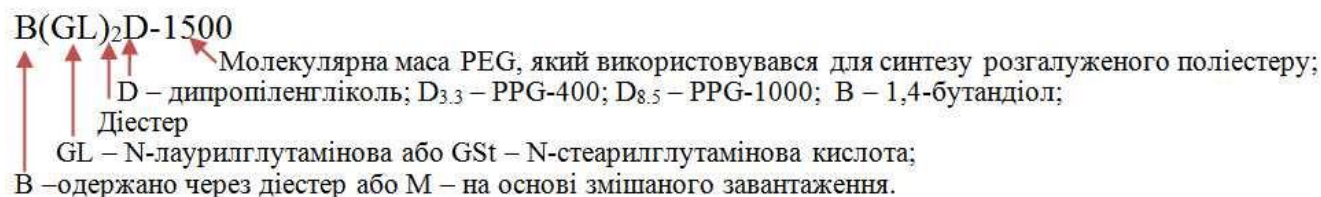
Особливість реакції незворотної активованої поліконденсації, полягає в тому, що основний продукт реакції – поліестер із значним ступенем поліконденсації одержується лише при умові досягнення конверсії не менше 95%. В переважній більшості синтезів, що були проведені в межах даного дослідження, така умова виконувалась. Конверсію оцінювали по виходу DCU, дані по виходу DCU та інші параметри наведені в табл.3.1.

Таблиця 3.1.

Вплив умов одержання на вихід поліестеру.

№ п/п	Кополіестер	Умови одержання				Вихід поліестеру	d, нм (релеєвське розсіювання)	d, нм (SANS)	% ФПП	%ГФ
		кислота/поліол/ DCC/ DMAP	DCC / к-та	%(мольн.), гліцеролу	Конверсія по DCU, %					
1	B(GL) <sub>2</sub> D-1500	1/1,11/1,15/0,14	1,1	10,01	99.5	21±1,5	209,82	-	6,6	54
2	B(GL) <sub>2</sub> D-1500	1/1,11/1,14/0,14	1,1	25,02	98.6	20±1,5	306,02	-	9,3	12,7
3	B(GL) <sub>2</sub> D-1500	1/1,11/1,14/0,14	1,1	40,08	~100	22±2	316,92	91,28	25,5	
4	M(GSt)-D <sub>8,5</sub> - 1500	1/0,769/2,12/0,12	2,1	22	96.1	96±2	630	-	29,16	3,2
5	B(GSt) <sub>2</sub> D-600	1/1,15/2,1/0,155	2,1	10	96.8	91±2	630		30,82	
6	M(GL)-D-600	1/1.05/2.08/0.128	2.1	19	99.4	93±2	404		18,22	5,6
7	B(GL) <sub>2</sub> D-1500	1/1,06/2,50/0,16	2,1	10	~100	96±2	422	6,5	16,89	
8	B(GSt) <sub>2</sub> D3.3- 1500	1/0,96/2,05/0,12	2,1	12	99.6	99 ±2	462	3,60	20,29	
9	B(GL) <sub>2</sub> B-400	1/1,05/2,13/0,132	2,1	10	97.4	95±2	265,33	-	21,63	3,9
10	M(GL)-D-1500	1/1,06/2,09/0,124	2,1	10	~100	95±2	Продукт не диспергується у воді			
11	B(GL) <sub>2</sub> B-1500	1/1,058/2,354/0,154	2,1	10	99.2	97±2	539		9,83	
12	B(GSt) <sub>2</sub> D-400	1/1,09/2,10/0,13	2,1	5		98±2	-	-	~99	
13	B(GSt) <sub>2</sub> D-400	1/1,18/2,10/0,12	2,1	5	97.7	96±2			~99	
14	B(GSt) <sub>2</sub> D-400	1/1,2/2,10/0,12	2,1	1	95.6	93±2	-	-	~99	
15	B(GSt) <sub>2</sub> D-400	1/1,08/2,10/0,13	2,1		97.3	96±2			~99	
16	B(GSt) <sub>2</sub> D-1500	1/1,08/2,11/0,13	2,1	5	98.1	98±2	550,04	6,5; 190,1	38,4	
17	B(GL) <sub>2</sub> B-1500	1/1,05/2,11/0,124	2,1	10	98.3	92,6	224,0	6,5	6	
18	B(GL) <sub>2</sub> B-1500	1/1,06/2,12/0,122	2,1	10	~100	95±2				
19	M(GSt)-D- 1500	1/1,15/2,04/0,12	2,1	9	95.3	91±2	480,0	122	16,50	
20	M(GL)-D-1500	1/1,05/2,04/0,12	2,1	10	97.9	94±2	428,7	3,12; 18,17	7,5	
21	B(GSt) <sub>2</sub> D-1500	1/1,1/2,136/0,120	2,1	10.3	~100	95±2	371		7,44	
22	B(GL) <sub>2</sub> B-1500 (лінійний)	1/0.96/2.1/0.151	2.1	0						

Назви поліестерів, які приведені у табл. 3.1 формують згідно наступного принципу:



Аналізуючи ці дані можна зробити висновок, що в дослідженнях, в яких активатор карбоксильних груп (DCC) використовувався в недостатці, DCU, в середньому, виділялась більшою мірою (98,5÷100%). В дослідженнях, в яких співвідношення карбоксильних груп до DCC становило 1 : 1,2, спостерігали виділення DCU в діапазоні 95÷100% від теоретично можливого. Це дещо менше не лише від кількості виділеного DCU при умові недостатці DCC, але і від відповідних значень наведених в роботі [125], де описано синтез лінійних поліестерів подібного складу по тій же методиці. Введення в склад комономерів гліцеролу не може бути причиною такого пониження виходу, (в середньому на 1,5÷2%), оскільки аналіз даних таблиці не дозволяє помітити жодної, статистично значимої залежності виходу DCU від кількості гліцеролу, хоча кількість останнього змінюється в значному діапазоні. Також не вдається відстежити залежність виходу DCU від природи інших комономерів.

В табл.3.1 наведено значення виходу DCU в розрахунку на виділений поліестер. Слід вважати закономірним, не беручи до уваги синтезів одержаних при недостатці DCC, що високий вихід DCU визначає високий вихід поліестеру - 90÷98%. При цьому, спостерігається деяка відмінність між різними способами одержання поліестеру, що досліджувались в межах даної роботи. Методика одержання поліестерів через попередньо синтезовані діестери в основному забезпечує вихід DCU в діапазоні 95÷98% , а по методиці 2.2.3, через змішане завантаження, значення виходу поліестеру в основному знаходились в діапазоні 90÷96%. Причина такого пониження виходу буде обговорюватись при розгляді кінетичних закономірностей перебігу процесу.

Окремо слід обговорити результати експериментів, що були одержані в умовах недостачі DCC. Формальний аналіз стехіометричних рівнянь процесу (схема 3.2) призводить до висновку, що при співвідношенні карбоксильних груп до DCC = 2 : 1, поліестер взагалі не повинен одержуватись в значній кількості. Такий ефект спостерігався в роботі [126], де досліджувалось одержання лінійних поліестерів. Значно менша ніж половинна недостача активатора призводила до суттєво більшого пониження виходу поліестеру. В межах процесу, що досліджується, половинна недостача активатора призводить до пониження виходу поліестеру лише до 20÷25%. При цьому, в цих експериментах (рис. 3.6), спостерігається доволі статистично значима прямопропорційна кореляція між кількістю гліцеролу в складі мономерної суміші і виходом поліестеру.

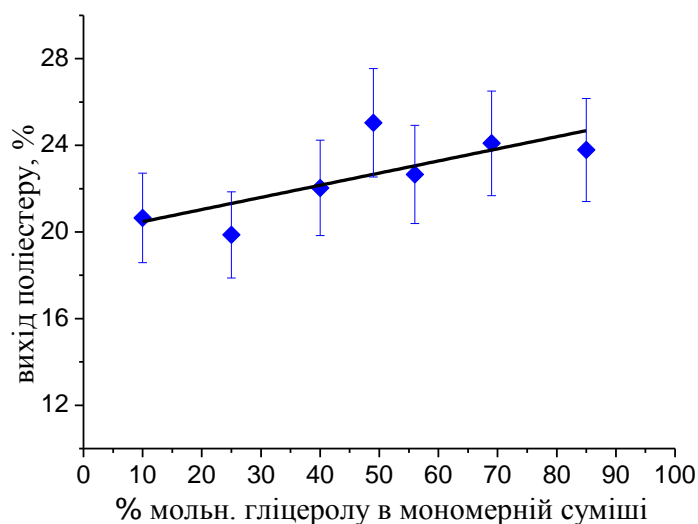


Рис. 3.6. Кореляційна залежність між кількістю гліцеролу та виходом поліестеру у випадку недостачі DCC

Це означає, що на початкових стадіях процесу домінує взаємодія N-захищеної амінокислоти або ж діестеру на її основі з гліцеролом і саме він забезпечує утворення молекул поліестеру на початкових стадіях. З цього можна зробити висновок, що розгалуження молекул відбувається уже на початкових стадіях поліконденсації. При проведенні процесу поліконденсації при співвідношенні  $\text{COOH} : \text{DCC} = 1:1,1$  та досягнення високих виходів поліестеру, кореляції між кількістю гліцеролу і виходом не спостерігається. Викладені факти вказують на



особливий, значний вплив кількості гліцеролу на процес поліконсації, особливо на ранніх його стадіях.

### 3.2.2.1. Вплив умов проведення поліконденсації на співвідношення різних форм одержаного поліестеру

В розділі 3.1.1. було показано, що одержаний в ході реакції поліестер можна розділити на три основні фракції методом диспергування зразка у воді, які суттєво відрізняються своїми властивостями. В цьому розділі умовно ці фракції були названі ЗФ-, ГФ і ФПП. Природа комономерів і їх співвідношення в значній мірі визначаються співвідношення цих фракцій.

Очікуваним результатом є залежність кількості ФПП від вмісту в мономерній суміші гліцеролу. Ця залежність відображена на рис. 3.7 (крива 1.)

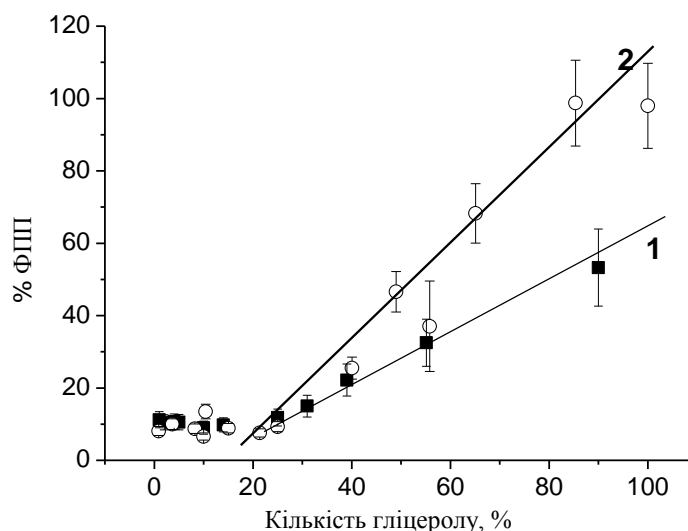


Рис. 3.7. Залежність кількості ФПП від кількості гліцеролу внесеного на синтез

Дана крива отримана при кополіконденсації діестеру  $(GSt)_2D$  з PEG1500 в присутності різної кількості гліцеролу. Крива має складний характер – до 20% мольн. вмісту гліцеролу кількість ФПП в середньому становить 10% від кількості виділеного поліестеру. При збільшенні кількості гліцеролу  $> 20\%$ , спостерігається доволі стрімке зростання кількості ФПП і це значення може досягати 40÷50% при вмісті гліцеролу 80÷90%. В окремих випадках це значення досягає і більш високих значень.

Крім того, на кількість ФПП певний вплив має природа інших комономерів. Так, заміна в суміші мономерів PEG-1500 на поліетиленгліколі меншої

молекулярної маси призводить до збільшення кількості ФПП. Так заміна PEG-1500 на PEG-600 при 10% мольн. в суміші PEG з гліцеролом призводить до утворення 31% ФПП (зразок 5, табл.3.1). А при кополікондесації діестеру  $B(GSt)_2B$  з PEG-400 в присутності тих же 10% гліцеролу в суміші мономерів призводить до утворення 22% ФПП (зразок 9, табл.3.1).

Поліестер ФПП, по сукупності своїх властивостей, не являє собою цінності як полімер медичного призначення, тому в межах даної роботи, його вважали побічним продуктом. Виходячи з цього, при одержанні кополіестерів з PEG-1500 оптимальною кількістю гліцеролу в мономерній суміші слід вважати 10÷15%.

Стосовно кополіестерів, одержаних на основі поліоксиетиленгліколів з меншою молекулярною масою, було одержано ряд кополіестерів кополіконденсацією діестерів  $B(GSt)_2D$  з PEG-400 в присутності різної кількості гліцеролу (зразки 12÷15, табл.3.1). По при те, що з цією реакційною сумішшю синтез проходить успішно (з високою конверсією і виходом), одержані поліестери, на відміну від поліестерів одержаних з використанням PEG-1500, не диспергуються в воді., слід вважати що поліестери з таким складом не володіють властивістю до утворення самостабілізованих систем в водному середовищі. Виходячи з цього, в межах даної роботи такі поліестери більш детально не досліджувались, а в табл.3.1 , по формальному признаку, на 99% віднесені до ФПП. Останнє віднесення є не зовсім коректним, оскільки такі поліестери не обов'язково мають густу сітку, вони здебільшого повністю не диспергуються в воді. Кополіестери, одержані на основі PEG-600 займають проміжне положення. Частина з них диспергується в воді з утворенням значної кількості поліестеру ФПП, а у частини відсутня здатність до утворення самостабілізованої дисперсії у водному середовищі. У зв'язку зі значною перевагою поліестерів на основі PEG-1500, поліестери одержані на основі поліетиленгліколів з нижчими молекулярними масами більш детально не досліджувались і оптимальний вміст гліцеролу в мономерній суміші не встановлювався.

В межах одержаного експериментального матеріалу, порівняння методик синтезу через діестер або через змішане завантаження приводили

приблизно до однакового результату по кількості поліестеру ФПП. Тому, порівнюючи методики синтезу поліестерів через діестер на основі N-похідних глютамінової кислоти або через N-похідні глютамінової кислоти, не можна однозначно стверджувати про перевагу одної з них.

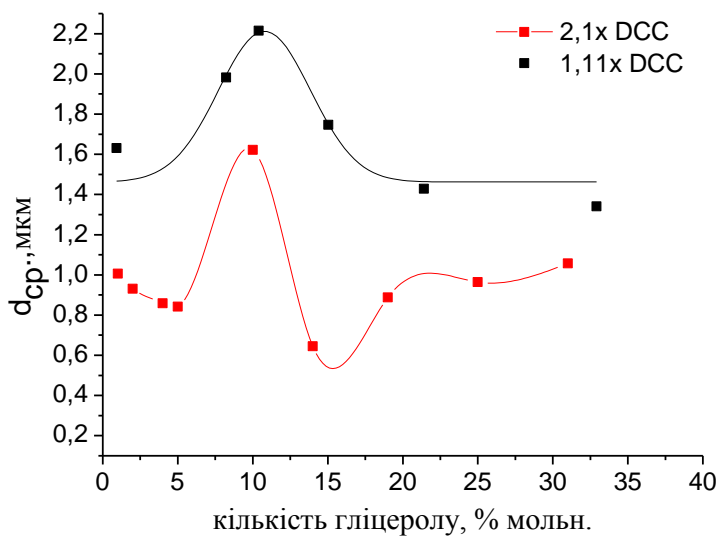


Рис. 3.8. Залежність розміру частинок ГФ від вмісту гліцеролу в реакційній суміші

На рис. 3.7 крім кривої, що відображає залежність кількості поліестеру ФПП (крива 1), наведена аналогічна крива, яка одержана в умовах недостачі DCC. В попередньому розділі дана серія експериментів уже обговорювалась стосовно конверсії і виходу поліестеру. Тому, доцільно відмітити лише той факт, що крива, по своєму характеру, повністю повторює криву 1, з відмінністю, що при високому вмісті гліцеролу в мономерній суміші вміст ФПП зростає практично до 100%. Аналіз даної кривої показує, що при проведенні процесу в недостачі DCC і при високому вмісті гліцеролу в мономерній суміші в основному утворюється поліестер ФПП. Як було показано вище, вихід поліестеру невисокий. Відсутність активатора не дозволяє розвинути процесу до глибоких стадій.

На рис. 3.8 наведена залежність середнього діаметру частинок поліестеру ГФ в водному середовищі в залежності від вмісту в мономерній суміші гліцеролу.

З наведених даних можна побачити, що залежність має яскраво виражений оптимум при вмісті гліцеролу 9÷10%. Діаметер частинок в межах використаних 9-

10% мольн. гліцеролу, який був внесений на синтез, становить 1,5  $\mu\text{m}$ . При використанні гліцеролу більше ніж 10% мольн. в реакційному середовищі, призводить до утворення частинок ГФ з розміром приблизно 1  $\mu\text{m}$ . Паралельними дослідженнями на відтворення наявності цього максимуму було підтверджено.

Як можна побачити з даних наведених в табл.3.1 при нормальному, достатньому по стехіометрії завантаженні DCC кількість поліестеру ГФ є незначною. Вона коливається в межах 1,5  $\div$  5%. Такий діапазон при невисокій точності визначення не дозволяє достовірно відслідкувати залежності кількості поліестеру ГФ від умов синтезу і навіть від вмісту в мономерній суміші гліцеролу. Можна лише стверджувати, що використання ПЕГ з молекулярною масою до 1000 Да призводить до утворення більш високих значень в межах цього діапазону, а при використанні PEG-1500, кількість поліестеру ГФ не перевищує 2% від утвореного поліестеру.

В більш менш значній кількості, по відношенню до одержаного поліестеру, З утворюється при проведенні процесу в умовах недостачі DCC. На рис. 3.9 (крива 1) зображена залежність кількості ГФ в дослідженнях з нестачею DCU у порівнянні з відповідними кривими поліестеру ФПП (крива 2) і ЗФ (крива 3, розрахункова).

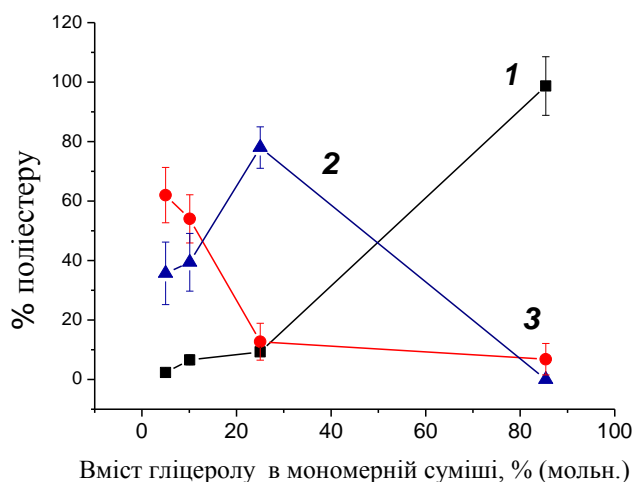


Рис. 3.9. Кількості ГФ, ЗФ та ФПП, отримані при недостачі DCC в реакційному середовищі

З вище наведених даних і даних рис. 3.9 можна побачити, що в дослідженнях з нестачею DCC при вмісті гліцеролу до 20% утворюється в основному ГФ і ЗФ поліестеру, а при перевищенні вмісту гліцеролу більше ніж 20% основну масу поліестеру складає «перешита фракція». Таким чином, можна стверджувати,

одержувати поліестер в вигляді його ГФ можна в умовах недостачі DCC. Слід також відмітити, що в цих умовах частинки даної фракції мають дещо більший середній діаметр. В цьому можна переконатись по даним рис. 3.8, на якому наведена залежність середнього діаметру частинок поліестеру ГФ (крива 2) у порівнянні з відповідною кривою одержаною при еквімолярному співвідношенні (крива 1). Як можна побачити з рисунку, характер кривих практично однаковий.

Підсумовуючи викладений аналіз експериментального матеріалу, можна стверджувати, що при проведенні синтезу поліестеру кополімеризацією N-похідних глутамінової кислоти, або у випадку проведення синтезу з використанням дієстерів з кінцевими карбоксильними групами з поліолами поліоксіетиленового та/або поліоксіпропіленового рядів в присутності гліцеролу в мономерній суміші до 20% (мольн.) основним продуктом реакції є поліестер ЗФ. Поліестер ГФ та ФПП в цих умовах утворюється в кількостях до 5% і до 10% відповідно. При цьому «перешита фракція» може бути легко відокремлена.

Для отримання в помітній кількості поліестеру ГФ необхідно проводити синтез в умовах недостачі DCC. Загальний вихід поліестеру при цьому буде невеликий. Поліестер ФПП отримується, в значних кількостях, при вмісті гліцеролу в мономерній суміші більше 20%.

### **3.2.3. Хімізм поліконденсації N-похідних глутамінової кислоти з поліолами різної природи в присутності гліцеролу за реакцією Стегліха.**

В роботах [125, 126] було показано, що псевдополіамінокслоти поліестреного типу можуть бути з успіхом одержані із N-заміщених дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот і поліолів поліоксіпропіленового та поліоксіетиленового ряду незворотною поліконденсацією за реакцією Стегліха.

Реакцію одержання поліестерів за реакцією Стегліха слід віднести до незворотної поліконденсації з активацією карбоксильної групи. Активація карбоксильної групи відбувається в м'яких умовах (в температурному діапазоні 0÷20°C. На схемі 3.4 перша реакція відображає процес активації карбоксильної групи в складі вихідної дикарбонової кислоти. В результаті приєднання дициклокарбодііміду до карбоксильної групи утворюється активована форма

карбоксильної групи у вигляді реакційно здатного N,N'-дициклогексилімідокарбоматного фрагменту. Друга реакція цієї схеми відображає утворення такої ж групи на полімерному ланцюгу в стадії його росту.

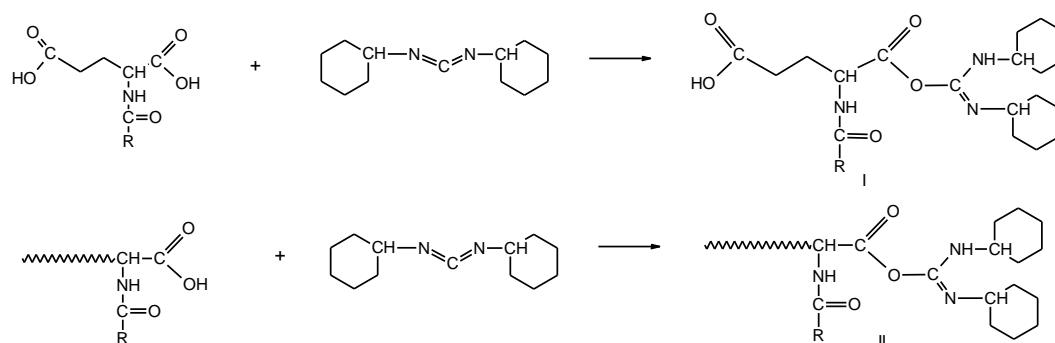


Схема 3.4. Активація карбоксильної групи за допомогою DCC.

За загально прийнятою схемою, активований фрагмент утворює комплекс з нуклеофільною добавкою, який нуклеофільно атакується гіроксильним киснем і в результаті утворюється естер. Такий варіант хімізму реакції Стегліха відображено схемою 3.5.

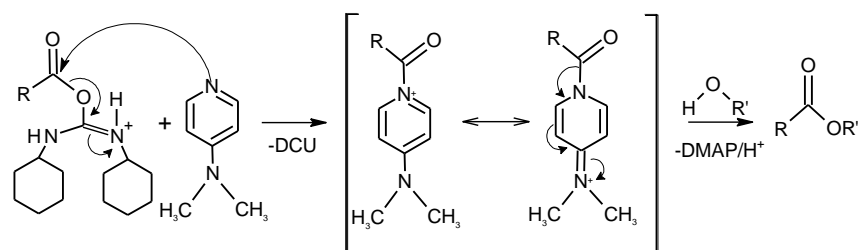


Схема 3.5. Формування комплексу з DMAP

В ряді робіт було показано, що реакція Стегліха може реалізуватись через проміжне утворення ангідриду.

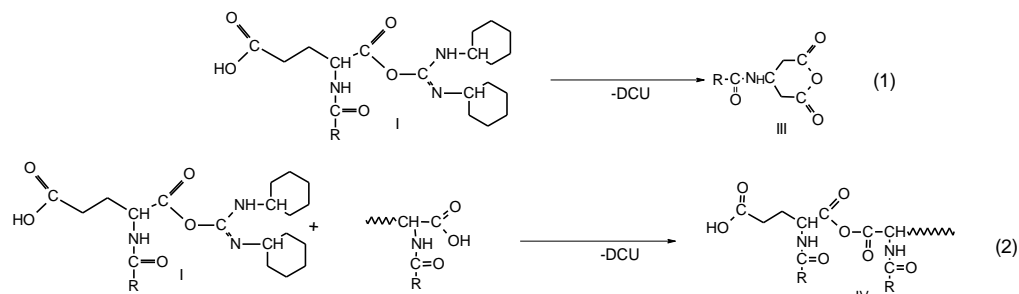


Схема 3.6. Утворення ангідридних груп за участю активованої форми карбоксильної групи

Зокрема, в роботі [101] саме такий шлях перебігу реакції запропоновано у випадку дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот.

Можливість утворення ангідридних груп в системі, яка досліджувалась, підтверджували за допомогою модельного досліду. В реакційну суміш завантажували стеароїлглутамінову кислоту та DCC. Реакцію проводили в дейтерованому хлороформі при 15°C. Через певні проміжки часу реакційну суміш відбирали, видаляли виділений в ході реакції DCU центрифугуванням і знімали ЯМР  $^{13}\text{C}$ -спектр з одержаного розчину. Одержаний спектр наведено на рис. 3.10.

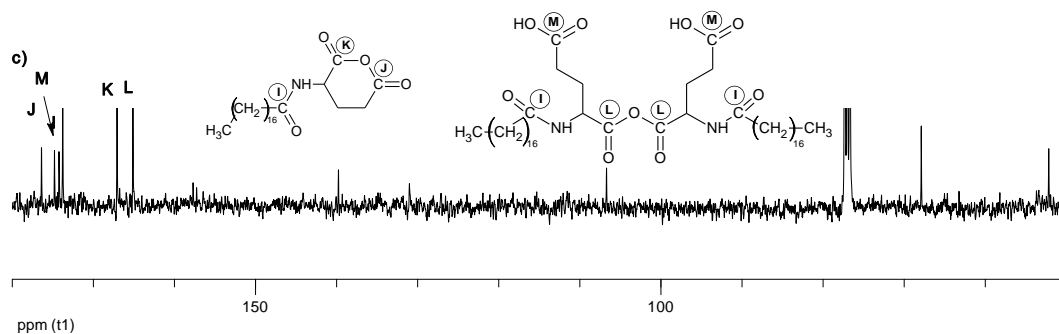


Рис. 3.10. Фрагмент  $^{13}\text{C}$  – ЯМР спектру N-стеароїлглутамінової кислоти та DCC

Ідентифікацію сигналів проводили у порівнянні з спектром N-стеароїлглутамінової кислоти, одержаного в аналогічних умовах. Сигнали K і G цього спектру ідентифікували як сигнали вуглецю внутрішньої ангідридної групи, (III) яка утворюється по першій реакції схеми 3.6. Таким чином підтверджуються літературні дані про можливість перебігу реакції Стегліха через утворення ангідриду. Крім того, в одержаному спектрі присутній сигнал L, який можна віднести до сигналу від вуглецю ангідридної групи, утвореної не внутрішньо молекулярною взаємодією, а взаємодією карбоксильної групи однієї молекули з активованою карбоксильною групою другої молекули. Наявність такого сигналу в спектрі в значній мірі підтверджує можливість ангідридних груп взаємодіяти по другій реакції схеми 3.6.

Аналіз літератури і отримані експериментальні дані дозволяють, в межах даної роботи, при інтерпретації особливостей перебігу незворотної поліконденсації за реакцією Стегліха за участю N-похідних глютамінової кислоти, дотримуватись механізму утворення естеру через проміжне утворення ангідриду у відповідності до схеми 3.7

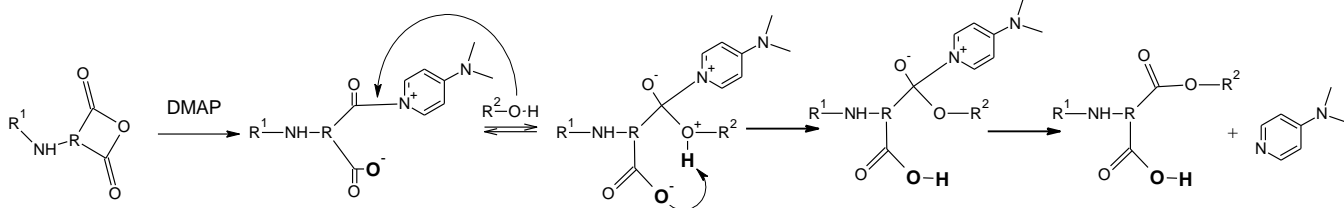


Схема 3.7. Механізм утворення естеру при перебігу реакції через проміжне утворення ангідридної групи.

Активована карбоксильна група, крім основних маршрутів перетворення в цільову, витрачається по маршрутам, що приводять до її пасивації, що робить неможливим утворення естерної групи за її рахунок. У випадку препаративного синтезу низькомолекулярних естерів, це лише призводить до певного, в більшій чи меншій мірі суттєвого пониження виходу основного продукту. У випадку реалізації поліконденсації за реакцією Стегліха, витрата активованої карбоксильної групи в побічних процесах призводить до обриву як матеріального так і кінетичного ланцюга. В результаті перебігу таких реакцій суттєво знижується ступінь поліконденсації утворених поліестерів.

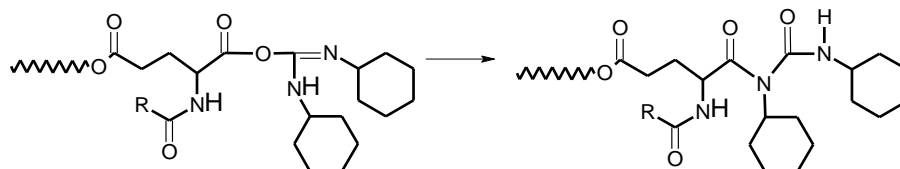


Схема 3.8. Перегрупування активної групи О-ізоацилсечовини в пасивну N-ізоацилсечовину

Однією з основних реакцій, що призводить до пасивації карбоксильної групи, є перегрупування активованої форми карбоксильної групи в пасивну N-ізоацилсечовину. Перебіг даної реакції призводить до реакції поліконденсації на тому ступеню поліконденсації, з яким макромолекула вступила в дану реакцію.

На прикладі поліконденсації за реакцією Стегліха N-ацилглутамінової з діетиленгліколем, методом мас-спектроскопії, було підтверджено перебіг реакції перегрупування активованої форми карбоксильної групи в N-ізоацилсечовину. Для цього було проведено реакцію поліконденсації вищезгаданих реагентів при 30°C в розбавлених розчинах. В цих умовах реакція поліконденсації протікає з утворенням поліестеру з низьким ступенем поліконденсації, через відносно високу частку



перебігу побічних реакцій. Реакційну суміш, після виділення з неї DCU і упарювання розчинника, аналізували методом мас-спектроскопії.

На рис. 3.11 наведено характерний мас спектр суміші з віднесеними сигналами від фрагментів макромолекул з фрагментами ізоацилсечовини в якості кінцевих груп.

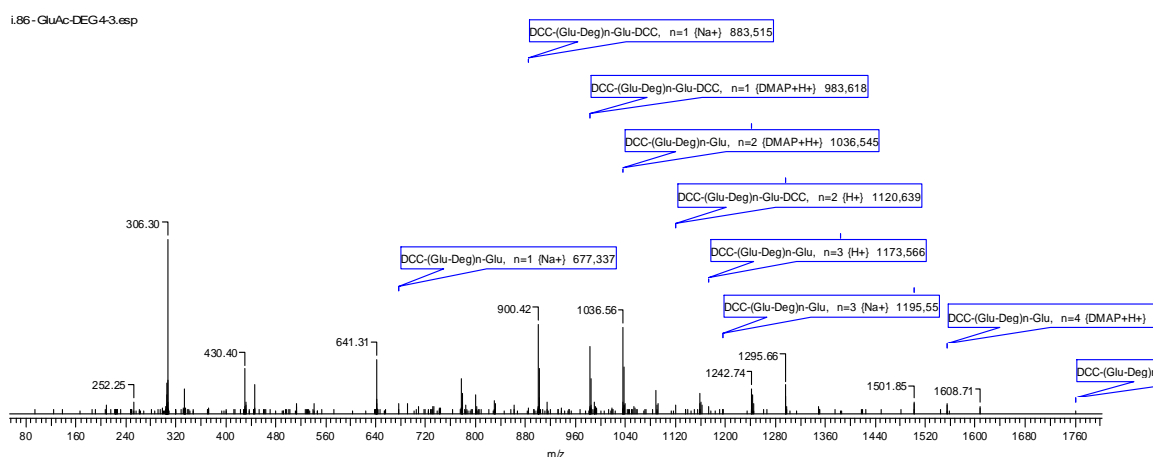


Рис. 3.11. Мас-спектр кополіестерету, синтезованого на основі Glu(Ac) та DEG при температурі 30°C, в розбавленому розчині. Віднесення стосується сигналів від фрагментів з пасивними кінцевими групами.

Як можна побачити з наведеного спектру пасивація активованої форми карбоксильної групи через перебіг реакції перегрупування відбувається для всіх ступеней поліконденсації. В наступному розділі, в ході аналізу ПМР спектрів одержаних поліестерів буде показано, яка частка карбоксильних груп перегрупується в системі, яка досліджується в межах цієї роботи.

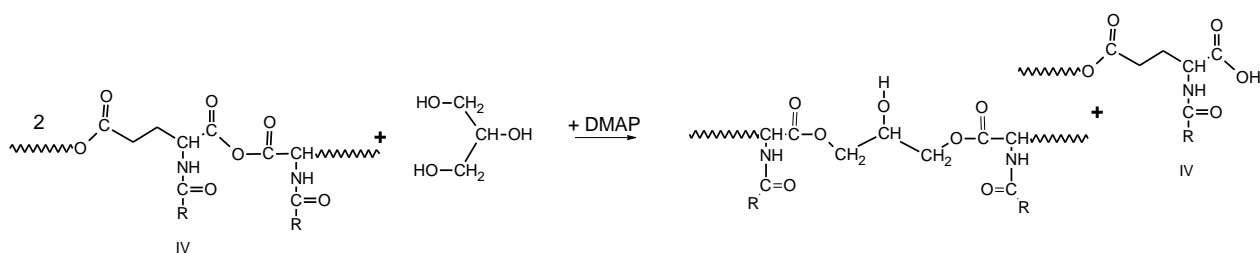


Схема 3.9. Включення фрагменту гліцеролу в основний ланцюг поліестеру.

Основною відмінністю даної роботи від аналогічних робіт, є дослідження поліконденсації в присутності гліцеролу. Оскільки гліцерол є триатомним спиртом, тому входження його в основний ланцюг по схемі 3.9 створює умови розгалуження ланцюга.

Ця умова полягає у введенні в основний ланцюг поліестеру вторинної гідроксильної групи. Розгалуження ланцюга відбувається тоді, коли така гідроксильна група вступає в реакцію з активованою формою карбоксильної групи, що знаходиться в мономерній суміші або в складі макромолекули, (схема 3.10).

При тому, якщо відбувається взаємодія між гідроксильною групою, що включена в основний ланцюг з кінцевою карбоксильною нерозгалуженого ланцюга, то відбувається розгалуження цього ланцюга. Але якщо ця гідроксильна група взаємодіє з активованою групою, що уже знаходиться в розгалуженні ланцюга, тоді спостерігається перехресна зшивка.

Співвідношення між реакціями продовження ланцюга, його розгалуження і перехресної зшивки визначаються, в основному концентраційними факторами. У тому випадку коли ступінь поліконденсації невисокий домінують реакції продовження ланцюга. У тих випадках, коли ступінь поліконденсації уже значний, починається розгалуження ланцюга, і після цього його структурування.

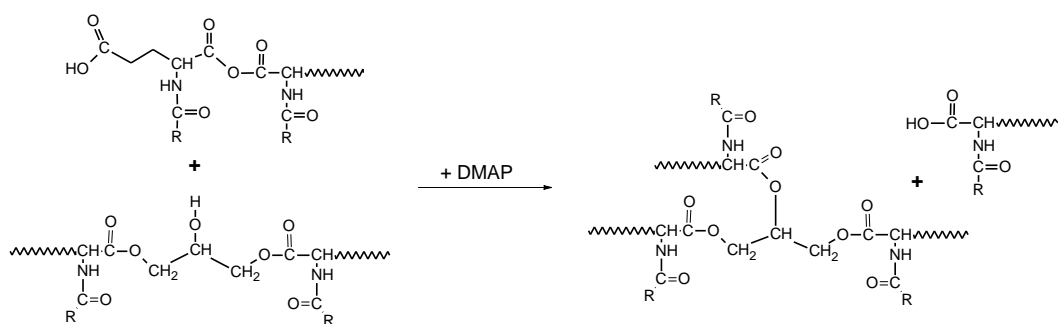


Схема 3.10. Розгалуження полімерного ланцюга за рахунок введення гліцеролу.

Разом з тим слід відмітити важливий факт. В системі, що досліджується, розгалуження і структурування ланцюгів починають протікати уже на дуже ранній стадіях процесу. Це впливає з даних, викладених в попередньому розділі. Особливо на прикладах експериментів, що були виконані в недостатчі DCC. За хімізмом реакції, при недостатчі DCC утворення поліестерів з високим ступенем поліконденсації принципово неможливе, але при тому з реакційної маси вдається виділити, в значних кількостях, поліестери з розгалуженою будовою макромолекул і перехресно-зшиті поліестери.

Слід також відмітити одну важливу особливість проведення поліконденсації за участю гліцеролу. Розгалуження ланцюга призводить до важливого для поліконденсації процесу – пасивації кінцевої карбоксильної групи за реакцією, що наведена на схемі 3.8. Дана реакція призводить до однозначного припинення збільшення ступеня поліконденсації даною макромолекулою, так як в бокових ланцюгах на даний момент формування макромолекули можуть бути або гідроксильні, або карбоксильні групи, що будуть продовжувати ланцюг поліконденсації.

### 3.2.4. Підтвердження структури одержаних поліестерів та ЯМР-дослідження зразків поліестерів.

Структуру молекул одержаних поліестерів досліджували за допомогою ЯМР- і ІК- спектроскопії. Так на рис. 3.12, наведено ІЧ- спектр структурованого поліестеру №39.

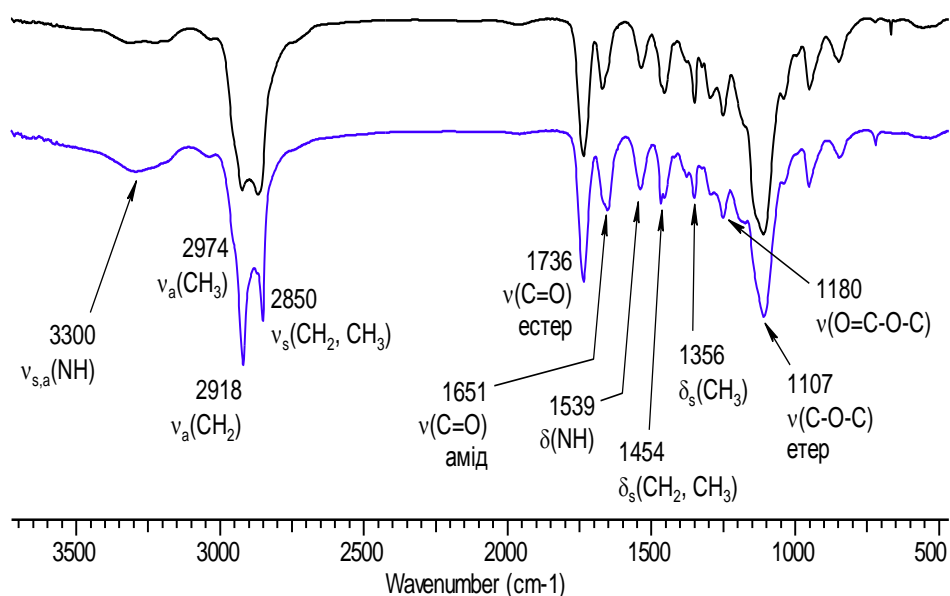


Рис. 3.12. ІЧ- спектр зразка №19, табл.3.1

За допомогою ІК-спектроскопії в структурі молекул вдається ідентифікувати якісний склад функціональних груп в складі поліестеру. У ІЧ-спектрах синтезованих продуктів присутні смуги поглинання 1736 ( $\nu$ , C=O) та 1180  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu$ , O=C-O-C), які вказують на утворення естерних груп у складі молекул. Вхідження поліоксіетиленового фрагменту у склад кополімерів підтверджується присутністю смуги поглинання 1107  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu$ , C-O-C), інтенсивність якої зростає з молекулярною масою ланцюга PEG, використаного в поліконденсації. Окрім того, у спектрах продуктів

присутні смуги поглинання, характерні для амідної групи, 3300 (vs,a, NH), 1651 (v, C=O) та 1539 см<sup>-1</sup> (δ, NH), які належать N-захисним фрагментам ацильного типу.

Разом з тим, такі ІЧ-спектри характерні для псевдополіамінокислот поліестерного типу, одержаних на основі N-похідних дикарбонових кислот і діолів поліоксіетиленовго та поліоксипропіленових рядів. Для мети даного дослідження, реакції в присутності гліцеролу, подібні спектри необхідної додаткової інформації практично не дають, так як достовірно і однозначно ідентифікувати в складі поліестеру залишків гліцеролу не вдається. Разом з тим, в ІЧ-спектрах зразків поліестерів одержаних на глибоких ступенях перетворення відсутні сигнали гідроксильних груп. При умові, що гліцерол входить в структуру макромолекули, це може бути певним підтвердженням утворення розгалужених макромолекул поліестерів.

Підтвердити входження в структуру поліестеру залишку гліцеролу можна за допомогою С<sup>13</sup> ЯМР-спектроскопії.

На рис. 3.13б, наведено відповідний спектр, що отриманий зі зразка поліестеру GluSt-со-гліцерол.

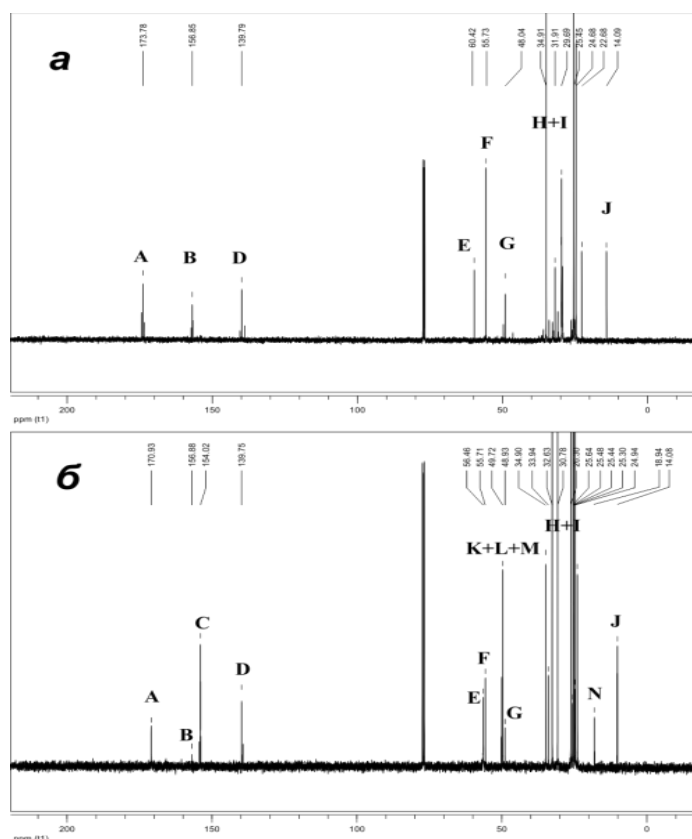


Рис. 3.13. С<sup>13</sup> ЯМР-спектр сполуки модельного тригліцериду( а), та зразка 20 (табл.3.1) (б)

Даний зразок (б) був одержаний при кополіконденсації GluL із сумішню спиртів DPG/PEG-1500/гліцерол в співвідношенні 4.63:4.23:1. Вуглецевий скелет структури відповідного поліестеру наведено на схемі 3.11.

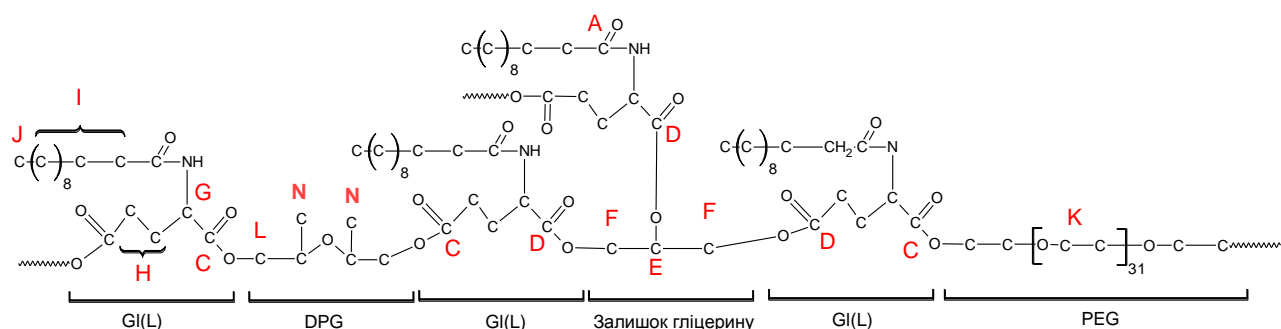


Схема 3.11. Структура поліестеру M(GL)-D-1500

Найбільш інформативними, для підтвердження входження в структуру поліестеру є сигнали від атомів вуглецю карбоксильної групи. В спектрі, що аналізується є 4 сигнали з відповідним зміщенням 170,93, 156,88, 154,02 та 139,75 м.д. Однозначне віднесення цих сигналів можливе лише при умові порівняння з відповідними сигналами спектрів сполук близьких за структурою. Для цього було одержано трьох заміщений гліцерид з GluSt, вуглецевий скелет відповідного три гліцериду наведено на схемі 3.12, а одержаний спектр, у порівнянні з спектром, що досліджується, на рис. 3.13.а.

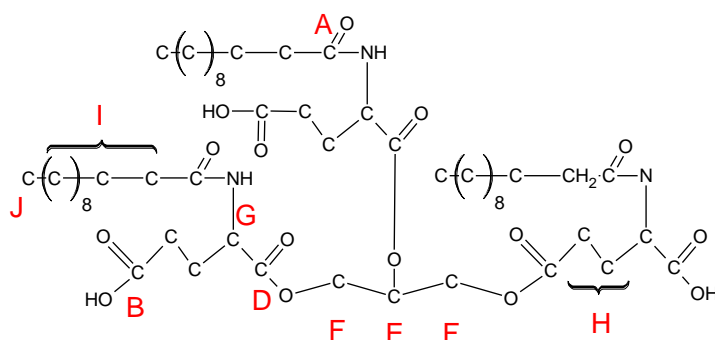


Схема 3.12. Тригліцерид GluSt-Glycerol

На цьому ж рисунку та схемі проведено віднесення основних сигналів. Так можна побачити, що сигнал зі зміщенням 170.93 м.д. (A) відноситься до вуглецю амідної групи, сигнал зі зміщенням 156,85 м.д. (B) – вуглецю вільної карбоксильної групи, а сигнал зі зміщенням 139,79 м.д. (D) – вуглецю вільної карбоксильної групи. Крім того, атомам вуглецю залишку гліцеролу відповідають сигнали зі зміщенням 60,42 м.д.(E) і 55,73 м.д. (F). Відповідні сигнали присутні в спектрі поліестеру

(позначенні на схемі і в спектрі тими ж буквами), це однозначно доводить, що в складі поліестеру присутні залишки гліцеролу. Крім того, наявність в спектрі поліестеру сигналу зі зміщенням 18,94 м.д. (N) підтверджує входження ланок DPG, а група сигналів зі зміщенням в області 48,9÷49,8 м.д. (K, L, M) дозволяють вважати, що в складі поліестеру є як DPG, так і PEG ланцюги. Таким чином аналіз  $C^{13}$  ЯМР-спектру підтверджує входження в склад кополіестеру всіх основних компонентів реакційної суміші. На жаль, відношення сигнал/шум в даних спектрах є замалим, і провести більш менш точний аналіз відношення інтенсивностей сигналів (особливо слабких, які є найбільш інформативними) з достатньою для одержання висновків точністю неможливо.

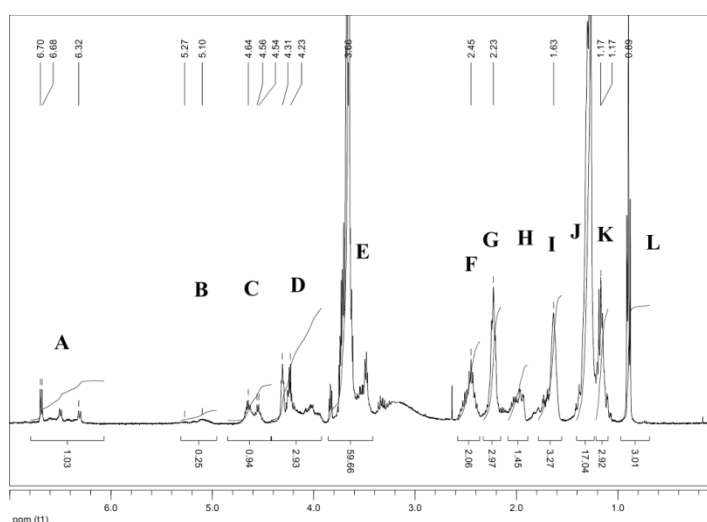


Рис. 3.14.  $^1H$ -ЯМР спектр зразка M(GL)-D-1500 (зразок 20, табл.3.1)

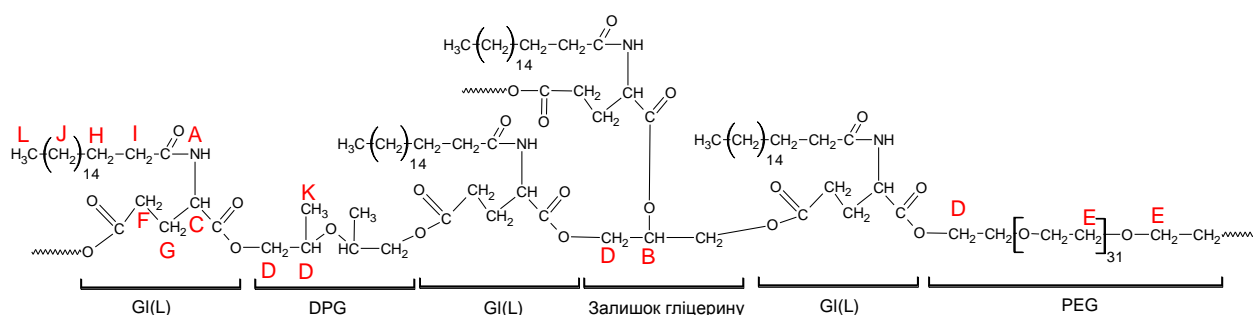


Схема 3.13. Схема кополіестеру M(GL)-D-1500

Разом з тим, слід відмітити, що сигнал В, який відповідає вуглецю вільної карбоксильної групи, в спектрі проявлений слабо, в протипагу до цього, сигнал С (зі зміщенням 154,02 м.д.), який практично відсутній в спектрі три гліцериду і відповідає вуглецю естерної групи, що утворена зі спиртовими групами PEG/DPG, проявлений достатньо потужно.

Підтвердження входження в співрозмірних кількостях всіх компонентів реакційної суміші в склад поліестерів за допомогою  $C^{13}$  ЯМР суттєво полегшує інтерпретацію ПМР спектрів цих же поліестерів.

Крім того, інтерпретація ПМР спектрів, що буде викладена нижче, в знаній мірі опиралась на досвід інтерпретації ПМР спектрів лінійних поліестерів, які були описані в роботах [125, 126]. На рис. 3.14 приведений ПМР спектр зразка кополіестеру. Віднесення сигнали зроблено на схемі 3.13 та табл.3.2.

Таблиця 3.2.

Віднесення сигналів ПМР спектра зразка M(GL)-D-1500

Сигнал	Віднесення	Зміщення, м.д.	Інтеграл
A	-CO-NH-	6,25-6,8	1,03
B	-OCH <sub>2</sub> -CHO-CH <sub>2</sub> O-	5,0-5,25	0,25
C	-OOC-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH-COO-	4,4-4,8	0,94
D	-OCH <sub>2</sub> -CHO-CH <sub>2</sub> O- -OCH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> )-O-CH(CH <sub>3</sub> )-CH <sub>2</sub> O- -COO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -[-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sub>31</sub> -O-	3,9-4,2	2,93
E	-[-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> ] <sub>31</sub> -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	3,4-3,9	59,66
F	-OOC-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH-COO-	2,25-2,6	2,06
G	-OOC-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH-COO-	2,1-2,2	2,97
H	H <sub>3</sub> C-(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CO-NH-	1,9-2,1	1,45
I	H <sub>3</sub> C-(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CO-NH-	1,5-1,8	3,27
J	H <sub>3</sub> C-(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CO-NH-	1,15-1,25	17,04
K	-OCH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> )-O-CH(CH <sub>3</sub> )-CH <sub>2</sub> O-	1,0-1,15	2,92
L	H <sub>3</sub> C-(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CO-NH-	0,8-0,95	3,01

Всі сигнали цього спектру мають характерний для зразків полімерних сполук уширений характер через сегментальне екранування, тому аналіз спектру на рівні щеплення сигналів є неможливим. Інтерпретація проводиться на рівні віднесення та аналізу відношення інтенсивності сигналів.

Входження в структуру залишків Glu(L) підтверджується цілою серією сигналів – A, C, F, G, H, I, J, K, L. Їх віднесення добре описане у вище згаданих роботах, тому з ідентифікацією даних фрагментів поліестерного ланцюга не виникає труднощів. З особливостей спектру доцільно відмітити той факт, що сигнал протону

амідної групи проявляється в вигляді трьох смуг. В попередніх дослідженнях, при розшифруванні спектрів простих поліестерів даний сигнал виходив одним уширеним сигналом. Це, є підтвердженням різних сусідів у випадку ускладнення структури поліестеру. При тому дуже добре співпадіння розрахункового відношення інтенсивності сигналів протонів амідної групи до метильної групи алкільного замісника  $I_I/I_A=2.92$  з теоретично оціненим по структурі 3 (відхилення 2,6%) підтверджує відсутність взаємодії з захищеною аміногрупою в глютаміновій кислоті.

Входження PEG фрагментів підтверджується потужним характерним сигналом E, тому входження в структуру поліестеру даних фрагментів також не викликає сумніву.

Входження в структуру поліестеру фрагментів DPG однозначно підтверджується лише сигналом L від метильних груп. Даний сигнал виходить на плечі потужного сигналу від метиленової групи алкільного фрагменту і може бути результатом розчеплення самого сигналу метиленових групи в результаті конформаційного екранування. Достатньо вагоме підтвердження входження DPG фрагментів було одержано в при аналізі спектру  $C^{13}$  ЯМР по дуже характерному сигналу тих же метильних груп. Крім того, структуру сигналу ПМР спектру від цих протонів можна порівняти з відповідними сигналами від поліестерів близької природи, але без DPG фрагментів. Для цього на рис. 3.15 наведено ПМР спектру що одержаний поліконденсацією GluSt з PEG-600 запозичений з роботи [125].

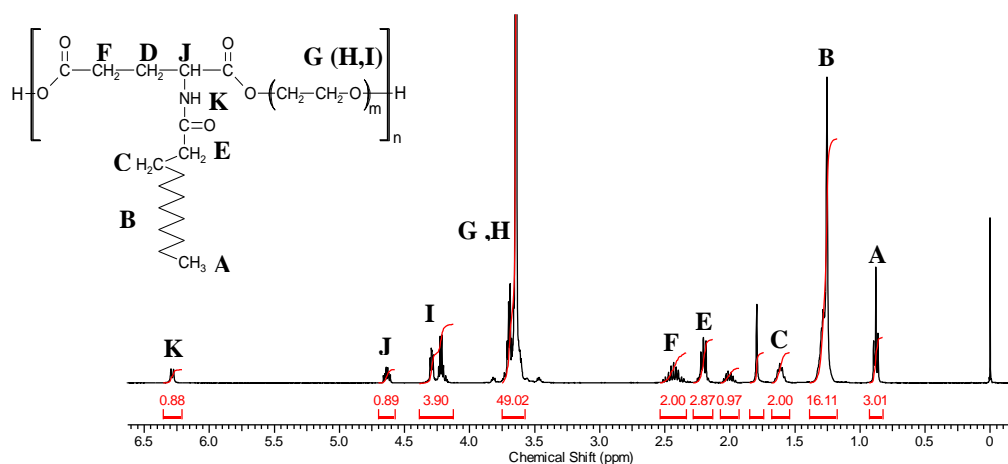


Рис. 3.15. ПМР спектр сполуки GluSt-co-PEG-600



Як бачимо, відсутність в реакційній суміші PPG призводить до відсутності відповідного сигналу в спектрі. Таким чином присутність в поліестері PPG можна вважати достовірно доведеним.

Більш проблематичним, як уже повідомлялось вище, є підтвердження входження в структуру поліестеру залишків гліцеролу. На ПМР спектрі залишок гліцеролу в макромолекулі поліестеру проявляється лише сигналом протону в метиновій групі В зі зміщенням  $4,9 \div 5,5$  м.д. По при те, що дана область є вільною від сигналів інших компонентів (див. спектр рис. 3.15) даний сигнал є надто слабим через те що кількість даних протонів є незначною. Тому самотійно наявність сигналу В є відносно слабим підтвердженням входження фрагментів гліцеролу в структуру поліестеру. Викладені вище факти викликали необхідність підтверджувати наявність в структурі поліестеру фрагментів гліцеролу. Присутність в спектрі ПМР (рис. 3.14) сигналу В, разом з дослідженнями спектрів  $C^{13}$ ЯМР є вагомим підтвердженням входження залишків гліцеролу в структуру поліестеру.

Співвідношення інтенсивності сигналів В, Е, К, L дозволяє оцінити співвідношення кількості фрагментів різної природи в складі поліестеру. Так відношення між сигналами Е і L, розраховане за формулою  $I_E/n_E \cdot n_L/I_L = 59.66/132.4 \cdot 3/3.01 = 0.45$ , дозволяє оцінити кількість фрагментів поліоксіетиленових ланцюгів в складі поліестеру, що приходиться на один залишок Glu(L). Відповідно, співвідношення між сигналами К і L по аналогічній формулі  $I_K/n_K \cdot n_L/I_L = 2.92/6 \cdot 3/3.01 = 0.49$  - кількість фрагментів поліоксипропіленової природи, а співвідношення між сигналами В і L по формулі  $I_B/n_B \cdot n_L/I_L = 0.25/1 \cdot 3/3.01 = 0.25$  - кількість залишків гліцеролу. Таким чином розрахункове співвідношення фрагментів в складі поліестеру становить: Glu(L):PEG:DPG:G=1:0.45:0.49:0.25. Проведений розрахунок базувався на інтерпретації сигналів в спектрі і їх інтенсивності. Для перевірки віднесення сигналів можна скористатись сигналом D, який, за даними табл. 3.2, формується як за рахунок 2 протонів PEG фрагменту, 3 протонів PDG фрагменту і 2 протонів залишків гліцеролу на кожних 3 протона метильної групи Glu(L). Таким чином розрахункова інтенсивність сигналу повинна становити  $(2 \cdot 0,45 + 2 \cdot 0,25 + 3 \cdot 0,49) / 3 \cdot 3,01 = 2,88$ . Експериментальне значення 2.93.

Розходження не перевищує 2%, що підтверджує правильність віднесення сигналів в спектрі.

Таким чином показано, що ПМР спектри можна використовувати для оцінки співвідношення фрагментів різної природи в макромолекулах поліестрів. Доцільно відмітити наступний факт, що одержане співвідношення фрагментів по спектру, що приведений на рисунку 3.12 відноситься до зразка поліестеру, який був одержаний з реакційної маси з співвідношенням компонентів  $\text{Glu(L)} : \text{PEG1500} : \text{DPG} : \text{G} = 1 : 0.54 : 0.54 : 0.077$ . Порівнюючи співвідношення фрагментів в складі кополіестеру і співвідношення компонентів в реакційній суміші, по при всі можливі похибки, можна зробити висновок, що склад поліестеру збагачений залишками гліцеролу у порівнянні з його вмістом в реакційній суміші.

Група сигналів G, H, I в ПМР спектрі, рисунок 3.12 у відповідності до зробленого віднесення (схема 3.6 та табл.3.2) формується 6 протонами Glu(L). Таким чином сумарний інтеграл від даних груп повинен становити  $6 \cdot 3.01/3 = 6.02$ . Виходячи з даних таблиці 3.2 емпіричний сумарний інтеграл становить  $2.97 + 1.45 + 3.27 = 7.69$ , що перевищує теоретичне на 27.7%. Це значне перевищення означає, що в даній області спектру є сигнали від протонів, що невідображені на схемі. Тобто, в макромолекулі поліестеру є протони, які не відображаються схемою 3.6.

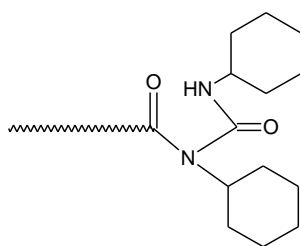


Схема 3.14. Утворення пасивного аміду по карбоксильній групі

Як було показано, частина карбоксильних груп активованих DCC по паралельному до основного маршруту реакції перегруповуються в пасивний амід в результаті чого, в подальшому ця карбоксильна група уже не приймає участі в формуванні поліестерного ланцюга. Даний процес призводить до включення в

поліестрний ланцюг в якості кінцевої групи фрагменту, що може бути відображений схемою 3.14:

Таким чином утворена кінцева група включає в себе два циклогексанових циклів з 12 протонами, 10 з яких, по табличним даним, в ПМР спектрах проявляються в вигляді широкого мультиплету в області від 1.4 до 2 м.д. Власне ці протони, які не формують самостійного сигналу або, через уширеність сигналів він не ідентифікується, можуть бути причиною завищення значення інтегралу в цій області. Якщо прийняти, що перевищення значення інтегралу групи сигналів G, H, I над теоретичним на 1,67 відбувається через накладання на них сигналу від 10 протонів гексанових циклів, тоді на кожну з метильних груп зі складу Glu(L) припадає  $1.67/10 \cdot 3,01/3 = 0,17$  кінцевих груп. А це в свою чергу означає, що приблизно 8% карбоксильних груп пасивується через перебіг паралельної реакції.

### **3.3. Кінетичні закономірності формування розгалужених псевдополіамінокислот поліестерного типу в умовах поліконденсації за реакцією Стегліха.**

Послідовність перетворень по реакції незворотної поліконденсації за Стегліхом має складний характер. Це зумовлено перебігом рядом послідовних та паралельних стадій процесу. Послідовні процеси зумовлюють ріст ланцюга з утворенням цільового поліестеру, а паралельні процеси -- обрив полімерного ланцюга. Таким чином даний тип кінетики слід розглядати як сукупність послідовно-паралельних стадій одного загального процесу. Лише частина з цих стадій має рівноважний характер, але в загальному процес є нерівноважним в умовах проведення реакції.

#### **3.3.1. Нефелометричне дослідження швидкості нагромадження дициклогексилсечовини (DCU).**

Даний варіант поліконденсації слід відносити до нерівноважної активованої поліконденсації. Активація полягає в збільшенні реакційної здатності карбоксильної групи за рахунок приєднання до неї DCC (схема 3.4) з утворенням активованої форми карбоксильної групи I або II. За цим механізмом активована форма I, за реакцією по схемі 3.6, утворює внутрішній ангідрид III, а активована форма карбоксильної групи II, до утворення міжмолекулярного агідриду IV. Слід думати,

що на початкових етапах реакції, при конверсії карбоксильних груп до 50% в системі домінує утворення внутрішнього ангідриду. При більш високих конверсіях, по причині вичерпування мономерної дикарбонової кислоти, починає домінувати реакція утворення міжмолекулярного ангідриду IV. При утворенні ангідридної групи, за будь-яким маршрутом, виділяється одна молекула DCU. DCU, по своїй природі є малорозчинною речовиною у більшості розчинників і його вилучали з реакційної суміші у вигляді осаду. По кількості DCU можна судити про динаміку процесу, принаймні про динаміку утворення в системі ангідридних груп.

Відносну кількість DCU, яка виділяється в процесі поліконденсації, оцінювали нефелометрично. Так на рис. 3.16, наведені дані нефелометрії виділення DCU при взаємодії GluSt з поліетердіолами різної природи. На основі даних кривих можна зробити ряд висновків. По перше – накопичення DCU в реакційній суміші описується *s* – подібною кривою. Даний тип кривої є характерним для продуктів, що нагромаджуються в результаті перебігу послідовних стадій. В даному випадку стадії одержання активованої форми карбоксильної групи (схема 3.4) і її перетворення в ангідрид (схема 3.6).

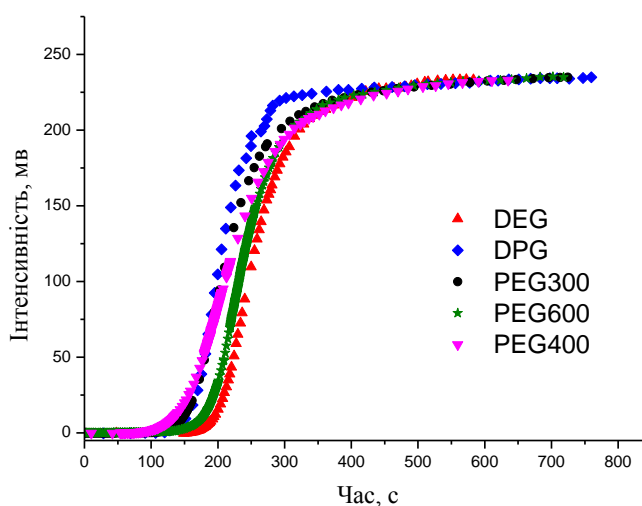


Рис. 3.16. Кінетичні криві нагромадження DCU при взаємодії GluSt з поліетердіолами різної природи

Нефелометричний аналіз не дозволяє визначати абсолютну кількість DCU. Тому цю кількість визначали гравіметрично в реакційних сумішах після закінчення експерименту і було показано, що в межах кінетичних кривих (рис. 3.16), вихід DCU становив 68-72%. Тому можна вважати, що при 278К, практично 75% перебігу

реакції досягається через 9-10хв. Надалі вихід DCU в системі сповільнюється і 95-99% досягається лише через 2-4 години. Тому можна зробити висновок, що реакція поліконденсації дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот умовно можна поділити на швидку та повільні стадії. При тому, перебіг швидкої стадії реалізується переважно одержанням внутрішньо молекулярного ангідриду III (схема 3.6). По вичерпуванню в реакційній масі мономерної кислоти настає повільна стадія, перебіг якої забезпечується одержанням міжмолекулярних ангідридних груп IV (схема 3.6).

Крім того, кінетичні криві (рис. 3.16) демонструють, що швидкість виділення DCU в межах похибки експерименту не залежить від природи гідроксильних груп. Криві виділення DCU практично повністю співпадають не дивлячись на те, що гідроксильні групи знаходились в сполуках різної природи і різної молекулярної маси.

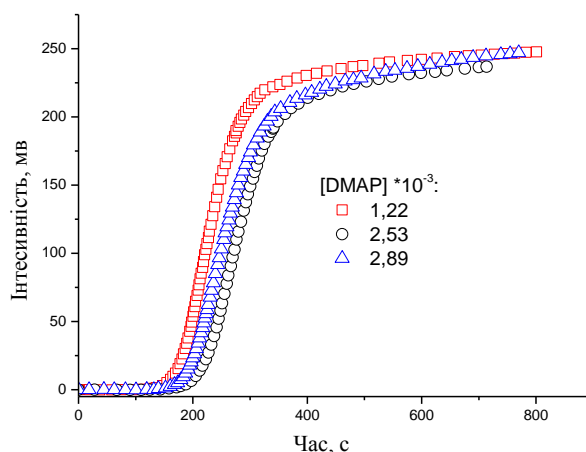


Рис. 3.17. Кінетичні криві нагромадження DCU, отримані при різних початкових концентраціях DMAP

Про відсутність впливу на швидкість нагромадження DCU, від початкової концентрації DMAP, можна зробити висновок при аналізі кінетичних кривих, що наведені на рис. 3.17. Практично трикратне збільшення нуклеофільної добавки DMAP, не спричинило до значимої зміни швидкості нагромадження DCU.

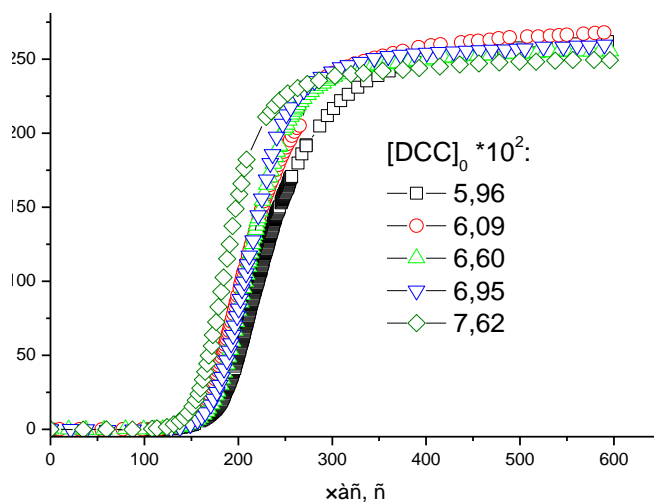


Рис. 3.18. Кінетичні криві нагромадження DCU, отримані при різних початкових концентраціях DCC

В межах нефелометричного дослідження швидкості нагромадження DCU не було виявлено значного впливу і концентрації DCC (рис. 3.18). Криві, що відповідають проведенню реакції при різних початкових концентраціях DCC також практично накладаються одна на одну.

Це дозволяє зробити висновок, що в ланцюгу стадій, що приводять до утворення DCU (активація карбоксильної групи, схема 3.4 і утворення ангідридної групи, схема 3.6) стадією, яка лімітує процес, є утворення ангідридної групи. При тому, дана стадія лімітує процес як на швидкому так і на повільному етапі процесу.

Проведені нефелометричні дослідження показують, що такі фактори як концентрація гідроксильних груп, DCC та DMAP не мають суттєвого впливу на швидкість виділення DCU. Єдиним фактором, що визначає швидкість виділення цього продукту реакції є концентрація та природа карбоксильної групи. На рис. 3.19 наведена серія кривих нефелометрії, виділення DCU в реакції поліконденсації GluSt з PEG-300 при 288K. Концентрацію кислоти змінювали в межах  $0,0165 \div 0,025$ , а концентрацію спирту відповідно  $0,018 \div 0,022$  моль/дм<sup>3</sup>.

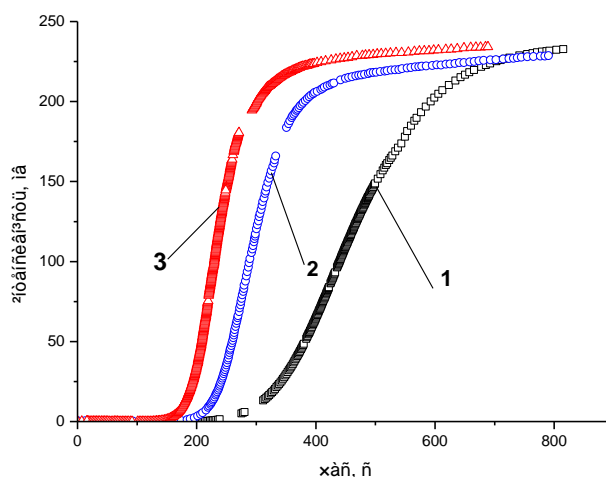


Рис. 3.19. Криві виділення DCU по даних нефелометрії, отримані при різних початкових концентраціях GluSt та при сталій концентрації PEG-300, а саме  $0,0165 \text{ моль/дм}^3$ .

Як можна побачити, з наведених кривих концентрація карбоксильних груп має суттєвий вплив на швидкість виділення DCU. При тому, збільшення концентрації карбоксильних груп приводить до зменшення індуктивного періоду в нагромадженні (часу нагромадження в реакційній суміші активованої форми) так і до збільшення швидкості виділення самого DCU.

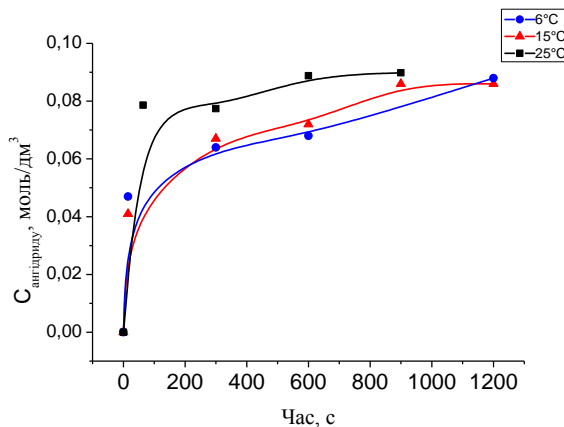


Рис. 3.20. Криві нагромадження ангїдрїду мономерної кислоти, отримані при  $C_{\text{GluSt}} = \text{const} = 0,098 \text{ моль/дм}^3$  та  $C_{\text{DCC}} = \text{const} = 0,11 \text{ моль/дм}^3$

Таким чином, при всій складності процесу, на кінетику нагромадження DCU, а значить і на швидкість утворення ангїдрїдних груп, вплив має концентрація карбоксильних груп. А перегрупування активованої форми карбоксильної по схемі 3.6 (1) і схемі 3.6 (2) слід вважати стадією, що лімітує процес виділення DCU і утворення ангїдрїдних груп.

Для підсилення даного висновку було проведено модельний кінетичний дослід в якому в реакційну масу було завантажено лише GluSt і DCC в мольному співвідношенні 1:1,12. Для одержання кінетичної кривої проби, відібрані з реакційної маси в часі, визначали ангідридні групи з використанням морфолінового аналізу (описана в розділі 2.3.4). Але, аналіз за цією методикою у нашому випадку буде приводити до визначення сумарної концентрації активованої форми карбоксильної групи (схема 3.6) разом з ангідридними групами. Одержані кінетичні криві, при трьох температурах, наведено на рис. 3.20. Їх аналіз показує, що практично миттєво досягається конверсія 40÷50%, а 600÷800 с конверсія збільшується до 80÷90%. Оскільки масового виділення DCU, по даним нефелометрії, не спостерігається, слід вважати, що стрімке збільшення конверсії досягається за рахунок активованих форм карбоксильних груп по схемі 3.5 і схемі 3.6.

На рис. 3.21 проведено графічний аналіз деяких характеристик кривих (рис. 3.19). Зокрема, в межах точності поставленого експерименту можна стверджувати, що тривалість індуктивного періоду виділення DCU є обернено пропорційна концентрації карбоксильних груп, а швидкість нагромадження цього продукту є прямопропорційна цій концентрації.

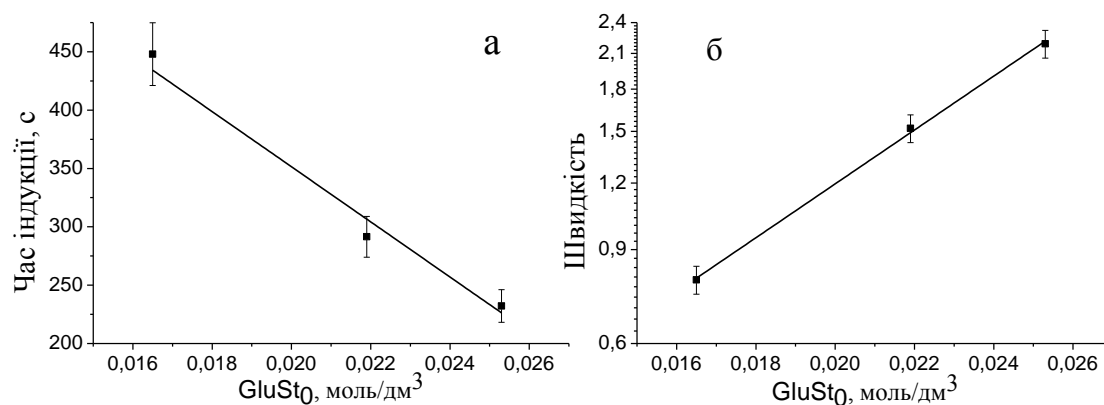


Рис. 3.21. Лінійні апроксимації кінетичних кривих, наведених на рис. 3.19.

Варто пам'ятати, що нефелометричні дослідження проводились з суттєво розбавленими розчинами. Вони продемонстрували деякі особливості перебігу реакції, але висновки одержані за допомогою даного дослідження необхідно



підтвердити кінетичними дослідженнями в умовах реальних значень концентрацій реагуючих речовин.

### 3.3.2. Кінетичні особливості витрати гідроксильних груп.

Викладені в попередньому підрозділі дослідження поліестерів, одержаних за реакцією Стегліха дали підстави вважати, що в умовах поліконденсації дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот з діолами поліоксіетиленового та поліоксипропіленового ряду, реакція протікає через утворення ангідриду. Нефелометричні дослідження нагромадження DCU, добре узгоджуються з таким маршрутом перебігу реакції і підтверджують його в тій мірі, в якій кінетичні дослідження можуть підтверджувати механізм реакції. В такому випадку, виділення DCU може слугувати лише критерієм нагромадження в реакційній суміші ангідридних груп, а не утворення естерних. Тому в межах даної роботи було проведено ряд досліджень по визначенню динаміки витрати гідроксильних груп. За схемою 3.2, витрата гідроксильних груп є прямою передумовою утворення естерних зв'язків, а значить і утворення поліестеру.

Швидке і надійне визначення гідроксильних груп в реакційній суміші, в складі поліетиленгліколів та поліпропіленгліколів з значним ступенем поліконденсації є складною аналітичною задачею, що зв'язано з їх невеликою загальною концентрацією в реакційній суміші і складністю методики аналізу гідроксильних груп. З огляду на це дослідження закономірностей витрати гідроксильних груп в даній реакції проводили лише на перших представниках гомологічного ряду діетиленгліколі (DEG) та дипропіленгліколі (DPG), визначаючи їх концентрацію в реакційній масі за допомогою високоефективної газо-рідинної хроматографії. Методики проведення хроматографічного аналізу даних сполук наведена в розділі 2.3.1 Оскільки дана методика визначає не гідроксильні групи, а кількість діетиленгліколю та дипропіленгліколю, тому побудована методика дослідження формально встановлює швидкість витрати даних сполук – входження їх в макромолекулу.

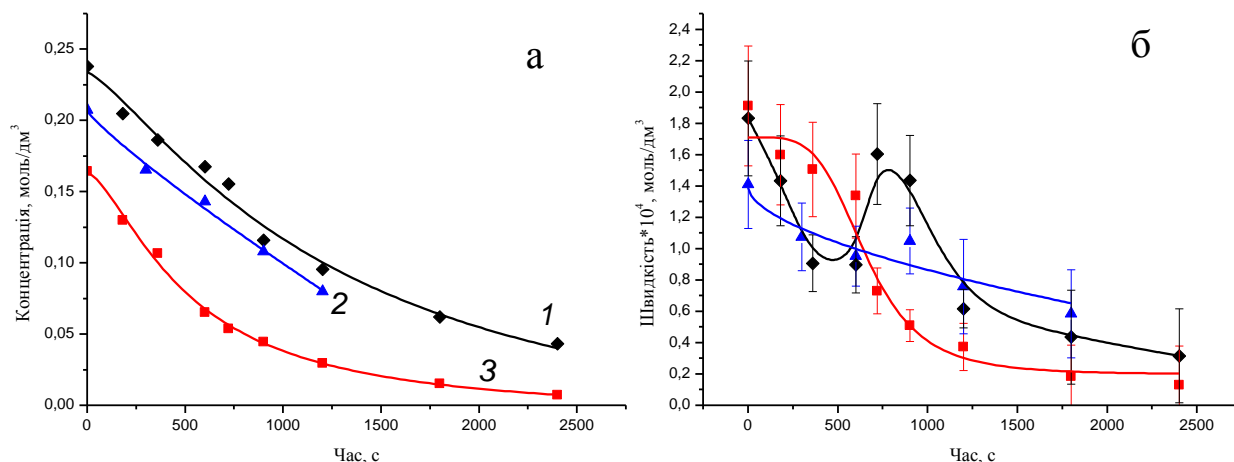


Рис. 3.22. Кінетичні криві витрати спиртових груп DEG, 1 – 0,238;  
2 – 0,214; 3 – 0,164 моль/дм<sup>3</sup>.

На рис. 3.22.а наведені кінетичні криві вичерпування гідроксильних груп DEG при різних його початкових концентраціях. Концентрація кислоти, DCC та DMAP в цій серії дослідів була однаковою і становила 0,196; 0,209; 0,025 моль/дм<sup>3</sup> відповідно. Візуальний аналіз цих кривих показує, що при концентраціях реагентів вищих за 0,15 моль/дм<sup>3</sup> (на порядок вищі концентрацій використаних при нефелометричних дослідженнях) індукційний період не спостерігається. Це узгоджується з даними рис. 3.21а. При збільшенні концентрації на порядок тривалість індукційного періоду повинна зменшитись до одного двох десятка секунд. Такий короткий період не може бути поміченим на кінетичних кривих, одержаних періодичним відбором проб. Разом з тим, основний висновок, відсутність залежності швидкості реакції від початкової концентрації гідроксильних груп, дана серія кривих підтверджує. Більш очевидно це демонструють диференціальні форми даних кінетичних кривих, що приведені на рис. 3.21б. З них можна побачити, що в межах похибки визначення швидкості витрати гідроксильних груп співпадають для всіх початкових концентрацій.

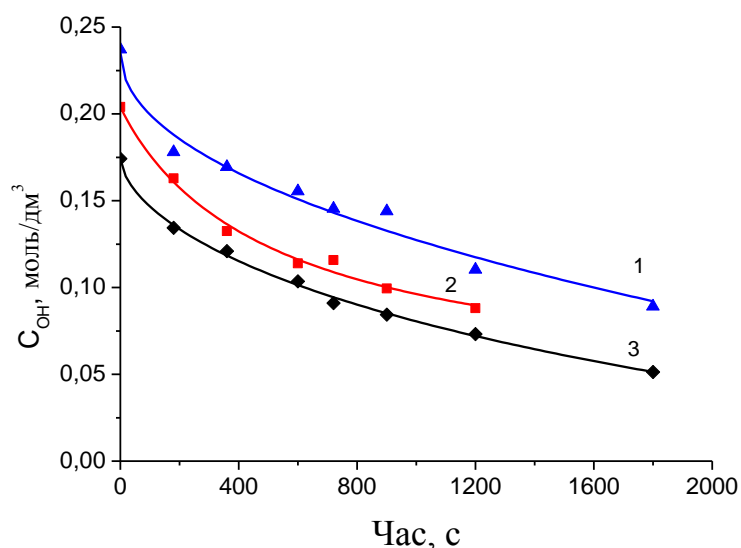


Рис. 3.23. Кінетичні криві витрати спиртових груп DPG.

Концентрація гідроксильних груп 1 – 0,262 ; 2 – 0,2040; 3 – 0,174 моль/дм<sup>3</sup>.  $C_{COOH} = 0,206$  моль/дм<sup>3</sup>

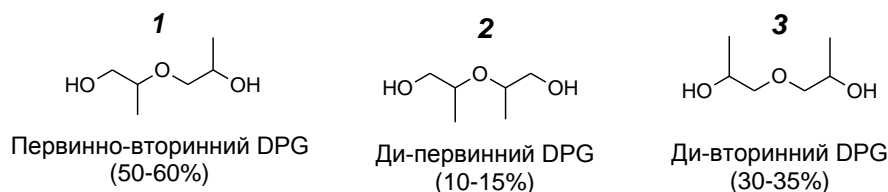


Схема 3.15. Структурні формули ізомерів дипропіленгліколю

При введенні в реакційну суміш гідроксильних груп у складі DPG також не спостерігається впливу їх концентрації на швидкість реакції. В цьому можна переконатись при аналізі кінетичних кривих витрати гідроксильних груп які наведені на рис. 3.23.

В випадку використання в реакційній масі гідроксильних груп у складі DPG спостерігається особливість, яка пов'язана з різною реакційною здатністю гідроксильних груп у складі DPG. Молекули DPG представлені трьома структурними ізомерами, структурні формули яких представлені на схемі 3.15 з їх масовим вмістом в товарній формі.

В реакційній суміші присутні молекули з первинними і вторинними гідроксильними групами.

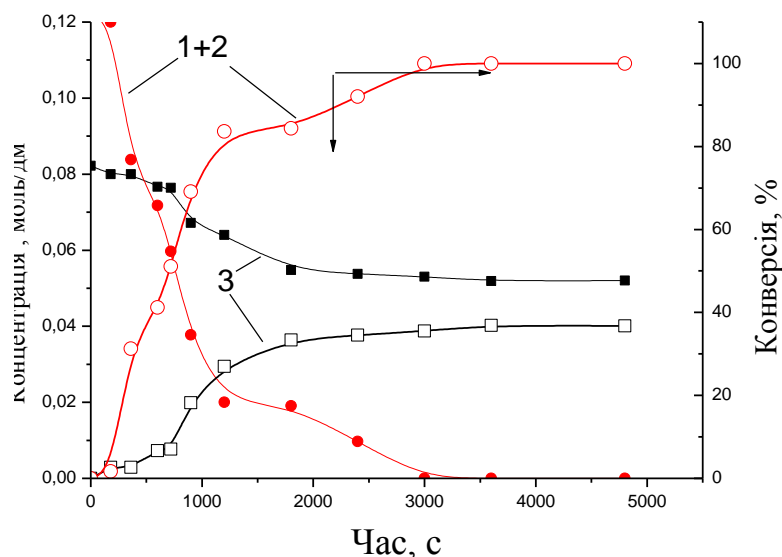


Рис. 3.24. Кінетичні криві витрати спиртових груп ізомерів DPG

Високоєфективна газо-рідинна хроматографія, по розробленій методиці, дозволяє окремо визначати в реакційній суміші сумарну концентрацію ізомерів 1 і 2, окремо, концентрацію ізомеру 3, (схема 3.15). На рис. 3.24 приведені кінетичні криві витрати DPG окремо по ізомерам. З наведених кривих видно, що якщо в молекулі DPG є хоча б одна первинна гідроксильна група, тоді витрата гідроксильних груп зі складу DPG не відрізняється від витрати зі складу DEG і проходить до високих значень конверсії. Ізомер DPG з двома вторинними гідроксильними групами, коли в реакційній масі присутні ізомери з первинною гідроксильною групою, практично не витрачається. Більш інтенсивна витрата такого ізомеру (3) спостерігається лише після витрати 70÷80% сумарної кількості ізомерів з первинною групою. Можна стверджувати, що вторинна гідроксильна група має нижчу реакційну здатність в даній реакції. Разом з тим, не можна стверджувати, що діючі з вторинною гідроксильною групою не вступають в реакцію. Вони приймають участь після значного вичерпування первинних гідроксильних груп. Даний факт підтверджується тим, що при сумісному завантаженні в реакцію поліконденсації DPG і PEG входження обох кономерів практично відповідає завантаженому. Відповідні дані описані в розділі 3.2.4 при обговоренні ЯМР спектрів одержаних поліестерів.

З огляду на основну задачу даної роботи – одержання розгалужених поліестерів, важливим є динаміка входження агента розгалуження – гліцеролу.

Хроматографічний аналіз гліцеролу в реакційній суміші виявився не достатньо ефективним для його використання в кінетичних дослідженнях. Тому, в даній роботі, було використано об'ємний метод визначення гліцеролу, що базується на реакції окислення віцинальних спиртових груп гліцеролу періодатною кислотою (методика аналізу приведена в розділі 2.3.2).

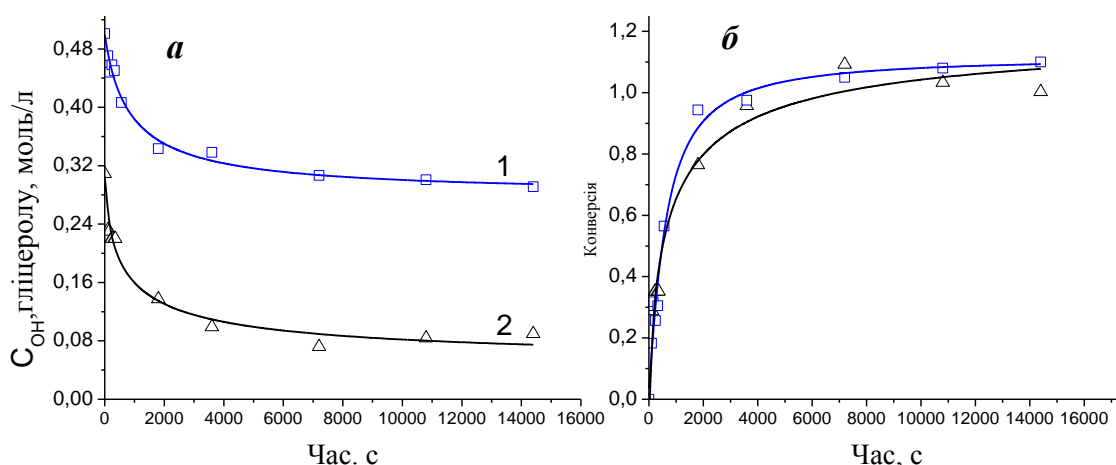


Рис. 3.25. Кінетичні криві витрати спиртових груп гліцеролу.

1 – 0,501; 2 – 0,300 моль/дм<sup>3</sup>;  $C_{COOH} = 0,200$  моль/дм<sup>3</sup>

На рис. 3.25 а, приведені кінетичні криві витрати спиртових груп гліцеролу, що одержані при різній їх початковій концентрації за однаковою початковою концентрацією карбоксильних груп. Спрощення цього експерименту у порівнянні з синтезами полягає в тому, що концентрація спиртових груп гліцеролу створювалась близькою до концентрації карбоксильних груп. В балансових синтезах розгалужених поліестерів концентрація спиртових груп гліцеролу є значно нижчою. Але таким чином проведений дослід дозволяє зробити висновок про відносну реакційну здатність гліцеролу в даній реакції. Так як функціональність глютамінової кислоти і гліцеролу різні, проводити аналіз кінетичних кривих простіше в координатах конверсія  $\rightarrow$  час (рис. 3.24 б). Кінетичні криві, що одержані при різних початкових концентраціях, в цих координатах практично повністю сумістились, що підтверджує відсутність залежності швидкості реакції від їх концентрації.

Описані вище кінетичні дослідження показали, що витрата гідроксильних груп, а значить і утворення естерних, не залежить від концентрації гідроксильних

груп. Цей висновок узгоджується з висновком, що був одержаний при нефелометричному дослідженні швидкості нагромадження DCU, але одержаний при високих концентраціях реагентів в реакційній суміші. Відсутність залежності справджується для всіх реагентів (DPG, DEG та гліцеролу), як це і було продемонстровано нефелометричними дослідженнями.

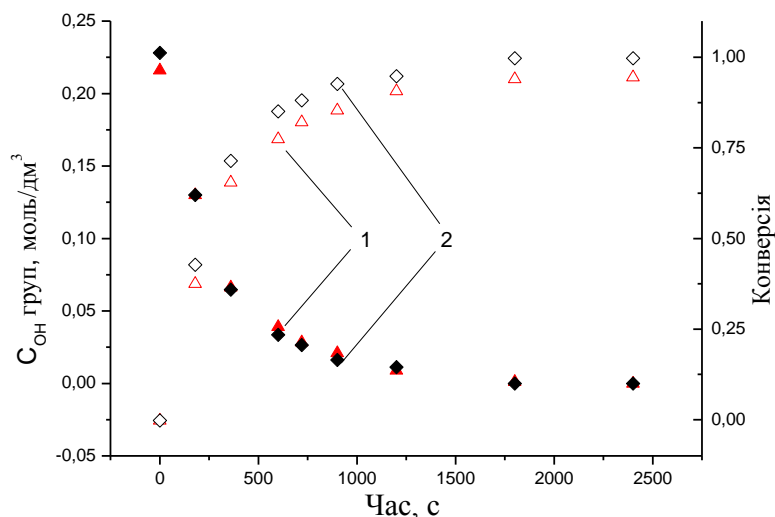


Рис. 3.26. Кінетичні криві витрати спиртових груп та конверсії DEG, отримані при різній кількості DMAP, 1-0,02 та 2-0,04 моль/дм<sup>3</sup> та однакових концентраціях спирту та кислоти,  $C_{OH} = 0,22$  моль/дм<sup>3</sup>;  $C_{COOH} = 0,32$  моль/дм<sup>3</sup>

На рис. 3.26 приведені у порівнянні кінетичні криві витрати гідроксильних груп зі складу DEG, які одержані при однакових концентраціях в реакційній суміші як гідроксильних так і карбоксильних груп. Досліди відрізняються лише вдвічі більшою концентрацією нуклеофільної добавки DMAP. Згідно схеми 3.7 ця добавка приймає участь на стадії взаємодії ангідридної групи з гідроксильною групою. Як можна побачити з приведених кривих, збільшення концентрації DMAP не приводить до збільшення швидкості витрати гідроксильних груп. Слід думати, що, у відповідності до запропонованої схеми 3.7, DMAP суттєво прискорює взаємодію ангідридної групи з гідроксильною і швидкість даної стадії перестає лімітувати швидкість процесу в цілому.

Таким чином, проведені дослідження дозволили зробити висновок, що реагентом, концентрація якого визначає швидкість реакції є дикарбонова кислота. А стадія, швидкість якої визначає швидкість реакції в цілому, є стадія утворення ангідриду (схема 3.6). Виходячи з загальних міркувань слід вважати, що на

початкових стадіях процесу більш ймовірним є одержання внутрішньо молекулярних циклічних ангідридів по першій реакції цієї схеми. По вичерпуванню мономерної кислоти, повинна домінувати реакція утворення міжмолекулярних ангідридних груп по другій реакції цієї ж схеми. Разом з тим, принаймні до 75÷85% конверсії, не було помічено сповільнення реакції через зміну хімізму утворення ангідридної групи. Зменшення швидкості реакції повністю пояснювалось загальним вичерпуванням концентрації карбоксильних груп. Слід думати, що ці дві стадії не є настільки розділені в часі, щоб окремо визначати швидкість реакції, а в ході проведених досліджень реєструвався їх усереднений вплив. Разом з тим, проведені кінетичні дослідження виконувались лише до конверсії не більше 85%. Тому при вищій конверсії, де спостерігається повільна стадія слід допускати утворення лише міжмолекулярних ангідридних груп. Наявність повільної стадії власне може бути пояснена як значним зменшенням концентрації реагентів сукупно з утворенням лише міжмолекулярних ангідридних груп при конверсії більшій за 75÷85%.

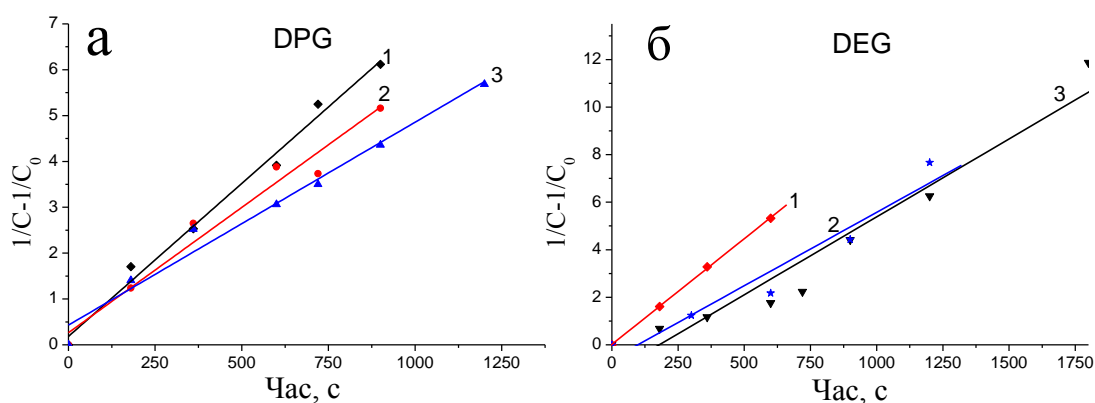


Рис. 3.27. Анаморфози кінетичних кривих DPG, 1-0,170; 2-0,22; 3-0,24 моль/дм<sup>3</sup> та DEG 1-0,16; 2-0,21; 3-0,24 моль/дм<sup>3</sup>, отримані при однаковій концентрації карбоксильних груп  $C_{COOH} = 0,20$  моль/дм<sup>3</sup>

Обробка одержаних кінетичних кривих (рис.3.22а, 3.23 і 3.25) показала, що найкраще одержані криві спрямляються в анаморфозах реакції другого порядку. Оскільки визначальною концентрацією є лише концентрація карбоксильних груп, правомірним є використання анаморфози другого порядку для еквімолярного співвідношення реагентів. Відповідні анаморфози кінетичних кривих витрати гідроксильних груп зі складу DEG і DPG приведені на рис. 3.27. Таке спрямлення

дозволяє вважати, що реакція поліконденсації за реакцією Стегліха найкраще описується рівнянням другого порядку. Кут нахилу анаморфоз дозволяє оцінити константу реакції. Таким чином визначена константа у випадку DEG (рис. 3.27.б) становила по кожній кривій відповідно  $8.9 \cdot 10^{-3}$ ,  $5.5 \cdot 10^{-3}$ ,  $5.2 \cdot 10^{-3}$   $\text{дм}^3/(\text{моль} \cdot \text{с})$ , у випадку DPG -  $6.95 \cdot 10^{-3}$ ,  $5.9 \cdot 10^{-3}$ ,  $4.9 \cdot 10^{-3}$   $\text{дм}^3/(\text{моль} \cdot \text{с})$ . Розкид значень констант зумовлений значною статистичною помилкою, тому найкращою оцінкою слід рахувати їх усереднене значення. Усереднення приводить до  $(5,8 \pm 0,9) \cdot 10^{-3}$   $\text{дм}^3/(\text{моль} \cdot \text{с})$  у випадку DEG та  $(6.5 \pm 1) \cdot 10^{-3}$   $\text{дм}^3/(\text{моль} \cdot \text{с})$ . По при значну помилку визначення, приведені оцінки констант дозволяють зробити висновок про незалежність швидкості витрати гідроксильних груп від їх природи. Цей же висновок був зроблений і в ході обговорення результатів нефелометричного дослідження нагромадження DCU. Він є цілком закономірним, якщо вважати стадією, що лімітує процес в цілому є стадія утворення ангідридних груп (схема 3.6)

На рис. 3.28 приведена анаморфоза кінетичної кривої витрати гідроксильних груп зі складу гліцеролу (рис. 3.25 (2)). Задовільне її спрямлення підтверджує другий порядок перебігу реакції поліконденсації. Значення константи,  $(1.8 \pm 0.4) \cdot 10^{-3}$   $\text{дм}^3/(\text{моль} \cdot \text{с})$ , яке визначена по куту нахилу цієї анаморфози, є дещо меншим за константи для DPG та DEG. Але, враховуючи той факт, що кінетичні криві витрати гідроксильних груп зі складу гліцеролу одержувалась по іншій методиці ніж кінетичні криві витрати гідроксильних груп зі складу DPG і DEG, а також значну статистичну похибку, таке відхилення не є суттєвим і слід вважати, що гідроксильні групи зі складу гліцеролу витрачаються з тією ж швидкістю, що гідроксильні групи зі складу DPG та DEG.



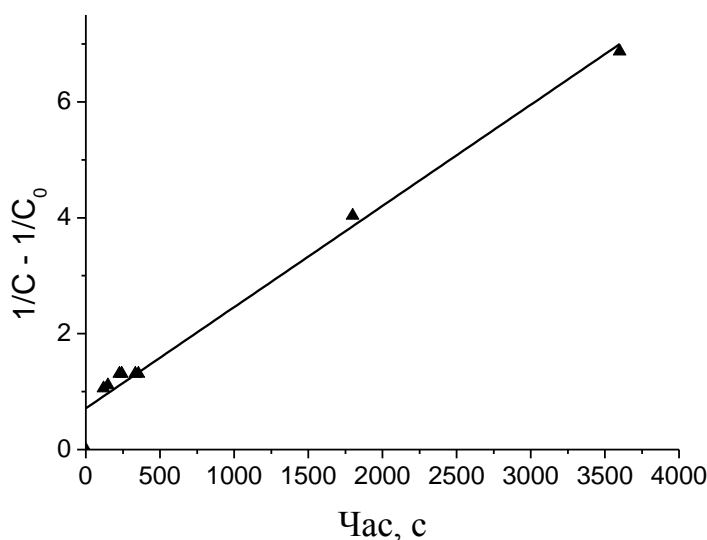


Рис. 3.28. Спрямлення кінетичної кривої, витрати спиртових груп в анаморфозах 2-го порядку для гліцеролу,  $C_{OH} = 0,3$  моль/дм<sup>3</sup>;  $C_{COOH} = 0,2$  моль/дм<sup>3</sup>

Проведені кінетичні дослідження дозволяють зробити важливий для даної роботи висновок. Він базується на експериментально встановленому факті відсутності залежності швидкості витрати гідроксильних груп від їх кількості в реакційному середовищі і відсутності значимої залежності від природи гідроксильної групи. Якщо під цим розуміти належність первинної гідроксильної групи DPG, DEG, PEG, PPG або гліцеролу. В такому випадку склад кополієстеру, при сумісному завантаженні в реакційну суміш різних за природою гідроксилвмісних реагентів, буде визначатись лише співвідношенням кількості цих реагентів в реакційній суміші. Цей висновок, крім кінетичних досліджень, підтверджується співставленням складу одержаних полієстерів зі складом реакційної суміші. Даний висновок поширюється і на агент розгалуження, в якості якого в даній роботі використано гліцерол. Останнє означає, що кількість розгалужень полімерного ланцюга визначається складом реакційної суміші. Так, якщо в мономерній суміші мольна частка гліцеролу становить 0,1, то це означає що, біля кожного десятого залишку дикарбонової кислоти в полієстерному ланцюгу є його розгалуження. Тут необхідно зауважити важливий факт. Експериментально визначена різниця між реакційною здатністю первинної та вторинної гідроксильної групи в користь першої (тут мається на увазі, що в присутності в реакційній суміші одночасно спів розмірних кількостях первинних і вторинних гідроксильних груп, в

реакцію в першу чергу вступають первинні), зумовлює певну динаміку формування розгалуженого поліестеру. На початкових стадіях реакції закладається лише можливість розгалуження полімерного ланцюга входженням гліцеролу в поліестерний ланцюг (схема 3.9). По вичерпуванню первинних гідроксильних груп в реакцію починають вступати вторинні, які, знаходяться в складі поліестеру (схема 3.10), що і приводить до розгалуження поліестеру. Якщо кількість потенційних розгалужень є значною (в системі, яка досліджується, більше 1 на кожних 5 залишків кислоти) створюються умови до перехресних зшивок між макромолекулами на високих конверсіях, а не лише розгалуження ланцюга. .

## РОЗДІЛ 4.

### ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ОДЕРЖАНИХ ПОЛІЕСТЕРІВ

В попередніх розділах було показано, що в результаті поліконденсації N-похідних глютамінової кислоти з поліолами різної природи в присутності гліцеролу за реакцією Стегліха одержується розгалужений та/або перехресно зшитий поліестер з різним ступенем структурування. Також в попередніх розділах показано, що одержаний поліестер можна розділити диспергуванням, виділеного з реакційної маси зразка, в воді. Ці фракції розділяються по ступеню структурування і умовно, в межах даної роботи, по сукупності їх основних властивостей позначали ЗФ, ГФ та ФПП.

При одержанні поліестерів в умовах близьких до еквімолярного співвідношення між карбоксильними, гідроксильними групами і DCC та вмісту в мономерній суміші гліцеролу до 15÷20% (мол.) від загальної кількості гідроксильних груп основним продуктом реакції є поліестер ЗФ. В цих умовах його кількість від загальної кількості поліестеру, після відокремлення фракції ФПП, становить 87-90%.

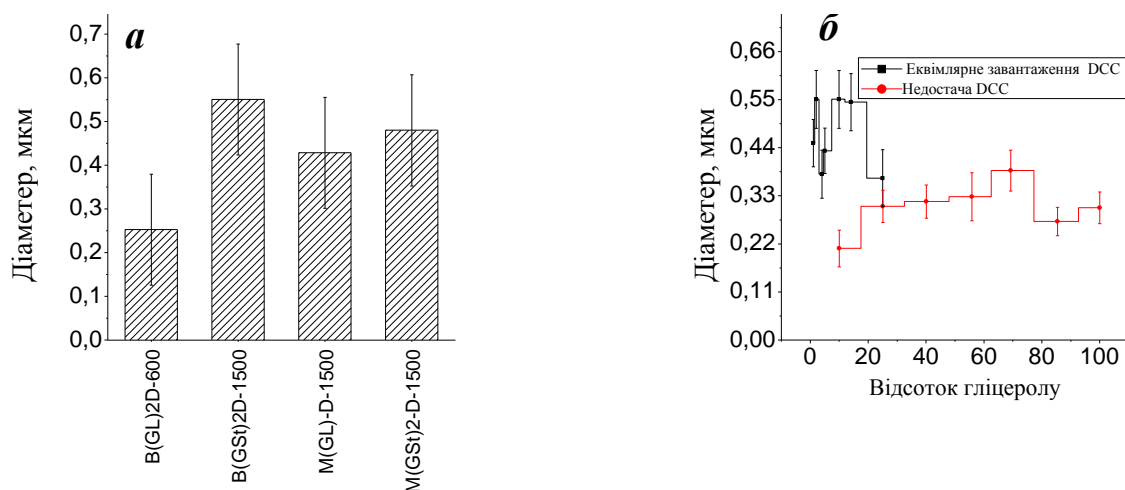


Рис. 4.1. Середній розмір частинок дисперсної фази, отриманий методом світлорозсіювання

Як було показано в главі 3 він характеризується тим, що утворює доволі концентровані, стабільні в часі самостабілізовані водні дисперсії. При висиханні 8÷20% водної дисперсії, переважна більшість з одержаних поліестерів ЗФ формує на поверхні впорядковані структури кристалітів, як це було показано на рис. 3.5. На рис. 4.1 наведені дані середнього розміру частинок дисперсної фази одержаних

світлорозсіюванням. Значення середнього діаметру частинок за всіх умов знаходиться в діапазоні 250÷550 нм. Дані рис. 4.1.а демонструють, середній розмір частинок ЗФ не залежить від способу одержання і, до певної міри, залежить від молекулярної маси поліоксіетиленового фрагменту, що знаходиться в його складі. Збільшення молекулярної маси фрагменту призводить до збільшення середнього розміру частинок. Рис. 4.1.б демонструє відсутність значної залежності середнього діаметру дисперсної фази водної дисперсії ЗФ поліестеру від кількості гліцеролу в мономерній суміші, що була використана при синтезі. Відсутність такої залежності, при тому, що від кількості гліцеролу залежить співвідношення між частками одержаних фракцій, є важливою інформацією про процес їх формування. Даний рисунок демонструє, що в середньому частинки дисперсної фази поліестеру, який одержаний при еквімолярному співвідношенні між карбоксильними групами і DCC, мають приблизно в 1,5 рази більший діаметр дисперсної фази.

Викладений вище матеріал дозволяє зробити висновок, що основним продуктом реакції, що досліджується, є поліестер ЗФ. Даний полімерний матеріал утворює самостабілізовані, стійкі в часі, водні дисперсії. Тому в подальших дослідженнях саме даному об'єкту буде приділена основна увага.

#### **4.2. Дослідження водних дисперсій одержаних поліестерів методом динамічного світлорозсіювання.**

Зразки водних дисперсій одержаних поліестерів досліджувались методом динамічного світлорозсіювання (DLS) після того, як з них відокремлювали ФПП фракцію центрифугуванням. На рис. 4.2 наведено гістограми чисельного (рис. 4.2.а) і об'ємного (рис. 4.2.б) розподілу частинок поліестеру B(GSt)<sub>2</sub>D-1500 (зразок 16, табл.3.1) одержаного в присутності 5% гліцеролу. Цікавим є те, що розподіл одержаний за допомогою DLS цього зразка, дуже добре підтверджує поділ поліестеру на фракції що досліджують. Співставляючи дані мікроскопування, можна стверджувати, що мода з максимумом 1480 нм на розподілі по об'єму (рис. 4.2) відповідає частинкам дисперсної фази ГФ. Для DLS досліджень частки ФПП були видалені центрифугуванням. Співставлення розподілу по об'єму з розподілом по

числу дозволяє зробити висновок про незначну кількість частинок ГФ фракції від загальної кількості частинок дисперсної фази.

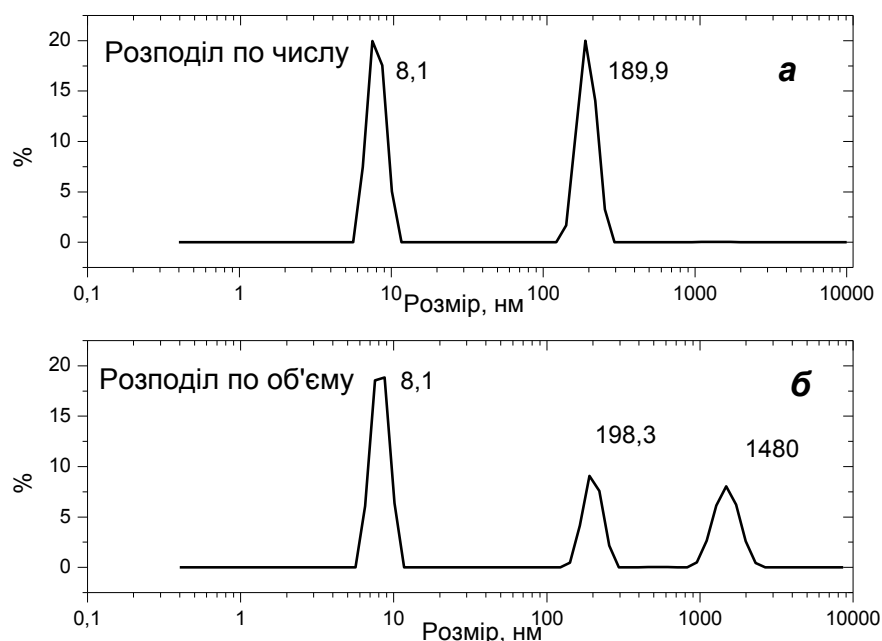


Рис. 4.2. Чисельні (а) та об'ємні (б) гістограми розподілу по даних DLS для зразка B(GSt)<sub>2</sub>D-1500

Крім максимуму, який відповідає частинкам ГФ, на розподілі по об'єму спостерігаються ще дві моди. Це мода з максимумом при 198,3 нм та мода з максимумом при 8,1 нм. Частинки, що відповідають другій моді даної фракції (з діаметром 198,3 нм), це частинки які забезпечують релеевське розсіювання з результатами заміру від 250 до 500 нм і обговорювались при аналізі залежностей, що приведені на рис. 4.1. Для певної кількості зразків оцінка по релеевському розсіюванню завишає значення розміру частинок другої моди ЗФ. Таке розходження може бути пояснене двома фактами. Це, в першу чергу, зумовлено оцінкою за різними методиками, і, в другу чергу, вплив на релеевське розсіювання частинок, ГФ (на DLS розподілі мода з розміром 1480 нм). Кількість частинок ГФ фракції є незначною, але достатньою для зміщення середнього розміру. Не дивлячись на розходження розміру частинок, одержаними різними методами, однозначно частинки, що відповідають моді з максимумом 198,3 на розподілі одержаним DSL слід відносити до частинок ЗФ.

Частинки, які відповідають моді з максимумом 8,1 нм (рис. 4.1), не зумовлюють релеєвського розсіювання. Їх кількість, або співрозмірна (як по кількості частинок так і по об'єму полімеру, що в них знаходиться) частинкам ЗФ, або значно переважає кількість частинок ЗФ. Для спрощення обговорення результатів досліджень в подальшому частинки ЗФ поліестеру, що відповідають моді з меншими розмірами, будемо називати частинками першої моди ЗФ, а частинки, які відповідають моді з більшими розмірами, відповідно, частинками другої моди.

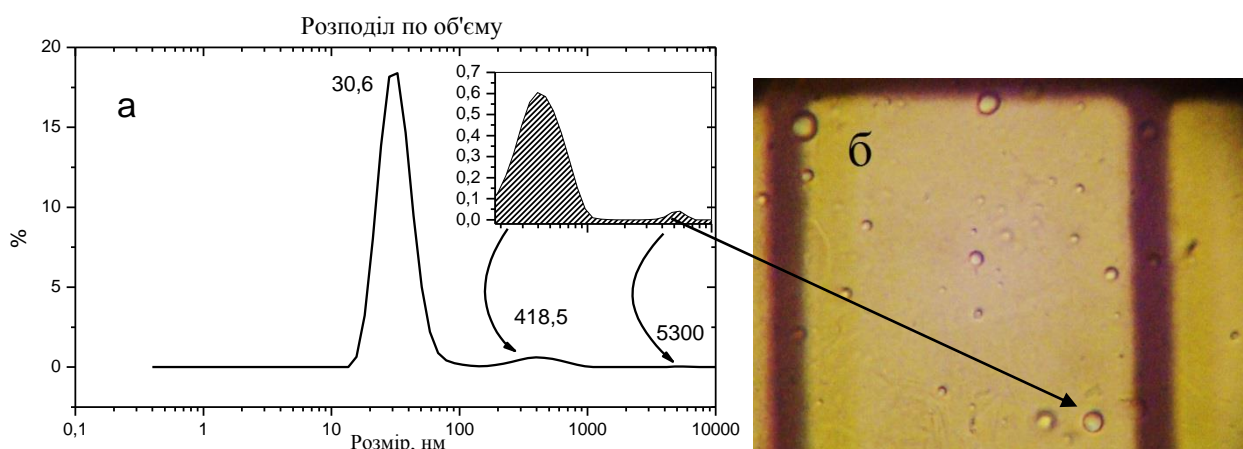


Рис. 4.3. Об'ємна гістограма розподілу по даних DLS для зразка M(GL)-D-600 (а) та мікрофотографія частинок ГФ зразка M(GL)-D-600

Співвідношення між частками, що відповідають різним модам ЗФ, яке спостерігається для зразка B(GSt)<sub>2</sub>D-1500 (рис. 4.2) є характерним (особливо для поліестерів з фрагментами PEG-1500), але не загальними. Так, на рис. 4.3.а наведено DLS розподіл по об'єму частинок зразка поліестеру M(GL)-D-600 (зразок б, табл.3.1), який одержаний при вмісті гліцеролу в мономерній суміші 19%. Розподіл, як і у попередньому випадку, має три моди, але співвідношення між ними суттєво інше. Домінують частинки ЗФ першої моди розміром 30,6 нм. Частка частинок другої моди ЗФ (418,5 нм) і частинок ГФ (5300 нм) є незначною.

Для цього зразка є важливим відмітити, що частка ФПП є відносно високою і становить 18,22% від загальної кількості поліестеру (табл.3.1). Але сформована вона в крупні частинки неправильної форми (рис. 3.1.б). Для DLS дослідження дані частинки зі зразка були видалені центрифугуванням. Як було показано в розділі 3, кількість поліестеру, що формує частинки ЗФ є незначною, не перевищує в даних

умовах синтезу  $3\div 6\%$ . Але ці частки не видаляються центрифугуванням і тому проявляються на розподілі одержаному методом DLS, а, у випадку цього зразка, можуть бути мікроскоповані оптичним мікроскопом (рис.4.3б) Через великий розмір частинок ГФ і незначну їх кількість, їх вплив на релеевське розсіювання є незначним. В результаті цього, для даного зразка спостерігається значно краще співпадіння між визначенням середнього розміру частинок ЗФ світлорозсіюванням 404 нм і значенням середнього розміру частинок другої моди цієї фракції по даним DLS– 418 нм.

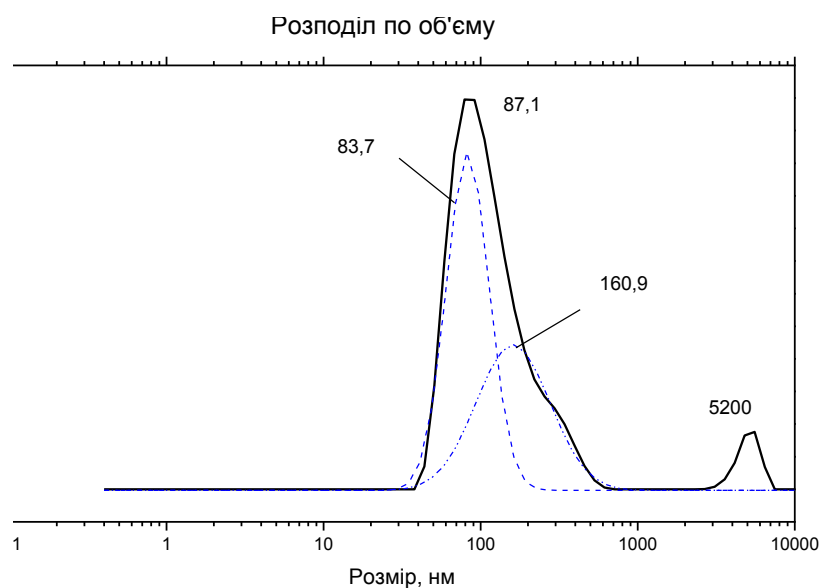


Рис. 4.4. Гістограма розподілу частинок по об'єму по даних DLS для зразка  $B(GSt)_2D_{3.3-600}$

На рис. 4.4 наведено розподіл частинок по об'єму для зразка  $B(GSt)_2D_{3.3-600}$ . Як і у випадку зразка  $M(GL)-D-600$  частинки ГФ мають значний розмір (5200 нм). Основна відмінність від попередньо описаного полягає в тому, що частинки ЗФ представленні однією модою (87,1 нм). Але мода розподілу, що відповідає цим частинкам, має значний ексцентриситет. Це дозволяє зробити припущення, що для даного зразка розміри частинок першої моди є близькими до розмірів частинок другої моди. В результаті цього відбувається їх перекривання. На рис. 4.4 пунктирними лініями проілюстровано розкладання основного піку моди на дві, виконаного за допомогою програмного середовища Origin. В цьому випадку можна вважати, що частинки ЗФ першої моди мають середній розмір 83,7 нм, а частинки ЗФ другої моди – 160 нм.

Розмір частинок ЗФ першої моди для зразків M(GL)-D-600 і B(GSt)<sub>2</sub>D<sub>3.3</sub>-600 (рис. 4.3 та рис. 4.4 відповідно) є суттєво більшими ніж відповідний розмір для зразка B(GSt)<sub>2</sub>D-1500 (рис. 4.2). Слід відмітити, що ці зразки принципово відрізняються. В першу чергу молекулярною масою поліоксіетиленового і алкільного фрагментів. Крім того, зразок B(GSt)<sub>2</sub>D-1500 і B(GSt)<sub>2</sub>D<sub>3.3</sub>-600 синтезовані через діестер (схема 3.3), а зразок M(GL)-D-600 – по схемі змішаного завантаження. Аналізуючи отримані дані по DLS слід вважати, що основним чинником, який впливає на розмір частинок ЗФ першої моди є зменшення молекулярної маси поліоксіетиленового фрагменту в складі кополіестеру. Важливо відміти, що такого значного впливу складу поліестеру, на розмір частинок ЗФ другої моди не має.

На рис. 4.5.а наведено DLS розподіли частинок зразка поліестеру B(GL)<sub>2</sub>B-1500 (зразок 17 в табл.3.1), який одержаний в присутності 10% гліцеролу в суміші, при різних концентрації поліестеру в водній дисперсії.

Даний зразок відрізняється від зразків, що аналізувались раніше тим, що в якості олеофільного діолу при синтезі блоку був використаний 1,4-бутандіол замість DPG. Таким чином в структурі макромолекул цього поліестеру суттєво підсилений олеофільний блок, при тому ж гідрофільному блоці.

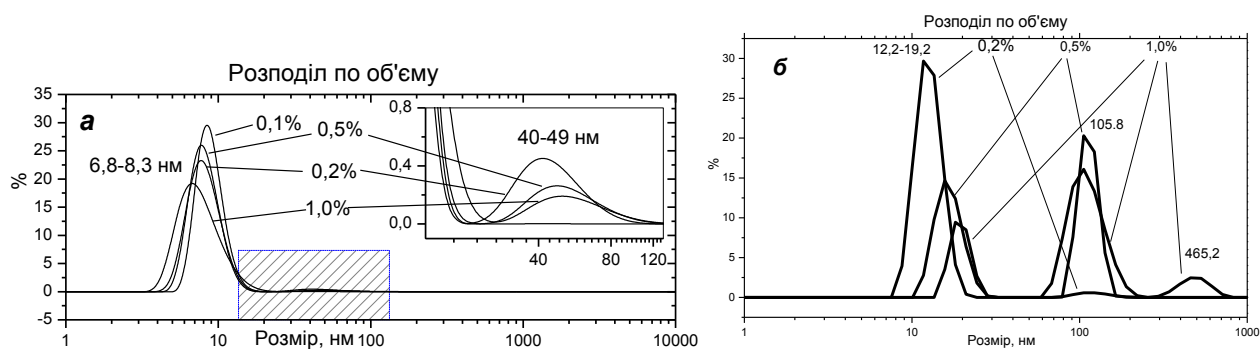


Рис. 4.5. Чисельні (а) та об'ємні (б) гістограми розподілу по даних DLS структурованого зразка B(GL)<sub>2</sub>B-1500 (а) та лінійного зразка B(GL)<sub>2</sub>B-1500 (б)

Зміна складу суттєво відобразилась на його властивостях. Кількість ФПП фракції не перевищує 6% і є відносно невеликою. Але для даного типу кополіестеру практично не спостерігається частинок ГФ. Їх не було виявлено в оптичний мікроскоп і відповідної моди не спостерігається на DLS розподілі частинок по



об'єму (рис. 4.5.a). Більше того, як можна побачити з даних розподілів, ЗФ практично повністю представлена частинками першої моди з середнім розміром  $6,8 \div 8,3$  нм. Частинки ЗФ другої моди на розподілі цього поліестеру спостерігається в області розмірів  $40 \div 49$  нм але їх кількість є незначною. Таким чином, можна стверджувати, що зміна складу поліестерів та зміна умов їх одержання може суттєво впливати на співвідношення між фракціями та середнім розміром мод, яким вони представлені в розподілі, але не впливає на загальні закономірності їх формування.

На рис. 4.5.a наведено ряд розподілів частинок дисперсної фази кополіестеру  $B(GL)_2B-1500$ , що отримані при різній концентрації дисперсної фази. Розподіли практично сумістились. Це означає, що фракційний склад дисперсії не залежить від концентрації дисперсної фази. Цей факт був підтверджений і для всіх інших типів одержаних поліестерів, які досліджуються в межах даної роботи. Зокрема розподіли, які були наведені на рис. 4.2÷рис. 4.4 одержані при концентрації дисперсної фази 1%. В роботі [125], на основі аналізу значної кількості розподілів лінійних поліестерів аналогічного складу, було показано, що розміри і морфологія частинок дисперсної фази в значній мірі залежить від концентрації дисперсії. Зокрема було показано, що при дуже низьких концентраціях домінують паличкоподібні частинки, гідродинамічний радіус яких знаходився в межах  $12 \div 22$  нм. При збільшенні концентрації паличкоподібні частинки перебудовувались в паралелепіеди з розміром  $80 \div 240$  нм, які при концентраціях близьких до 1% і вище починали формувати агрегати з розміром від  $400 \div 950$  нм. В межах даної роботи, для підтвердження цього висновку було одержано лінійний поліестер зі складом, близьким до зразка  $B(GL)_2B-1500$  (для синтезу було взято реакційну масу з тим же складом але без гліцеролу). На рис. 4.5.б наведено ряд розподілів частинок водної дисперсії одержаного лінійного кополіестеру при різній концентрації. Ці розподіли повністю підтверджують висновки, зроблені в роботі [126]: при концентрації менших за 0,2% (мас) в дисперсії переважають частинки з розміром  $12,2 \div 19,2$  нм; при концентрації 0,5% значну частку становлять частинки з середнім розміром  $100 \div 110$  нм, при концентрації 1%, за даними розподілу за об'ємом, в дисперсії

присутні як частинки з розміром 12,2÷19,2 нм і 100÷110 нм, а також появляються частинки з середнім розміром 462 нм. Таким чином, зі збільшенням концентрації спостерігається зміна фракційного складу дисперсії. Як було уже показано (рис. 4.5.а) аналогічний за структурою, але одержаний в присутності гліцеролу, поліестер демонструє постійність фракційного складу дисперсної фази і її морфології зі збільшення концентрації дисперсії.

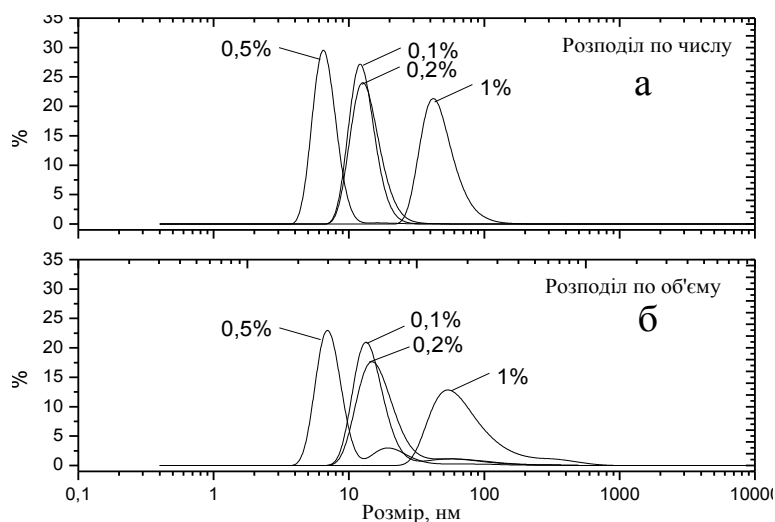


Рис. 4.6. Числові (а) та об'ємні (б) розподіли по даних DLS для структурованого зразка B(GL)<sub>2</sub>B-1500

Залежність розміру частинок дисперсної фази від концентрації для структурованих кополієстерів, яка наведена на рис. 4.2, є характерною для більшості зразків, які досліджувались. Проте якщо в структурі кополієстеру послабити гідрофільну складову та/або суттєво посилити олеофільну складову, то кількість частинок другої моди ЗФ суттєво зростає зі збільшенням концентрації дисперсної фази. І, з формальної точки зору, спостерігається залежність середнього розміру частинок дисперсної фази від її концентрації.

Це можна проілюструвати на основі розподілів отриманих по даних DLS досліджень для зразка B(GL)<sub>2</sub>B-400, наведених на рис. 4.6. У зразка B(GL)<sub>2</sub>B-400 суттєво послаблена гідрофільна складова та посилена олеофільна складова, порівняно зі зразками, отриманими на основі дипропіленгліколю. На рис. 4.6 наведено ряд розподілів DLS, по числу (а) та об'єму (б), для даного кополієстеру і

можна побачити, що спостерігається суттєве збільшення другої моди ЗФ зі збільшенням концентрації дисперсної фази.

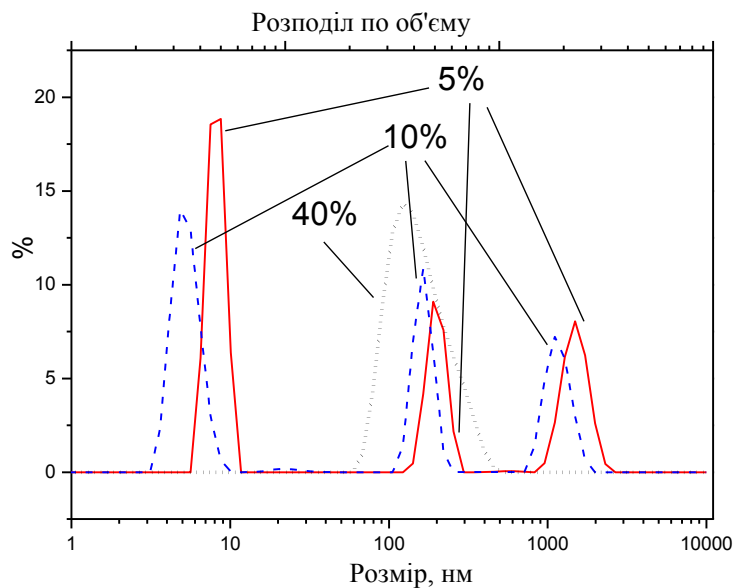


Рис. 4.7. Об'ємні розподіли по даним DLS отримані при різній кількості гліцеролу

Складним є фракційний склад дисперсної фази при різній концентрації гліцеролу в мономерній суміші. Для ілюстрації цього впливу на рис. 4.7 наведено у порівнянні розподіли по об'єму, зразків поліестеру  $B(GSt)_2D-1500$ , який був одержаний при вмісті гліцеролу в мономерній суміші 5, 10, 40%. Як можна побачити з наведених гістограм при вмісті 5 та 10% гістограми мають описаний вище характер з модою ГФ та двома модами ЗФ. До певної міри можна спостерігати збільшення частки частинок ЗФ другої моди за рахунок частки частинок ЗФ першої моди і за рахунок частинок ГФ.

Але такі незначні зміни можна пояснити і відтворюваністю розподілів отриманих методом динамічного світлорозсіяння. Іншими словами в діапазоні концентрацій до 10% вплив кількості гліцеролу на фракційний розподіл є незначним. Ситуація суттєво змінюється при аналізі розподілу одержаного при вмісті гліцеролу 40%. При цій концентрації в розподілі домінує мода, яка відповідає другій моді частинок ЗФ. Кількість частинок ЗФ першої моди і частинок ГФ незначна. При тому розподіл частинок ЗФ другої моди має значну дисперсію, пік сильно уширений та асиметричний. Якщо врахувати, що при такому вмісті гліцеролу в мономерній суміші, як було показано раніше, кількість ФПП фракції

уже значна, то можна стверджувати, що поліестер складається лише з цих двох фракцій. Слід думати, що така трансформація розподілу відбувається при вмісті гліцеролу в мономерній суміші більшій за 20%.

#### 4.3. Дослідження морфології частинок дисперсної фази методом малокутового нейтронного розсіювання (SANS).

Малокутове розсіювання нейтронів (Small Angle Neutron Scattering – SANS) є специфічним методом дослідження мікроструктур в різноманітних матеріалах (в тому числі полімерних), який дозволяє відслідковувати флуктуації густини ядер атомів та електронної густини на нанометричному рівні. Завдяки цьому він робить можливим аналіз структурних утворень розміром від ангстрему до мікрометра. Результатом SANS експерименту є функція розсіювання, яка в свою чергу є функцією інтенсивності розсіювання  $I$  ( $\text{см}^{-1}$ ) від величини  $Q$  ( $\text{Å}^{-1}$ ), що визначається кутом розсіювання нейтронів. Характерний результат проведення SANS експерименту по дослідженню водної дисперсії структурованого поліестеру (а) в порівнянні із поліестером лінійної будови (б) наведено на рис. 4.8.

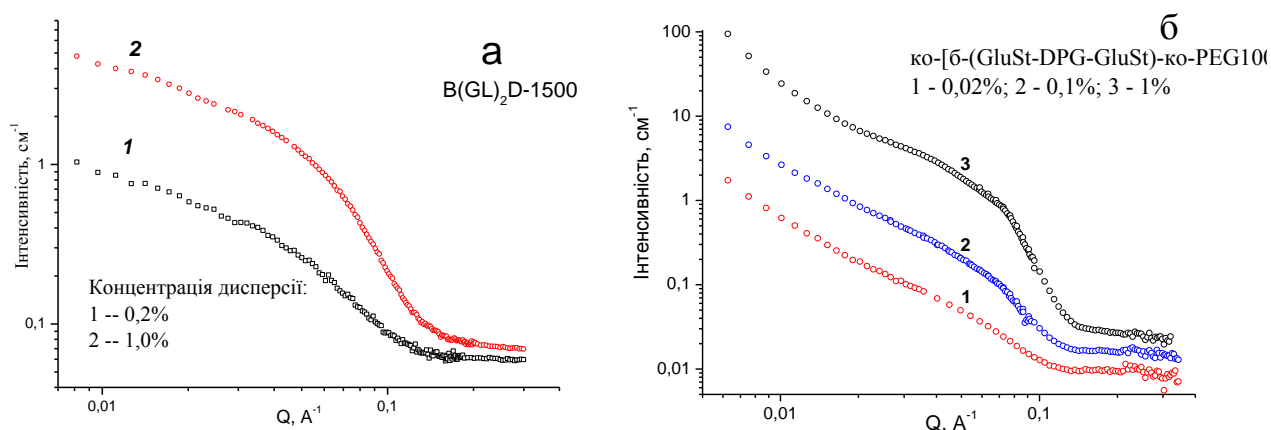


Рис. 4.8. Криві нейтронного розсіювання зразка структурованого поліестеру D(GL)<sub>2</sub>D-1500 при різній концентрації дисперсної фази а) у порівнянні з аналогічними кривими поліестеру лінійної будови.

Візуальне порівняння цих кривих дозволяє зробити висновок, що структурування призводить до суттєвої зміни в морфології частинок дисперсної фази. В першу чергу відмічається, що інтенсивність розсіювання нейтронів структурованими поліестерами значно менша ніж їх неструктурованими аналогами.

Крім того, форма кривої інтенсивності має суттєво інший характер, особливо в області малих кутів розсіювання.

Існує ряд модель-незалежних та модель-залежних методів обробки результатів SANS досліджень. Модель-залежні методи обробки дозволяють доволі точно встановити кількісні параметри системи, зокрема геометричні розміри. Для використання модель-залежних методів необхідно уже чітко уявляти структуру мікро- чи нанооб'єктів, що досліджується. Для обґрунтування структури можна використовувати будь-яку інформацію, отриману незалежними методами дослідження. Разом з тим, такі попередні дані можна отримати, скориставшись модель-незалежними методами аналізу результатів малокутового нейтронного розсіювання. Останні також можуть давати кількісні оцінки геометричних розмірів об'єктів дослідження, але їх надійність є невеликою і вони можуть використовуватись в якості першого приближення при обробці результатів по модель-залежним методам.

Модель-незалежні методи включають лінеаризовані апроксимації (Гіньє, Порода та ін.) функції розподілу з метою одержання інформації про структуру. Нижче коротко буде викладено результати аналізу кривих розсіювання, що були одержані з водних дисперсій (в дейтерованій воді) структурованих поліестерів.

#### **4.3.2. Аналіз по модель-незалежному методу Гіньє.**

В основі методу лежить лінійна апроксимація в діапазоні малих значень  $Q$ . Цей аналіз дозволяє визначити форму і розмір об'єктів.

Є три типи Гіньє графіків [127].

- 1) для опису компактних (близьких до сферичних) об'єктів;
- 2) для опису паличкоподібних об'єктів
- 3) для опису плоских об'єктів.

Аналіз Гіньє полягає в побудові кривої розсіювання в визначених для цих трьох типів об'єктах координатах, виділення області, в якій крива спрямляється і визначення специфічного для кожного типу параметра. Якщо визначений параметр відповідає критерію, тоді можна стверджувати, що досліджуваному об'єкту можна приписувати відповідну форму.

Таблиця 4.1.

Результати модель-незалежних обробок по аналізу Гінье та по аналізу Порода

				Аналіз Гінье			Аналіз Порода
№	сполука	C, %	t C	Компактні об'єкти	Паличкоподібні об'єкти	Плоскі об'єкти	
Параметри що оптимізуються				$R_g, \text{Å}$	$R_c, \text{Å}$	$R_t, \text{Å}$	m
Критерій прийняття рішення по відповідність				$(Q_{\max} * R_g) \sim 1$	$(Q_{\max} * R_c) \sim 1$	$(Q_{\max} * R_t) < 1$	
1	M(GSt)-D-PEG-1500	1	25	$R_g = 34.9 \pm 0.2$ $Q_{\max} * R_g = 2.8$	$R_c = 22.2 \pm 0.1$ $Q_{\max} * R_c = 1.3$	$Q_{\max} * R_t = 0.8$	2,50
2	M(GSt)-D-PEG-1500	0.2	25	$R_g = 34.1 \pm 0.2$ $Q_{\max} * R_g = 2.3$	$R_c = 20.4 \pm 0.3$ $Q_{\max} * R_c = 1.2$	Thickness=31.2±0.9 $Q_{\max} * R_t = 0.8$	1.66
3	M(GL)-D-1500	1	25	$R_g = 25.3 \pm 0.1$ $Q_{\max} * R_g = 2.4$	$R_c = 13.3 \pm 0.2$ $Q_{\max} * R_c = 0.8$	Thickness=26.7±0.4 $Q_{\max} * R_t = 0.8$	1.64
4	M(GL)-D-1500	1	35	$R_g = 25.0 \pm 0.1$ $Q_{\max} * R_g = 2.6$	$R_c = 14.5 \pm 0.3$ $Q_{\max} * R_c = 0.9$	Thickness=27.2±0.2 $Q_{\max} * R_t = 0.9$	1.52
5	B(GL) <sub>2</sub> D-1500	1	25	$R_g = 27.2 \pm 0.1$ $\text{Å}$ $Q_{\max} * R_g = 2.5$	$R_c = 14.8 \pm 0.2$ $Q_{\max} * R_c = 0.9$	Thickness=28.3±0.3 $Q_{\max} * R_t = 0.9$	1.80
6	B(GL) <sub>2</sub> D-1500	0.2	25	$R_g = 28.6 \pm 0.4$ $Q_{\max} * R_g = 1.9$	$R_c = 13.1 \pm 0.9$ $Q_{\max} * R_c = 0.9$	Thickness=29.35±0.2 $Q_{\max} * R_t = 0.9$	2.20
7	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.5</sub> -1500	1	25	$R_g = 37.2 \pm 0.2$ $Q_{\max} * R_g = 2.9$	$R_c = 23.7 \pm 0.3$ $Q_{\max} * R_c = 1.3$	Thickness=44.9±0.7 $Q_{\max} * R_t = 0.9$	2.59
8	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.5</sub> -1500	1	35	$R_g = 37.2 \pm 0.2$ $Q_{\max} * R_g = 3.1497$	$R_c = 25.7 \pm 0.13$ $Q_{\max} * R_c = 1.6$	Thickness=42.2±0.7 $Q_{\max} * R_t = 0.8$	2.64
9	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.5</sub> -600	1	25	$R_g = 38.5 \pm 0.4$ $Q_{\max} * R_g = 3.1$	$R_c = 27.4 \pm 0.1$ $Q_{\max} * R_c = 1.4$	Thickness=42.9±0.5 $Q_{\max} * R_t = 0.9$	2.18
10	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.5</sub> -600	1	40	$R_g = 42.8 \pm 0.4$ $Q_{\max} * R_g = 3.109$	$R_c = 30.6 \pm 0.1$ $Q_{\max} * R_c = 1.6$	Thickness=53.9±0.6 $Q_{\max} * R_t = 0.9$	2.30
11	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.5</sub> -600	0.2	25	$R_g = 42.00 \pm 0.6$ $Q_{\max} * R_g = 2.417$	$R_c = 23.5 \pm 0.5$ $Q_{\max} * R_c = 1.3$	Thickness=31.6±1.1 $Q_{\max} * R_t = 0.7$	1.59

Результати обробки кривих розсіювання для компактних, паличкоподібних та плоских об'єктів наведені в таблиці. В шапці таблиці вказано критерій, по якому проводиться оптимізація і критерій, за яким можна прийняти рішення про

відповідність даного типу розсіювання певному визначеному об'єкту. Для компактних об'єктів оптимізується значення їх гідродинамічного радіусу  $R_g$ , а рішення приймається по рівності одиниці добутку  $R_g$  на максимальне значення  $Q$ . Аналіз наведених даних показує, що дисперсна фаза водних дисперсій, що досліджується в межах даної роботи, не може бути описана компактними об'єктами – всі значення критерію значно перевищують його граничне значення.

Аналогічно, паличкоподібні об'єкти не можуть бути використанні для опису морфології частинок дисперсії структурованих чи розгалужених поліестерів, так як значення аналогічного критерія ( $Q_{\max} * R_c$ ) статистично значимо відхиляється від одиниці.

Повністю, для всіх зразків які досліджувались, підтвердився аналіз Гін'є для плоских об'єктів. Або, як точніше це можна сформулювати, характер розсіювання нейтронів на об'єктах, що досліджувались, відповідає характеру розсіюванню від поверхні. Про це можна зробити висновок з того, що до добуток ( $Q_{\max} * R_t$ ) для всіх зразків статистично значимо менший за 1, як це передбачається по методу Гін'є для плоских об'єктів.

На противагу до режиму Гін'є, де діапазон шуканих  $Q$  менший за відповідний розмір об'єкта, діапазон Порода визначається таким чином, що  $Q$  значно більший за обернене значення найменшого з оптимізованих лінійних розмірів об'єкту [128].

В цьому режимі, з високими значеннями  $Q$ , інтенсивність є наслідком розсіювання від поверхонь між агрегатами і розчинником.

У випадку монотонного спадання значень інтенсивності в області розсіювання Порода широко апробовано метод визначення морфології частинок по степені  $m$  залежності  $I \sim Q^{-m}$ . Він полягає в спрямленні кривої розсіювання в координатах  $\log(I)$  від  $\log(Q)$  з визначенням кута нахилу. Значення  $m$  відображає загальну структуру системи, що досліджується. Так значення 1 відповідає розсіювання одновимірними об'єктами, значення близькі до 2 спостерігаються при розсіюванні від поверхні двовірних об'єктів, а значення близькі до 4 спостерігаються при розсіюванні від складних поверхонь тривимірних об'єктів. При тому, значення від 1,8 до 3 можуть визначати розсіювання від поверхні об'ємних фрактальних

структур, а від 3 до 4 – від поверхні поверхневих фрактальних структур. Звичайно, границі між цими областями є умовними і до значної міри вони між собою перекриваються, тому для більш точної інтерпретації доцільно мати додаткову інформацію.

Результати аналізу по методу Порода також наведено в табл.4.1. Значення  $m$  для всіх зразків, що тестувались знаходяться в межах 1,5÷2,6. Виходячи з цього можна стверджувати, що криві розсіювання є характерними для розсіювання від поверхні двомірних об'єктів або поверхні поверхневих фрактальних структур.

### 4.3.3. Модель-залежні аналізи кривих розсіювання SANS.

Модель-незалежні методи дослідження кривих малокутового нейтронного розсіювання дозволили окреслити коло об'єкт-орієнтованих математичних моделей, за допомогою яких можна описувати морфологію частинок дисперсної фази розгалужених або структуровано зшитих кополієстерів. Базуючись на них, одержані криві нейтронного розсіювання апроксимувались рядом модель залежних методів, що описують поверхневі та об'ємні фрактальні структури, а саме моделями *Fractal*, *Fractal\_PolySphere*, *Fractal\_PolyCore*. Співставлення результатів апроксимації цими моделями показало, що модель *Fractal\_PolyCore* в її модифікації націлена на об'єкти типу ядро-оболонка найбільш адекватно описує криві малокутового нейтронного розсіювання.

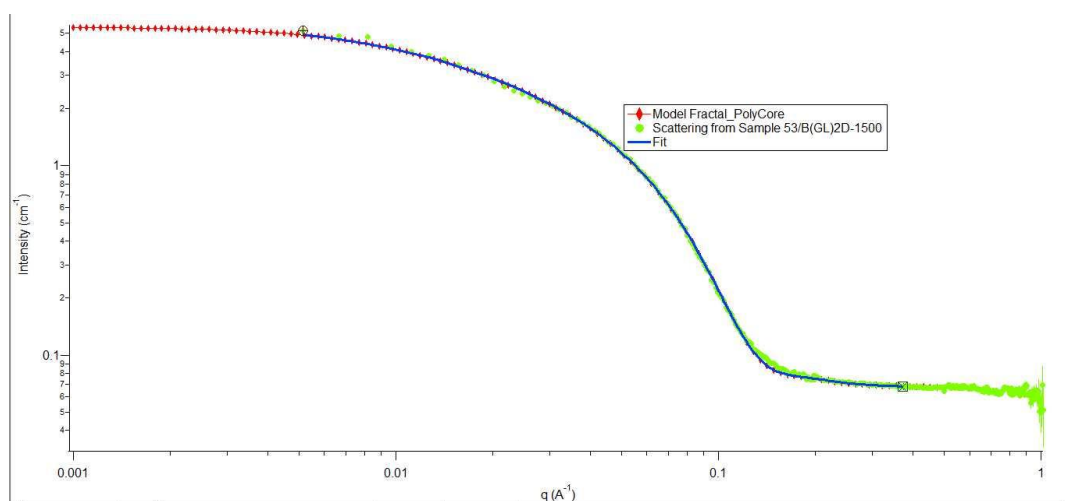


Рис. 4.9. Результат апроксимації кривої інтенсивності розсіювання по моделі *Fractal\_PolyCore*



Для візуальної оцінки адекватності опису цією моделлю кривих розсівання на рис. 4.9, наведено в порівнянні, експериментальну криву розсівання в координатах моделі (крива 1, зелені точки), криву інтерпольованих значень (крива 2, синя) і криву прогнозованих значень інтенсивності розсівання розрахованих по оптимізованим параметрам моделі (крива 3, червона).

За даною моделлю розсіювання розраховується, виходячи з фрактал-подібних кластерів, побудованих з полідисперсних сферичних блоків типу ядро оболонка. Ядро блоку, характеризується блоком радіусом  $R_0$ , а оболонка її товщиною  $h$ . Ці сферичні блоки об'єднані в фрактал-подібні кластери. Кластери мають кореляційну довжину  $\xi$  у відповідності до їх загального розміру і самоподібності простору  $D_f$ . Параметрами моделі, що оптимізуються, є блок радіус, товщина оболонки, кореляційна довжина, полідисперсність та фрактальна розмірність.

Дана модель може застосовуватись для опису морфології агрегатів частинок з типу ядро-оболонка або агрегатів везикул з оболонкою, а оптимізовані параметри характеризують їх геометричні розміри. На основі цих параметрів можна розрахувати число агрегації  $G$ , яке визначає як кількість елементарних блоків в кластері та радіус Гінґе кластеру  $R_G$ , який характеризує загальний лінійний розмір кластеру. Число агрегації оцінюється за рівнянням  $G = \Gamma(D_f + 1)(\xi/R_0)^D$ , а радіус Гінґе за рівнянням  $R_G^2 = D(D + 1)\xi^2 / 2$ .

Результати обробки ряду водних дисперсій з одержаних в межах даної роботи поліестерів наведені в табл.4.2. В ході проведення апроксимації було виявлено, що гідродинамічний радіус  $R_0$  приблизно однаковий і статистично значимо, на даному рівні проведення експерименту, не залежить від структури поліестеру, температури та концентрації дисперсної фази. Тому значення апроксимовані з усередним значенням гідродинамічного радіусу  $5\text{Å}$ . Аналогічно, не виявлено статистично значимої залежності фрактальної розмірності  $D_f$ , тому наведені в таблиці розрахунки отримані з усередненою фрактальною розмірністю 3,5.

Таблиця 4.2.

Результати обробки даних SANS в межах моделі *Fractal\_PolyCore*

№ п/п	сполука	M(AIk), Да	M(PFG), Да	M(PEG), Да	% гліцеролу	t, °C	C, %	Об'ємна фракція	товщина оболонки, Å	кореляційна довжина, Å	Число агрегації	Подвоєний радіус Гіньє, нм
1	M(GSt)-D-PEG-1500	284	134	1500	9	25	1	1,08E-2	2,6	18,3	1000÷1200	10,3
1	M(GSt)-D-PEG-1500	284	134	1500	9	25	0,2	2,89E-3	4	18,2	1000÷1200	10,2
3	M(GL)-D-1500	200	134	1500	10	25	1	1,33E-2	3,3	15,1	550÷600	8,5
4	M(GL)-D-1500	200	134	1500	10	35	1	1,23E-2	2,7	15,2	550÷600	8,5
5	B(GL) <sub>2</sub> D-1500	200	134	1500	10	25	1	9.54E-3	3,5	15,6	800÷1000	8,8
6	B(GL) <sub>2</sub> D-1500	200	134	1500	10	25	0,2	8383E-4	4,6	18,9	800÷1000	10,6
7	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.3</sub> -1500	284	400	1500	12	25	1	1,77E-2	2,9	19,6	1400÷1800	11,0
8	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.3</sub> -1500	284	400	1500	12	35	1	1,26E-2	4,6	21,2	1400÷1800	11,9
9	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.3</sub> -600	284	400	600	10	25	1	6,43E-3	1,2	21,5	2000÷2500	12,1
10	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.3</sub> -600	284	400	600	10	40	1	0,00456	3,0	27,2		15,3
11	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3.3</sub> -600	284	400	600	10	25	0,2	0,0023	3,1	23,2		13,0

Одержані розрахунки дозволяють уявити собі частинки дисперсної фази, як фрактал-подібні структуру (кластери), що складаються з 500÷2000 сфер з оболонкою. Радіус Гіньє (в таблиці наведено подвоєний радіус в нанометрах) знаходиться в діапазоні 4÷8 нм, що відповідає лінійному розміру кластера 8÷16 нм. Порівнюючи ці дані з даними DLS (рисунки 4.2, 4.3, 4.5, 4.6) можна побачити, що описані об'єкти добре узгоджуються з першою модою ЗФ. Таким чином, можна стверджувати, що засобом SANS встановлюється структура та морфологія саме цих об'єктів дисперсної фази. Слід відмітити, що ні радіус Гіньє, ні число агрегації і ні

кореляційна довжина статистично значимо не залежить від концентрації та температури дисперсної фази. Таким чином можна стверджувати, що кластери, які спостерігаються в дисперсній фазі, формуються на стадії синтезу поліестеру, а не на стадії його диспергування в воді. Це, в свою чергу означає, що структура його визначається ковалентними зв'язками і вони додатково не агрегують за рахунок слабких сил взаємодії, по крайній мірі ті, що відповідають першій моді ЗФ, в ході формування дисперсії в водному середовищі. Фрактальна структура одержаних кластерів, виходячи з умов одержання поліестеру, може бути забезпечена лише деревовидною структурою поліестеру або поліестерами з значною кількістю поперечних зшивок. На рис. 4.10, виходячи з одержаних оцінок, схематично відображена така частинка.

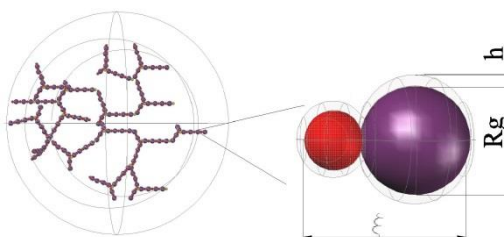


Рис. 4.10. Фрактальна структура кластеру

При тому, високе значення фрактальної розмірності ( $D_f=3.5$ ) говорить про те, що структура кластера не має значної густини (інакше це був би просто 3 вимірний об'єкт). Рихлість кластера в термінології високомолекулярної хімії означає низьку його густину, а це означає, що при описі морфології слід віддавати перевагу саме розгалуженим, деревовидним структурам перед перехресно зшитими. Останні відрізняються саме високою густиною, як ми це можемо бачити на прикладі поліестеру ФПП фракції, або, в меншій мірі, поліестеру ГФ.

Для того, щоб надати фізичного змісту математичному поняттю кореляційна довжина фракталу, було проведено дисперсійний аналіз цієї величини від структурних елементів макромолекули поліестеру (див. табл.4.3) .

Цікавим фактом є те, що значимими на рівні потужності критерію 0.1, є лише коефіцієнти парної кореляції між елементами структури макромолекули поліестеру і геометричними параметрами моделі. Зокрема на рівні тісної та дуже тісної кореляції пов'язана кореляційна довжина ( $\xi$ ) з молекулярною масою алкільного фрагменту

замісника в N-положенні глютамінової кислоти ( $M_{al}$ ), молекулярною масою поліоксипропіленового фрагменту ( $M_{PPG}$ ) та молекулярною масою поліоксіетиленового фрагменту ( $M_{PEG}$ ). Притому, збільшення молекулярної маси сильно олеофільного фрагменту алкільного замісника і помірно олеофільного поліоксипропіленового фрагменту симбатно збільшують кореляційну довжину, а збільшення молекулярної маси гідрофільного фрагменту призводить до пониження цієї величини.

Таблиця 4.3.

Дані по дисперсійному аналізу величини  $\xi$ 

	$M_{al}$	$M_{PPG}$	$M_{PEG}$	%G	$h$	$\xi$
$M_{al}$	1					
$M_{PPG}$		1				
$M_{PEG}$			1			
%G				1		
$h$			0,923		1	
$\xi$	0,922	0,871	-0,724			1

Даний факт узгоджуються з даними DLS дослідження, що викладені в попередньому підрозділі. Крім того, що структурні одиниці впливають на кореляційну довжину, за даними кореляційної матриці, товщина оболонки визначається молекулярною масою поліоксіетиленового фрагменту ( $M_{PEG}$ ). Між цими величинами спостерігається дуже тісний симбатний зв'язок. Останнє є цілком очікуваним результатом. В літературі широко описано, що поліоксіетиленові ланцюги зі складу макромолекул, знаходячись чи в основному ланцюгу, чи у вигляді бокових прищеплених ланцюгів, формують в водних середовищах гідрофільну оболонку за рахунок їх значної гідратації. Крім того, в роботі [125] описано формування гідратованого поліоксипропіленового шару навколо дисперсної фази водних дисперсій лінійних поліестерів аналогічного складу.

Таким чином кореляційний аналіз доволі однозначно показав, що кореляційна довжина фракталу визначається довжиною гідрофобного фрагменту поліестеру.

Відповідно до структури поліестеру вона складається з алкільного залишку (захист аміногрупи) глютамінової кислоти і приєднаної до неї поліоксипропіленового (або в окремих випадках 1.4-бутандіолового) залишку.

Ці гідрофобні блоки об'єднуються в макромолекулу поліоксіетиленовими ланцюгами. Виходячи з вище наведених даних, на роль фізичного елементу кореляційної довжини може претендувати олеофільний блок (залишок N-алкілглютамінової кислоти з одним фрагментом поліоксипропіленгліколю) або фрагмент макромолекули між двома розгалуженнями. В користь першого варіанту переважають два експериментальних факти. По-перше, кореляційна довжина в  $15\div 30 \text{ \AA}$  є замалою для локалізації в ній фрагменту макромолекули між розгалуженнями.

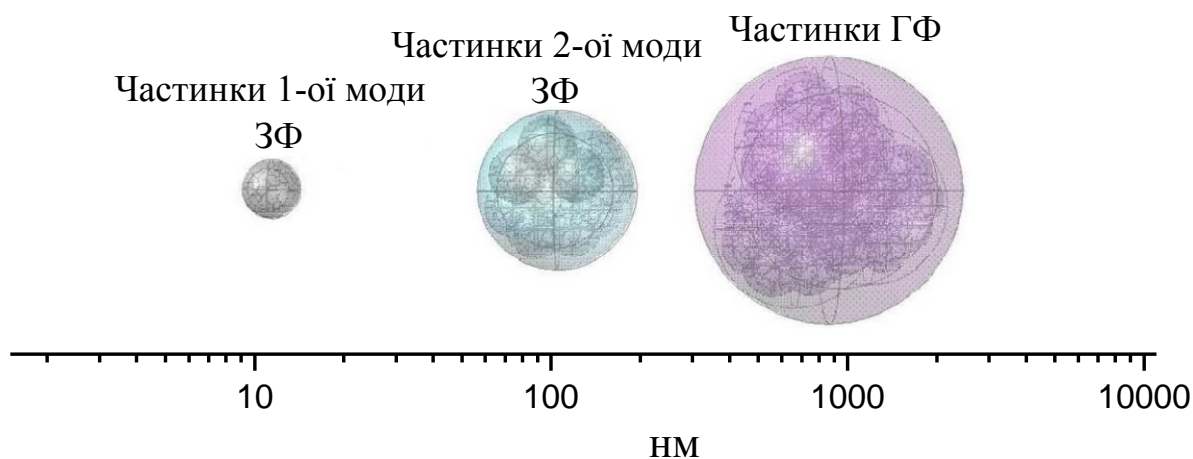


Рис. 4.11. 3Ф та ГФ по даним DLS та SANS

По друге, відстань між розгалуженнями залежить від кількості гліцеролу в реакційній масі. В такому випадку кореляційна довжина також повинна залежати від кількості гліцеролу, а, по результатам кореляційного аналізу, немає статистично значимої кореляції між цими параметрами.

Виходячи з цього, будемо вважати, що кореляційна довжина фракталу на фізичному рівні забезпечується зваженою довжиною олеофільної ланки макромолекули поліестеру. Співставляючи дані DLS та SANS досліджень, враховуючи властивість різних фракцій одержаних поліестерів, а також кінетичні дані можна стверджувати, що частинки першої моди представляють собою сильно

розгалужені макромолекули, що включають в себе до 2000 мономерних ланок і утворюють фрактал-подібні кластери розміром від 8 до 35 нм (рис. 4.11).

Частинки другої моди ЗФ також складаються з розгалуженого поліестеру і утворюються в результаті або агломерації або часткової зшивки між собою частинок першої моди ЗФ. Середній розмір цих частинок коливається від 100 до 250 нм. На процес формування частинок другої моди SANS дослідження однозначної відповіді дати не можуть. Зокрема, ці дослідження не можуть однозначно висвітлити питання, чи частинки другої моди ЗФ є результатом структурування частинок першої моди чи вони є результатом агломерації вище згаданих частинок. В значній мірі одержати відповідь на це питання можна співставляючи результати SANS та DLS досліджень. Зокрема, сумісний аналіз результатів DLS досліджень водних дисперсій зразків  $B(GL)_2B-1500$  (рис. 4.5) та зразків  $B(GL)_2B-1500$  (рис. 4.6) показав, що кількість цих частинок може залежати від концентрації в водній фазі (для зразків в домінує олеофільна складова), а може не залежати (для зразків з домінуючою гідрофільною складовою). Залежність кількості частинок другої моди ЗФ від концентрації дає підстави вважати, що вони формуються в ході диспергування поліестеру в воді і є агломератами частинок першої моди. Цей висновок підсилюється тим, що значна кількість частинок другої моди характерна для поліестерів в структурі яких домінує олеофільна складова і ослаблена гідрофільна складова. Для макромолекул таких поліестерів характерна понижена здатність до самостабілізації дисперсної фази в водному середовищі і підвищена здатність до утворення міжмолекулярних асоціатів за рахунок сил гідрофобної взаємодії. Цей висновок підтверджується і дослідженнями поверхневого натягу водних дисперсій поліестерів на межі розділу вода-повітря. Так на рис. 4.12 наведені ізотерми поверхневого натягу для зразків №18,  $M(GL)-B-1500$ , та зразку №21,  $B(GSt)_2D-1500$ .

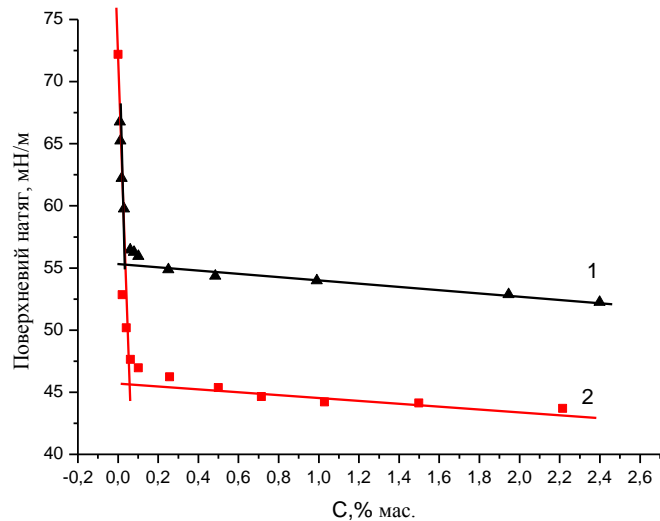


Рис. 4.12. Ізотерми поверхневого натягу на границі вода-повітря для зразків структурованих кополієстерів 1 - B(GSt)<sub>2</sub>D-1500 та 2- M(GL)-1.4BDO-1500

Можна стверджувати, що обидва зразки володіють поверхнево-активними властивостями, для обох дисперсій спостерігається значне пониження поверхневого натягу на границі вода-повітря. При тому спостерігається, яскраво виражений злам на кривій, який можна інтерпретувати як критичну концентрацію міцело утворення. Виходячи з класичних представлень колоїдної хімії можна стверджувати, що в точці зламу спостерігається перебудова структури дисперсної фази. Розгалуженні частинки першої моди ЗФ утворювати класичні міцели не можуть, але вони можуть утворювати асоціати і тим самим зменшувати загальну площу дисперсної фази. При тому, для частинок в структурі яких домінує олеофільна складова, за рахунок якої можна формувати ядро, ця величина проявляється найбільш чітко. За певних обставин дані частинки можуть формувати значну кількість таких агломератів. Для розгалужених кополієстерів, у яких домінує гідрофільна складова і які можна розглядати як водорозчинні полімери, така асоціація утруднена і вони або взагалі не формують частинок другої моди або формують їх в незначній кількості.

Підсумовуючи вище викладені дослідження, можна зробити висновок про те, що частинки першої моди ЗФ та частинки ГФ, як і частинки ФПП утворюються на стадії синтезу, а частинки другої моди ЗФ формуються в ході диспергування полієстеру в воді

#### 4.4. Вплив співвідношення компонентів реакційної суміші на значення водного числа.

Виходячи з літературних даних, однозначно можна стверджувати, що структура амфифільних кополієстерів визначає їх основні фізико-хімічні властивості та подальші сфери застосування таких кополієстерів. Основною такою властивістю є поверхнева активність – здатність макромолекул сорбуватися на міжфазних поверхнях і понижувати при цьому поверхневу енергію. Величина поверхневої активності в основному визначається значенням гідрофільно-ліпофільного балансу, яке може бути оцінено як емпіричними розрахунками так і експериментальними методами. Оцінка гідрофільно-олеофільного балансу у випадку розгалужених полімерних молекул є утруднений. В цьому випадку про співвідношенню між гідрофільними та олеофільними властивостями можна судити по значенню водного числа, яке може бути визначено титриметричними методами по методиці описаній в розділі 2.3.7 і визначається шляхом титруванням розчину полімеру водою.

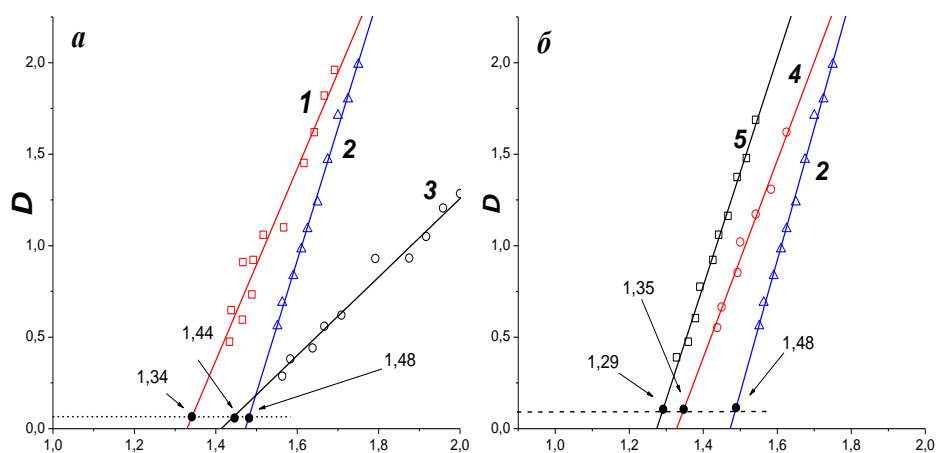


Рис. 4.13. Криві титриметричного визначення точки помутніння

На рис.4.13 криві титрування розчині полієстерів водою та визначене точка помутніння. За цими значеннями було визначено водне число полієстерів, значення яких приведено в табл.4.4.

На рис. 4.13а приведені криві для розгалужених полієстерів в структурі яких використанні різні за молекулярною масою поліоксіетиленові фрагменти. З наведених значень водних чисел для цих коплієстерів можна побачити, що воно закономірно зростає зі збільшенням поліоксипропіленового фрагменту. Аналогічно, на рис. 4.13б приведено криві з різною молекулярною масою поліоксипропіленового



фрагменту в складі поліестеру. З одержаних даних можна побачити, що збільшення молекулярної маси приводить до зменшення водного числа.

Таблиця 4.4.

Значення водних чисел для структурованих поліестерів

№	Структура	Водне число
2	B(GSt) <sub>2</sub> D1500	18,5±0.3
3	B(GSt) <sub>2</sub> D600	18,0±0.4
1	B(GSt) <sub>2</sub> D400	16,8±0.4
4	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>3,5</sub> 1500	16,9±0.3
5	B(GSt) <sub>2</sub> D <sub>8,5</sub> 1500	16,1±0.3

Отримані дані є закономірними і збільшення молекулярної маси гідрофільного поліоксіетиленового фрагменту повинно приводити значення водного числа, при якому відбувається сольватація цього фрагменту. Важливим в даному випадку є той факт, що збільшення водного числа не відбувається прямопропорційно молекулярній масі. Збільшення молекулярної маси від 400 Да до 600 Да приводить до збільшення водного числа 16.8 до 18, а подальше збільшення молекулярної маси до 1500 Да приводить до збільшення до 18.5. З цього можна зробити висновок, що подальше збільшення молекулярної маси поліоксіетиленового фрагменту не буде приводи до суттєвого збільшення стабілізації дисперсної системи.

Вплив на водне число молекулярної маси поліоксипропіленового фрагменту не є таким очевидним. По даним роботи [126] введення його в структуру макромолекули поліестеру доцільне через збільшення гнучкості макромолекули в олеофільній частині. Разом з тим одержані дані дозволяють зробити висновок, що поліоксипропіленовий фрагмент вносить статистично значимий вклад в гідрофільно-олеофільний баланс макромолекули. Крім того, виявлений вплив поліоксипропіленового фрагменту узгоджується з висновками, які були зроблені при аналізі даних SANS.

Разом з тим проведені дослідження показали, що для всіх синтезованих розгалужених поліестерів водне число знаходилось в області 14÷18 г/100г . Такий вузький діапазон не дозволяє більш детально відслідкувати вплив на нього структури одержаних поліестерів

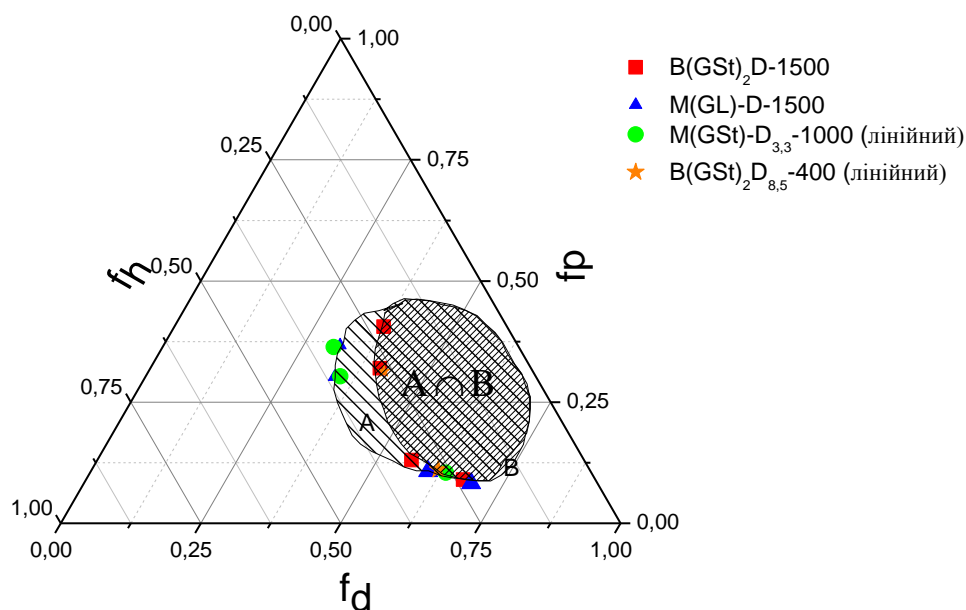


Рис. 4.14. «Вікно розчинника» для розгалужених та лінійних поліестерів

Деяку інформацію про взаємодію одержаних поліестерів з розчинником можна одержати при аналізі «вікна розчинника» яке наведено на рис. 4.14. Заштрихована область на цій діаграмі відповідає параметрам Хансена (параметри розчинника:  $f_h$  – воднева складова,  $f_d$  – дисперсійна складова,  $f_p$  – полярна складова), поліестери при даних значеннях параметрів розчинні в даному розчиннику. Як можна побачити, з наведених даних, одержані поліестери розчиняються в розчинниках у яких домінує дисперсійна складова. За нею, по вагомості є полярна складова, а воднева складова розчинника відіграє незначну роль. Таким чином можна стверджувати, що для розчинення даного типу полімерів необхідно забезпечити сольватацію молекулами розчинника саме олеофільних фрагментів макромолекули. Сольватація (зокрема гідратація) гідрофільних частин (поліоксіетеленових) макромолекули не приводить до розчинення розгалужених поліестерів в розчиннику. Тому, порівнюючи границю вікна розчинності кополіестерів  $B(GSt)_2D-1500$  і  $M(GL)-D-1500$  можна побачити, що збільшення молекулярної маси олеофільного фрагменту в структурі макромолекули приводить до суттєвого збільшення дисперсійної складової параметра Хансена. Даний факт підтверджує, що в розгалужених поліестерах алкільні ланцюги взаємодіють між собою на рівні дисперсійних сил взаємодії, утворюючи гідрофобні зони. Збільшення довжини алкільного ланцюга сприяє посиленню такої взаємодії. Це і пояснює, чому

необхідна більша здатність молекул розчинника до дисперсійної взаємодії, що б сольватувати дані фрагменти.

Крім того, на «вікні розчинника» яке приведено для розгалужених поліестерів також визначені параметри Хансена для лінійних поліестерів з порівняльним складом. Таке порівняння дозволяє зробити висновок, що структура макромолекули (розгалужена чи лінійна) не має домінуючого впливу на взаємодію з молекулами розчинника. Це означає, що в розчиненому вигляді, доступ молекул розчинника до всіх фрагментів макромолекули, за рахунок розгалуження не є значно утруднений стеричними факторами у порівнянні з лінійною макромолекулою.

Підсумовуючи вище викладені дослідження, можна стверджувати, що макромолекули розгалужених поліестерів, здатні асоціювати між собою за рахунок міжмолекулярних дисперсійних сил взаємодії, з утворенням надмолекулярних структур. Експериментально, такі утворення спостерігаються в водних середовищах у вигляді частинок ЗФ другої моди. Разом з тим, збільшення гідрофільних фрагментів в структурі макромолекули не може забезпечити їх розчинення за рахунок сольватації розчинниками зі значною водневою складовою параметра Хансена, але може посилити, за рахунок цієї взаємодії, структурно - механічний бар'єр і подавити міжмолекулярну гідрофобно-гідрофобну взаємодію. Скоріше за все, цим пояснюється обернено пропорційна кореляція між молекулярною масою поліоксіетиленових ланцюгів в складі поліестерів і кореляційна довжина кластерів, про яку ішла мова при аналізі даних SANS.

#### **4.5. Цитологічні дослідження**

Синтетичні полімери медичного призначення повинні володіти цілим рядом характеристик для їх подальшого застосування в якості носіїв біологічно активних препаратів. До таких характеристик відносять біо- та гемосумісність, відсутність можливої імунної реакції з боку організму, в якому вони будуть застосовані, а також відсутність цитотоксичності в місцях їх безпосередньої локації та дії. Сьогодні немає однозначних і швидких методів оцінки токсичності синтетичних полімерів щодо клітин організму. Одним із перспективних методів встановлення цитотоксичності є вивчення виживання сперміїв бугаїв, під дією водних дисперсій

полімерних матеріалів визначених концентрацій. Як правило показник виживання спермійв фіксується на досить тривалих часових відрізках, а саме 2-10 діб [129]. В межах даної роботи для встановлення цитотоксичності готували 10% водну дисперсію структурованого полімеру 21, В(GSt)<sub>2</sub>D-1500 (табл.3.1, на стерильній воді. «Перешита фракція» з дисперсії вилучалась центрифугуванням. Дисперсію стерилізували тиндалізацією в запаяних скляних ампулах, рис. 4.15.



Рис. 4.15. Зразки 10% водної дисперсії полімеру №21, підготовлені для цитологічних досліджень.

Дослідження по цитології проводились спільно з Інститутом біології тварин НААН.

Для досліджень 10% дисперсію розбавляли в 10 разів і вносили її до попередньо розбавлених спермійв бугаїв в цитратно-жовткових розріджувачах (ЦЖР) в співвідношенні 1:62,8%. На 1мл розбавлених спермійв для дослідження вносили 10, 25, 50 мкл 1% дисперсії полімеру та фіксували виживання в порівнянні з контрольним зразком спермії. В табл.4.5 наведено результати спостережень живучості спермійв в присутності полімеру 21.

Таблиця 4.5.

Дослідження цитотоксичної дії полімеру №21.

№ зразка	V <sub>дисп.</sub> , мкл. або контроль (к)	- 5 діб	-4 доби	-3 доби	-2 доби	-1 доба	Припинення спостереження	Час виживання, год.	% виживання від контролю
1	к	+	+	м,	м	м	м	96	100
2	10	+	+	м	м	м	м	96	100
3	25	+	+	+	+	д	м	120	125
4	50	+	+	+	+	д	м	120	125
5	к	+	+	Д,	м	м	м	96	100
6	10	+	+	д	м	м	м	96	100
7	25	+	+	д	м	м	м	96	100
8	50	+	д	м	м	м	м	72	75
9	к	+	+	+	+	д	м	168	100
10	10	+	+	+	+	д	м	168	100
11	25	+	м	м	м	м	м	96	57,1
12	50	+	+	+	+	м	м	168	100
13	к	+	+	+	+	д	м	120	100
14	10	+	+	+	+	м	м	120	100
15	25	+	+	+	+	+	м	144	120
16	50	+	+	+	+	д	м	120	100

Як видно з таблиці внесення структурованих полімерів в широкому діапазоні концентрацій не пригнічує виживання сперміїв, а в деяких випадках навіть продовжує його, що дозволяє зробити висновок про відсутню цитотоксичність структурованих полімерів на живі клітини.

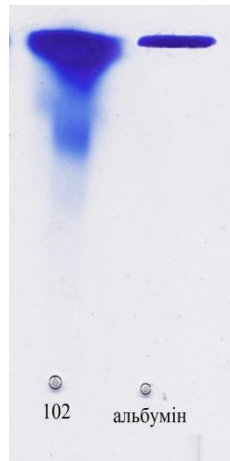


Рис. 4.16. Електрофореграма зразка 21 (табл.3.1)

Крім токсичності, важливою характеристикою полімерних матеріалів медичного призначення є їх здатність до взаємодії з білками плазми крові, зокрема альбуміном. Для виявлення здатності розгалужених поліестерів зв'язувати альбумін було проведено горизонтальний електрофорез у 5% поліакриламідному гелі того ж полімеру, що використовувався для досліджень цитотоксичності. Для досліджень 1% розчин полімеру змішували в рівному об'ємі з 10% розчином альбуміну. Для порівняння використовували той же розчин альбуміну вдвічі розведений електродним буфером. Для електрофоретичного розділення в лунки гелю вносили по 10 мкл. проби. Для виявлення зони міграції альбуміну та його комплексу з полімером в луки вносили 2 мкл. бром фенолового синього (0,01%).

На рис. 4.16, приведена характерна електрофореграма даного дослідження на якій однозначно спостерігається зменшення електрофоретичної рухливості комплексу полімеру з альбуміном, що однозначно підтверджує здатність одержаних поліестерів зв'язувати альбумін.

Таким чином, викладені в даному розділі результати досліджень цитотоксичності та здатності одержаних поліестерів зв'язувати альбумін дозволяють зробити висновок, про можливість використання одержаних поліестерів в якості полімерних матеріалів медичного та біомедичного застосування. Зокрема, в якості полімерної основи дисперсних систем доставки терапевтичних препаратів.

## РОЗДІЛ 5.

## НАПРЯМКИ ПРАКТИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ОДЕРЖАНИХ РОЗГАЛУЖЕНИХ/ПЕРЕХРЕСНОЗШИТИХ ПСЕВДОПОЛІАМІНОКИСЛОТ

## 5.1. Створення магнітокерованих частинок на основі перехресно-зшитих псевдополіамінокислот поліестерного типу.

Гідрогелі на сьогоднішній день розглядаються як перспективні носії в біомедичних застосуваннях, а саме як компоненти пристроїв доставки лікарських засобів, в тканинній інженерії в якості імплантів, для виготовлення біосенсорів та в терапії раку. Для контролю гідрогелю в організмі та виведення матриці активно створюються системи гідрогелю, закріплені на магнітокерованих частинках, таких як  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , які можуть керуватись за допомогою зовнішніх магнітних полів [130, 131]. Також такі гідрогелі можуть бути використані для іммобілізації ферментних препаратів [132, 133, 134]. Магнітокеровані гідрогелі одержують трьома різними методами: змішуванням, осаджуванням та прищепленням до поверхні [132].

Виходячи з експериментальних даних, викладених в попередніх розділах доцільним є створення магнітокерованих гідрогелів на основні структурованих псевдополіамінокислот поліестерного типу.

## 5.1.1. Формування сітки мікрогелю ковалентно прищепленої до магнетиту.

В розділі 2 описано методика по синтезу нанорозмірного магнетиту та модифікації поверхні магнетиту за допомогою 3-амінопропілтриетоксисилану (APTES) (розділ 2.2.5.1)

За останньою методикою, прищеплення APTES до поверхні магнетиту наведено на схемі 5.1.

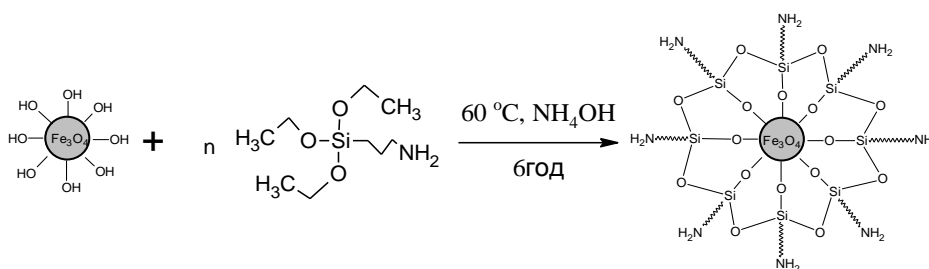


Схема 5.1. Прищеплення APTES до поверхні магнетиту

Завдяки такого роду прищепленню, на поверхні частинок магнетиту локалізовані реакційноздатні аміногрупи. Наявність цих груп дозволяє

модифікувати поверхню частинок пседополіамінокилотами поліестерного типу в ході їх синтезу за реакцією Стегліха.

Процес прищеплення поліестеру до аміногруп поверхні частинок модифікованого магнетиту наведено на схемі 5.2.

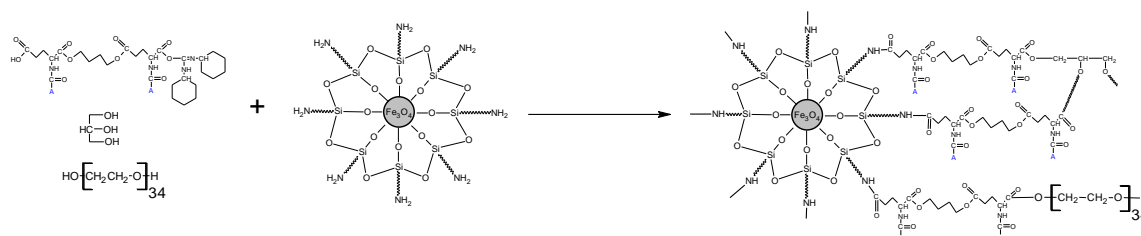


Схема 5.2. Прищеплення поліестеру до поверхневих аміногруп Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/APTES

Прищеплення відбувається за рахунок взаємодії активованої карбоксильної групи з аміногрупами поверхні з утворенням пептидного зв'язку. Дана реакція, за рахунок вищої реакційної здатності аміногрупи у порівнянні з гідроксильною групою, відбувається значно швидше ніж утворення поліестерного ланцюга. В результаті цього, можна стверджувати, що в системі одночасно відбувається ріст поліестеру від поверхні частинки і утворення поліестеру в об'ємі реакційної маси. Так як в реакційну суміш, крім поліолів вводився гліцерол, то прищеплення полімерної оболонки відбувається аналогічно, як наведено на схемі 3.2.

В межах даної роботи контроль за кількістю прищепленого АРТЕС не проводився. Проте за ефективністю модифікації магнетиту слідкували по кількості прищепленого поліестеру до поверхні полімерної оболонки елементним аналізом, та ІЧ-спектроскопією, рис. 5.1.

Спектри 1,2,3 відрізняються кількістю АРТЕС, який був використаний на стадії модифікації поверхні Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>. Мольне відношення АРТЕС до магнетиту в аналізованих зразках наступне: в спектрі 1 – 4,36; 2 – 8,70; 3 - 43,60. Даний спектр практично повністю співпадає із спектром приведеним на рис. 3.12 ( $\nu(\text{NH}) = 3300$ ;  $\nu(\text{CH}_3) = 2850-2930$ ;  $\nu(\text{C}=\text{O}) = 1574-1628$ ), що дає привід вважати, що прищеплення полімеру відбулось по поверхні модифікованого магнетиту. Зразки для одержання спектрів готувались по уніфікованій методиці та були однакові – пресовані таблетки модифікованого магнетиту.



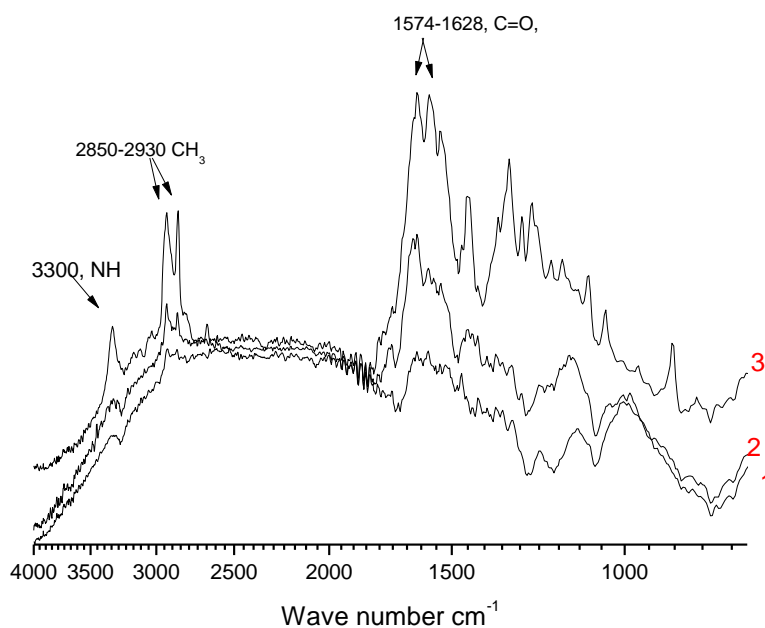


Рис. 5.1. ІЧ-спектри  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}/(\text{B}(\text{GL})_2\text{B}-1500$

Тому збільшення інтенсивності піків свідчить про збільшення товщини прищепленого шару. Із спектру наведеного на рис. 5.1, видно залежність приросту інтенсивності сигналу карбонільної групи ( $1574 \text{ cm}^{-1}$ ) полімеру від співвідношення  $\text{APTES}/\text{Fe}_3\text{O}_4$  (крива 1), яке використовувалось при модифікації магнетиту, див. рис. 5.2.

Як видно з наведеної кривої це залежність з насиченням. Починаючи з 13 кратного мольного надлишку  $\text{APTES}$  до  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , приросту інтенсивності сигналу уже не спостерігається. Виходячи з особливостей одержання даного типу ІЧ-спектрів можна стверджувати, що сигнал уже формується з суцільного шару полімерної оболонки, прищепленої до поверхні. Тому співвідношення 13 слід вважати мінімальним співвідношенням, яке дозволяє формувати прищеплення до поверхні з високим ступенем модифікації.

На цьому ж графіку наведена крива залежності кількості прищепленого поліестеру до модифікованого магнетиту (рис. 5.2 крива 2). За даним цієї кривої, при відношенні  $\text{APTES}/\text{Fe}_3\text{O}_4$  рівному 13, спостерігається лише прищеплення приблизно 3% поліестеру від маси магнетиту. В об'ємних відношеннях це становить 13% об'єму полімеру в загальному об'ємі.

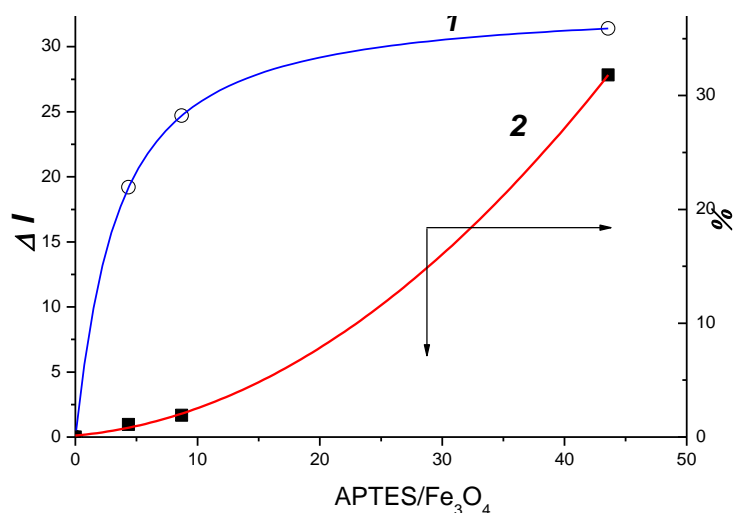


Рис. 5.2. Графічна залежність mol APTES/mol Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> - ΔI

Співставляючи цей результат з даними ІЧ-спектроскопії, слід вважати, що така кількість APTES є достатньою для формування суцільного прищепленого шару полімеру навколо частинки магнетиту. Подальше збільшення кількості APTES призводить до значного збільшення кількості прищепленого поліестеру. Це означає, що модифікація APTES, по вибраній нами методиці зумовлює прищеплення не мономолекулярного шару APTES, а формування навколо частки магнетиту перехреснозшитої амінофункціної оболонки. Таким чином наявність поверхневих аміногруп призводить до більш ефективного прищеплення сітки поліестеру. При рекомендованому по методиці мольному співвідношенні APTES до Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> рівному 43,6, одержуємо композит, в якому відсоток прищепленого поліестеру становить 31,8%(мас) або 69,6%(об).

Проведені експерименти, разом з елементним аналізом на вміст в композиті вуглецю, дозволяють оцінити співвідношення, між кількістю прищепленого до поверхні магнетиту поліестеру і кількістю поліестеру, яка утворилась в об'ємі реакційної суміші. Оцінку проводили по рівнянню 2.11, що описано в розділі 2. Результати наведені на рис. 5.3.

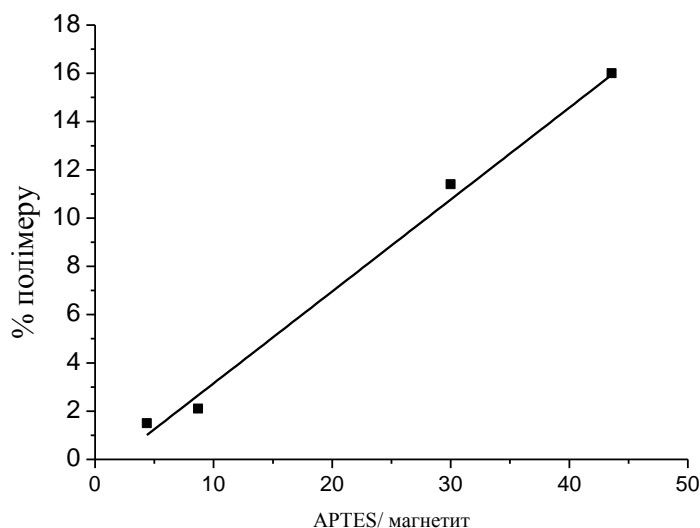


Рис. 5.3. Залежність відсотка прищепленого полімеру від теоретично очікуваного з врахуванням надлишку APTES до  $\text{Fe}_3\text{O}_4$

Як видно з цього рисунка збільшення мольного надлишку APTES до магнетиту веде до лінійного збільшення кількості прищепленого поліестеру.

### 5.1.2. Дослідження по абсорбції ферментного препарату BAN-480L за допомогою структурованого поліестеру $\text{V}(\text{GL})_2\text{B}-1500$ .

Синтезовані поліестери передбачається використовувати в якості носіїв біологічно активних речовин. Серед медичних препаратів останнього покоління найбільш перспективними є лікувальні препарати білкового походження. Це особливий клас препаратів, доставка яких має ряд вимог. Лікувальний препарат білкового походження не може бути безпосередньо введений в організм ін'єкційно, оскільки він може викликати імунну реакцію. Для його введення в організм він повинен бути поміщений в транспортний засіб, наприклад в полімерну частинку. Дана частинка повинна, з одного боку, робити даний препарат невидимим для імунної системи, з другого боку, він не повинен порушувати структуру білкової молекули. При проникненні в клітину-мішень, білковий матеріал повинен вивільнитись з носія із збереження його активності.

Для моделювання транспорту білкового матеріалу в якості носія нами досліджувалась нанодисперсія структурованого поліестеру, і ферментний препарат, в якості білкової структури.

Для цих досліджень було обрано поліестер  $\text{V}(\text{GL})_2\text{B}-1500$  з 10% мольн. гліцеролу в своїй структурі, одержання якого описано в розділі 2, та ферментний

препарату BAN-480L, який являє собою ФП кислої  $\alpha$ -амілази бактеріального походження.

Наявність перехресно-зшитого поліестеру, закріпленого на магнетиті дозволило термогравіметрично підтвердити абсорбцію ФП в сітку структурованого поліестеру. Відповідний аналіз представлено на рис. 5.4. Крива 1 цього рисунку відображає втрату маси наважки  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}$ , до поверхні якого прищеплено структурований поліестер  $\text{B}(\text{GL})_2\text{B}-1500$  з 10% мольн. гліцеролу, в кількості 31,8 г на грам магнетиту. Крива 2 цього рисунку демонструє втрату маси цього ж зразка модифікованого магнетиту після абсорбції ФП по описаній методиці.

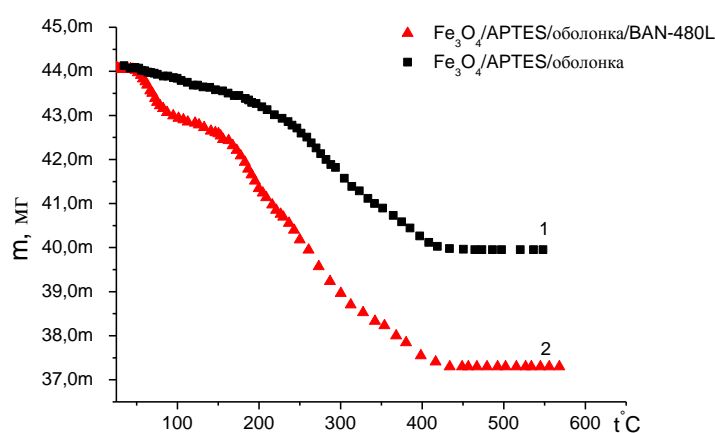


Рис. 5.4. Дериватограми  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}/\text{B}(\text{GL})_2\text{B}-1500$  та  $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{APTES}/\text{B}(\text{GL})_2\text{B}-1500/\text{BAN}480\text{L}$

Перший перегин на дериватограмі (крива 2) відповідає втраті маси зразком, яка спричинена випаровуванням води зі зразка після абсорбції ФП з водного середовища. Основна втрата маси спричинена деструкцією і вигоранням полімерної оболонки модифікованого магнетиту і абсорбованого ФП. Втрату маси полімерної оболонки можна оцінити з даних кривої 1. Залишкова втрата маси, таким чином спричинена вигоранням ФП. Таким чином кількість ФП що була абсорбована полімерною оболонкою становить 2,2 г на грам полімеру. Проведений дослід підтверджує спроможність структурованого поліестеру абсорбувати ФП.

По своїй природі ФП є водорозчинним, водні розчини його не дають релеевського розсіювання. Це дозволило відслідковувати зміну розміру частинок при абсорбції в них ферментного препарату частинками ЗФ. Заміри проводились

безпосередньо в водному середовищі розчину ФП з якого проводилась абсорбція. Результати цього дослідження представлені на рис. 5.5.

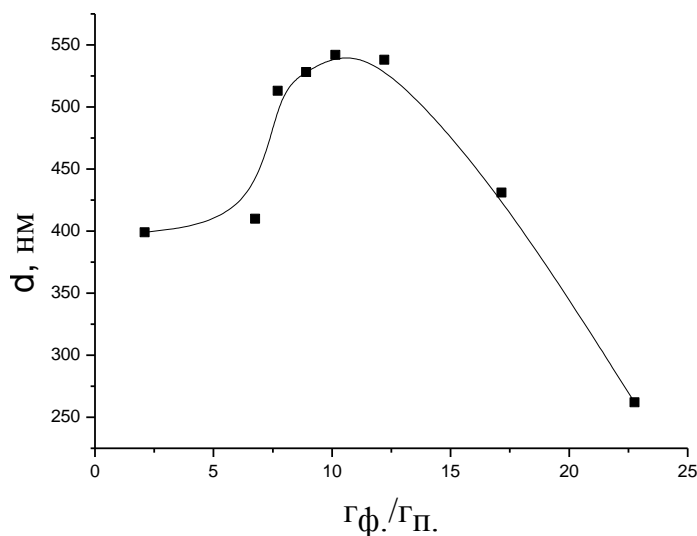


Рис. 5.5. Залежність розмірів частинок дисперсної фази від кількості введеного ферменту на грам полімеру

Крива цього рисунку відображає залежність розміру частинок від співвідношення кількості ферменту в розчині, що взятий для абсорбції, до кількості поліестеру, в який проводиться абсорбція. Як видно з цього рисунку, крива має складний характер з яскраво проявленим максимумом. В діапазоні співвідношення ФП до 10г на 1 грам полімеру, спостерігається збільшення розміру частинок дисперсної фази від 400 до 480 нм. Подальше збільшення кількості ФП в розрахунку на 1 г полімеру веде до зменшення розмірів полімерних частинок дисперсної фази до 262 нм. Така складна поведінка розміру частинок може бути пояснена перерозподілом молекул ФП між об'ємом і поверхнею частинок поліестеру при різному співвідношенні між кількістю ФП і частинок поліестеру. Молекули ФП можуть локалізуватись як в об'ємі частинок так і на його поверхні. Слід вважати, що кількості ФП, які знаходяться в об'ємі частинок та на їх поверхні а також в розчині, перебувають в рівновазі, яка визначається загальною кількістю ФП на одиницю маси поліестеру, спроможністю поліестеру солюбілізувати ФП в своєму об'ємі і концентрацією молекул ФП в розчині (рис. 5.6).

При відносно невисокій концентрації ФП в водному середовищі, рівновага встановлюється з переважною локалізацією ФП в об'ємі частинок. При створенні співвідношення 10 : 1 відбувається рівноважне насичення об'єму частинок

молекулами ФП. Як було показано вище, це відповідає 2,2 г ФП на 1 грам поліестеру.

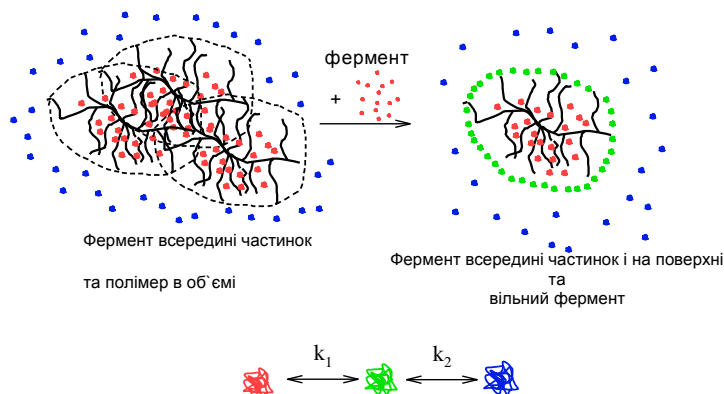


Рис. 5.6. Процес абсорбції ферментного препарату VAN-480L структурованими полімерами

Це призводить до збільшення діаметру частинок дисперсної фази. При подальшому збільшенні кількості ФП збільшення їх кількості в об'ємі частинок уже неможливе і молекули ФП локалізуються (адсорбуються) на поверхні частинок. Як відомо, водорозчинні молекули ФП, що мають білкову природу, володіють здатністю стабілізувати поверхні різної природи на межі розділу з водою. Частинки поліестеру ЗФ, як було показано в попередньому розділі, представляють собою фрактал-подібні кластери. Їх розміри визначаються стабілізаційною здатністю самого поліестеру. Поява на розділі фаз додаткового стабілізатора у вигляді молекул ФП спричиняє певне подрібнення дисперсної фази, що і спостерігалась в ході проведення експерименту. В діапазоні до 10 г ФП на грам поліестеру стабілізаційна здатність абсорбованих молекул ФП забезпечує стабілізацію додаткової площі, що виникає через зростання розміру частинок дисперсної фази.

Проведена серія досліджень підтверджує здатність наночастинок структурованого поліестеру абсорбувати в своєму об'ємі білкові препарати. При створенні систем доставки, крім абсорбції, важливим є вплив матеріалу контейнера на структуру молекули білку. У випадку абсорбції ФП це означає, що даний препарат не повинен втрачати своєї активності.

Разом з дослідженням розмірів частинок світлорозсіюванням проводились дослідження по визначенню активності ФП іммобілізованого всередину полімерних частинок, як описано в методиках 2.3.10. Так, на рис. 5.7 наведено залежність

активності ферментного препарату, од/г від кількості внесеного ферментного препарату в розрахунку на 1г полімеру.

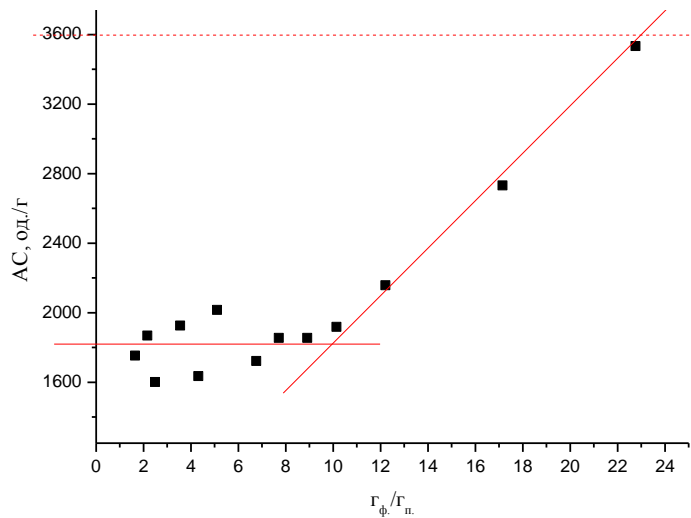


Рис. 5.7. Залежність активності ВАН-480L від співвідношення фермент/полімер

Як видно з рисунка, в діапазоні від 1,7 до 8÷9г ФП на 1г полімеру спостерігається активність ферменту  $1800 \pm 200$  од/г, при паспортній активності 3600 од/г. Після 10 г ферменту на грам поліестеру спостерігається прямо пропорційне збільшення активності ферменту від співвідношення фермент/поліестер, яке виходить на паспортне значення при співвідношенні фермент/полімер більшим за 22. Пониження активності, яке спостерігається в цьому експерименті може бути пояснена тим, що фермент локалізується в поліестері. В такому випадку швидкість гідролітичного розчеплення крохмалю сповільнюється через утруднення підведення субстрату до ферменту і відведення продукту ферментації – декстрину. Іншими словами, у тому випадку, коли фермент локалізований в частинках дисперсної фази, швидкість реакції переходить під контроль дифузійних факторів. Важливим є те, що у всьому початковому діапазоні активність залишається постійною. Це означає, що збільшення кількості ферменту на одиницю полімеру не призводить до суттєвого збільшення кількості ферменту в водному середовищі – в цьому діапазоні співвідношення весь фермент локалізується в частинках дисперсної фази. Лише при співвідношенні, при якому забезпечується граничне насичення частинок дисперсної фази (приблизно  $\approx 7 \div 8$  г ферменту на грам полімеру дисперсної фази) його кількість в водному середовищі збільшується. Оскільки у водному середовищі фермент дає значення активності рівне 3600 од/г, то збільшення його кількості в водному

середовищі призводить до того, що усереднена активність, яка визначалась в межах даного експерименту збільшується. Таким чином, слід вважати, що об'єм часток дисперсної фази абсорбує в собі 7÷8 г ферменту на один грам частинок дисперсної фази. Це призводить до деякого протиріччя з кількістю ферменту, абсорбованого в поліестері, визначеного термогравіметрично. Але слід враховувати, що поліестер ковалентно прищеплений до поверхні магнетиту, є більш структурованим, ніж поліестер ЗФ. Через це ємність, по абсорбції ферменту є меншою. Крім того, слід звернути увагу на хороше співпадіння між результатами двох незалежних експериментів – експерименту по залежності середнього розміру дисперсної фази (рис. 5.5) і активності ферменту (рис. 5.7) від співвідношення фермент/поліестер. Понижена активність ферменту спостерігається в тому ж діапазоні співвідношення, що і збільшення середнього розміру частинок. За межами даного діапазону, спостерігали зменшення розміру частинок, що може бути антибатним процесом до збільшення кількості ферменту в водному середовищі та збільшення усередненої активності, що є симбатним до збільшення кількості ферменту в розчині.

## **5.2. Стабілізація емульсій типу м/в структурованими кополіестерами.**

Високо концентровані стабільні в часі емульсії рослинних жирів та ефірних олій представляють значний інтерес для фармацевтичної, парфумерної та харчової промисловості. Оскільки в тій чи іншій мірі такі емульсії приходять в контакт з людиною, представляються високі вимоги до стабілізаторів цих емульсій. Використання синтетичних іоногенних і комбінованих стабілізаторів викликає певні застереження, через їх токсичність та можливість їх суттєвого нагромадження в організмі. Тому представляє інтерес створення подібних емульсій з використанням в якості стабілізаторів амфіфільних полімерів, що є неіоногенними поверхнево-активними сполуками і які б не були токсичними, а за рахунок їх біодеградабельності не нагромаджувались в організмі.

В значній мірі, як це було показано в попередніх розділах, цим вимогам відповідають структуровані псевдополіамінокислоти поліестерного типу, одержання яких та основні властивості досліджувались в межах даної роботи. Зокрема, в межах даної роботи досліджувалась можливість створення висококонцентрованих емульсій



оливкової олії (перантеральна емульсія) і ряду ефірних олій, серед яких найбільший акцент робили на створенні висококонцентрованих водних емульсій лавандової олії. Для вирішення цих задач було використано полімери №18 –  $B(GL)_2B-1500$  та полімер 21 –  $B(GSt)_2D-1500$  (див. табл.3.1).

Для продукту №100 в оптичний мікроскоп частинок ГФ помічено не було, тобто часка частинок ГФ була незначною. Розмір частинок ГФ для продукту №18, одержаних методом світлорозсіювання в межах рівняння Геллера дає значення 467нм. Дані динамічного світлорозсіювання (числові та об'ємні розподіли) для 0,5% дисперсії полімеру з попередньо відокремленою ФПП наведені на рис. 5.8.

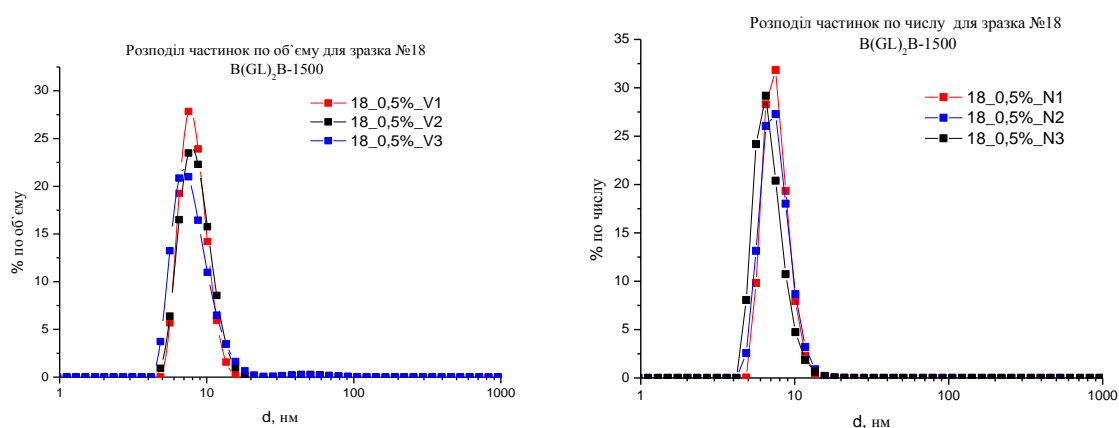


Рис. 5.8. Числовий та об'ємний розподіли для 0,5% водної дисперсії полімеру  $B(GL)_2B-1500$

Розмір частинок ГФ для продукту №21, одержаний методом світлорозсіювання в межах рівняння Геллера дає значення 371нм. Відсоток ФПП для продукту 21 складає 7,44%. З розчину, за допомогою якого проводилась стабілізація, частинки ФПП були відокремлені.

Спроба отримати висококонцентровані емульсії оливкової олії за допомогою даних стабілізаторів не увінчались успіхом.

Для стабілізації ефірного масла спочатку готували 10% водну дисперсію полімеру як описано в методиці 2.3.5.1 Після цього вносили від 0,5-19,86г олії на грам полімеру і проводили стабілізацію, (див. методику 2.3.13). Після проведення стабілізації відбирали по 0,1г проби для аналізу розміру частинок методом мікроскопування та світлорозсіювання. Фотографії, що ілюструють зовнішній вигляд одержаних емульсій на основі стабілізатора 18, наведені на рис. 5.9.



Рис. 5.9. Фотографія зразків емульсії м/в стабілізованої полімером №18

На стабілізаторі 18 були одержані емульсії з концентрацією ефірного масла від 5 до 80%. За стабільністю в часі одержаних емульсій спостерігали протягом 9 місяців. Протягом цього часу порушення стабільності емульсій не спостерігали. Дослідження по електропровідності, що були праведні методом осцилометрії, підтвердили, що всі одержанні емульсії є прямими. Збільшення вмісту в емульсіях масла симбатно приводило до збільшення їх динамічної в'язкості. В результаті емульсії з вмістом масла більше 75% втрачають текучість. Для ілюстрації цього, зразок 13 на рис. 5.9 перевернуто.

Одержати стабільні емульсії стабілізовані структурованим кополіестером 21 не вдалося. Як буде показано далі, по формальним признакам, стабілізації емульсії з використанням цього стабілізатора не відбувається.

В табл.5.1 наведені співвідношення компонентів та основні їх характеристики для емульсій стабілізованих поліестером 18.

Даних для емульсії стабілізованих поліестером 21 в таблицю не включено, так як стабільної емульсії одержано не цьому стабілізаторі не було, але, в ході обговорення результатів вони будуть використовуватись для порівняння.

З даних наведених в табл.5.1 можна побачити, що концентрація масла в найбільш концентрованої емульсії, яка була одержана, становить  $\approx 80\%$ . В цій емульсії співвідношення кількості масла до кількості стабілізатора становить 20:1, що не радикально більше від кількості іоногенних стабілізаторів, які використовуюється для стабілізації висококонцентрованих емульсій.

Таблиця 5.1.

Дані завантажень зразків на стабілізацію та деякі характеристики емульсій

№ зразка	% полімеру	% води	% олії	$\Gamma_{олії}/\Gamma_{полімеру}$	$W_{олія/вода}$ %	$d^*$ мкм	$d^{**}$ мкм	Полідисп.
1.	9,52	85,71	4,76	0,50	5,26	2,55	4,05	1,59
2.	9,09	81,82	9,09	1,00	10,00	3,54	5,97	1,67
3.	8,20	73,77	18,03	2,20	19,64	1,4	1,87	1,34
4.	7,78	70,04	22,18	2,85	24,05	1,54	2	1,30
5.	7,14	64,29	28,57	4,00	30,77	1,55	2,34	1,51
6.	6,99	62,94	30,07	4,30	32,33	1,57	2,05	1,31
7.	6,76	60,85	32,38	4,79	34,73	1,63	2,79	1,71
8.	6,51	55,37	38,11	5,85	40,77	-	-	-
9.	5,88	48,82	45,29	7,70	48,13	-	-	-
10.	6,52	43,48	50,00	7,67	53,49	-	-	-
11.	5,90	36,32	57,78	9,80	61,40	0,99	1,49	1,51
12.	4,78	23,72	71,50	14,96	75,09	1,32	1,95	1,48
13.	3,86	18,36	77,78	20,13	80,90	-	-	-

На рис. 5.10 наведено мікрофотографію стабілізованої поліестером 18 емульсії в порівнянні з мікрофотографією емульсії, в якій стабілізацію проводили поліестером 21.

Візуальний аналіз цих фотографій дозволяє зробити висновок про різницю в стабілізації. При стабілізації поліестером 21 спостерігаються великі краплі масла зі значною полідисперсністю. В протизагу до цього на фотографії емульсії стабілізованої поліестером 18 (рис. 5.10.) а частинки практично однакові частки емульсії значно меншого розміру.

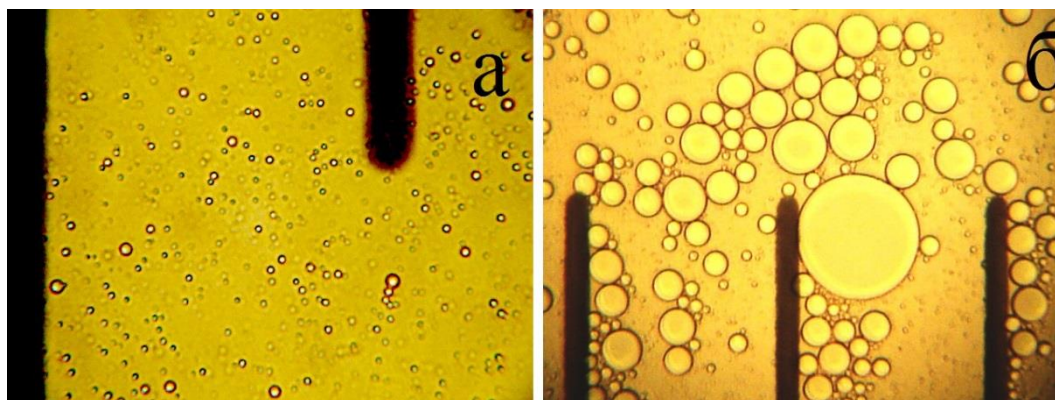


Рис. 5.10. Фотографія емульсії м/в, стабілізованої  $B(GL)_2B-1500$  (а) та  $B(GSt)_2D-1500$  (б)

По даним мікрофотографій (не менше трьохсот замірів з заміром усіх капель, що попадали в поле зору мікроскопу) були побудовані гістограми розподілу частинок за розміром. На рис. 5.11 наведені в порівнянні характерні розподіли крапель емульсії по розмірами при стабілізації кополіестером 18 (розподіл а) і кополіестером 21 (розподіл б).

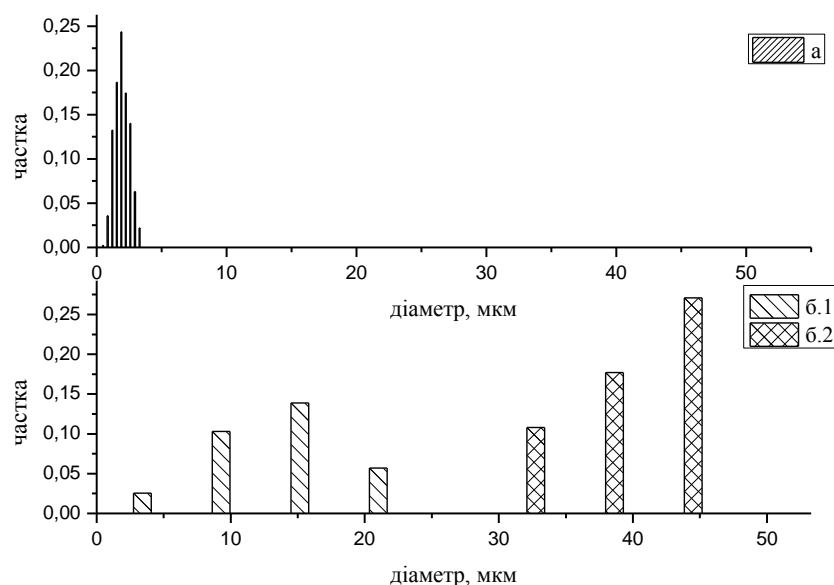


Рис. 5.11. Середньомасовий розподіл крапель емульсії м/в, стабілізованої полімером №18 (розподіл а) та №21(розподіл б)

Розподіл частинок стабілізований кополіестером 18 має відносно малу полідисперсність, локалізований в діапазоні розмірів від 1÷4 мкм і має практично нормальний розподіл. Наведені дані дозволяють зробити висновок, що кополіестер 18 є ефективним стабілізатором ефірних олій у воді.

Подібного висновку про поліестер 21 зробити не можна. Розподіл крапель емульсії лавандового масла дуже широкий. Локалізується в діапазоні від 3 мкм до

45 мкм. Аналіз ряду розподілів, отриманих при різній кількості олії, з певною достовірністю дозволяють зробити висновок, при емульгуванні в 10% водному розчині поліестеру 21 ефірної олії, в емульсії спостерігається часткова стабілізація. Тобто є підстави стверджувати, що спостерігають стабілізовані каплі з розміром в діапазоні 4÷25 нм (рис. 5.11б.1) і практично не стабілізовані каплі з розміром в діапазоні 30÷50 мкм (рис. 5.11б.2). Зрозуміло, що при стабілізації класичним низькомолекулярними ПАР і навіть амфіфільними полімерними ПАР така ситуація практично неможлива – стабілізація цими ПАР є динамічною і вся площа дисперсної фази стабілізована з однаковим ступенем насичення через динамічний перерозподіл молекул ПАР. Але в даному випадку іде мова про стабілізацію емульсії перехресно зшитими та/або структурованими поліестерами, в структурі яких є гідрофільні і олеофільні фрагменти. Стабілізація не відбувається за рахунок локалізації молекул поліестеру на межі розділу фаз. Є підстави вважати, що стабілізація відбувається близько до схеми 5.3

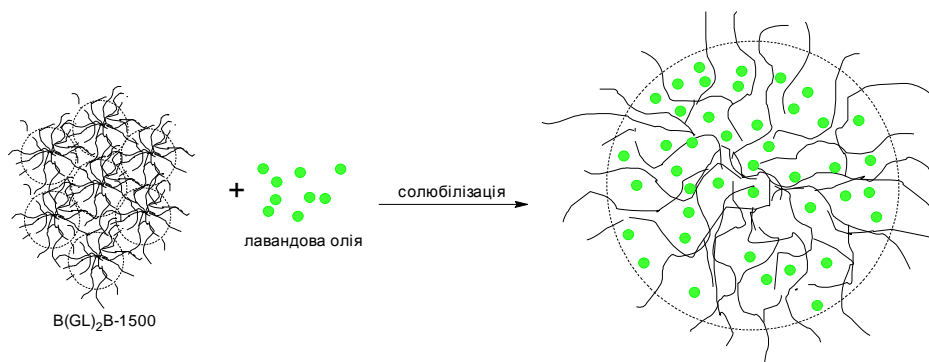


Схема 5.3. Процес стабілізації лавандової олії продуктом B(GL)<sub>2</sub>B-1500.

За цією схемою емульсія утворюється за рахунок солюбілізації або набухання частинок поліестеру ГФ. При тому гідрофільні фрагменти поліестеру (поліоксіетиленові ланцюги) орієнтуються на межі розділу фаз за рахунок чого і відбувається стабілізація масла в воді по механізму структурно-механічного бар'єру. Виходячи з цього можна пояснити різницю в стабілізаційній здатності кополіестеру 18 і кополіестеру 21. На рис. 5.12 наведені структурні формули діестерів на основі яких були одержані ці кополіестери.

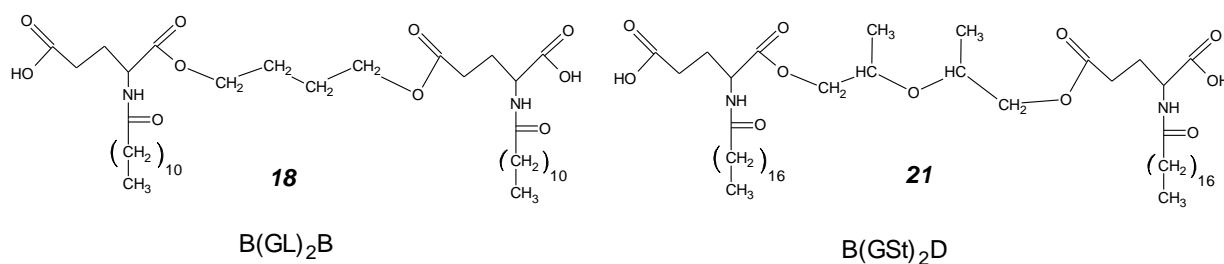


Рис. 5.12. Структури діестерів на основі яких було синтезовано полімери 18 та 21

З них легко побачити, що кополіестер 18 має більш чітко виражений гідрофобний блок за рахунок використання в його структурі в якості комо номеру 1.4-будандіолу. В результаті цього він більш ефективно взаємодіє з олеофільними молекулами масла. Це підтверджується і оціненими значеннями ГЛБ. Як було показано в попередніх розділах значення ГЛБ кополіестру 18 становить 16,83, а відповідне значення кополіестеру 21 – 29,21. Важливо, що ГЛБ лавандового масла становить 12. Таким чином ГЛБ лавандового маслі ще є доволі близьким до ГЛБ кополіестеру 18. Тому спостерігається хороша стабілізація цим кополіестером. Судячи з того, що кополіестером 21 уже дуже слабо стабілізує лавандове масло різниця між їх значенням ГЛБ уже є критичною. Цікаво відмітити, що значення ГЛБ оливкової олії 7. Це значення настільки сильно відрізняється від значень ГЛБ обох кополіестерів, що стабілізаційною здатністю до оливкової олії не володіє жоден з них.

Для висококонцентрованих емульсій ефірних олій, які використовуються в парфумерії, важливою характеристикою є динаміка їх випаровування. Це пов'язано з проблемою фіксації запаху. Тобто пролонгації випаровування ефірних олій в часі. Цього добиваються за рахунок добавок типу фіксатор запаху. Переважно їх дія зводиться до підвищення ентальпії випаровування фракцій ефірних олій. Тому в межах даної роботи проводились ряд термогравіметричних досліджень висококонцентрованих емульсій ефірних .

Важливо відмітити, що випаровування ефірних олій з косметичних засобів на водній основі є те, що пари води прискорюють випаровування пахучі речовин. Наочно це ілюструють криві термогравіметрії (рис. 5.13). На цьому рисунку наведено в порівнянні криві зміни маси чистої лавандової олії (3), води (1) і нестабілізованій суміші лавандової олії з водою (2). З наведених даних цього

рисунку можна побачити, що 80% лавандової олії випаровуються до температури 150°C по дериватограмі. При тому в лавандовій олії є фракція, випаровування якої відбувається перед випаровуванням води. Характер кривої випаровування суміші лавандової олії з водою радикально відрізняється від характеру кривої випаровування самого масла. Ця крива дуже сильно нагадує криву випаровування води і випаровування всієї суміші відбувається в температурному діапазоні близькому до температурного діапазону води. Можна стверджувати, що практично все ефірне масло виноситься разом з парами води.

Це є суттєвий недолік використання ефірних олій в водних середовищах. Звичайно режими випаровування з тіла людини не співрозмірні з випаровування в термогравіметрії, але даний ефект присутній і там – ефірні масла випаровуються разом з водою, як основою косметичного засобу, так і з потом.

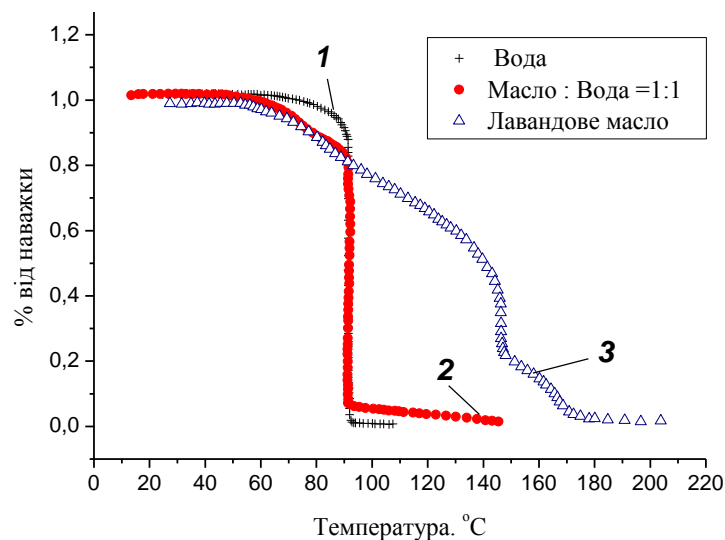


Рис. 5.13. Дериватограми випаровування чистого лавандового масла (3), води (1) та лавандового масла в суміші зі водою (2)

На рис. 5.14 наведено збірку дериватограм лавандової олії (крива 1), двох зразків висококонцентрованої емульсії лавандової олії в воді (зразок 12 та 13, див. табл.5.1., криві 3 та 4) та, для порівняння, дериватограма води (крива 2).

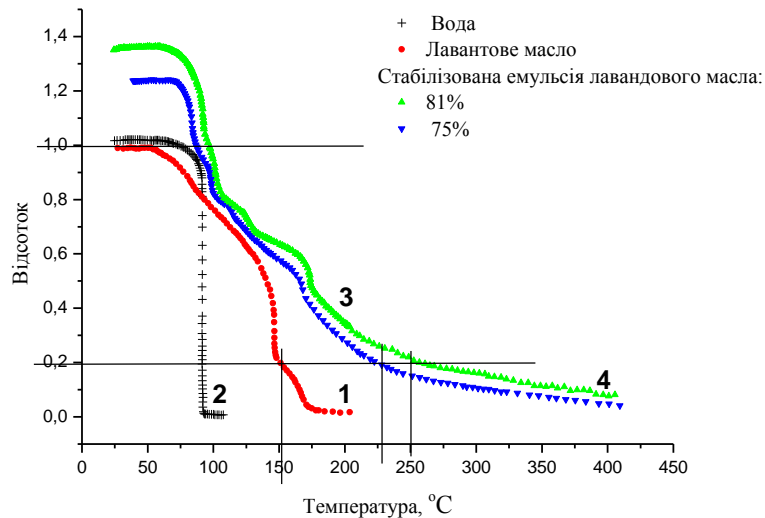


Рис. 5.14. Збірка дериватограм лавандове масло 1, вода 2, зразок 12 (3) та зразок 13 (4)

В першу чергу можна побачити, що при стабілізації емульсії лавандового масла кополіестером 18 подавляється ефект сумісного випаровування лавандової масла з водою. Більше того, спостерігається значна затримка випаровування фракцій лавандового масла зі стабілізованої емульсії у порівнянні з випаровуванням чистого масла. Так 80% чистого масла, як було уже показано вище, в умовах дериватографії випаровується до 150°C, а ця ж відносна кількість олії з зразка 13 випаровується до 225÷230°C і зразка 12 – до 250÷255°C. Таким чином в результаті стабілізації спостерігається зміщення випаровування (в умовах дериватограми) приблизно на 120°, що є дуже вагомим. Тому поліестер 18, крім того що він є ефективним стабілізатором, можна вважати ефективним фіксатором запаху. Якщо врахувати, що даний кополіестер є полімером медичного призначення, тобто він є нетоксичним, біодеградабельним і нетоксичними є продукти його деструкції, слід вважати його стабілізатором і фіксатором запаху нового покоління.

Слід також звернути увагу на різницю між дериватограмами одержаними зі зразків 12 і 13. Зразок 12 отриманий при співвідношенні ефірного масла до кополіестеру 15, а зразок 13 при співвідношенні 20. При тому затримка випаровування фракцій ефірного масла у зразка 12 приблизно на 25° більша ніж у зразка 13. Виходячи з цього, можна зробити висновок, що затримка визначається даним співвідношенням. А це означає, що природою збільшення ентальпії випаровування є слабка взаємодія між гідрофобними молекулами масла і



гідрофобними фрагментами поліестеру. Тоді, при збільшенні співвідношення між кількістю ефірного масла і поліестеру зменшується питома кількість цієї додаткової енергії і відповідно зменшується значення затримки. Також слід відмітити, що природа стабілізаційної здатності, крім формування структурно-механічного бар'єру має таку саму природу. В цьому можна переконатись порівнюючи стабілізаційну здатність кополіестерів 18 і 21. Здатність до формування структурно-механічного бар'єру у обох кополіестерів однакова, оскільки в структурі обох гідрофільний блок сформований однаковим по молекулярній масі полікосіетиленовими фрагментами, а гідрофобний фрагмент у кополіестері 18 виражений більш чітко.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вирішено наступні науково-практичні завдання:

1. Показано, що у присутності трифункційної гідроксилвмісної компоненти незворотня поліконденсація N-похідних дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот з поліолами поліоксіетиленового та поліоксипропіленового ряду приводить до утворення розгалужених та перехресно-зшитих поліестерів. Ступінь розгалуження та частка перехресно-зшитого поліестеру визначається практично повністю вмістом в реакційній суміші розгалужувача ланцюга.

2. Вивчено кінетичні закономірності перебігу реакції поліконденсації в умовах одержання розгалужених поліестерів на модельних об'єктах.

3. Розроблено методику одержання розгалужених поліестерів різного складу та оптимізовано умови їх одержання;

4. Вивчено процеси формування самостабілізованих водних дисперсій на основі розгалужених псевдополіамінокислот. На основі даних динамічного світлорозсіювання встановлено, що такі розгалужені псевдополіамінокислоти формують самостабілізовані водні дисперсії з розміром частинок від 10 до 1500 нм. Показано, що ряд поліестерів з визначеним складом формує частинки дисперсної фази, розмір яких знаходиться в діапазоні 8 до 12 нм і не залежить від концентрації дисперсної фази.

5. Встановлено морфологію частинок дисперсної фази за допомогою малокутового нейтронного розсіювання. Показано, що частинки дисперсної фази з розміром до 35 нм являють собою об'ємні фрактальні утворення - роль базової структури фракталу відіграє ланка поліестеру (в середньому фрактал включає від 500 до 2500 ланок).

6. Вивчено поверхнево активні властивості отриманих поліестерів. Показано взаємозв'язок складу макромолекул структурованих псевдополіамінокислот з їх поверхнево-активними властивостями.

7. Проведено токсикологічні дослідження, які показали відсутність цитотоксичності розгалужених поліестерів відносно клітин еякулятів бугая.

8. Вивчено закономірності сольобілізації частинками дисперсної фази ліпофільних органічних сполук. Показано, що отримані самостабілізовані дисперсії здатні сольобілізувати 7,8 г білкових речовин на 1 грам полімеру в дисперсії в залежності від будови пседополіамінокислоти та концентрації дисперсної фази.

9. Показано, що одержані поліестери можна використовувати в якості ефективних стабілізаторів водних емульсій, зокрема висококонцентрованих емульсій вода-олія. В роботі описано одержання стабільних висококонцентрованих емульсій лавандового масла з концентрацією 80%.

**ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА**

1. Galeska I. Controlled release of dexamethasone from PLGA microspheres embedded within polyacid-containing PVA hydrogels/ I. Galeska et al. // AAPS S.-2005. -7(1). – p.231-240.
2. Vaddiraju S. Microsphere erosion in outer hydrogel membranes created macroscopic porosity to counter biofouling-induced sensor degradation / S. Vaddiraju et al. // Anal. Chem. -2012. -84(20).-p.8837-8845.
3. Verma S. A comparative study of topdown and bottom-up approaches for the preparation of micro nanosuspensions / S. Verma et al. // Int J. Pharm. -2009. -380(1-2). – p.216-222.
4. Bohr A. Preparation of microspheres containing low solubility drug compound by electrohydrodynamic spraying / A. Bohr et al. // Int J. Pharm. -2011. -412(1-2) p.59-67.
5. Morais J. M. Biomaterials/tissue interactions / J. M. Morais F. Papadimitrakopoulos et al. // AAPS J. -2010. -12(2). –p.188-196.
6. Shen J. In vitro dissolution testing strategies for nanoparticulate drug delivery systems: recent developments and challenges / J. Shen et al. // Drug. Deliv. Trans Res. – 2013. -3(5). –p.409-415.
7. Головенко М. Адресна доставка наносистемами лікарських засобів до головного мозку / М. Головенко , В. Ларіонов // Вісник фармакології та фармації. -2008. -№4, с.8-16.
8. Kreuter J.. Nanoparticles and Nanocapsules – New Dosage Forms in the Nanometer Range / Jorg Kreuter // Pharmaceutica Acta Helvetiae. – 1978. -№53(2). –p.33-39.
9. Kreuter J.. Nanoparticles. / Jorg Kreuter, In: Swarbrick J, Boylan JC. (ed.) // New York, -1994. –p.165-190.
10. Birrenbach G.. Polymerized Micelles and their use as Adjuvants in Immunology / G. Birrenbach, P.Speiser // Journal of Pharmaceutical Science. -1976. -65(12). –p.1763-1766.

11. Festa M. Preparation and Characterization of Polyethyl-2-Cyanocrylate Nanocapsules containing Antiepileptic Drugs / M. Festa, G. Cavallaro, G. Giammona, E. Wehrli, G. Puglisi // *Biomaterials*. -1996. -17(8), p.751-758.
12. Vauthier-Holtzscheler C. Methodology for the Preparation of Ultra-Dispersed Polymer Systems / C. Vauthier-Holtzscheler, S. Bennabou, G. Spenlehauer, M. Veillard, P. Couvreur // *STP-Pharma Science*. -1991. -1. -p.109-116.
13. Rollot JM. Physicochemical and Morphological Characterization of Polyisobutyl Cyanocrylate Nanocapsules / J. M. Rollot P. Couvreur, L. Roblot-Treubel, F. Puisieux // *Journal of Pharmaceutical Science*. -1986. -75(4). -p.361-364.
14. Jahan M. Protein nanoparticle: A unique system as drug delivery vehicles / Mohsen Jahanshani, Zahra Babaei // *African Journal of Biotechnology*. -2008. -Vol.7(25). -p.4926-4934.
15. Demeule M. Identification and Design of Peptides as a New Drug Delivery Systems for the Brain / Michel Demeule et al. // *J. of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. -2008. -Vol324(3). -p.1064-1072.
16. Hawkins M. G. Protein nanoparticles as drug carriers in clinical medicine / Michael J. Hawkins, Patrick Soon-Shiong, Neli Desai // *Clinical Developments in Drug Delivery Nanotechnology*. -2008. -Vol60(8). -p.876-885.
17. Zhang N. Polysaccharide -Based Micelles for Drug Delivery / Nan Zhang, Patricia R. Wardwell and Rebeca A. Barder // *Pharmaceutics*. -2013. -№5. -p.329-352.
18. Liu Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems / Zanghula Liu, Yanpeng Jiao et al. // *Advanced Drug Delivery Reviews*. -2008. -15. -p.1569-1676.
19. Namdev B. Polysaccharide biomaterials for drug delivery and regenerative engineering / Namdev B. Shelke et al. // *Polymers for Advanced Technologies*. -2014. -Vol25(5). -p.448-460.

20. Marijnissen W. J. Alginate as a chondrocyte-delivery substance in combinations with a non-woven scaffold for cartilage tissue engineering / W. J. Marijnissen et al. // *Biomaterials*. -2002. -№23. –p.1511-1517.
21. Yang J. Galactosylated alginate as a scaffold for hepatocytes entrapment / J., M. Yang H. Goto, et al. // *Biomaterials*. -2002. -№2. –p.471-479.
22. Bettinger D. Evaluation of calcium alginate for skin graft donor sites / D. D. Bettinger et al. // *Burn Care Rehabil.* -1995. -№16 p. 59-61
23. Mao C. J. Surface modification using photocrosslinkable chitosan for improving hemocompatibility. /C.J. Mao et al. // *Colloids Surf B Biointerfaces*. -2004. -№38. –p. 47-53.
24. Janes K. A. Chitosan and lactic acid-grafted chitosan nanoparticles as carriers for prolonged drug delivery / K.A. Janes et al. // *Adv. Drug Delivery Rev.* -2001. -№47.-p.83 – 97.
25. Pangburn, S. H. Partially deacetylated chitin: its use in self-regulated drug delivery systems. / S.H. Pangburn et al. // In: Z. P. Zikakis (editor), *Chitin. Chitosan and Related Enzymes*. - 1984. 3. New York: Academic Press.
26. Чекман І. Нанотехнології у розробці систем доставки лікарських засобів. / І. С. Чекман, А. О. Прискова // *УКР. МЕД. ЧАСОПИС*. 1(75)-I/II 2010.
27. Grayson S. M. The role of macromolecular architecture in passively targeted polymeric carriers for drug and gene delivery / S. M. Grayson, W. T. Godbey // *J. Drug Targeting*.- 2008.-№16. –p.329 –356.
28. Luxenhofer R. Kinetic Investigations on the Polymerization of 2-Oxazolines Using Pluritriflate Initiators / R. M. Luxenhofer., R.J. Bezen // *Macromol. RapidCommun.* – 2008. -№29. –p.1509 – 1513.

29. Vilar G. Polymers and Drug Delivery Systems / German Vilar, Judit Tulla-Puche, Fernando Albericio // *Current Drug Delivery*. - 2012. - №4, vol.9
30. Honey P. J. Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview / Honey Priya James et al. // *Acta Pharmaceutica Sinica B*. -2014. –Vol4. –p.120-127.
31. Dhanashekar M. Polymeric Nanoparticles – the new face in Drug Delivery and Cancer Therapy / Meshak Dhanashekar et al. // *Malaya J. of Bioscience*. -2013. -1(1). – p. 1-7.
32. Uhrick K. E. Polymeric systems for controlled drug release / K. E. Uhrick, S. M. Cannizzaro, R. S. Langer, K. M. Shakesheff // *Chem. Rev.* -1999. -99(11). –p3181-3198.
33. Kumbar S. Natural and Synthetic Biomedical Polymers / Sangamesh G. Kumbar, Cato T. Laurencin // Elsevier book.-2014.
34. Kohn J. A new approach to the development of bioerodible polymers for controlled release applications employing naturally occurring amino acids / J. Kohn, R. Langer // *Proc. Acs division Poly. Sci. Mat.* -1984. –p. 119-121.
35. Kohn J. Poly(iminocarbonates) as potential biomaterials / J. Kohn, R. Langer // *Biomaterials*. -1986. –p.176-182.
36. Kohn J. Polymerization reactions involving the side chains of alpha-l-amino acids / J. Kohn, R. Langer // *Am. Chem Soc.* -1987. -109. –p.817-820.
37. Schakenraad J. M. Biocompatibility of poly (d l-lactic acid / glycine) copolymers / J. M. Schakenraad, P. J. Dijkstra // *Clin. Mater.* -1991. -1991. -№7. –p. 253-269.
38. Schakenraad J. M. In vivo and in vitro degradation of glycine /dl-lactic acid copolymers / Schakenraad J. M. et al. // *Mater. Res.* -1989. -№23. –p.1271-1288.
39. Katsarava R. Amino acid-based bioanalogous polymers . Synthesis and Study of regular poly (ester amide) based on bis (α-amino acid)s, α,ω-alkylene diesters and aliphatic

dicarboxylic acids / R. Katsarava et al. // Polym. Sci. Part A Polym. Chem. -1999. - №37. –p. 397-401.

40. Mallakpour S. Pseudo-poly(amino acid)s: study on construction and characterization of novel chiral and thermally stable nanostructured poly(ester imide)s containing different trimellytylimido – amino acid – based diacids and piromellitoyl – tyrosine based diol. / S. Mallakpour, F. Zeraatpisheh // Colloid Polym. Sci. -2011. -№289. –p.1056-1064.

41. Mallakpour S. The nanocomposite of zinc oxide / l-amino acid based chiral poly (ester-imide) via an ultrasonic route: synthesis, characterization, and thermal properties / S. Mallakpour, F. Zeraatpisheh // J. Appl. Polym. Sci. -2012. -№289. –p.1055-1064.

42. Guo K. Copolymers of unsaturated and saturated poly (ether ester amide)s : synthesis, characterization and biodegradation / K. Guo, C. Chu // J. Appl. Polym. Sci. -2008. - №110. –p.1858-1869.

43. Brocchini S. Structure property correlations in a combinational library of a degradable biomaterials / S. Brocchini, K. James // Biomed. Mater. -1998. -№42. –p.66-75.

44. Sengupta A. Properties of l-tyrosine based polyphosphates pertinent to biomedical applications / A. Sengupta, S. T. Lopina // Polymer. -2005. -№46. –p.2133-2140.

45. A. Sengupta. Synthesis and characterization of l-tyrosine based novel polyphosphates for potential biomedical applications. / A. Sengupta, S. T. Lopina // Polymer. -2004. - №45. –p.4653-4662.

46. Zhou Q. X. Preparation of Poly(L-Serine ester): A Structural Analogue of Conventional Poly(L-serine) / Q. X. Zhou, J. Kohn // Macromolecules. -1990. -№23. – P3399-3406.

47. Fietier I. Synthesis of functional polyesters derived from serine / I. Fietier, A. Borgne, N. Spassky // Polymer Bulletin. -1990. -№24. –p.349-353.



48. Kohn J. Polymerization Reactions Involving the side chains of L-amino acids / J. Kohn, R. Langer // *Journal of the American Chemical Society*. -1987. -№109(3). -P817-820.
49. Rossignol H. Synthetic poly ( $\beta$ -hydroxyalkanoates) with carboxylic acid or primary amine pendent groups and their complexes / H. Rossignol, M. Boussta. M. Vert // *International Journal of Biological Macromolecules*. -1999. -№25. -p.225-264.
50. Jelbin M. E. Synthesis and Polymerization of N-Z-L-serine- $\beta$ -lactone ans Serine hydroxybenzotriazole active esters / M. E. Gelbin, J. Kohn // *Journal pf the American Chemical Society*. -1992. -№114. -p.3962-3965.
51. Barrea D. A. Synthesis and RGD peptide modification of a new biodegradable copolymer poly(lactide acid-co-lysine) / D. A. Barrel, E. Zylstra, P. T. Lansbury [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. -1993. -№5. -p.11010-11011.
52. Ouchi T. Synthesis and enzymatic hydrolysis of lactic acid-deipeptide copolymers with functionalized pendant groups / T. Ouchi, T. Nozaki, A. Ishikawa [et al.] // *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemitry*. -1997. -№35. -p.337-383.
53. Ouchi T. Preparation of poly (L-lactide)-based microspheres having cationic or anionic surface using biodegradable surfactants. / T. Ouchi, M. Toyohara, H. Arimura [et al.] // *Biomacromolecules*. -2002. -№3. -p.885-888.
54. Guan H. Synthesis and characterization of biodegradable amphiphilic triblock copolymers containing L-glutamic acid units / H. Guan, Z. Xie, P. Zhang [et al.] // *Biomacromolecules*. -2005. -№6(4). -p. 1954-1960.
55. Z. Hie. A novel polymer-paclitaxel conjugate based on amphiphilic triblock copolymer / Z. Hie, X. Chen [et al]. // *Journal of Controlled Release*. -2007. -№117(2). -p.210-216.

56. Yan J. Novel poly( $\epsilon$ -caprolactone)s bearing amino groups: Synthesis characterization and biotinylation / J. Yan, Y. Zhang, Y. Xiao [et al.] // *Reactive and Functionalized Polymers*. -2010. -№70(7). -p.400-407.
57. Neises B. Simple Method for the Esterification of Carboxylic acid / B. Neises, W. Steglich // *Angewandte chemie International Edition*. -1978. -№17. -p.552-554.
58. Huh K. M. synthesis and characterization of poly(ethylene glycol)poly(l-lactic acid) alternating multiblock copolymers / K. M. Huh, Y. H. Bae // *Polymer*.-1999. -№40. - p.6147-6155.
59. Akutsu F. Syntesis of poly(lactic acid) bydirect polycondensation of lactic acid using 1,1'-carbonylimidazole, N,N,N',N'-tetramethylchloroformamidiniumchloride and N,N'-dicyclohexylcarbodiimide as condensing agent / F. Akutsu, M. Inoki, H, Uei [et al.] // *Polymer Journal*. -1988. -№30(5). -p.421-423.
60. Chen W. Synthesis and Properties of poly(L-lactic acid)-poly(ethyleneglycols) multiblock copolymers by coupling triblock copolymers / W. Chen, W. Luo, S. Wang [et al.] // *Polymers for Advanced Technologies*. -2003. -№14. -p.245-253.
61. Petrova Ts. Synthesis and characterization of poly(oxyethylene)-poly(caprolactone) multiblock copolymers / Ts. Petrova, M. Manolova, I. Rashkov [et al.] // *Polymer International*. -1988. -№45, p.419-426.
62. Li X. Synthesis, characterization and morphology studies of biodegradable amphiphilic poly[(R)-3-hydroxybutyrate]-alt-poly(ethylene glycol) multiblock copolymers / X. Li, K. Liu, J. Li [et al.] // *Biomacromolecules*. -2006. -№7. -p.3112-3119.
63. Yun Y. H. The antimicrobial efficacy of sustained release silver-carbene complex based l-tyrosine polyphosphate nanoparticles: characterization, in vivo and in vitro studies / Y. H. Yun et al. // *Biomaterials*. -2009. -№30. -p.3771-3779.

64. Yun Y. H. Development and in vitro cytotoxicity of microparticle drug delivery system for proteins using l-tyrosine polyphosphate / Yun Y. H. et al. // Colloid. Polym. Sci.-2009. -№287. –p.1195-1205.
65. Park T.G. Deswelling characteristics of poly(N-isopropylacrylamide) hydrogels / T.G. Park, A.Hoffman // Appl. Polym. Sci.-1994. -№52. –p.85-89
66. Serpe M. G. Doxorubicin uptake and release from microgel thin films/ M. G. Serpe, C.M. Nolan, L.A.Lyon // Biomacromolecules.-2005. -№6. –p.408-413.
67. Wong J. E. Dual-Stimuli responsive PNI-PAM microgel achieved via layer by layer assembly: Magnetic and thermoresponsive / J.E.Wong, A.K.Gaharwar et al. // Colloid interface Sci.-2008. -№324. –p.47-54.
68. Yin R. Glucosw and pH-responsive concanavalin A based microhydrogels for insulin delivery / R. Yin, Z. Tong // Biol. Macromol. -2011. -№49(5). –p.1993-2007.
69. Lembo D. Nanoparticulate delivery systems for antiviral drug / David Lembo, Roberta Cavalli // Antiviral Chemistry and Chemotherapy. -2010. -№21. –p.53-70.
70. Schwall C. Micro- and Nanoscale Hydrogels Systems for Drug Delivery and Tissue Engineering / Christine T. Schwall, Ipsita A. Banerjee // Materials. -2009. -№2. –p.577-612.
71. Hoare T. R. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges / Todd R. Hoare, Daniel S. Kohane // Polymer. -2008. -№49. –p. 1993-2007.
72. Sorrel C.D. Reflection order selectivity of color-tunable poly(N-isopropylacrylamide)microgel based etalons / C.D.Sorrel, M.G.Serpe // Adv. Mater.-2011.-№23. –p.4088-4092.
73. Peppas.J.Z. Hydrogels in biology and medicine / N. Peppas, J.Z.Hilt et al. // Adv. Mater.-2006. -№18. –p.1-17
74. Rivest J. Microscale Hydrogels for Medicine and Biology: synthesis, characteristics and applications / Christopher Rivest, David W.G. Morrison et al. // Journal of Mechanics of Materials and structures. -2007. -№6. –p.1103-1119.

75. Reis C.P. Alginate microparticles as nivel carriers for oral insulin delivery / Catarina Pinto Reis at al. // *Biotechnology and Bioengineering*. -2006. –in press.
76. Alexakis K. Microencapsulation of DNA within alginate microspheres and crosslinked chitosane membranes for in vivo applications / T. Alexakis, K.Boadid at al. // *Appl. Biochem. Biotech.* -1995. -№50:1. –p.93-106.
77. Dang S. Scalable productuions of embryonic stem cell-derived cells. / S. Dang, P.Zandstra // *Meth. Mol. Biol.*-2005. -№290. –p.353-364.
78. Koh W.G. Molding of hydrogel multiphenotype cell microstructures to create microarrays / W.G. Kohn, L.G.Itle // *Anal.Chem.* -1993. -75:21. –p.5783-5789.
79. Panda P. Stop-flow lithography to generate cell-laden microgel particles / Priyadarshi Panda et al. // *Lab. Chip.* -2008. -№8. –p. 1056-1061.
80. Khademhosseini A. Micromolding of photocrosslinkable hyaluronic acid for cell encapsulation and entrapment / Ali Khademhosseini at al. // *Journal of biomedical Materials.* -2006. –79(3). –p.522-532.
81. Kwon Oh J. Biopolymers – based microgels nanogels for drug delivery applications / Jung Kwon Oh, at all // *Progress in polymer science.* – 2009. -№34. –p.1261-1282.
82. Nichd J. W. Cell-Laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels / Jason W. Nichd at al. // *Biomaterials.*-2010. -№31. –p.5536-5544.
83. Litzenberger A. L. A MICROFLUIDIC METHOD TO MEASURE DIFFUSION IN HYDROGELS / Andrew Lee Litzenberger // *Master`s Theses. Bucknell University.* -2010. –p.1-160.
84. Peppas N. A. Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled-release / N. A. Peppas, A.R. Chare // *Adv. Drug. Deliver. Rev.* -1993. -11:1-2. –p. 1-35.
85. Anseth K.S. Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination / K.S. Anseth et al. // *Biomaterials.* -1995. -17:17. –p. 1467-1657.
86. Langer R. *Advances in biomaterials, drug delivery and bionanotechnology.* -2003. -49:12. -2990-3006.

87. Peppas N. A. Hydrogels in biology and medicine / N.A. Peppas, J.Z. Hilt et al. // *Adv. Mater.* -2006. -№18. –p.1-17.
88. Ogden D.J. Modifiable hyperbranched polyester drug delivery systems / Dorothy J. Ogden // Thesis submitted in partial fulfillment of requirements for the degree of master of science. University of Kansas.-1988.-p.1-50.
89. Voit B.I. *Chem Rev* / B.I.Voit et all. //.-2009.-pp.5924-5973.
90. Kim Y.H. *Polymer Paper* / Y.H.Kim, O.W. Webster//.-№29.-P.310-311
91. Gao C. Hyperbranched polymers: synthesis, properties, and applications / C.Gao et all. // *John Wiley & Sons.*-2011.-p.1-25.
92. Лефтерова О. И. Гиперразветвленные полимеры, особенности их структуры и применения (обзор зарубежных публикаций)/ О.И. Лифтарева // *Вестник Казанского национального университета.*-2012.-№16.- том 15. –с. 103-105.
93. Бакирова И.Н. Стажировка в Великобритании. Часть 2. Научные исследования университетов в области полимерных материалов / И.Н. Бакирова // *Вестник казанского технологического университета.*-2011.-№5.-с.74-81.
94. A. Helminen. Branched and crosslinked resorbable polymers based on lactic acid, lactide and  $\epsilon$ -caprolactone / Antti Helminen // *Polymer technology publication series.*-2003.-№26.p.1-60
95. Arvanitoyannis I. Novel star-shaped polylactide with glycerol usingstannous octoate or tetraphenyl tin as catalyst: Synthesis? Characterization and study of their biodegradability / Arvanitoyannis I. et all // *Polymer.*-1995.-№36.-p.2947-2956.
96. Dong C.-M. Synthesis of star-shaped poly( $\epsilon$ -caprolactone)-b-poly(DL-lactic acid-alt-glycolic acid) with multifunctional initiator and stannous octoate catalyst / C.-M. Dong et all. // *Macromolecules.*-2001.-№34.-p.4691-4696.

97. Kim S.H. Multifunctional initiation of lactide polymerization by stannous octoate/pentaerythriol / S.H.Kim et al. // *Macromol. Chem.*-1992.-№193.-p.1623-1631.
98. Kim S.H. Preparation of star-shaped polylactide with pentaerythriol and stannous octoate / S.H.Kim et al.// *Macromol. Chem.*-1993.-№194.-p.3229-3236.
99. Grijpma D.W. Star-shaped polylactide-containing block copolymers / D.W. Grijpma et al. // *Macromol.Chem., rapid commun.*-1993.-№14-p.155-161.
100. Joziase C.A. Star-shaped poly[(trimethylene carbonate)-co-( $\epsilon$ -caprolactone)]and its block copolymers with lactic/glycolide: synthesis, characterization and properties / C.A. Joziase. Et al.// *Macromol Chem.Phys.*-2000.-№201.-p.107-112.
101. Joziase C.A. Rubber toughened linear and star-shaped poly(d,l-lactide-co-glycolide): synthesis, properties and in vitro degradation / C.A.Joziase et al.// *Polymer.*-1998.-№39.-p.467-473.
102. Zhao Y.-L. Synthesis and thermal properties of novel star-shaped poly(L-lactide)s with starburst PAMAM-OH dendrimer macroinitiator / Y.-L. Zhao et al. // *Polymer.*-2002.-№43.-p.5819-5825.
103. Choi, Y.K. Block Copolymers: Synthesis, characterization, and their physical properties/Y.K.Choi et al.// *Macromolecules.*-1998.-№31.-p.8766-8774.
104. Wyatt V.T. Degree of branching in hyperbranched poly(glycerol-co-diacid)s synthesized in toluene / Victor T. Wyatt, Gary D. Strahan // *Polymers.*-2012.-№4.-p.396-407.
105. Lin Q. Polymerization of  $A_2$  with  $B_3$  monomers: a facile approach to hyperbranched poly(aryl ester)s / Q. Lin et al. // *Macromolecules.*-2003.-№36.-p.9809-9816.
106. Stumbe J.-F. Hyperbranched polyesters based on adipic acid and glycerol / J.-F. Stumbe et al.//*Macromol. Rapid Commun.*-2004.-№25.-p.921-924.

107. Kulshrestha A.S. Glycerol copolyesters: control of branching and molecular weight using lipase catalyst / A.S. Kulshrestha et al. // *Macromolecules*.-2005.-№38.-p.3193-3204.
108. Jikei M. Hyperbranched aromatic polyamides prepared by direct polycondensation / M. Jikei // *High Perform. Polym.*-2001.-№13.-p.33-43
109. Fang G. Hyperbranched polyimide for gas separation applications. Synthesis and characterization / J. Fang et al.// *Macromolecules*.-2000.-№33.-p.4639-4646.
- 110 . Кацарова Р.Д. Достижения и проблемы активированной поликонденсации / Р.Д. Кацарава // *Успехи химии*.-1991. –с.1449-1448.
111. Сиггия С. Количественный органический анализ по функциональным группам / С. Сиггия, Дж. Г. Ханна // – Москва : Химия, 1983. – 18 с.
112. Гордон А. Спутник химика / А.Гордон, Р. Форд // изд. Мир, Москва 1976г. – с.439.
113. Shao S-Y. Synthesis of Magnetic Nanoparticles of  $Fe_3O_4$  and  $CoFe_2O_4$  and their surface modification by surfactant adsorption / Shi-Yong Zhao, Don Keun Lee, Chang Woo Kim et al. // *Bull Korean Chem Soc.* -2006.-Vol.27.-p.237-242.
114. Bordbar A.K. et al. Characterization of Modified Magnetite Nanoparticles for Albumin immobilization. / A.K. Bordbar et al. // *Hindawi P. Corporation Biotech. Res. International*.- Vol.2014.-ID 705068.- p.1-6.
115. Сиггия С. Количественный органический анализ по функциональным группам / С. Сиггия, Дж. Г. Ханна. – Москва : Химия, 1983. – 41 с.
116. Сиггия С. Количественный органический анализ по функциональным группам / С. Сиггия, Дж. Г. Ханна. – Москва : Химия, 1983. – 185 с.
117. <http://cool.conservation-us.org/coolaic/sg/bpg/annual/v03/bp03-04.html>.

118. Грачева И. М. «Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов» / И. М. Грачева, Ю.П. Грачев, М.С. Мосичев // М.: Легкая и пищевая промышленность.-1982. –с.57.
119. Климова В. А. «Основные микрометоды анализа органических соединений» / В.А. Климова // изд. «Химия», Москва 1967. –с. 46
120. Сиггиа С. Количественный органический анализ по функциональным группам / С. Сиггиа, Дж. Г. Ханна. – Москва : Химия, 1983. – 670 с.
121. Казицина Л.А. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- спектроскопии в органической химии / Л.А. Казицина, Н.Б. Куплетская. – Москва : Высшая школа, 1971. – 264 с.
122. Казицина Л.А. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- спектроскопии в органической химии / Л.А. Казицина, Н.Б. Куплетская. – Москва : Высшая школа, 1971. – 264 с.
123. Белами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул./ Белами Л. [пер. с английского Акимова В.М., Пентина Ю.А., Тетерина Ю.Г. под ред. Пентина Ю.А.]. – Москва : Издательство иностранной литературы, 1963 – 590 с.
124. Workman J. Handbook of Organic Compounds. Ni, IR, Raman, and UV-Vis Spectra Featuring Polymers and Surfactants / J. Workman. – San Diego: Buckram Publisher. Academic Press, 2001 – 428 p.
125. Фігурка Н. В. ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНІ ПСЕВДО-ПОЛІ(АМІНОКИСЛОТИ) НА ОСНОВІ ДИКАРБОНОВИХ  $\alpha$ -АМІНОКИСЛОТ ТА ЇХ КОЛОЇДНО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ / Фігурка Наталія Володимирівна // Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук. НУ «ЛП», Львів.-2013.
126. Варваренко С.М. Амінофункційні поліестери природніх двоосновних амінокислот і поліетердіолів / Варваренко Сергій Миколайович // Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня доктора хімічних наук. НУ «ЛП», Львів-2014.



127. Passeno L. M. Conformational Changes of Linear-Dendrimer Diblock Copolymers in Dilute Solution / L. M. Passeno, M. E. Mackay, G. L. Baker [et. al.] // *Macromolecules*. – 2006. – Vol. 39. – P. 740-746.
128. Kucerka N. Small-Angle Scattering from Homogenous and Heterogeneous Lipid Bilayers / N. Kucerka, M. Nieh, J. Katsaras // in *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes, Volume 12* Burlington: Academic Press, 2010, pp.201-236.
129. Музика В.П. ДО ОЦІНЮВАННЯ ЦИТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ПОЛІМЕРНИХ ВИРОБІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ТЕСТ-ОБ'ЄКТУ – СПЕРМІЇВ БУГАЇВ. / В.П.Музика, І.С.Атаманюк, Д.Д. Остапів та ін. // *Біологія тварин*. -2011. –т.13. -№1-2.
130. Gaihre B. Gelatin-coated magnetic iron oxide nanoparticles as carrier system: Drug loading and in vitro drug release study / B. Gaihre et al. // *Int. J. Pharm.*-2009. -№365. – p.180-189.
131. Drbohlavova J. Magnetic nanoparticles and targeted drug delivery / J. Drbohlavova et al. // *Pharmacol. Res.* -2010. -№62. –p.144-149.
132. Huang Y. Magnetic hydrogels and their potential biomedical applications / Y. Li. G. Huang et al. // *Adv. Funct. Mater.* -2013. -№23. –p.660-672.
133. Liao M. H. Immobilization of yeast alcohol deshydrogenase on magnetic nanoparticles / M.H. Liao, D.H.Chen // *Biotechnol. Lett.* -2001. -№23. –p.1723-1727.
134. Bayramoglu H. Immobilization of glucoamylase onto polyaniline-grafted magnetic hydrogel via adsorption adsorption/crosslinking. / G. Bayramoglu et al. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* -2013. -№97. –p.1149-1159.