

Hiperelágazásos poliglicidollal ojtott *N,N*-dietil-akrilamid alapú termoreszponzív kopolimerek, mint hőmérséklet indukált hatóanyaghordozók

TDK dolgozat

Fábián Ákos Attila

I. évf. vegyész MSc

Témavezetők:

Dr. Kasza György, tudományos munkatárs

TTK AKI Polimer Kémiai és Fizikai Kutatócsoport

Fecske Dóra, tudományos segédmunkatárs

TTK AKI Polimer Kémiai és Fizikai Kutatócsoport

Prof. Iván Béla, egyetemi magántanár

ELTE TTK Kémiai Intézet, Szerves Kémiai Tanszék
és TTK AKI Polimer Kémiai és Fizikai Kutatócsoport



Eötvös Loránd Tudományegyetem
Természettudományi Kar, Kémia Intézet

Dolgozat lezárása: 2022. november 14.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani Prof. Iván Bélának, az MTA rendes tagjának, az ELTE TTK Kémiai Intézet egyetemi magántanárának, a TTK AKI Polimer Kémiai és Fizikai Kutatócsoport kutatóprofesszorának, hogy lehetőséget biztosított számomra és munkámat figyelemmel kísérte és támogatta.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Kasza Györgynek és Fecske Dórának, amiért rendületlenül segítettek és irányították a munkámat.

Továbbá szeretnék köszönetet mondani Dr. Szarka Györgyinek és Sóvári Beatrixnek a géelpermeációs kromatográfiás vizsgálatok során nyújtott segítségükért.

Szeretnék köszönetet mondani a Természettudományi Kutatóközpont Anyag- és környezetkémiai Intézet Polimer Kémiai és Fizikai Kutatócsoport munkatársainak, akikhez mindig fordulhattam segítségért és tanácsért.

Köszönöm a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH) (PD139162) támogatását.

Tartalomjegyzék

Rövidítések	1
1..... Bevezetés	2
2. Irodalmi összefoglaló.....	4
2.1. Termoreszponzív anyagok.....	4
2.2. Poli(<i>N,N</i> -dietil-akrilamid) (PDEAAm) tulajdonságai és felhasználása.....	6
2.2.1. Poli(<i>N,N</i> -dietil-akrilamid) tartalmú hatóanyaghordozó rendszerek.....	8
2.3. Termoreszponzív kopolimerek és gélek	10
2.3.1. Termoreszponzív kopolimerek és hidrogélek előállítása <i>N</i> -akriloxi-szukcinimiddel.....	10
2.4. Ojtott termoreszponzív polimerek.....	11
2.5. Hiperelágazásos poliglicidol	12
2.6. Kurkumin	15
3. Célkitűzések.....	17
4. Kísérleti rész	18
4.1. Felhasznált anyagok	18
4.2. A termoreszponzív homo- és kopolimerek előállítása	19
4.3. Amin monofunkciós hiperelágazásos poliglicidol (NH ₂ -HbPG) előállítása	20
4.3.1. Hiperelágazásos poliglicidol (HbPG) előállítása ftálimid/ftálimid-kálium iniciátor rendszerrel.....	20
4.3.2. NH ₂ -HbPG előállítása	21
4.5. Az előállított homo- és kopolimerek és az ojtott kopolimerek vizsgálata	23
4.5.1. ¹ H-NMR spektroszkópia.....	23
4.5.2. Gélpermeációs kromatográfia.....	24
4.5.3 UV-VIS spektroszkópia.....	24
4.6. Az ojtott PDEAAm hatóanyagfelvétele és leadása	25
5. Eredmények és értékelésük	26
5.1. A termoreszponzív homo- és kopolimerek vizsgálata.....	26
5.1.1. A termoreszponzív polimerek vizsgálata ¹ H-NMR spektroszkópiával és GPC-vel	26
5.1.2. A homo- és kopolimerek termoreszponzív viselkedésének vizsgálata UV-Vis spektroszkópiával	28
5.2. A hiperelágazásos poliglicidol vizsgálata	30
5.3 Az ojtott termoreszponzív polimerek vizsgálata	32
5.3.1. Az ojtott kopolimerek vizsgálata ¹ H-NMR-rel és GPC-vel.....	32
5.3.2 Az ojtott polimerek termoreszponzív viselkedése	34

5.3.2.1 Az ojtott polimerek CST értékeinek meghatározása és összehasonlítása az ojtatlan polimer CST értékeivel.....	34
5.3.2.2 A koncentráció és az ionerősség hatása a CST értékekre.....	35
5.3.3 A P(DEAAM- <i>ko</i> -NAOS)@HbPG ojtott kopolimerek stabilitásának vizsgálata.....	38
5.4. Az ojtott kopolimerek hatóanyagfelvétele és leadása	39
6.....	Összefoglalás
.....	44
7.....	Irodalomjegyzék
.....	46
Függelék	50

Rövidítések

^1H -NMR: proton mágneses magrezonancia (Proton Nuclear Magnetic Resonance)

4VP: 4-vinilpiridin

AAc: akrilsav

cmc: kritikus micellaképződési koncentráció

DCM: diklórmétán

DEAAm: *N,N*-dietil-akrilamid

DMAAm: *N,N*-dimetil-akrilamid

DMF: *N,N*-dimetil-formamid

GMA: glicidil-metakrilát

GOD: glükóz oxidáz

GPC: gélpermeációs kromatográfia (Gel Permeation Chromatography)

HbPG: hiperelágazásos poliglicidol (Hyperbranched polyglycerol)

HEMA: 2-hidroxietil-metakrilát

HMAAm: *N*-hidroximetil-akrilamid

IAM: itaktónamin sav

IGF-1: Inzulinszerű Növekedési faktor 1

LCST: alsó kritikus szételegyedési hőmérséklet (Lower Critical Solution Temperature)

MAA: metakrilsav

NAOS: *N*-akriloxi-szukcinimid

NIPAAm: *N*-izopropil-akrilamid

NVP: *N*-vinil-pirrolidon

PBS: Foszfát puffer oldat (Phosphate buffer solution)

PEG: poli(etilén-glikol)

PG: poliglicidol

ROMBP: gyűrűfelnyílásos multielágazásos polimerizáció (Ring-Opening Multibranching Polymerization)

ROP: gyűrűfelnyílásos polimerizáció (Ring Opening Polymerization)

TEMED: *N,N,N',N'*-tetrametil-etiléndiamin

TMSPSA: 3(trimetoxiszilil)propil-metakrilát

THF: tetrahidrofurán

UCST: felső kritikus szételegyedési hőmérséklet (Upper Critical Solution Temperature)

UV: ultraibolya (Ultraviolet)

Vis: látható (Visible)

1. Bevezetés

Polimernek (görög eredetű szó: poli-, sok, -mer, rész) azokat a kémiai vegyületeket nevezzük, amelyek nagyszámú, egy vagy többfajta, azonos típusú atomcsoportból, úgynevezett monomer egységből épülnek fel, és ezeket kovalens kötések kapcsolják össze. A legfontosabb jellemzőjük, hogy a tulajdonságaik igen széles skálán változtathatók, emiatt mára az életünk minden területén megtalálhatók. Például felhasználják őket az építőiparban, elektronikai iparban, járműiparban, mezőgazdaságban, csomagolóanyagok gyártására és ez a lista folyamatosan bővül. Napjainkban évi több mint 407 millió tonna polimert állítanak elő különböző célokra a világban [1].

Ha a makromolekula egyfajta monomer egységből épül fel homopolimerről, ha pedig két- vagy többféle monomerből áll, akkor kopolimerről beszélünk. Az ismétlődő egységek elhelyezkedése alapján megkülönböztetünk random, alternáló, gradiens és blokk-kopolimereket.

A polimerek szerkezete roppant eltérő lehet. Vannak lineáris, elágazó, illetve térhálós polimerek. Az elágazó polimerek lehetnek dendrimer vagy hiperelágazós makromolekulák. A hiperelágazós polimerek elágazó, lineáris és terminális részekből épülnek fel, és ezek a szerkezeti elemek véletlenszerűen helyezkednek el a molekulában így nincs meghatározható főlánc. A hiperelágazós makromolekulák jelentősége folyamatosan növekszik, mert sokkal könnyebben, akár egyszerű egy lépéses eljárással is előállíthatók, sokkal könnyebben tisztíthatók, mint a dendrimer molekulák, továbbá számos hiperelágazós polimer biokompatibilisnek bizonyult.

Az elmúlt években egyre nőtt az gyógyszeripar és orvostudomány igénye a különböző biokompatibilis polimerek iránt, amiket fel lehet használni gyógyszerhatóanyagok szállítására. Ez azért is van így, mert ezeknek a polimereknek a funkcionálásával olyan szerkezetek nyerhetők, amik lehetővé teszik a szabályozott vagy célzott hatóanyag-leadást. Ezek között is kiemelt érdeklődés irányul a különböző rezponzív polimerekre, amiknek a tulajdonságai megváltoznak a körülmények, például hőmérséklet, pH, ionerősség, elektromos vagy mágneses tér erőssége, változásának hatására. Termoreszponzív polimernek nevezzük azokat a polimereket, amelyeknek egy adott hőmérséklet elérésének a hatására megváltoznak a tulajdonságaik. Ezek közül is kiemelkednek azok a biokompatibilis homo- és kopolimerek, amiknek a filicitása változik a hőmérséklet hatására, mely a polimer

kicsapódását, illetve oldódását eredményezi. Azt a hőmérsékletet, ahol ez a változás bekövetkezik nevezzük kritikus szételegyedési hőmérsékletnek (critical solution temperature, CST). Intenzív kutatások folynak olyan termoreszponzív polimerekkel, melyeknek a CST értéke az emberi test hőmérsékletének közelében van, mivel ezek az intelligens viselkedésükkel járó szerkezetváltozás révén felhasználhatók többek között hatóanyag szállításra és leadásra.

Mindezek alapján a munkám során megkíséreltem olyan termoreszponzív kopolimereket előállítani, melyek hiperelágazásos oldalláncokat tartalmaznak és vizsgálni kívántam ezek tulajdonságait és hatóanyagghordozóként történő alkalmazhatóságukat.

2. Irodalmi összefoglaló

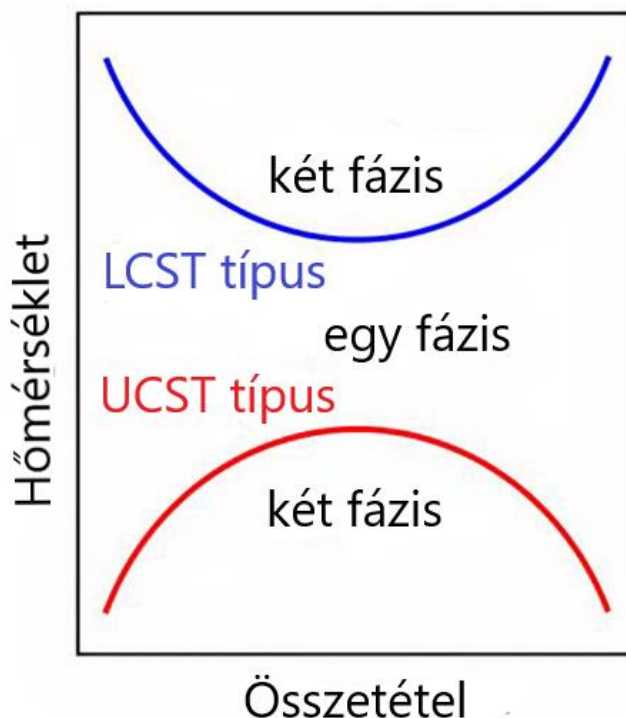
2.1. Termoreszponzív anyagok

Reszponzív (intelligens) anyagoknak azokat az anyagokat nevezzük, melyek érzékelik a környezetük fizikai, kémiai vagy biológiai állapotának jellemzőit és azok változásait, majd ezekre saját tulajdonságaik megváltoztatásával egyértelmű, reverzibilis és nem lineáris választ adnak. Fontos, hogy a környezet kismértékű átalakulására is jól érzékelhető (mérhető), nagyfokú tulajdonságbeli változással reagáljanak, és ez a folyamat megfordítható legyen, tehát a hatás megszűnte után visszaálljon az eredeti állapot. Az intelligens anyagokat két nagy csoportra lehet osztani. Az egyik típus a közvetlen környezet változásait (hőmérséklet, pH, fény, elektromos és mágneses mezők, ionhatás, látható és UV sugárzás, mechanikai hatások stb.) érzékeli, míg a másik típusba tartozó anyagok elektronikus jel formájában kapják a változásukhoz szükséges információt.

Az intelligens anyagok bemutatásakor számos példával élhetünk, meg kell azonban különböztetnünk a kemény és a lágy anyagokat. Kemény anyagok az alakmemóriával rendelkező fémek és polimerek, illetve bizonyos fémötvözetek, melyek mágneses tér hatására változtatják a méretüket. Lágy anyagok közé sorolhatók a rugalmas polimerek, valamint a szilárd és folyadék halmazállapot között elhelyezkedő, nagy folyadéktartalmú gélek.

A hőmérséklet érzékenység azt jelenti, hogy egy adott hőmérséklet környékén kis hőmérsékletváltozásra is jelentős átalakulás tapasztalható a polimer tulajdonságaiban. A termoreszponzív viselkedés számos formában megvalósulhat, ilyen lehet többek között az alak vagy a szín megváltozása, de egyes esetekben a vízdoldhatóság változik meg a hőmérséklet változásával [2,3]. Mint az **1. ábra** mutatja, a vízdoldhatóságban megnyilvánuló termoreszponzív viselkedés is különféle lehet. Az alsó kritikus szételegyedési hőmérséklettel (Lower Critical Solution Temperature, LCST) rendelkező termoreszponzív anyagok esetén egy, az összetételtől függő karakterisztikus hőmérséklet, a kritikus szételegyedési hőmérséklet (CST) alatt a rendszer egyfázisú, a komponensek elegyednek egymással, míg afölött szételegyedés történik. A fázisdiagram minimuma adja meg az LCST értékét. A felső kritikus szételegyedési hőmérséklettel (Upper Critical Solution Temperature, UCST) rendelkező anyagok esetében pedig ugyancsak az összetételtől függő karakterisztikus

hőmérséklet alatt az oldat komponensei nem elegyednek, és a fázisdiagram maximumához tartozó hőmérséklet adja meg az UCST értékét [4,5].



1. ábra: Az LCST és UCST típusú anyagok fázisdiagrammja [5]

A termoreszponzív, vagy hőre érzékeny polimerek esetén lehetőség nyílik arra, hogy számos különböző mérési módszerrel határozzuk meg a CST értéket. Ilyen a fényszóródás mérés, UV-látható spektroszkópia, kalorimetria, NMR, infravörös, illetve fluoreszcencia spektroszkópia. Ezenkívül fontos megemlíteni, hogy a CST értéket gyakran felhősödési- és tisztulási hőmérsékletként (T_{CP} és T_{CL}) definiálják. Ezeket a kifejezéseket főleg akkor használják, ha a mérés optikai módszeren alapszik [2].

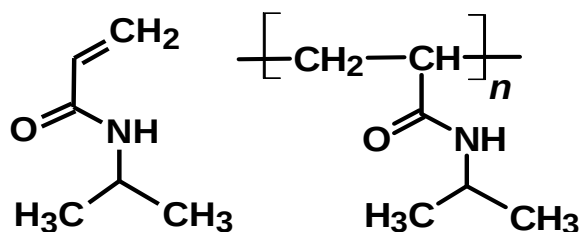
Az intelligens anyagok felhasználása rendkívül sokrétű, elég megemlítenünk az orvosi biológiai felhasználást (hatóanyag-leadás, génszállítás, szövet módosítás), a gélüvegeket, a különböző szenzorokat, kromatográfiás oszloptölteteket, öngyógyító rendszereket, hibrid anyagokat [6-9].

Mint ahogy korábban említettem, a termoreszponzív polimerek a fentebb tárgyalt előnyös tulajdonságaiknak köszönhetően alkalmasak lehetnek hatóanyag-hordozó rendszerekként is. Hatóanyag-szállítás során a polimert bioaktív molekula oldatába helyezve, azok beépülnek a polimer aggregátum pórusaiba, majd az emberi szervezetben a gél szétesik a termoreszponzív viselkedés révén, és a hatóanyag nagymértékű leadása következik be. Alkalmaztak már termoreszponzív polimer

származékokat pH szenzitív hatóanyag-leadásra is, és többek között inzulin és ibuprofén szállítására [10,11].

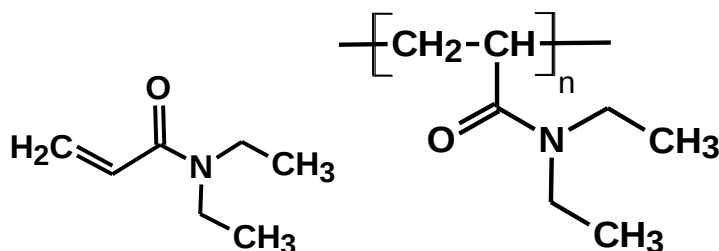
2.2. Poli(*N,N*-dietil-akrilamid) (PDEAAm) tulajdonságai és felhasználása

Az első olyan polimer, aminek vizsgálata során a hőmérséklet hatására történő filicitás megváltozását tapasztalták a **2. ábrán** látható poli(*N*-izopropil-akrilamid) (PNIPAAm) volt [3]. Mind a mai napig számos kutatás foglalkozik ezzel a polimerrel, mivel a PNIPAAm biokompatibilis, nem toxikus és kritikus szételegyedési hőmérséklete (CST) az emberi testhőmérséklet közelében van. A PNIPAAm felhasználása igen széleskörű, használják membránként, gélként és bioszenzorként is. Alkalmas gyógyszerhordozóként való használatra is [11].



2. ábra: A NIPAAm és PNIPAAm szerkezeti képlete

A poli(*N,N*-dietil-akrilamid) (PDEAAm) (**3. ábra**) szintén egy széleskörűen vizsgált termoreszponzív polimer. A PDEAAm makromolekula biokompatibilitása jobb a poli(*N*-izopropil-akrilamid)énál (PNIPAAm) és azonos körülmények között a CST értéke hasonló tartományban helyezkedik el, a mérési módszertől függően 31-37 °C körüli.



3. ábra: A DEAAm és PDEAAm szerkezeti képlete

Bár a molekuláris szerkezete analóg a PNIPAAm-éval, a termoreszponzív viselkedése eltérő, ami abból fakad, hogy a PDEAAm hidrofóbabb a PNIPAAm-nál. A

PNIPAAm képes donorként és akzeptorként is viselkedni, viszont a PDEAAm csak akzeptorként viselkedik, mivel az amid csoportján nincs hidrogén atom. A PDEAAm kapcsán megfigyelték azt is, hogy képes aggregátumokat képezni az CST érték alatt is, vagyis a PDEAAm nem molekulárisan oldódik a vízben, ami egy másik jelentős eltérés a PNIPAAm-hoz képest. A PDEAAm aggregátumok viselkedése hasonló a mikrogélekéhez, méretük pedig a nanométer tartományban van [12]. Kutatások bizonyították, hogy a PDEAAm felhősödési pontja és CST értéke függ a polimer takticitásától. Az izotaktikus PDEAAm hidrofílebb viselkedést mutatott, mint a szindiotaktikus, ezért a CST értéke nagyobb az izotaktikus PDEAAm oldataiban [13].

Lineáristól eltérő szerkezetű PDEAAm-ot is előállítottak már korábban, például csillag polimereket, melyek 3, 4, vagy 6 kart tartalmaztak (s-PDEAAm₃, s-PDEAAm₄, s-PDEAAm₆). A vizsgálatok során azt találták, hogy ezek a fajta csillag polimerek és kopolimerjeik (s-PDEAAm-ko-DMAAm) megőrzik a termoreszponzív tulajdonságaikat [14]. Az irodalomban leírták poli(*N,N*-dietil-akrilamid-ko-glicidil-metakrilát) P(DEAAm-ko-GMA) kopolimerek előállítását, ami során a beépült epoxi funkciós csoportok lehetőséget adnak további módosításokra, illetve katalitikusan aktív polimer-enzim nanorészecskék előállítására. Külön kiemelendő, hogy a kapott kopolimer képes egy lépésben enzimkonjugátumokat kialakítani, az enzimek aminos csoportján keresztül [4]. Lehetséges előállítani olyan kopolimereket, amik nem csak egyfajta környezeti hatással szemben mutatnak rezponzív viselkedést. Ilyen a poli(4-vinilpiridin/*N,N*-dietilakrilamid-ko-glükóz oxidáz) P(4VP/DEAAm-ko-GOD), ami egyaránt pH, hőmérséklet, ClO₄⁻ és SO₄²⁻ ion érzékeny. Továbbá azt is megfigyelték ezeknek a kopolimereknek a vizsgálata során, hogy a belőlük kialakított filmben elhelyezett oxidáz enzim megőrizte a bioaktivitását [15].

Másik lehetséges felhasználása a PDEAAm-nak elektrokémiai szenzorok előállítása. Ennek jó példája a karboxilcsoportokkal funkcionizált sokfalú szén nanocsövek (Multi-walled carbon nanotubes) (MWCNT(COOH)) felhasználásával készített PDEAAm alapú szenzor, melynek acetaminofén kimutatási képessége a hőmérséklet függvényében ki-be kapcsolható. Ez azzal magyarázható, hogy a PDEAAm láncok az LCST fölött összezsugorodnak, mely elősegíti a MWCNT(COOH) elektrokémiaileg aktív részeinek reakcióját. Továbbá kimutatták, hogy ez a folyamat reverzibilis [16].

Az elmúlt időszakban komoly tudományos érdeklődés irányult a PDEAAm hidrogélek kutatására. Igazolták, hogy LCST alatti hőmérsékleten a PDEAAm

hidrogélek egyensúlyi vizes duzzadása kisebb az azonos összetételű PNIPAAm hidrogélek esetén mérhető duzzadási értéknél, azonban ez a különbség a kritikus hőmérséklet felett a térhálók zsugorodásának következtében megszűnik. A hidrogél vízfelvétele szintén lassabb, viszont a víz leadása közben nem figyelhető meg eltérés. Ezek a tulajdonságok visszavezethetők a hidrofób oldalláncok jelenlétére. Igazolták, hogy a PDEAAm hidrogél képes megkötni inzulint, és a hatóanyag-leadása közel lineáris az idő függvényében [17]. PDEAAm kopolimerjeiből is lehet hidrogéleket készíteni. Az egyik ilyen a poli(*N,N*-dietil-akrilamid-*ko*-metakrilsav) P(DEAAm-*ko*-MAA), ami biokompatibilis és az LCST értéke egyes összetételekben a 37 °C-ot is eléri. Ebből készített hidrogél salecannal tovább módosítható. A salecan jelenléte növelte a hidrogél duzzadását, de csak az LCST érték alatt. A metakrilsavon található karboxilcsoportok jelenléte miatt a hidrogél pH érzékenységet is mutat, ami abban nyilvánult meg, hogy a duzzadás mértéke függött a pH értékétől. Magasabb pH-n a duzzadás mértéke nőtt 7,4-ig, utána viszont kismértékben csökkent [18]. A poli(*N,N*-dietil-akrilamid-*ko*-itakonaminsav) (P(DEAAm-*ko*-IAM)) és a belőle készíthető hidrogél hőmérséklet és pH érzékeny is, mivel az itakonaminsavon amino- és karboxilcsoport is megtalálható. A pH változásával a hidrogél duzzadása is változott. 4-es pH-ig nőtt, majd csökkent 7-es pH-ig, aztán a duzzadás mértéke meredeken nőni kezdett 8-as pH-ig, majd megint csökkent. A kopolimer CST értéke nőtt a hidrophil IAM molekulák jelenléte miatt, illetve egy bizonyos IAM tartalom fölött a termoreszponzív viselkedés meg is szűnt [19].

2.2.1. Poli(*N,N*-dietil-akrilamid) tartalmú hatóanyaghordozó rendszerek

A gyógyszeripar többféle olyan hatóanyagot ismer, amik bár hasznos tulajdonságokkal rendelkeznek, a hidrofobicitásuk miatt nem juttathatók be a szervezetbe, vagy a szervezeten belül rövid idő alatt elbomlanának, akár károsítva az egészséges szöveteket is. Ilyen esetekben gyógyszerhordozó anyagokra van szükség. Ilyenek lehetnek a különböző nanoméretű anyagok (pl. micellák, vezikulák), amik képesek nemcsak a hatóanyag szállítására, de a célzott leadására is. Többféleképpen lehet bejuttatni a kívánt anyagot a micellába. A legegyszerűbb esetben mind a hatóanyagot, mind a polimert vízben oldják, és így keletkeznek a hatóanyaggal töltött micellák. Elterjedt módszer még az úgynevezett nanoprecipitáció, mely során a hatóanyagot egy vízzel elegyedő szerves oldószerben oldják (pl. aceton),

majd ezt az oldatot adagolják a polimer vizes oldatához. Azt, hogy mennyi hatóanyag juttatható be egy micellába, több tényező is befolyásolja: például a polimer szerkezete, koncentrációja, a bejuttatni kívánt hatóanyag minősége és mennyisége, a micellaképzési módszer és annak komponensei és körülményei, a hidrofób blokk hossza és a hidrofób/hidrofil blokkok aránya [20].

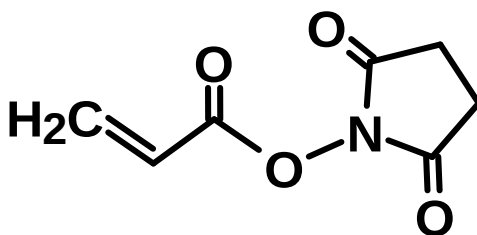
A poli(*N,N*-dietil-akrilamid-ko-poli(etilén-glikol)) (PDEAAm-ko-PEG) blokk-kopolimerek alkalmasak lehetnek hatóanyaghordozó rendszerként történő alkalmazásra. A (PDEAAm-*b*-PEG) blokk-kopolimerek előállíthatóak *N,N*-dietil-akrilamid monomerből és ditiolészter végű PEG lánc felhasználásával. A kapott blokk-kopolimer CST értéke függött a PDEAAm lánc hosszától és a polimer koncentrációjától, továbbá a hidrofil PEG lánc hosszának növekedésével nőtt az értéke. A kopolimer kapcsán megfigyelték, hogy már a CST érték alatt is aggregátumokat képez, hasonlóan a PDEAAm homopolimerhez [21]. ABA szerkezetű blokk-kopolimerek is előállíthatóak. A hidrofil PEG lánc miatt ebben az esetben is nőtt a CST érték, aminek a mértéke befolyásolható a polimer láncok hosszának változtatásával. A képződő micellák mérete szintén változik a láncok hosszának változtatásával. A micellák alkalmasnak bizonyultak progeszteron felvételére és a felvett hatóanyag egyenletes ütemben történő leadására [22].

A PDEAAm-ból készült hidrogélekre is komoly figyelem irányul, mivel termoreszponzív viselkedést mutatnak és alkalmasak lehetnek gyógyszerhatóanyagok hordozására és célzott leadására, a gélek hőmérséklet hatására történő duzzadásának változása révén. Az egyik gyakran alkalmazott anyag a doxorubicin, ami egy kemoterápiás hatóanyag, mely jól használható szilárd tumorok esetén, mint például a mellrák. Továbbá mint már korábban említettem, a PDEAAm hidrogél inzulin megkötésére is alkalmas [17,23]. PDEAAm kopolimerekből is lehet hidrogélt előállítani, amik szintén alkalmasak gyógyszerhatóanyag felvételére. Ilyen lehet a poli(*N,N*-dietil-akrilamid-ko-*N*-hidroximetil-akrilamid) alapú hidrogél, ami a homopolimerhez képest lassabban adja le a hatóanyagot, főleg magasabb hőmérsékleten. A hidrogél alkalmas aminofillin szállítására, ami a hörgőtágító teofillin és etilén-diamin 2:1 arányú vegyülete [24]. Ezen kívül kutatások igazolták, hogy a poli(*N,N*-dietil-akrilamid-ko-*N,N*-dimetil-akrilamid) és poli(*N,N*-dietil-akrilamid-ko-*N*-vinil-pirrolidon) hidrogélek szintén alkalmasak aminofillin felvételére és leadására [25].

2.3. Termoreszponzív kopolimerek és gélek

Az irodalomban rendkívül nagyszámú példát találhatunk arra, ahol az egyes termoreszponzív monomereket különféle komonomerekkel kopolimerizálnak [2,4,11,15,17,21,22], illetve különféle összetételű géleket [16,18] készítettek belőlük. Az így kapott polimerek CST értékei változnak, illetve újfajta lehetőségek jelennek meg az alkalmazásukban. A CST érték viszonylag jól befolyásolható: ha hidrofób monomert építünk be a láncba, akkor ez az érték csökken, viszont hidrofil monomer beépítésével ez az érték növelhető. Például a poli(*N*-izopropil-akrilamid-ko-(trimetoxiszilil)propil-metakrilát) kopolimer esetében 5 mol% TMSPSA tartalom mellett a T_{CP} értéke 6 °C-ot csökken, viszont poli(*N*-izopropil-akrilamid-ko-itakonaminsav) P(NIPAAm-ko-IAM) esetében a T_{CP} értéke jelentősen nőtt [2,17]. Termoreszponzív és pH érzékeny monomerek kopolimerizációjával pedig duálisan reszponzív polimereket lehet előállítani, amiknek nagy jelentőségük van a gyógyászatban [4,5,16,17].

2.3.1. Termoreszponzív kopolimerek és hidrogélek előállítása *N*-akriloxi-szukcinimiddel



4. ábra: *N*-akriloxi-szukcinimid szerkezeti képlete

Az *N*-akriloxi szukcinimid (NAOS) vagy másik, az irodalomban szintén használt nevén az *N*-hidroxiszukcinimid-akrilát egy hidrofób molekula, amit több esetben is alkalmaztak, mint prekuzort különféle poliakrilamidok, illetve lineáris poli(*N*-allil-akrilamid)ok előállítására [26]. Az irodalomban több esetben is említik, mint alkalmas monomert a NIPAAm-mal való kopolimerizációhoz. Az így kapott kopolimerek alkalmasak lehetnek a biomolekulák vizsgálatára is, mint például különböző peptidek [27]. Termoreszponzív hidrogélt is elő lehet állítani *N*-akriloxi-szukcinimid felhasználásával. Egy ilyen lehetséges összetétel a poli(*N*-izopropil-akrilamid-ko-akrilsav-ko-*N*-akriloxi-szukcinimid-ko-2-hidroxietil-metakrilát) (P(NIPAAm-ko-AAc-ko-NAOS-ko-HEMA)). Ez a hidrogél termoreszponzív és biokompatibilis tulajdonságokkal rendelkezik, valamint mérésekkel igazolták azt is, hogy a NAOS mennyiségének

változtatásával a Young–modulusz is befolyásolható. A kapott hidrogél alkalmasnak bizonyult arra, hogy Inzulinszerű Növekedési Faktor 1-et (IGF-1) kössenek meg a felületén a NAOS ismétlődő egységekben található szukcinimid gyűrű segítségével [28]. Másik lehetséges felhasználási területe a P(NIPAAm-ko-NAOS) kopolimereknek a termoreszponzív felületek kialakítása üveglapokon és friteken. Az ilyen típusú polimerek vizsgálata közben azt tapasztalták, hogy az LCST értéke 23 °C-ra csökkent, és értéke jelentősen függött az oldatban lévő ionok koncentrációjától [29].

Ezen kívül több példát találni arra, hogy poli(*N,N*-dimetil-akrilamid-ko-*N*-akriloxi-szukcinimid) P(DMAAm-ko-NAOS) blokk és random kopolimert állítottak elő RAFT polimerizációval, melyeknek a molekulatömeg-eloszlása igen szűk volt [30,31]. Az irodalomban található példa arra is, hogy poli(*N,N*-dimetil-akrilamid)-*b*-poli(*N*-izopropil-akrilamid-ko-*N*-akriloxi-szukcinimid) PDMAAm-*b*-P(NIPAAm-ko-NAOS) blokk-kopolimert állítottak elő, amit fel lehet használni egyfalú karbon nanocsövek (Single-Walled Carbon Nanotubes (SWCNT)) funkcionálására. Ezzel a módszerrel vízben oldható szerkezeteket lehet előállítani [32].

A munkám során előállítani tervezett P(DEAAm-ko-NAOS) kopolimer előállítására és vizsgálatára azonban a legjobb ismereteink szerint az irodalomban nem található példa.

2.4. Ojtott termoreszponzív polimerek

Az ojtott polimerek olyan kopolimerek amelyekben lineáris főlánchoz egy másik polimer láncai véletlenszerűen kapcsolódnak. Az ojtott polimereket számos területen alkalmazzák, főleg, amikor a cél jó mechanikai tulajdonságú polimerek előállítása. Ezen kívül membránok és hidrogélek előállítására és gyógyszerhatóanyag szállításra alkalmas ojtott polimerek is léteznek. [33,34]. Továbbá emulgeálószerkezeteket is lehet készíteni különféle filicitású polimerek ojtásával, melyekre jó példa a különböző PEG ojtott szilikon kopolimerek [35].

Termoreszponzív polimerek esetén az ojtással változtatható a CST érték. Ez az érték nagymértékben nő, ha például hidrofób oldalcsoportokat tartalmazó termoreszponzív kopolimerre ojtunk egy hidrofil polimert [36]. Termoreszponzív polimereket ojtottak már többféle polimerrel, ezek közül kiemelném a poli(etilén-glikol)t (PEG). Az irodalomban például PEG-gel ojtott *N*-izopropil-akrilamidból mikrogéleket állítottak elő, amiknek a mérete és a duzzadási foka függ a hőmérséklettől [37].

További intenzív vizsgálatok folynak a PNIPAAm különböző kopolimerjeire ojtott PEG változatok kapcsán. Ilyen kopolimerek a poli(*N*-izopropil-akrilamid-ko-2-(diethylamino)etil-metakrilát), és a poli(*N*-izopropil-akrilamid-ko-metakrilsav), melyekben a funkciós monomerek amin- illetve karboxilcsoportja lehetőséget ad a funkciós PEG ojtására. A PEG ojtásával a PNIPAAm alapú kopolimerek LCST értéke növelhető, és az így kapott termék metakrilsav tartalma miatt érzékeny lesz a pH megváltozására [38].

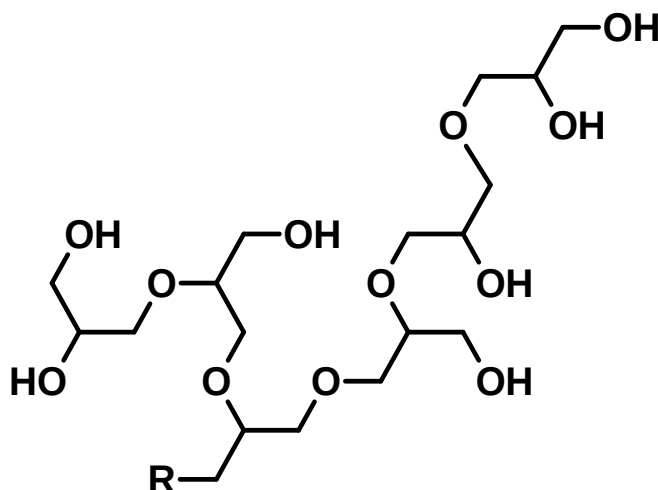
Előállítottak már PEG-gel ojtott PDEAAMBól kiindulva hidrogéleket, amelyeknél azt figyelték meg, hogy a hidrogél gélkollapszus hőmérséklet (Gel Collapse Temperature (GCT)) értéke függ az oldatban lévő elektrolitok mennyiségétől, mivel azok képesek kölcsönhatásba lépni a polimer láncokkal, így csökkenteni a CST értékét. A kapott hidrogél alkalmas arra, hogy sejteket kössenek meg a felületén [39]. A PDEAAM-ot PEG-en kívül PVA-val is lehet ojtani. Az előállított kopolimerből membránokat lehet készíteni, aminek a tulajdonságai, például a duzzadás mértéke jól befolyásolható az összetétellel [40]. Szintetikus polimerek mellett a PDEAAM poliszacharidokkal is ojtható, mint például pektinnel. A kopolimert mikrohullám-indukált szabad gyökös polimerizációval állították elő, TEMED katalizátor jelenlétében. A kapott kopolimer LCST értéke nem változott számottevően az ojtás hatására. A kopolimert tovább módosították úgy, hogy NaOH, ZnCl₂ és kitozán oldatot adtak hozzá. Az így kapott biokompatibilis molekula képes hatóanyag szállításra, valamint pH- és termoreszponzív tulajdonságokon alapuló célzott hatóanyag-leadásra [41].

Habár a termoreszponzív (ko)polimerek szakirodalma rendkívül szerteágazó, hiperelágazásos polimerrel ojtott termoreszponzív kopolimerek előállításával és vizsgálatával foglalkozó tudományos közlemény legjobb ismereteink szerint nem lelhető fel.

2.5. Hiperelágazásos poliglicidol

Sunder és munkatársai 1999-ben publikálták a hiperelágazásos poliglicidol (HbPG) szabályozott előállításának módszerét, amit anionos gyűrűfelnnyílásos multielágazásos polimerizációnak neveztek (ROMBP). Az eljárás lényege, hogy a monomert lassú adagolással juttatták a reakcióelegybe elkerülve ezzel a monomer szabad hidroxilcsoportjára történő láncátadást. Így jól definiált molekulatömegű és szűk molekulatömeg eloszlású HbPG-t állítottak elő [42]. A HbPG előállítása kationos

gyűrűfelynyílásos polimerizációval is lehetséges. Ebben az esetben Lewis-savakat használnak iniciátorként. A folyamat aktív láncvég vagy aktivált monomer mechanizmus szerint játszódik le [43,44]. Azonban kiemelendő, hogy kationos polimerizáció esetén funkciós iniciátorok alkalmazására és beépítésére nincs lehetőség.



5. ábra: A hiperelágazásos poliglicidol szerkezeti képlete

A HbPG egyszerűen előállítható, és kitűnő biokompatibilitással és vízzoldhatósággal rendelkező makromolekula. Ezen előnyös tulajdonságai és egyszerű funkcionizálhatósága miatt került a HbPG a polimer kémiai kutatások fókuszába. A láncvégi hidroxilcsoportok tovább funkcionizálhatóak, akár szelektíven is, például acetál vagy ketál funkciós csoportokkal. Megfelelő mennyiségű reagenssel a hidroxilcsoportok 100% -os konverziója érhető el. Ezen kívül bifunkcionális HbPG származék is előállítható. Az elreagálatlan hidroxilcsoportok polialkilezése szintén kivitelezhető. A ketál csoportok szelektíven visszaalakíthatóak hidroxilcsoportokká, viszont a polialkilezettek nem, így amfifil karakterű HbPG származék is előállítható [45]. A láncvégi hidroxilcsoportok karboxilcsoportokká oxidálhatóak, dimetilaminopiridin és borostyánkősav-anhidrát reagensek felhasználásával. A kapott makromolekula karboxilcsoportjai képesek megkötni a ciszplatin molekulákat, amit rák gyógyításában hasznosíthatnak. A vizsgálatok igazolták, hogy a ciszplatin leadása kontrollált, elnyújtott módon történt, viszont a nagyobb molekulatömegű HbPG esetében a leadás mértéke csökkent, vélhetően azért, mert a szabadon maradt karboxilcsoportok képesek voltak ismételt megkötni a hatóanyagot [46].

Számos olyan felhasználási területe is elképzelhető a HbPG-nek, melyben a hidroxilcsoportok mellett pontosan egy, a hidroxilcsoportoktól eltérő funkciós csoport lenne szükséges az adott célok elérésére. Az irodalomban található leírás a különböző lehetséges monofunkciós HbPG-k előállítására. Ilyen a ftálimid monofunkciós HbPG, ami könnyen átalakítható amin monofunkciós HbPG-vé hidrazin-monohidrát reagens alkalmazásával. Az amin-HbPG a megfelelő reagensek felhasználásával tovább funkcionálizálható, például borostyánkősav anhidrid és trietilamin felhasználásával karboxil-HbPG szintetizálható. Pentaklórfenilacetát reagens segítségével klóracetamid-HbPG állítható elő szobahőmérsékleten [47]. A ROMBP eljárás segítségével lehetőség nyílik arra, hogy megfelelő funkciós iniciátor alkalmazásával monofunkciós HbPG-t állítsunk elő. Hexin-1-ol iniciátor felhasználásával alkin monofunkciós HbPG állítható elő. Az így kapott makromolekula tovább funkcionálizálható, például különböző azidok cikloaddíciójával [48]. Ennek komoly biokémiai jelentősége van, mert lehetséges azid funkciós csoportot tartalmazó biomolekulákat például biotin-azidot vagy fluoreszcein-azidot reagáltatni az alkin monofunkciós HbPG-vel. Amennyiben amin csoportot tartalmazó aziddal reagáltatják az alkin HbPG-t, az előállított amin monofunkciós HbPG alkalmas lehet arra, hogy arany nanorészecskék felületén kössék meg. Az így kapott, HbPG-vel bevont részecskék stabilabbak voltak, mint az arany-citrát nanorészecskék, főleg oldott sókat tartalmazó vizes közegben [49]. Dodecil- és oktadecil-alkohol iniciátor segítségével is előállítható amfifil alkin monofunkciós HbPG, amely alkalmas stabilizálni poli(tejsav-ko-glikolsav) nanorészecskéket vizes közegben, biokompatibilis felületeket létrehozva [50].

Az irodalomban találni példákat arra is, hogy a HbPG-t termoreszponzív polimerekkel kopolimerizálták. Az egyik ilyen a HbPG-*b*-PNIPAAm blokk-kopolimer, ami reverzibilis oldhatósági tulajdonságokkal rendelkezik. A szintézis során a dendritikus HbPG-ből először makromolekuláris láncátadószert állítottak elő, amit a NIPAAm RAFT polimerizációjában alkalmazva nyerték a csillag szerkezetű kopolimert, melyben a HbPG magra ráépül a PNIPAAm héj. Az így előállított kopolimer CST értéke magasabb volt a PNIPAAm homopolimer CST értékénél [51].

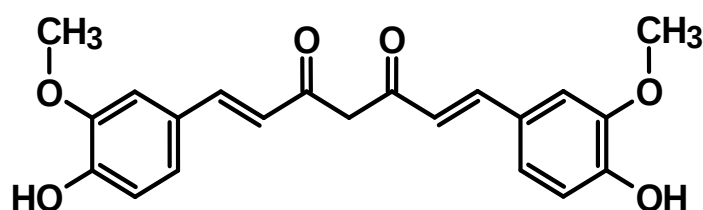
Részlegesen akrilezett HbPG-ből (5%) és PNIPAAm-ból nanogél lehet előállítani TEMED felhasználásával. A hidrogél CST értéke növekedett a hidrofil HbPG beépítésével. A kapott hidrogél termoreszponzív viselkedése a méretének hőmérsékletfüggésében is megjelent. A hőmérséklet növelésével a nanogél mérete

csökkent, de ez a tulajdonság a HbPG arányának növelésével visszaszorult. A nanogél termoreszponzív viselkedését nem befolyásolta az, ha megkötötték réz- illetve szilícium-dioxid felületén. Továbbá a vizsgálatok igazolták, hogy a nanogél nem volt citotoxikus [52].

A HbPG-t borostyánkősav-anhidriddel és izopropilaminnal reagáltatva termo- és pH szenzitív HbPG származék előállítására is van lehetőség. A mért CST értékek viszont alacsonyabbak a poli(*N*-izopropil-akrilamid) LCST értékénél (32 °C), ami visszavezethető a két polimer lánc szerkezete közti eltérésre. A termoreszponzív viselkedés függ a HbPG moláris tömegétől és az oldat pH értékétől. Nagyobb pH mellett a T_{CP} értéke is nő, illetve egy bizonyos pH fölött már nem lesz mérhető. A pH érzékenység az elreagálatlan karboxilcsoportok jelenlétével magyarázható és mértéke függ a funkciós csoportok mennyiségétől [53]. Az irodalomban nem található olyan tanulmány, amiben jól definiált monofunkciós HbPG-t ojtanak termoreszponzív polimerre, holott az ilyen fajta kopolimerek várhatóan többféle előnyös tulajdonsággal bírhatnak. Ezt figyelembe véve munkám ilyen típusú polimerek előállítására és vizsgálatára irányult.

2.6. Kurkumin

A kurkumin (6. ábra) egy polifenol vegyület, mely a kurkumában fordul elő, és ez adja a fűszer jellegzetes sárga színét. Az élelmiszeriparban ételszínezékként használják (E100).



6. ábra: A kurkumin szerkezeti képlete

A kurkumin lehetséges rákmegelőző tulajdonsággal rendelkező anyag. Igazolták, hogy különböző daganatos sejtek esetén hatékonyan képes befolyásolni a programozott sejthalált és a sejtciklusmegállást [54]. A kurkumin azonban egy vízben nagyon rosszul oldódó vegyület, valamint kevésbé stabil biológiai környezetben, ami jelentősen megnehezíti a terápiás szerként történő felhasználását. Ezeknek a problémáknak a megoldására többféle megközelítést kidolgoztak. Különböző

nanorészecskék mint például arany, szilika illetve különböző polimer nanorészecskék felületén kötötték meg a kurkumint. Ezeknek a rendszereknek a hatóanyag-leadása azonban nem bizonyult kellően hatékonynak [55]. Ezért kidolgoztak egy másik módszert, amely során vízben micellákat képző anyaggal szolubilizáltatják a kurkumint, ezzel megnövelve a vízdoldhatóságát, majd így juttatják be a szervezetbe. Ilyenek például a kitozán-dextránszulfát részecskék, amik célzottan juttatják el a hatóanyagot a tumorhoz, és az ott kialakult savas közeg hatására a hatóanyag felszabadul [56]. Ezen példa mellett, számos eltérő, önszerveződő amfifil polimer molekula esetén alkalmaztak kurkumint mint modell hatóanyagot a polimer hatóanyaghordozó rendszerként történő alkalmazhatóságának demonstrálására [57,58]. Arra is van lehetőség, hogy a kurkumin mellett más hatóanyagot is szállító részecskéket készítsenek. Ilyen lehet a mPEG-poli(platinum-ko-Cur)-mPEG, amelyben a kurkumin polimer láncban található a platina komplex alapú másik hatóanyag mellett. A lánc két végén poli(etilén-glikol)-monometil-éter található. A polimer vizes közegben nanorészecskévé áll össze. A tumor redukív környezetének hatására a Pt (IV) bioaktív Pt(II)-vé alakul, míg a kurkumin a savas közeg hatására szabadul fel. Így gyors és célzott hatóanyag-leadás megy végbe [59].

A fentieket figyelembe véve megkíséréltem az általam előállított HbPG tartalmú termoreszponzív polimerekkel a kurkumin szolubilizálását. Egyidejűleg megkíséréltem a vizsgált polimerek összetételének és a hőmérsékletnek a hatását is felderíteni a szolubilitás mértékére.

3. Célkitűzések

A munkám céljai között szerepelt termoreszponzív poli(*N,N*-dietil-akrilamid) (PDEAAM) homopolimer és különböző összetételű poli(*N,N*-dietilakrilamid-*ko-N*-akriloxi-szukcinimid) P(DEAAM-*ko*-NAOS) kopolimerek előállítása, ami révén az irodalomban eddig még nem vizsgált, további funkcionálizálásra alkalmas oldalcsoportot tartalmazó kopolimereket terveztem előállítani. Céлом volt továbbá az előállított PDEAAM homo- és kopolimerek karakterizálása, mely során a kapott polimereket ^1H -NMR spektroszkópiával, gélpermeációs kromatográfiával (GPC) és UV-Vis spektroszkópiával terveztem vizsgálni.

További céлом volt ftálimid-monofunkciós hiperelágazásos poliglicidol (HbPG) előállítása ftálimid/ftálimid-kálium iniciátor rendszerrel, majd az így előállított polimer karakterizálása. Ezt követően célul tűztem ki amin-monofunkciós HbPG előállítását a ftálimid-HbPG-ből kiindulva. Terveztem ennek ojtását a fent említett, általam előállított, különböző összetételű termoreszponzív P(DEAAM-*ko*-NAOS) kopolimerekre.

Céljaim között szerepelt, hogy vizsgáljam a PDEAAM termoreszponzív homo- és kopolimerek CST értékeit az *N*-akriloxi-szukcinimid komonomer függvényében, illetve, hogy UV-Vis spektroszkópiás mérésekkel vizsgáljam a HbPG ojtásának hatását a kopolimer termikus viselkedésére. Ezen felül terveim között szerepelt annak vizsgálata, hogy miként változik a CST érték a polimer koncentráció függvényében, illetve PBS puffer alkalmazása esetén. Vizsgálni terveztem a képződő micellák stabilitását is.

Végül tanulmányozni terveztem a kapott ojtott kopolimerek szolubilizációs képességeit kurkumin segítségével, illetve a kurkumin leadásának a vizsgálata is a terveim között szerepelt.

A tervezett vizsgálatok révén egy olyan új, korábban nem vizsgált termoreszponzív, biokompatibilis makromolekula nyerhető, mely alkalmas lehet termikusan indukált hatóanyaghordozó rendszerként történő felhasználásra.

4. Kísérleti rész

4.1. Felhasznált anyagok

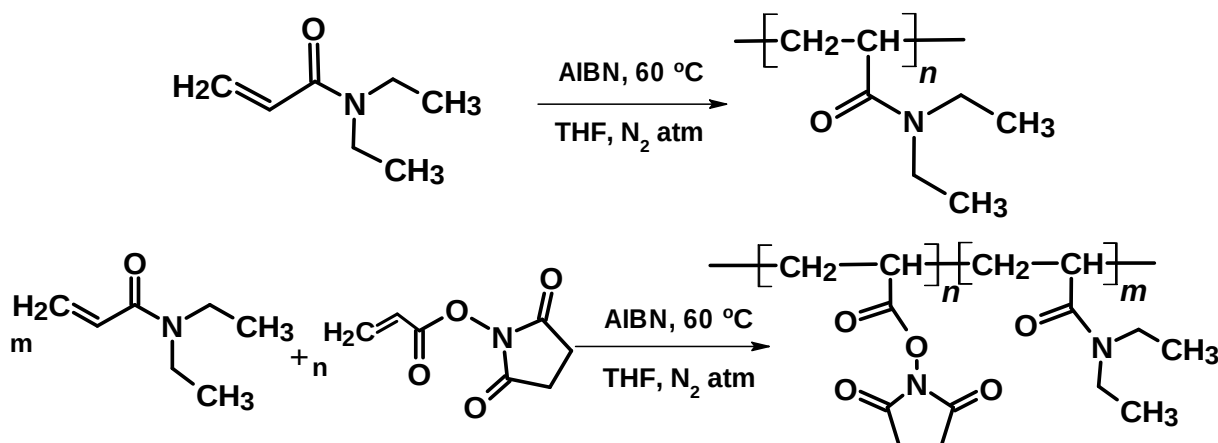
1. táblázat: A felhasznált anyagok

Az anyag neve	M (g/mol)	ρ (g/cm ³)	Forgalmazó
Abszolút etanol (EtOH)	46,07	0,79	Molar Chemicals Kft.
Azobisz(izobutironitril) (AIBN)	164,21	-	Sigma Aldrich
Dietil-éter	74,12	0,71	Molar Chemicals Kft.
Ftálimid	147,13	-	Sigma-Aldrich
Ftálimid-kálium	185,20	-	Sigma-Aldrich
Glicidol	74,08	1,12	Sigma-Aldrich
n-Hexán	86,18	0,65	Molar Chemicals Kft.
Hidrazin-monohidrát	50,06	1,03	Molar Chemicals Kft.
Kurkumin	368,38	-	Molar Chemicals Kft.
Metanol	32,04	0,79	Sigma Aldrich
<i>N</i> -akriloxi szukcinimid (NAOS)	169,13	-	Sigma Aldrich
<i>N,N</i> -dietil-akrilamid (DEAAm)	127,39	0,924	Sigma-Aldrich
Tetrahidrofurán (THF)	72,11	0,89	Molar Chemicals Kft.
TWEEN 80	1310	1,06	Sigma-Aldrich

Felhasználás előtt a DEAAm és glicidol monomert vákuum desztilláltam, a THF-et pedig légköri nyomáson desztilláltam, hogy megtisztítsam az esetleges szennyeződésektől. Az AIBN-t kétszer átkristályosítottam metanolból. A többi anyagot közvetlenül, tisztítás nélkül alkalmaztam munkám során.

4.2. A termoreszponzív homo- és kopolimerek előállítása

PDEAAm homopolimert és különböző összetételű P(DEAAm-ko-NAOS) kopolimereket állítottam elő szabadgyökös kopolimerizációval. A polimerizációk reakcióegyenletei a **7. ábrán** láthatók.



7. ábra: A PDEAAm homopolimer és a P(DEAAm-ko-NAOS) kopolimer előállítása

A homo- és kopolimerek szintézisének első lépéseként bemértem a megfelelő mennyiségű monomereket egy gömblombikba, amit 16 ml desztillált tetrahidrofuranban oldottam. A kopolimerekben a DEAAm és a NAOS monomerek tervezett aránya rendre 95:5, 90:10 és 85:15 volt. Az egyes reakciók során alkalmazott pontos bemérések a **2-5. táblázatokban** olvashatók. A reakciólombikot szeptummal lezártam, N_2 atmoszféra alá helyeztem úgy, hogy a reakcióelegyen legalább 15 percig N_2 -t buborékolttam át, ezzel oxigénmentes környezetet biztosítottam. Ezt követően állandó kevertetés közben 60 °C-ra melegítettem a reakcióelegyet és hozzáadtam az AIBN desztillált THF-es oldatát (0,025 mg/ml). A reakcióelegyet további 16 órán át kevertettem 60 °C-on, majd a keletkezett polimert kicsaptam tízszeres térfogatú n-hexánba. A kivált polimer ülepedését centrifugálással segítettem (4200 RPM, 15 perc) a kicsapószeret dekantáltam, majd a terméket 45 °C-on vákuum alatt tömegállandóságig szárítottam.

2. táblázat: A PDEAAm homopolimer előállítása során alkalmazott bemérések

	mólarány	n (mol)	$m_{\text{bemért}}$ (g)	$V_{\text{bemért}}$ (ml)
DEAAm	100	0,0157	2,0328	2,2
AIBN	1	0,000157	0,0258	1

3. táblázat: A P(DEAAm95-ko-NAOS) kopolimerek előállításához alkalmazott bemérések

	mólarány	n (mol)	$m_{\text{bemért}}$ (g)	$V_{\text{bemért}}$ (ml)
DEAAm	95	0,0149	1,848	2
AIBN	1	0,000157	0,0258	1
NAOS	5	0,000786	0,1341	-

4. táblázat: A P(DEAAm90-ko-NAOS) kopolimerek előállításához alkalmazott bemérések

	mólarány	n (mol)	$m_{\text{bemért}}$ (g)	$V_{\text{bemért}}$ (ml)
DEAAm	90	0,0141	1,8018	1,95
AIBN	1	0,000157	0,0256	1
NAOS	10	0,00157	0,2655	-

5. táblázat: A P(DEAAm85-ko-NAOS) kopolimerek előállításához alkalmazott bemérések

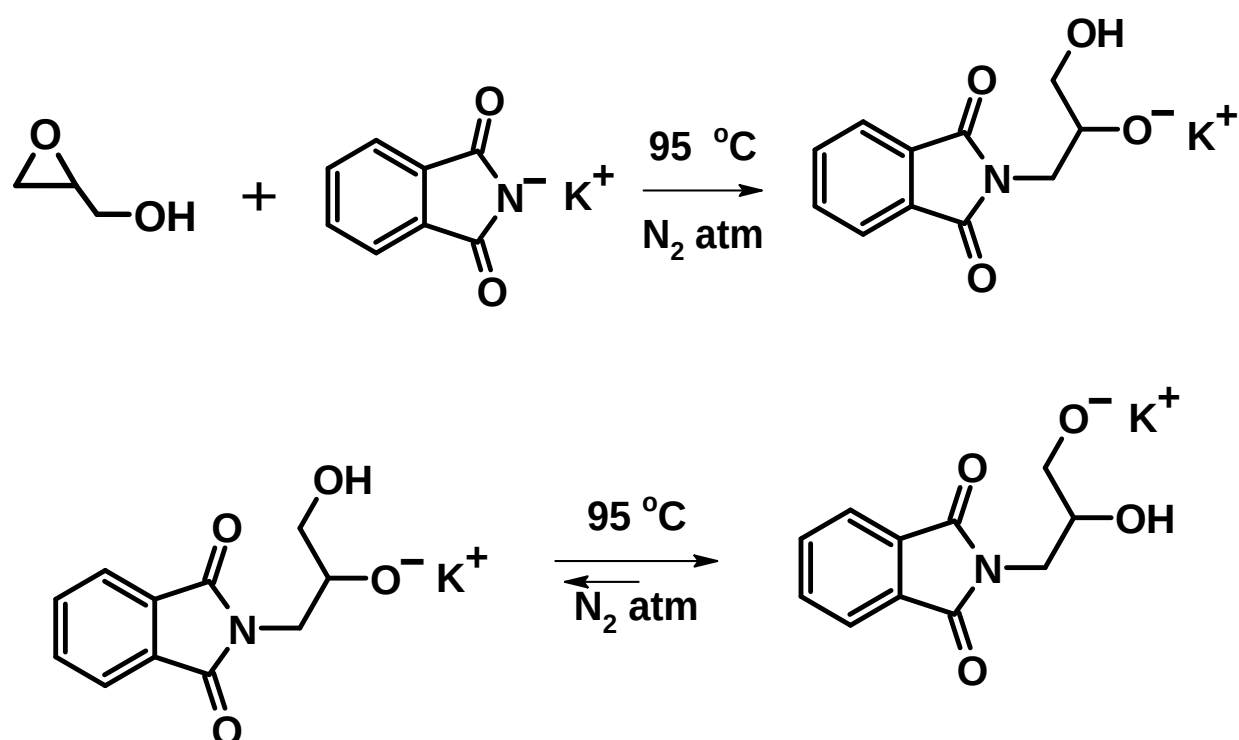
	mólarány	n (mol)	$m_{\text{bemért}}$ (g)	$V_{\text{bemért}}$ (ml)
DEAAm	85	0,0133	1,7094	1,85
AIBN	1	0,000157	0,0256	1
NAOS	15	0,00236	0,3918	-

4.3. Amin monofunkciós hiperelágazásos poliglicidol (NH₂-HbPG) előállítása

4.3.1. Hiperelágazásos poliglicidol (HbPG) előállítása ftálimid/ftálimid-kálium iniciátor rendszerrel

A **8. ábrán** látható reakcióséma szerint kivitelezett HbPG előállításához ftálimid és ftálimid-kálium 9:1 arányú iniciátor rendszert használtam. Az iniciátor rendszer összetevőit bemértem egy háromnyakú gömblombikba, melyhez mechanikus keverőt és vákuumline-t csatlakoztattam, a harmadik csiszolatot pedig szeptummal zártam le. A rendszert nitrogén atmoszféra alá helyeztem, majd 95 °C-ra melegítettem alumínium fűtőblokk segítségével. Ezután automata Kd Scientific

gyártmányú KDS100 típusú fecskendőpumpa alkalmazásával 2,5 ml/h sebességgel adagoltam a lombikba a desztillált glicidolt. A reakció során alkalmazott bemérések a **6. táblázatban** láthatóak. A glicidol beadagolása után még 18 óra utókevertetést alkalmaztam 95 °C-on. A kapott anyagot abszolút etanolban oldottam és kationcserélő gyantával (Amberlite IR120) töltött oszlopon vezettem át kétszer, hogy eltávolítsam a kálium ionokat. A kapott oldatot kisebb térfogatra pároltam be, majd tízszeres térfogatú dietil-éterben csaptam ki a polimert. Ezt követően dekantáltam a termékről a kicsapószert, majd 45 °C-os szárítószekrényben vákuum alatt tömegállandóságig szárítottam. Átlátszó, viszkózus anyagot kaptam. A kitermelés 89% volt.



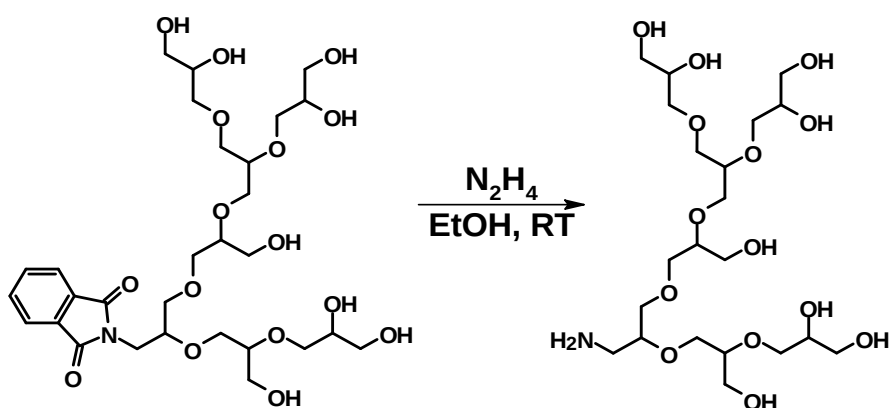
8. ábra: Ftálimid monofunkciós HbPG előállítása ROMBP eljárással

6. táblázat: A ftálimid-HbPG előállítása során alkalmazott bemérések

Reagens	mólarány	<i>n</i> (mol)	<i>m</i> _{bemért} (g)	<i>V</i> _{bemért} (cm ³)
ftálimid	1	0,010	1,5129	-
ftálimid-kálium	0,11	0,0011	0,2185	-
glicidol	12	0,136	10,041	9,00

4.3.2. NH₂-HbPG előállítása

Az előállított ftálimid-HbPG-t továbbalakítottam amin-HbPG-vé (NH₂-HbPG) hidrazin-monohidrát reagens felhasználásával (**9. ábra**).



9. ábra: Az amin monofunkciós HbPG szintézisének reakcióegyenlete

A bemért ftálimid monofunkciós HbPG-t feloldottam 70 ml abszolút etanolban, majd szobahőmérsékleten, állandó kevertetés mellett hozzácepegtettem 1,45 ml hidrazin-monohidrátot (7. táblázat). A reakcióelegyet egy éjszakán át szobahőmérsékleten kevertettem. Ezután a kivált fehér színű csapadékot leszűrtem, és a szűrletről az oldószer nagy részét eltávolítottam rotációs vákuumbepárlóval, majd a terméket kicsaptam tízszeres térfogatú THF-dietiléter elegyében (2:1 V/V%). Fehér színű anyag vált ki, aminek ülepedését centrifugálással gyorsítottam (4000 RPM, 15 perc), majd a kicsapószert dekantáltam a polimerről. A terméket szárítószekrénybe tettem és 45 °C-on vákuum alatt tömegállandóságig szárítottam. Sárga színű viszkózus anyagot kaptam. A kitermelés 75% volt.

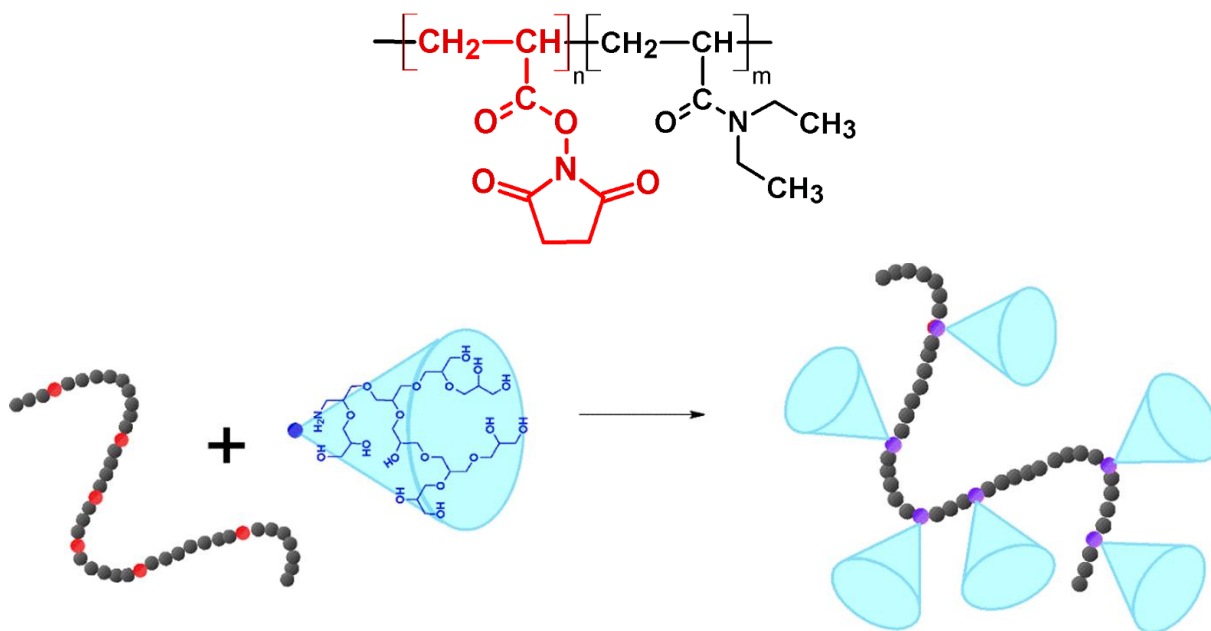
7. táblázat: Az NH₂-HbPG előállításánál alkalmazott bemérések

	<i>M</i> (g/mol)	mólarány	<i>n</i> (mol)	<i>m</i> _{bemért} (g)	<i>V</i> _{bemért} (ml)
HbPG	1100	1	0,0018	2,005	
Hidrazin-monohidrát	50,06	20	0,0364	1,4964	1,45

4.4. A termoreszponzív kopolimerek ojtása amin monofunkciós HbPG-vel

Az ojtott kopolimerek előállítása során a kopolimerekből kimértem 100 mg-t, feloldottam 5 ml metanolban és hozzáadtam a szükséges mennyiségű NH₂-HbPG

metanolos oldatát (20 mg/ml), úgy, hogy a kopolimerbe beépült NAOS-ra nézve 1 ekvivalens NH₂-HbPG tartalmú legyen az oldat. A reakcióelegyet metanollal kiegészítettem 10 ml-re, hogy az oldat koncentrációja 10 mg/ml legyen a polimerre nézve. Az elegyet szobahőmérsékleten kevertettem további 16 óráig. Az ojtott kopolimer előállításának sémája a **10. ábrán** látható.



10. ábra: Az ojtott kopolimer előállításának sematikus ábrázolása

Az ojtott kopolimerek metanolos oldatait dializáltam (SpectraPor 6, 1 kD) desztillált vízzel szemben három napon keresztül úgy, hogy a desztillált vizet naponta cseréltem. Ezután a dializált oldatokról liofilizálással (LaboGene SCANVAC) eltávolítottam az oldószert. Fehér, enyhén sárgás színű szilárd anyagot kaptam. A kitermelés minden esetben 20-55% közöttinek adódott.

4.5. Az előállított homo- és kopolimerek és az ojtott kopolimerek vizsgálata

4.5.1. ¹H-NMR spektroszkópia

Munkám során az előállított homo- és kopolimerek szerkezetét és a kopolimer összetételét, az ojtott kopolimereket, továbbá a HbPG számátlag molekulatömegét ¹H-NMR spektroszkópia segítségével vizsgáltam. A méréseket egy Varian (500 MHz ¹H frekvencia) készülékkel szobahőmérsékleten végeztem, oldószerként a minta oldhatóságának megfelelően CDCl₃-t, D₂O-t illetve DMSO-*d*₆-t használtam.

4.5.2. Gélpermeációs kromatográfia

Gélpermeációs kromatográfiával (GPC) határoztuk meg az előállított homo- és kopolimerek átlag molekulatömegét és molekulatömeg-eloszlását. Ezt két különböző műszeren, eltérő eluensekkel végeztük. THF eluensben 35 °C-on, 0,3 ml/perc áramlási sebesség mellett, Waters 515 HPLC pumpával, Waters 717 Plus Autosamplerrel, Waters Styragel HR1 és HR4 oszlopokkal és Agilent 1260 Infinity differenciális refraktométer alkalmazásával végeztük a méréseket. DMF eluensben történt vizsgálatokat 30 °C-on, 1 ml/perc áramlási sebesség mellett Waters 515 HPLC pumpával, Jasco AS-4150 Autosamplerrel, Waters Styragel HR1 és HR4 oszlopokon, Jasco 4035 differenciális refraktométer detektorral felszerelt GPC rendszerrel végeztük. A kiértékelés mindkét esetben PEG-standardokon alapuló konvencionális kalibráció alapján PSS WinGPC szoftverrel történt.

4.5.3. UV-VIS spektroszkópia

Az előállított homo- és kopolimerekből 1 mg/ml oldatot készítettem, amit UV-Vis spektroszkópiával vizsgáltam. A homo- és kopolimerek oldatainak transzmittanciáját 488 nm-en mértem 20-60 °C tartományban. A felfűtés sebessége 0,5 °C/min volt. Minden egyes mérés előtt 30 s szünetet állítottam be.

Az ojtott polimerekből 1, 5 és 10 mg/ml vizes oldatokat, valamint PBS pufferben 1 és 10 mg/ml koncentrációjú oldatokat készítettem és az ojtatlan kopolimerekkel megegyező módon mértem.

A stabilitás vizsgálatok során pedig 1 mg/ml polimer koncentrációjú oldatot készítettem desztillált vízben, és PBS oldatban, majd 24 órán keresztül vizsgáltam a transzmittancia változását 488 nm-en, 37 °C-on, 10 percenkénti méréssel. Ezen felül 10 mg/ml polimer koncentrációjú PBS oldat stabilitását vizsgáltam még 40 °C-on is, az előzőekkel megegyező beállításokat alkalmazva.

A méréseket kvarc küvettában végeztem, a referencia desztillált víz volt. Az alkalmazott műszer Jasco V-650 UV-Vis spektrofotométer volt, amely Jasco MCG-100 mini típusú cirkulációs fürdővel és Peltier fűtő/hűtő termosztáttal volt felszerelve.

4.6. Az ojtott PDEAAm hatóanyagfelvétele és leadása

Az amin-HbPG-vel ojtott P(DEAAm-ko-NAOS) kopolimerekből 10 mg/ml koncentrációjú oldatokat készítettem, amikből 1-1 ml oldatot mértem ki mintatartókba. A 25, 37, 40 és 45 °C hőmérsékleten termosztált oldatokhoz, illetve kontrollként desztillált vízhez 50 µl 10 mg/ml koncentrációjú kurkumin acetonos oldatát adtam állandó keverés mellett. Az oldatokat kevertettem egy éjszakán keresztül, miközben egy ismert tömegű kontroll minta felhasználásával meghatároztam az elpárolgott víz mennyiségét, amit pótoltam, hogy elkerüljem a térfogat csökkenésből származó koncentrációváltozást. Ezt követően a mintákat 0,45 µm pórusméretű fecskendőszűrővel szűrtem a kivált és nem szolubilizált kurkumin eltávolítása céljából. A szűrletből kivettem 50 µl-t és 0,95 ml etanolhoz adtam. Majd megmértem az etanolos oldatok abszorbanciáját 424 nm-en, etanol referencia mellett, polisztirol küvettában. Továbbá egy minta esetében gravimetriásan meghatároztam, hogy a szűrés okoz-e jelentős kopolimer veszteséget, de a mérések szerint a kiszűrt polimer mennyisége minimális volt. Így a többi minta esetében is a fentebb leírt módszert alkalmaztam. A hatóanyag-leadás követéséhez a fent leírtakkal azonos módon 45 °C-on készítettem kurkumint tartalmazó kopolimer oldatokat. Ezt követően az oldatokat belehelyeztem egy felülről zárható műanyag csőbe, amelynek alját dialízis membránnal zártam el (SpectraPor 6, 1 kD). A csöveket 37 °C-on termosztált 3 m/m% Tween 80-at tartalmazó PBS (8 g/L NaCl, 0,2 g/L KCl 1,42 g/L Na₂HPO₄, 0,24 g/L KH₂PO₄, pH= 7,4) oldatba merítettem. Ezután 50 µL oldatot vettem ki a csőből meghatározott időközönként (5, 10, 15, 30, 60 perc, stb.), amiket 0,95 mL etanollal hígítottam. Végül a kurkumin-leadás követésének céljából UV-Vis spektrofotométerrel megmértem az oldatok abszorbanciáját a hatóanyagfelvétellel megegyező módon. Ezeken kívül még elvégeztem egy kontroll minta (10/90 V/V% DMSO/víz oldószerkeverékben) hatóanyag-leadás vizsgálatát is a fent említett módon azért, hogy a kapott adatokat összehasonlítsam az ojtott kopolimerek hatóanyag-leadási értékeivel. Az elegyítés során kiváló kurkumint szűréssel (0,2 µm) távolítottam el az elegyből. Az összes mérésnél a külső oldatot 2 óránként friss PBS + Tween 80 oldatra cseréltem.

5. Eredmények és értékelésük

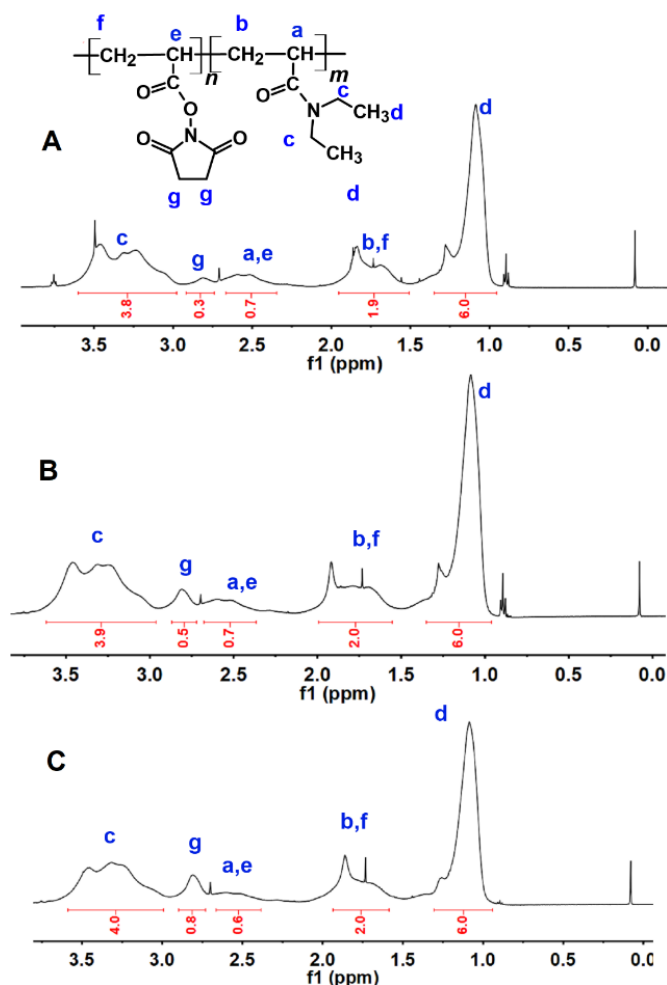
5.1. A termoreszponzív homo- és kopolimerek vizsgálata

Munkám során PDEAAm alapú funkciós kopolimereket állítottam elő, amiknek vizsgáltam a termoreszponzív tulajdonságait. Továbbá tanulmányoztam a kopolimerek reakcióját amin monofunkciós HbPG-vel, ezáltal az irodalomban eddig nem vizsgált ojtott kopolimereket állítva elő. Vizsgáltam az ojtott polimerek összetételét és tulajdonságait, köztük azt, hogy alkalmasak lehetnek-e hatóanyaghordozó rendszerként történő alkalmazásra.

5.1.1. A termoreszponzív polimerek vizsgálata ^1H -NMR spektroszkópiával és GPC-vel

Munkám első részeként szukcinimid oldalláncot tartalmazó PDEAAm alapú funkciós kopolimereket állítottam elő szabadgyökös polimerizációval. A kapott poli(*N,N*-dietil-akrilamid) homopolimert és a három eltérő összetételű poli(*N,N*-dietil-akrilamid) és *N*-akriloxi-szukcinimid tartalmú kopolimert ^1H -NMR spektroszkópiával és gélpermeációs kromatográfiával (GPC) karakterizáltam.

A P(DEAAm-ko-NAOS) kopolimerek ^1H -NMR spektrumait a **11. ábrán** mutatom be. A PDEAAm homopolimer ^1H -NMR spektruma az **F1. ábrán** látható a Függelékben. A PDEAAm homo- és kopolimereket CDCl_3 oldószerben vizsgáltam. A P(DEAAm-ko-NAOS) kopolimerek spektrumában az 1-1,3 ppm tartományban megjelenik a DEAAm láncvégi metilcsoportok protonjainak jele, továbbá 2,7-2,9 ppm tartományban egyértelműen megjelenik a NAOS szukcinimid gyűrűjének protonjaihoz tartozó jel, ami igazolja, hogy a kopolimerizáció mindhárom esetben sikeres volt. Ezeknek a karakterisztikus csúcsoknak a felhasználásával meghatároztam a kopolimerekben a komonomerek beépülési arányát a DEAAm metilcsoport protonok integráljának és a szukcinimid gyűrű protonjaihoz tartozó integrál másfélszeres értékének az arányából. A teoretikus és valós NAOS tartalmat az egyes kopolimerek esetében a **8. táblázatban** foglaltam össze. Ezekből jól látszik, hogy a monomerek beépülési aránya minden esetben nagyon közel esett a tervezetthez, tehát sikerült a kívánt összetételű kopolimereket előállítani.



11. ábra: A P(DEAAm-ko-NAOS) kopolimererek ^1H -NMR spektruma
(A - P(DEAAm95-ko-NAOS); B - P(DEAAm90-ko-NAOS); C - P(DEAAm85-ko-NAOS))

8. táblázat: A kopolimererek teoretikus és mért NAOS tartalma

Minta	$X_{\text{teor, NAOS}}$ (mol%)	$X_{\text{mért, NAOS}}$ (mol%)
P(DEAAm95-ko-NAOS)	5	7
P(DEAAm90-ko-NAOS)	10	11
P(DEAAm85-ko-NAOS)	15	17

A polimerek molekulatömeg-eloszlását és átlag molekulatömegét GPC-vel határoztam meg THF oldószerben, PEG kalibráció felhasználásával. A kiértékelés során kapott molekulatömeg-eloszlás görbék a **F1. ábrán** láthatók. A mérések eredményeit a **9. táblázatban** foglaltam össze.

A GPC analízis eredményei alapján elmondható, hogy az előállított polimerek számátlag molekulatömege 2600-3400 g/mol közé esik, mely a NAOS komonomer mennyiségének növelésével csökkenő tendenciát mutat, valamint megállapítható, hogy a minták molekulatömeg-eloszlása a szabadgyökös polimerizációra jellemzőnek adódott ($PDI=2,1-2,2$). (F3. ábra)

9. táblázat: A homo- és kopolimerek GPC vizsgálatának eredményei

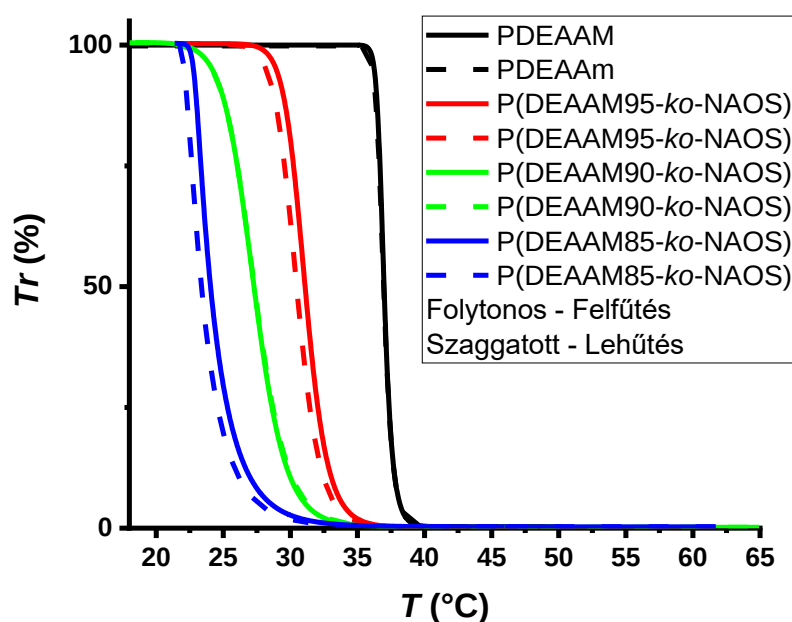
	X_{DEAAM} (mol%)	M_n (g/mol)	PDI
PDEAAM	100	3370	2,2
P(DEAAM95-ko-NAOS)	93	2990	2,2
P(DEAAM90-ko-NAOS)	89	2990	2,1
P(DEAAM85-ko-NAOS)	83	2630	2,1

5.1.2. A homo- és kopolimerek termoreszponzív viselkedésének vizsgálata

UV-Vis spektroszkópiával

A kapott anyagok termoreszponzív viselkedésének tanulmányozása végett a polimerek vizes oldatait UV-Vis spektroszkópiával vizsgáltam 22-60 °C tartományban, 488 nm-en, az 4.5.3 pontban leírt módon.

A felfűtés és a lehűlés során felvett transzmittancia értékeket ábrázoltam a hőmérséklet függvényében (12. ábra). A kapott felfűtési és a lehűlési görbéket megfigyelve, a PDEAAM homopolimer esetében hiszterézis, azaz a felfűtés és a lehűtés során mért görbék különbsége, nem tapasztalható, a NAOS tartalmú kopolimereknél pedig csak kismértékű hiszterézis figyelhető meg, sőt a P(DEAAM90-ko-NAOS) esetében a fűtési és a hűtési transzmittancia görbe teljesen egybeesik. A felfűtési és lehűlési görbéket deriváltam, majd a derivált értékeket is ábrázoltam a hőmérséklet függvényében. A minták felhősödési (T_{CP}) és tisztulási (T_{CL}) hőmérséklet értékeit a derivált görbék minimum értékei adták meg (10. táblázat).

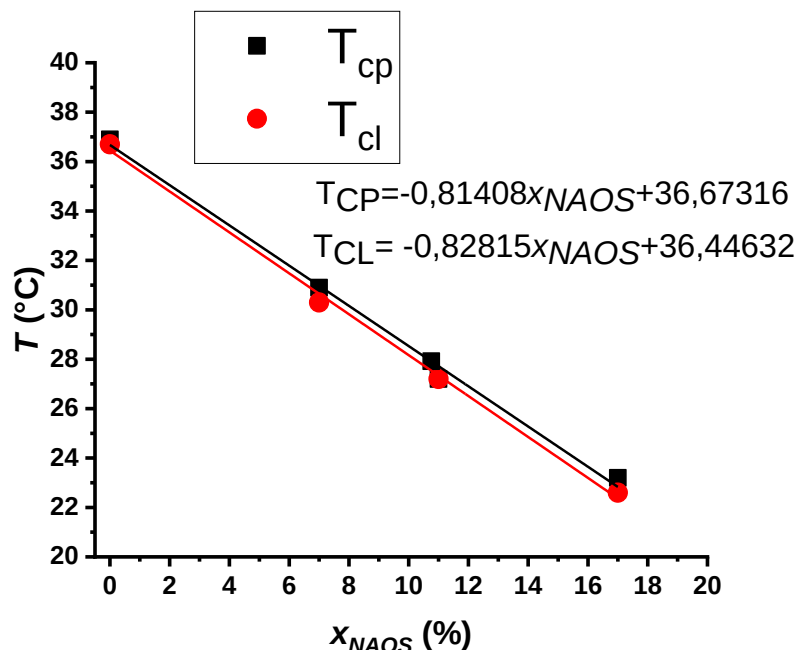


12. ábra: A PDEAAM homopolimer és a P(DEAAM-ko-NAOS) kopolimeres vizes oldatainak transzmittanciája a hőmérséklet függvényében

10. táblázat: A PDEAAM homopolimer és a P(DEAAM-ko-NAOS) kopolimeres összetétele, T_{CP} és T_{CL} értékei

	X_{NAOS} (mol%)	T_{CP} (°C)	T_{CL} (°C)
PDEAAM	0	36,9	36,7
P(DEAAM95-ko-NAOS)	7	30,9	30,3
P(DEAAM90-ko-NAOS)	11	27,2	27,2
P(DEAAM85-ko-NAOS)	17	23,2	22,6

Ahogy látható, a kopolimeres NAOS komonomer tartamának növelésével a transzmittancia görbék rendre az alacsonyabb hőmérsékletek irányába tolódnak. A T_{CP} és T_{CL} értékeket a NAOS tartalom függvényében ábrázolva (**13. ábra**) jól látszik, hogy a NAOS tartalom növekedésével ezek az értékek csökkennek, ami összhangban áll az irodalomban leírtakkal, vagyis, ha hidrofób monomert építünk be a polimer láncba, akkor a kritikus szételegyedési hőmérséklet értékek csökkennek. Külön ki kell emelnem, hogy a kapott eredmények alapján lineáris az összefüggés a mért CST értékek és a kopolimer NAOS tartalma között.



13. ábra: A T_{CL} és T_{CP} értékek változása a NAOS tartalom függvényében

5.2. A hiperelágazásos poliglicidol vizsgálata

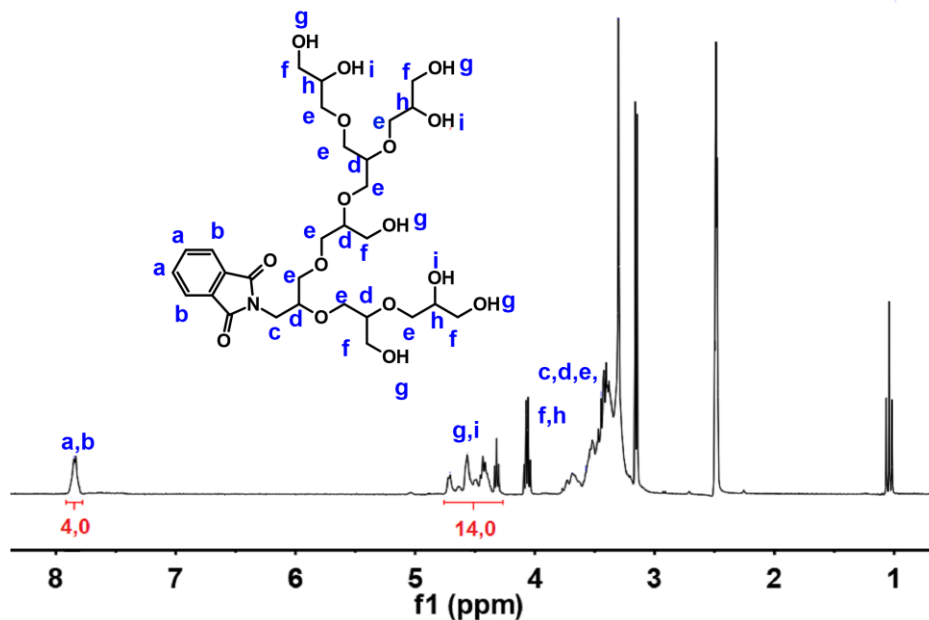
Munkám fő célja HbPG-vel ojtott termoreszponzív kopolimerek előállítása volt. Ehhez elő kellett állítanom az ojtáshoz megfelelő szelektív reakcióra alkalmas, jól definiáltan monofunkciós HbPG-t. Ennek első lépéseként ftálimid monofunkciós HbPG-t állítottam elő anionos gyűrűfelnyílásos multielágazásos polimerizációval. Az előállított ftálimid monofunkciós HbPG számátlag molekulatömegét $^1\text{H-NMR}$ spektroszkópiával határoztam meg (14. ábra).

A $^1\text{H-NMR}$ vizsgálatot DMSO- d_6 oldószerben végeztem, aminek a jele jól elkülöníthető a polimer jeleitől (2,5 ppm). A spektrumon megjelennek 3,0-4,0 ppm-es tartományban a főláncot alkotó metilén és metin csoportok jelei (c,d,e,f,h,j), valamint a HbPG hidroxilcsoportjaihoz tartozó protonok jelei (g,i) a 4,2-4,8 ppm tartományban. Jól látható továbbá a ftálimid aromás gyűrűjén elhelyezkedő protonok csúcsa (a,b) 7,9 ppm-nél, melyet standardként használva a hidroxil protonok integráljából az 1. képlet alapján meghatározható a HbPG polimerizációfoka (DP_n). A DP_n ismeretében a 2. képlet alapján számított számátlag molekulatömeg 1100 g/mol-nak adódott.

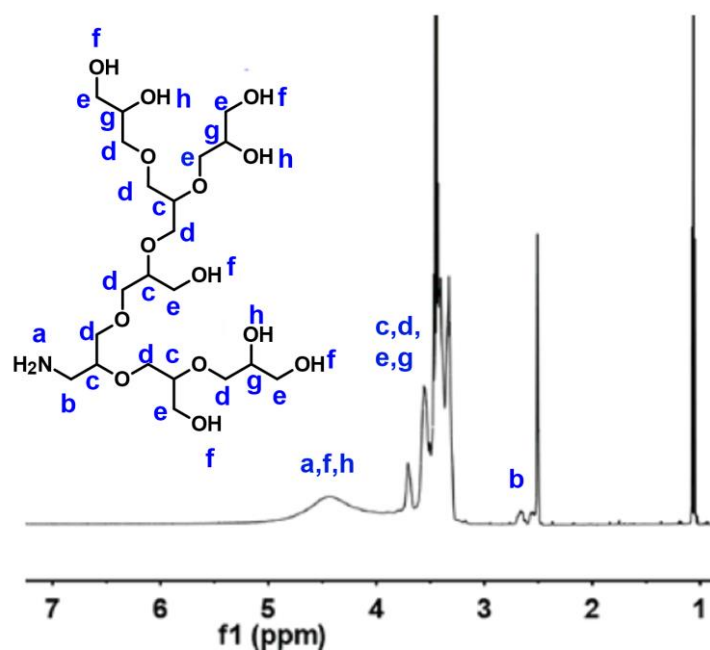
$$DP_n = I_{OH} - 1 \quad (1)$$

$$M_n = DP_n M_{glicidol} + M_{ftálimid} \quad (2)$$

A ftálimid HbPG-ből előállított NH₂-HbPG-t szintén vizsgáltam ¹H-NMR spektroszkópiával DMSO-*d*₆ oldószerben, hogy igazoljam a reakció tényleges lejátszódását (**15. ábra**).



14. ábra: A ftálimid-HbPG ¹H-NMR spektruma



15. ábra: Az amin-HbPG ¹H-NMR spektruma

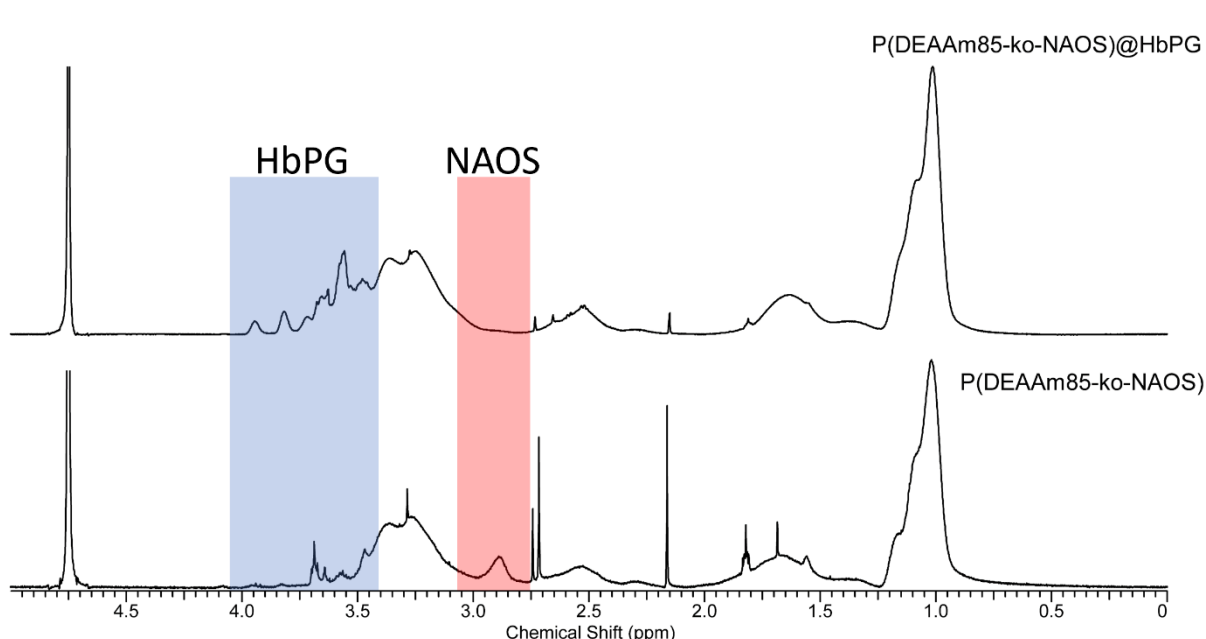
A monofunkciós amin-HbPG ^1H -NMR spektrumából látszik, hogy a reakció lezajszódott, mivel 2,69 ppm-nél megjelent az aminocsoport melletti metilénecsoport protonjainak a jele (b). A ftálimid jele nem jelenik meg a spektrumon, viszont 8 ppm körül megjelennek a reakció társtermékeként keletkező ftalil-dihidrazid aromás gyűrűjének protonjaihoz tartozó csúcsok (F2. ábra).

5.3 Az ojtott termoreszponzív polimerek vizsgálata

Elvégeztem az általam előállított amin monofunkciós HbPG ojtását a NAOS tartalmú kopolimerekre, metanol oldószerben, szobahőmérsékleten. Az ojtás sikerességét ^1H -NMR-rel és GPC-vel vizsgáltam.

5.3.1. Az ojtott kopolimerek vizsgálata ^1H -NMR-rel és GPC-vel

A liofilizálással tisztított polimereket ^1H -NMR spektroszkópiás vizsgálatnak vettem alá D_2O oldószerben, hogy igazoljam az ojtás végbemenetét. Az ojtatlan polimereket szintén vizsgáltam ezzel a módszerrel és összehasonlítottam a szukcinimid gyűrű protonjainak jelét az ojtott és az ojtatlan polimereken (16. ábra).

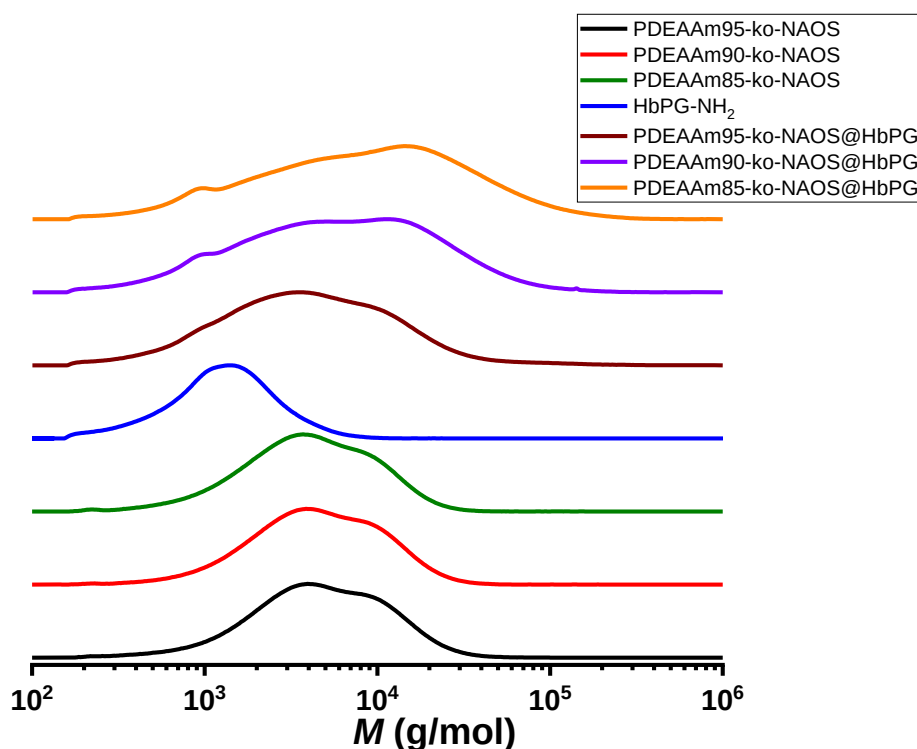


16. ábra: A HbPG-vel ojtott és a kiindulási P(DEAAm85-ko-NAOS) kopolimer ^1H -NMR spektrumai

A kapott spektrumokból látszik, hogy az ojtott kopolimerek esetében a P(DEAAm-ko-NAOS) kopolimer spektrumában látható szukcinimid gyűrű protonjainak jele (2,8 ppm) nem jelenik meg. Továbbá az ojtás sikerességét bizonyítja az is, hogy az ojtott kopolimerek spektrumán egyértelműen megjelentek a HbPG poliéter láncának

protonjaira jellemző csúcsok 3,3-4,0 ppm eltolódás közötti tartományban. Mindezek alapján kijelenthető, hogy az ojtási reakció sikeresen lezajszódott.

Az ojtott kopolimereket DMF eluenssel működő GPC-vel is vizsgáltam, hogy meghatározzam a számátlag molekulatömeg változás mértékét, ezáltal megerősítsem azt, hogy az elágazó HbPG láncok ténylegesen ráépültek a lineáris P(DEAAm-ko-NAOS) láncra (**17. ábra**).



17. ábra: Az ojtott és ojtatlan kopolimerek, illetve az amin-HbPG molekulatömeg-eloszlás görbéi

A kapott molekulatömeg-eloszlás görbéket összevetve megállapítható, hogy a molekulatömeg jelentősen nőtt az ojtás hatására, ami a növekvő NAOS tartalom és ebből fakadóan nagyobb mennyiségben ráépült HbPG láncok mennyiségének növekedésével nőtt. Az ojtott kopolimerek molekulatömeg-eloszlás görbéin csak nagyon kismértékű váll figyelhető meg a kis molekulatömeg tartományban, ami kis mennyiségű el nem reagált amin-HbPG láncok jelenlétére utal. Ettől függetlenül az ^1H -NMR és a GPC vizsgálatok eredményei alapján egyértelműen kijelenthető, hogy a HbPG ojtása a P(DEAAm-ko-NAOS) kopolimerekre sikeres volt.

5.3.2 Az ojtott polimerek termoreszponzív viselkedése

Az ojtott kopolimereket UV-Vis spektroszkópiával vizsgáltam 22-70 °C hőmérséklet tartományban. A mérés paraméterei megegyeztek az ojtatlan polimerek mérési paramétereivel (4.4.2 alfejezet).

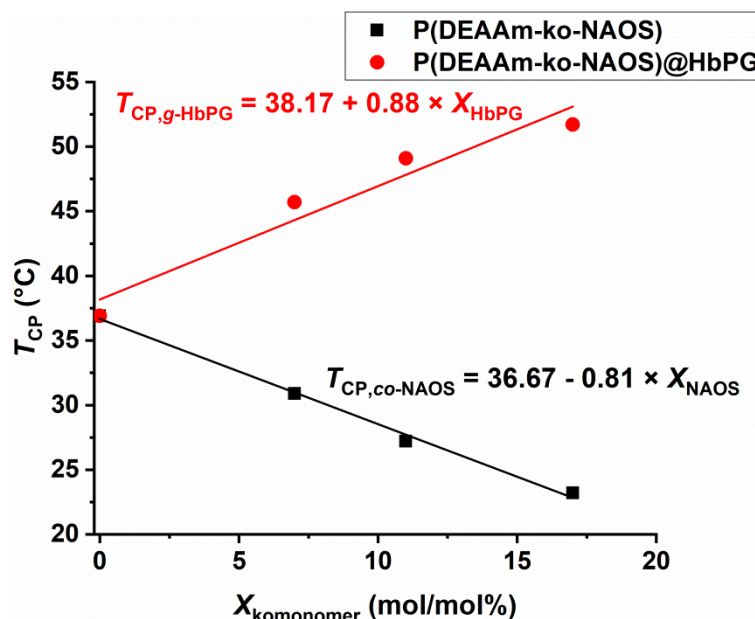
5.3.2.1. Az ojtott polimerek CST értékeinek meghatározása és összehasonlítása az ojtatlan polimer CST értékeivel

11. táblázat: A T_{CP} és T_{CL} értékek és azok változása (ΔT) az ojtatlan és a HbPG-vel ojtott kopolimerek esetében

	0 ekvivalens HbPG		1 ekvivalens HbPG		
	T_{CP} (°C)	T_{CL} (°C)	T_{CP} (°C)	T_{CL} (°C)	ΔT (°C)
P(DEAAm95-ko-NAOS)	30,9	30,3	45,7	45,6	0,1
P(DEAAm90-ko-NAOS)	27,2	27,2	49,1	48,8	0,3
P(DEAAm85-ko-NAOS)	23,2	22,6	51,7	51	0,7

Amennyiben összehasonlítjuk az ojtatlan és ojtott polimerek termoreszponzív viselkedését (**11. táblázat**), azt tapasztaljuk, hogy a CST értékek minden esetben jelentősen nőttek, ami igazolja az ojtás sikerességét, hiszen a hidrofil jellegű csoportok, esetemben a HbPG oldallánc növelik a CST értékét. Például 5 mol% NAOS tartalom esetén az ojtás hatására a T_{CP} értéke 14,8 °C-ot nőtt, 30,9 °C-ról 47,5 °C-ra. A nagyobb NAOS tartalmú ojtott polimer esetén volt ezen értékek között a legnagyobb az eltérés, ami megfelelt a várakozásainknak, mivel a nagyobb mennyiségben lévő NAOS csoportok nagyobb mennyiségű HbPG-t voltak képesek megkötni. Ebben az esetben a T_{CP} értéke 23,2 °C-ról 51,7 °C nőtt, vagyis 28,1 °C-ot változott.

Mint azt korábban tárgyaltam és a **13. ábrán** bemutattam, a CST közel lineárisan csökkent a NAOS tartalom növekedésével. Ennek megfelelően az ojtott kopolimerekben a T_{CP} lineárisan nőtt a kopolimerek NAOS tartalmának növelésével (lásd **18. ábra**).



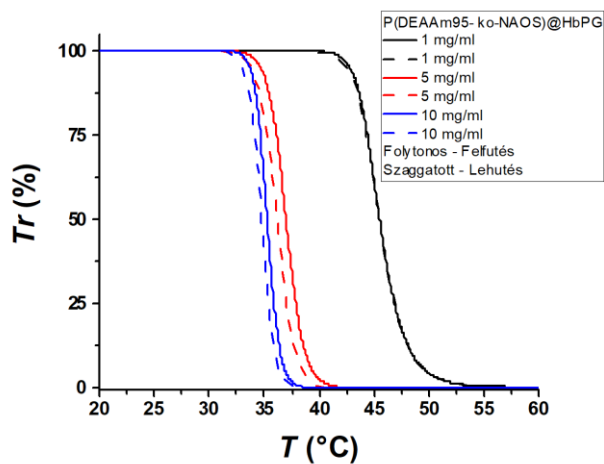
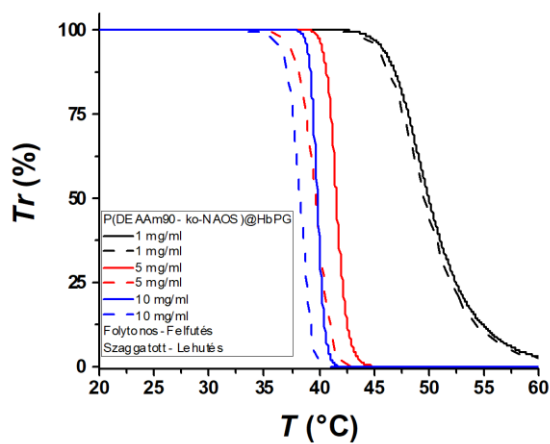
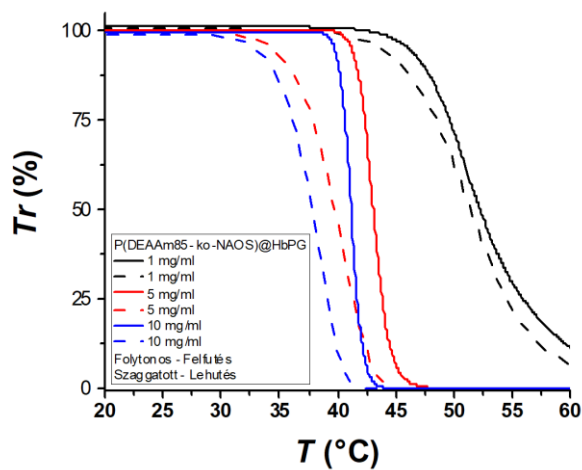
18. ábra: A HbPG-vel ojtott és ojtatlan kopolimererek kritikus oldhatósági hőmérséklet értékei a NAOS komonomer molarányának a függvényében

5.3.2.2. A koncentráció és az ionerősség hatása a CST értékekre

Vizsgáltam a CST értékek változását a különböző polimer koncentrációjú oldatok (1, 5 és 10 mg/ml) esetén. Azt tapasztaltam, hogy a vártak megfelelően a koncentráció növekedésével a T_{CP} és T_{CL} értékek csökkentek (lásd **12. táblázat**).

12. táblázat: A különböző koncentrációjú P(DEAAm-ko-NAOS)@HbPG oldatok T_{CP} és T_{CL} értékei

	1 mg/ml		5 mg/ml		10 mg/ml	
	$T_{CP} \text{ (°C)}$	$T_{CL} \text{ (°C)}$	$T_{CP} \text{ (°C)}$	$T_{CL} \text{ (°C)}$	$T_{CP} \text{ (°C)}$	$T_{CL} \text{ (°C)}$
P(DEAAm95-ko-NAOS)@HbPG	45,7	45,6	36,96	36,2	35,23	34,87
P(DEAAm90-ko-NAOS)@HbPG	49,1	48,8	41,52	39,89	39,87	38,46
P(DEAAm85-ko-NAOS)@HbPG	51,7	51	42,98	40,42	41,18	38,36

A**B****C**

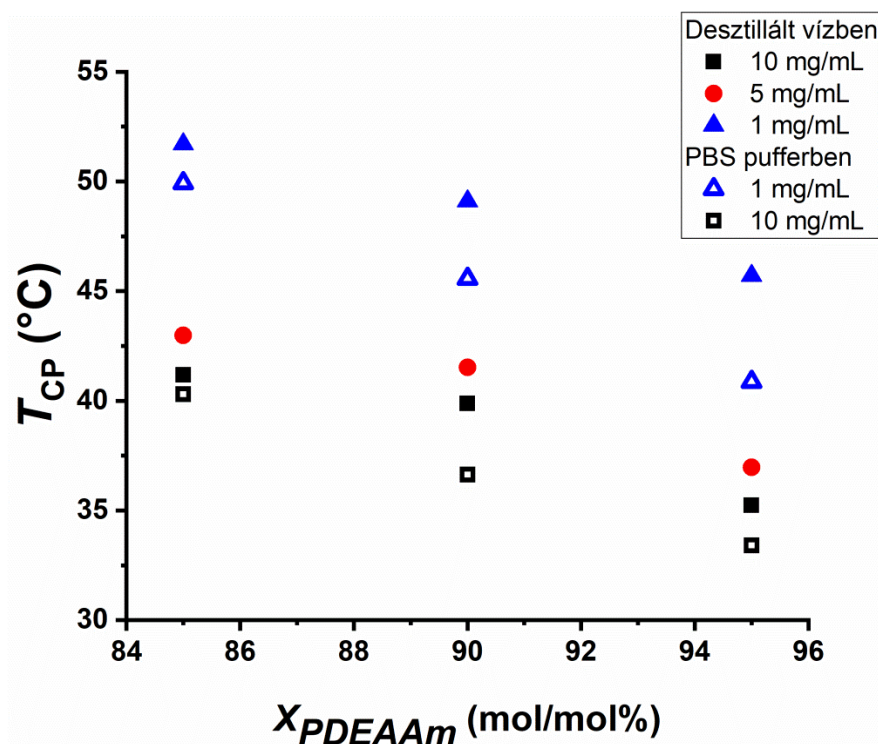
19. ábra: Az egyes ojtott kopolimerek termoreszponzív viselkedése különböző polimer koncentrációjú oldatokban **A:** P(DEAAm95-ko-NAOS)@HbPG **B:** P(DEAAm90-ko-NAOS)@HbPG **C:** P(DEAAm85-ko-NAOS)@HbPG

19. ábrán jól látszik, hogy a koncentráció növelésével az egyes polimerek CST értéke csökken. Az is megfigyelhető, hogy a hiszterézis mértéke nőtt, amikor 1 mg/ml-ről 5 mg/ml-re emeltük a polimer koncentrációt, viszont az 5 mg/ml-es és a 10 mg/ml-es minták esetében nem volt jelentős növekedés a hiszterézisben. Egyértelműen megállapítható, hogy nő a hiszterézis mértéke a PDEAAm tartalom csökkenésével, vagyis minél több HbPG-t kapcsolunk a kopolimerre, annál nagyobb hiszterézis tapasztalható a T_{CP} és T_{CL} értékek között.

A PBS pufferben készített oldatok vizsgálata során azt találtam, hogy a T_{CP} és T_{CL} értékek csökkentek a vizes oldatok esetén mért értékekhez képest. Megfigyelhető továbbá, hogy a nagyobb HbPG tartalmú polimer esetén a csökkenés mértéke kisebb lett a vizes és a PBS pufferes minták között. Vagyis az ionerősség növelése az oldatban kevésbé befolyásolja a T_{CP} és T_{CL} értékeket a HbPG tartalom növelésével az ilyen fajta ojtott kopolimer esetén. 10 mg/ml koncentrációjú oldatot szintén készítettem PBS-ben, ekkor a CST értékek csökkentek ugyan a desztillált vizes oldatokhoz képest, de kisebb mértékben, mint 1 mg/ml koncentráció esetén (lásd **13. táblázat** és **20. ábra**).

13. táblázat: A T_{CP} és T_{CL} értékek PBS oldatban a kopolimerek összetétele és koncentrációja szerint

	1 mg/ml		10 mg/ml	
	T_{CP} (°C)	T_{CL} (°C)	T_{CP} (°C)	T_{CL} (°C)
P(DEAAm95-ko-NAOS)@HbPG	40,86	40,81	33,40	33,14
P(DEAAm90-ko-NAOS)@HbPG	45,57	44,75	36,63	36,23
P(DEAAm85-ko-NAOS)@HbPG	49,92	48,72	40,29	39,90

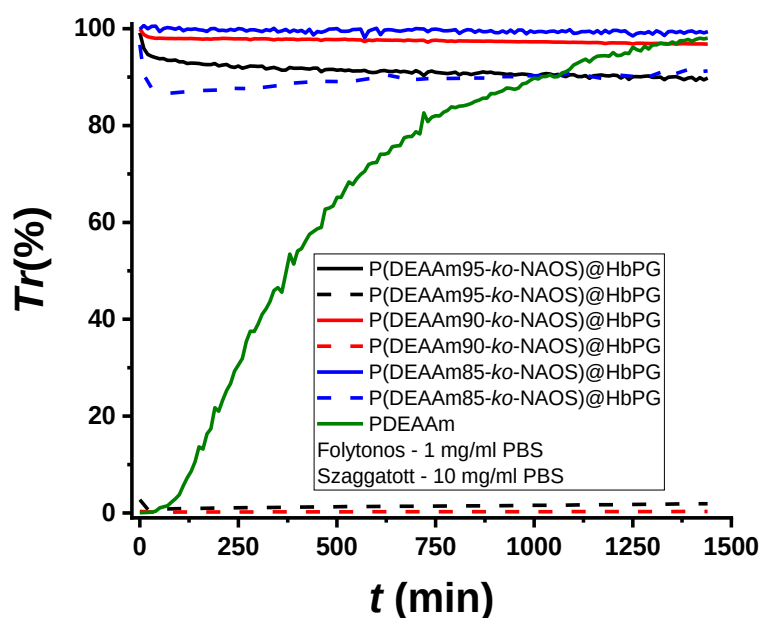


20. ábra: A T_{CP} értékek változása a DEAAm molarányának a függvényében különböző koncentrációk esetén desztillált vízben és PBS pufferben

5.3.3. A P(DEAAm-ko-NAOS)@HbPG ojtott kopolimerek stabilitásának vizsgálata

Mint azt az irodalmi áttekintés során részletesen tárgyaltam, a termoreszponzív polimerek vizes oldatának melegítése során a polimer filicitása megváltozik, az oldatból kicsapódik, és a kicsapódó nanoméretű részecskék aggregálódnak és idővel kiülepednek a rendszerből. Ez a folyamat egyszerűen követhető a transzmittancia CST érték fölötti időbeni változásának követésével, ugyanis a hőmérséklet hatására bekövetkező kicsapódás a transzmittancia csökkenését mutatja, az ülepedést pedig a transzmittancia növekedése jelzi az adott hőmérsékleten. Ez látható a kontrollként vizsgált PDEAAm homopolimer esetén PBS oldatban, 40 °C-on (**21. ábra**) is, mely során megfigyelhető volt a kicsapódott homopolimer gyors ülepedése. Az ojtott kopolimerek kolloidstabilitásának vizsgálata során megfigyeltük, hogy az 1 mg/ml polimer koncentrációjú PBS oldatban (**21. ábra**) 40 °C-on ezen polimer koncentrációban csak a P(DEAAm95-ko-NAOS)@HbPG minta opálosodása kezdődik meg. A 10 mg/ml polimer koncentráció esetén azonban a PBS oldatban 40 °C-on végzett mérés során a kisebb HbPG tartalmú minták esetében végig 0% körüli

transzmittancia értékeket mértem, hiszen ezeknek a kopolimereknek a T_{CP} értéke 40 °C alatt van (**13. táblázat**), így ezek a kopolimerek már teljesen kicsapódtak az oldatból. A P(DEAAm85-ko-NAOS)@HbPG esetében mért T_{CP} érték 40,29 °C, ami közel esik a mérés során alkalmazott 40 °C-hoz, tehát feltehetően ebben az esetben is megkezdődött a polimer kicsapódása, amit a kismértékű opálosodás, azaz a transzmittancia csökkenése igazol. Jól megfigyelhető azonban, hogy függetlenül a koncentrációtól, az ojtott kopolimerek transzmittanciája nem változik jelentős mértékben az idő előrehaladtával, így kijelenthető, hogy jelentős ülepedés egyik esetben sem volt észlelhető. Egyértelműen megállapítható tehát, hogy a kopolimerek termikusan indukált kicsapódása során képződő nanorészecskék a HbPG-vel történő ojtás következtében még nagy sókoncentráció esetén is stabilak.



21. ábra: Az ojtott kopolimerek stabilitásának vizsgálata PBS-ben 40 °C-on

5.4. Az ojtott kopolimerek hatóanyagfelvétele és leadása

Mint ahogy a stabilitás vizsgálatok során láthattuk, található olyan hőmérséklet, melyen bekövetkezik a termoreszponzív szegmensek dehidratációja és kicsapódása, azonban a HbPG szegmensek jelentős stabilizáló hatásának következtében amfifil karakterű nanorészecskék lesznek jelen az oldatban. Ezen körülmények között feltételezhető, hogy ezek az amfifil karakterű nanorészecskék alkalmasak lehetnek

vízben rosszul oldódó hatóanyag kapszulázására. Ennek a feltételezésnek a bizonyítására egy vízben nagyon rosszul oldódó hatóanyaggal, kurkuminnal végeztem szolubilizációs méréseket különböző hőmérsékleteken. A mért abszorbancia értékekből kalibráció segítségével (előzőekben felvett kalibráló egyenes alapján (**F4. ábra**)) meghatároztam az oldatba vitt kurkumin koncentrációját, abból pedig a micella-víz partíciós koefficiens értékeket (P) a **3. egyenlet** felhasználásával.

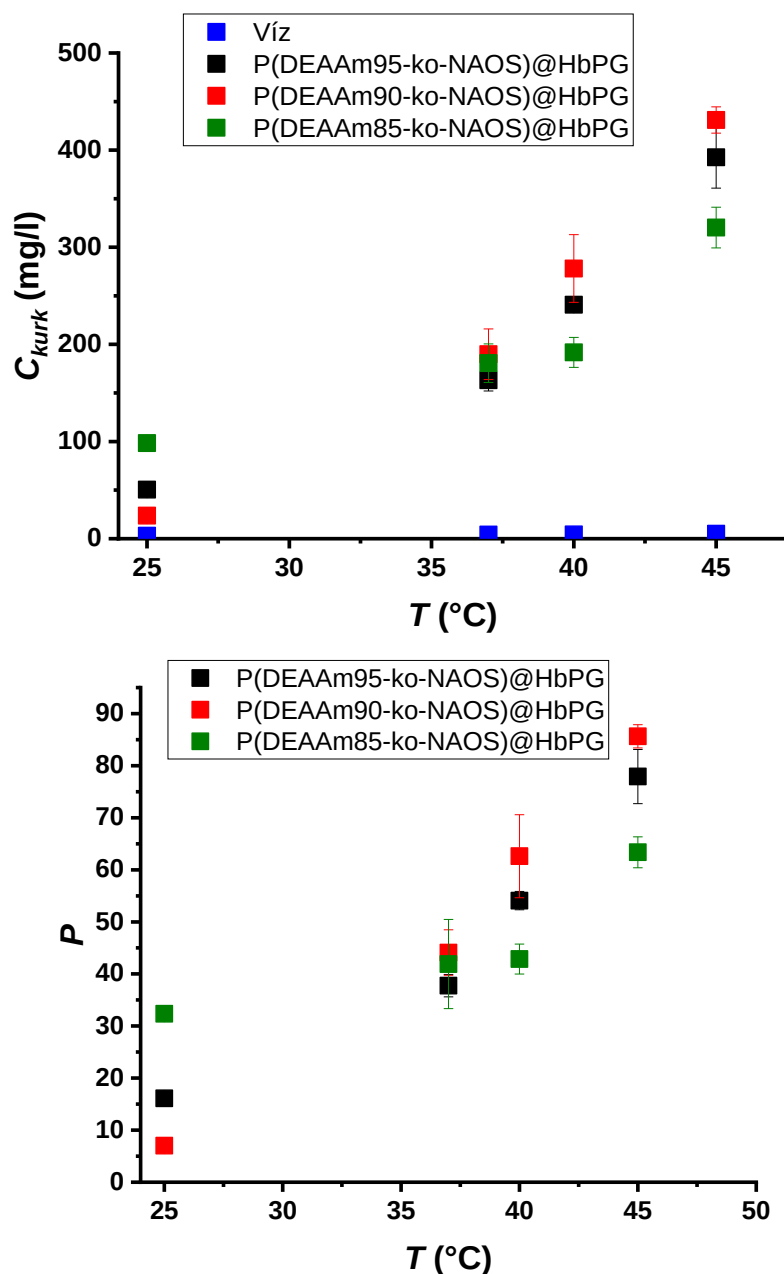
$$P = \frac{c_{\text{kurkumin, polimer oldat}} - c_{\text{kurkumin, víz}}}{c_{\text{kurkumin, víz}}} \quad (3)$$

14. táblázat: Az ekvivalens HbPG-vel ojtott kopolimerrek által szolubilizált kurkumin koncentrációja, valamint a P értéke 25, 37, 40 és 45 °C esetében

	T (°C)	c_{kurk} (mg/l)	P
deszt. víz	25	2,95±0,22	-
	37	4,21±0,07	-
	40	4,37±0,31	-
	45	4,97±0,19	-
PDEAAm95-ko-NAOS@HbPG	25	50,39±4,55	16,1±1,3
	37	163,12±11,11	37,7±2,2
	40	240,82±7,71	54,1±1,8
	45	392,62±31,74	77,9±5,2
PDEAAm90-ko-NAOS@HbPG	25	23,60±2,97	7,0±0,7
	37	189,92±26,05	44,1±4,4
	40	278,10±34,86	62,6±8,0
	45	431,07±13,55	85,6±2,2
PDEAAm85-ko-NAOS@HbPG	25	98,33±2,89	32,4±1,0
	37	180,63±19,80	41,9±8,6
	40	191,75±15,40	42,9±2,9
	45	320,26±20,94	63,4±3,0

A kapott adatokból látszik, hogy a kopolimerrek jelenléte már szobahőmérsékleten is növelte az oldatba vihető kurkumin mennyiségét. Meglepő eredmény, hogy szobahőmérsékleten a hidrofíl HbPG mennyiségének növelésével kis mértékben nő a szolubilizált kurkumin mennyisége. Elképzelhető lenne, hogy a HbPG belső kevésbé hidrofíl része is képes lehet hatóanyagot magába zárni, azonban ezt

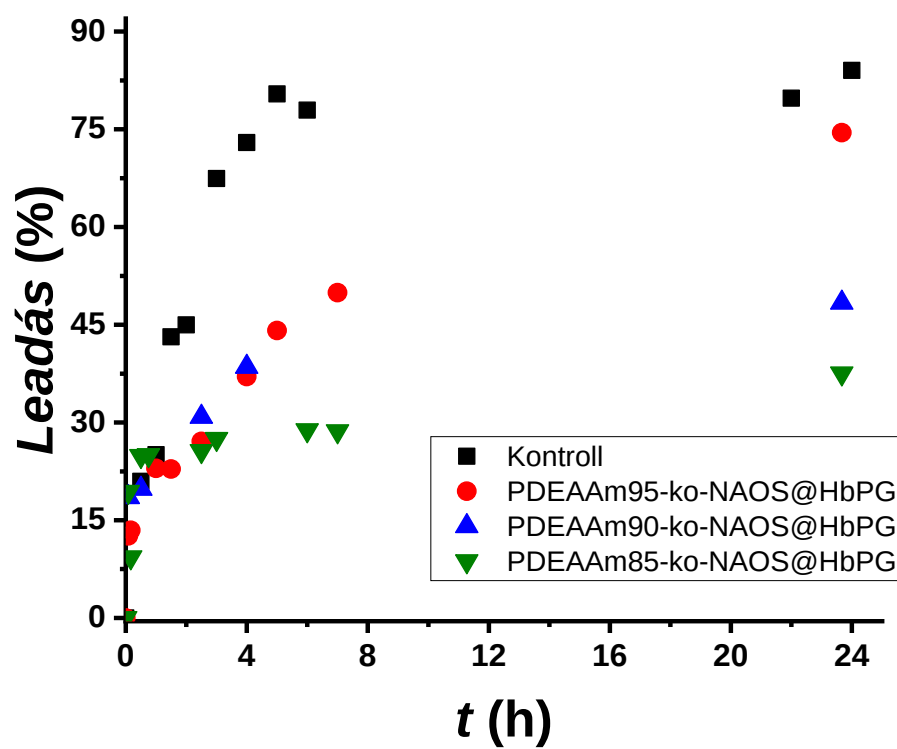
kutatócsoportunk korábbi kutatásai cáfolják. Feltételezhetően a jelenség jobban magyarázható azzal, hogy a PDEAAm már szobahőmérsékleten is enyhén hidrofób jellegű, ami a nagyobb mennyiségű HbPG jelenlétében még inkább kifejeződik és már szobahőmérsékleten úgynevezett unimolekuláris micellás rendszert kapunk, ami alkalmas lehet a szolubilizációra.



22. ábra: Az oldott kurkumin koncentrációjának és micella-víz partíciós koefficiens (P) változása a hőmérséklet függvényében a különböző összetételű ojtott kopolimerek esetén

Ki kell emelnem, hogy a feltételezésünknek megfelelően a hőmérséklet növelése nagyban befolyásolta a szolubilizáció hatékonyságát. Magasabb hőmérsékleten jelentősen nőtt a bevihető kurkumin mennyisége a szobahőmérsékleten végzett méréshez képest. Az is megfigyelhető, hogy a szolubilizált kurkumin mennyiségek az egyes kopolimerek esetén csak 40 °C felett kezdenek eltérni egymástól, ami azzal magyarázható, hogy az eltérő CST értékek miatt a legtöbb HbPG láncot tartalmazó ojtott kopolimer 40 °C-on még nem kezdett el dehidratálódni illetve kicsapódni, ami a másik két esetben a szolubilizációs képességek jelentős mértékű növekedését okozta (**22. ábra**). A micella-víz partíciós koefficiens (P) értéke, mely megadja, hogy a hatóanyag koncentrációja hányszorosa annak vízoldhatóságához képest, a hőmérséklet növelésével szintén növekedett. A szolubilizációs készség növekedésének késleltetettsége a legtöbb ojtott HbPG láncot tartalmazó kopolimer hatóanyagfelvételében itt is megjelent. Ezek alapján kijelenthető, hogy már nagyon kicsi (1 g/L) polimer koncentráció alkalmazása esetén is 50-100-szoros oldhatóságnövelés tapasztalható, magas hatóanyagtartalom elérése mellett, azaz az előállított polimerek ígéretes hatóanyag hordozó rendszerek lehetnek.

Ezt követően vizsgáltam a hatóanyaggal töltött ojtott kopolimerek hatóanyag-leadási tulajdonságait. A mérések eredményeit a **23. ábrán** mutatom be. Az ábrán jól látható, hogy míg a kontroll minta (10/90 V/V% DMSO/víz oldószerkeverék+kurkumin) leadása viszonylag gyors volt, 4 óra után a bevitt kurkumin mennyiségének közel 80%-át leadta, addig a P(DEAAm-ko-NAOS)@HbPG ojtott kopolimerek alkalmazása esetében a leadás időben elnyújtottabb módon történt. Az is megfigyelhető, hogy a különböző összetételű polimerek eltérő módon adták le a felvett hatóanyagot. A HbPG tartalom növekedésével a minták 24 óra után rendre 74,5% (P(DEAAm95-ko-NAOS)@HbPG), 48,4% (P(DEAAm90-ko-NAOS)@HbPG), és 37,6% (P(DEAAm85-ko-NAOS)@HbPG) kurkumint adtak le, vagyis a kopolimerek HbPG tartalmának növekedésével a kurkumin-leadás egyre gátoltabb lett. Megállapíthatjuk tehát, hogy a P(DEAAm-ko-NAOS)@HbPG kopolimerek jelentősen lecsökkentik a kurkumin-leadást, és elnyújtott hatóanyag-leadást lehet elérni a kontroll mintához képest, ami jelentősen befolyásolható a kopolimer HbPG tartalmával, vagyis minél több HbPG-t tartalmaz a kopolimer, annál gátoltabbá válik a leadás.



23. ábra: A különböző összetételű ojtott kopolimerek és a kontroll minta hatóanyag-leadása az idő függvényében

6. Összefoglalás

A tudományos diákköri munkám során termoreszponzív poli(*N,N*-diethylakrilamid) (PDEAAM) homopolimert és különböző összetételű poli(*N,N*-diethylakrilamid-*ko-N*-akriloxi-szukcinimid) P(DEAAM-*ko*-NAOS) kopolimereket (95:5, 90:10, 85:15) állítottam elő, ami révén az irodalomban eddig még nem vizsgált, további funkionalizálásra alkalmas oldalcsoportot tartalmazó kopolimereket nyertem. Az előállított PDEAAM homo- és kopolimereket karakterizáltam, mely során a kapott polimereket ^1H -NMR spektroszkópiával, gélpermeációs kromatográfiával (GPC) és UV-Vis spektroszkópiával vizsgáltam. Meghatároztam a PDEAAM termoreszponzív homo- és kopolimerek kritikus oldhatósági hőmérséklet (CST) értékeit az *N*-akriloxi-szukcinimid komonomer függvényében, és azt találtam, hogy a NAOS tartalom növekedésével a CST értékek lineárisan csökkentek.

Továbbá ftálimid-monofunkciós hiperelágazós poliglicidolt (ftálimid-HbPG) (1000 g/mol) is előállítottam ftálimid/ftálimid-kálium iniciátor rendszerrel, majd a reakció sikerességét ^1H -NMR spektroszkópiával igazoltam. Ezt követően a ftálimid-HbPG-ből hidrazin reagens felhasználásával amin monofunkciós HbPG-t állítottam elő, amit ^1H -NMR spektroszkópiával és gélpermeációs kromatográfiával (GPC) karakterizáltam.

Ezt követően elvégeztem ennek a monofunkciós polimernek az ojtását a fent említett, különböző összetételű termoreszponzív P(DEAAM-*ko*-NAOS) kopolimerekre, a NAOS tartalomra nézve 1 ekvivalens mennyiségben. Az ojtás lejátszódását ^1H -NMR spektroszkópiai és gélpermeációs kromatográfiai (GPC) vizsgálatokkal igazoltam. Ezáltal ismereteink alapján elsőként sikerült három eltérő összetételű HbPG-vel ojtott PDEAAM kopolimert előállítani. Vizsgáltam azt is, hogy miként változik a kopolimerek termikus viselkedése a HbPG ojtásának hatására, és azt találtam, hogy a kopolimerek HbPG tartalmának növekedésével a CST értékek rendre nőttek. Vizsgáltam, hogy miként változnak a CST értékek a polimer koncentráció függvényében, amihez 1, 5 és 10 mg/l koncentrációjú polimer oldatokat készítettem. Megfigyeltem, hogy a CST értékek közel lineárisan csökkentek a polimer koncentráció növekedésével. Az ionerősség hatását is tanulmányoztam, követtem a PBS puffer alkalmazása esetén fellépő változást 1 és 10 mg/ml koncentrációjú polimer oldatokban. Az ionerősség növekedésével, PBS puffer hatására a CST értékek még tovább csökkentek és megállapítottam, hogy a változás függ a polimer koncentrációtól. Vizsgáltam a

képződő aggregátumok stabilitását vízben és PBS pufferben is 37, illetve 40 °C-on. A kapott eredményekből megállapítható, hogy a hőmérséklet emelés hatására kicsapódó polimer nanorészecskék stabilak, jelentős mértékű, kiülepedést eredményező aggregációjuk még egy nap után sem volt megfigyelhető.

Tanulmányoztam az ojtott kopolimerek szolubilizációs képességeit egy modell hatóanyag, a kurkumin segítségével négy különböző hőmérsékleten (25, 37 40, 45 °C), ami során azt találtam, hogy a bevihető kurkumin mennyisége nőtt a hőmérséklettel, különösen a CST érték fölött. A 45 °C fokon töltött polimer nanorészecskék hatóanyag-leadását is vizsgáltam 37 °C-ra termosztált PBS-TWEEN 80 oldat segítségével. A kapott eredmények alapján elmondható, hogy a leadás mértéke függött az összetételtől és minden ojtott kopolimer esetén elnyújtott volt a kurkumin-leadás a kontroll mintához képest.

Kijelenthető tehát, hogy a tervezett vizsgálatok révén egy olyan új, korábban nem vizsgált termoreszponzív, biokompatibilis makromolekula nyerhető, mely alkalmas lehet termikusan indukált hatóanyaghordozó rendszerként történő felhasználásra.

7. Irodalomjegyzék

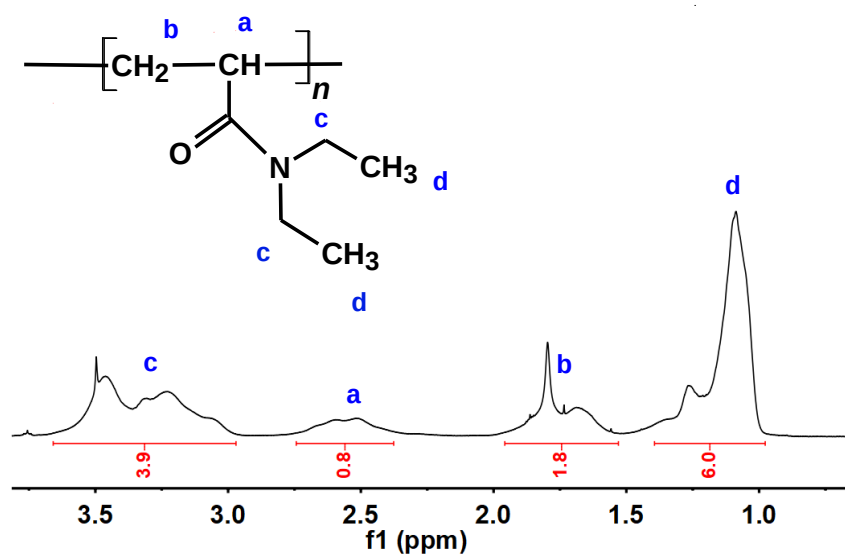
- [1] R. Geyer, J. R. Jambeck, K. L. Law: *Science Advanced* **2017**, 7, 3
- [2] Osváth Zsófia: Poli(N-izopropil-akrilamid), 3- (trimetoxiszilil)propil-metakrilát) alapú kopolimerjei és hibrid géljei szintézise és termoreszponzív sajátságai, PhD disszertáció, ELTE, 2017
- [3] M. Heskins, J. E. Guillet: *Macromol. Sci. Chem.*, **1968**, 2, 1441-1455
- [4] Gy. Kasza, T. Stumphauser, M. Bisztrán, Gy Szarka, I. Hegedüs, E. Nagy, B. Iván: *Polymers*, **2021**, 13(6), 987
- [5] L. Castillo-Henríquez, J. Castro-Alpizar, M. Lopretti-Correa, J. Vega-Baudrit: *Int. J. Mol. Sci.*, **2021**, 22(3), 1408
- [6] M. A. Ward, T. K. Georgiou: *Polymers*, **2011**, 3, 3, 1215-1242
- [7] Q. Zhang, G. Vancoillie, M. A. Mees, R. Hoogenboom: *Polymer Journal*, **2015**, 13, 6, 2396-2400
- [8] I. Tan, F. Roohi, M. M. Titirici: *Analytical Methods.*, **2012**, 4, 1, 34–43
- [9] Y. Wu, H. Yang, Y. Lin, Z. Zheng, X. Ding: *Materials Letters*, **2016**, 169, 218-222
- [10] D. Schmaljohann: *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2006**, 58, 15, 1655-1670
- [11] Z. Senmin, Z. Zhengyang, Z. Di: *J. Mater. Chem.* **2007**, 17, 2428-2433
- [12] M. Itakura, K. Inomata; T. Nose: *Polymer*, **2000**, 41 (24)
- [13] M. Matsumoto, T. Tada, T. A. Asoh, T. Shoji, T. Nishiyama, H. Horibe, Y. Katsumoto, Y. Tsuboi: *Langmuir*, **2018**, 34, 13690–13696
- [14] J. Li, S. Kikuchi, I. Sato, Y. Chen, L. Xu, B. Song, Q. Duan, Y. Wang, T. Kakuchi, X. Shen: *Macromolecules*, **2019**, 52, 7207–7217.
- [15] K. Zhang, Y. Liang, D. Liu, H. Liu: *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2012**, 173, 367-376
- [16] M. Ni, Y. Xu, C. Wang, P. Zhao, P. Yang, C. Chen, K. Zheng, H. Wang, X. Sun, C. Li, Y. Xie, J. Fei: *Diamond and Related Materials*, **2020**, 107, 107877
- [17] M. Panayiotou, R. Freitag: *Polymer*, **2005**, 46, 3, 615-621

- [18] W. Wei, X. Qi, Y. Liu, J. Li, X. Hu, G. Zuo, J. Zhang, W. Dong: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2015**, 136, 1182-1192
- [19] H. N. A. Tuan, V. T. T. Nhu: *Polymers*, **2020**, 12(5), 1139
- [20] Z. L. Tyrell, Y. Shena, M. Radosz: *Prog. Polym. Sci.*, **2010**, 35, 1128-1143
- [21] X. Zhang, T. F. Burton, M. In, S. Bégu, A. Aubert-Pouëssel, J. J. Robin, S. Monge, O. Giani: *Materials Today Communications*, **2020**, 24, 100987
- [22] P. J. Haddow, M. A. da Silva, D. B. Kaldybekov, C. A. Dreiss, E. Hoffman, V. Hutter, V. V. Khutoryanskiy, S. B. Kirton, N. Mahmoudi, W. J. McAuley, M. T. Cook: *Macromolecular Bioscience*, **2022**, 22, 3, 2100432
- [23] S. Havanur, V. Farheenand, P. E. JagadeeshBabu: *Iranian Polymer Journal*, **2019**, 28, 99–112
- [24] J. Chen, M. Liu, H. Liu, L. Ma: *Materials Science and Engineering: C*, **2009**, 29, (7), 2116-2123
- [25] J. I. Ngadaonye, L. M. Geever, M. O. Cloonan, C. L. Higginbotham: *Journal of Polymer Research*, **2012**, 19, 9822
- [26] P. Ferruti, A. Bettelli, A. Feré: *Polymer*, **1972**, 13, 462-464
- [27] A. Ortega, E. Bucio, G. Burillo: *Polymer Bulletin*, **2008**, 60, 514-524
- [28] L. ZhenQing, X. YanYi, L. HaiChang, G. JianJun: *Sci. China Chem.*, **2014**, 57(4), 568-578
- [29] A. L. Allen, K. J. Tan, H. Fu, J. D. Batteas, D. E. Bergbreiter: *Langmuir*, **2012**, 28, 5237-5242
- [30] P. Relógio, M. T. Charreyre, J. Paulo, S. Farinha, J. M. G. Martinho, C. Pichot: *Polymer*, **2004**, 26, 8639-8649
- [31] P. Relógio, J. M. G. Martinho, J. P. S. Farinha: *Macromolecules*, **2005**, 38, 26, 10799–10811
- [32] Y. Li, D. Yang, A. Adronov, Y. Gao, X. Luo, H. Li: *Macromolecules*, **2012**, 45, 11, 4698–4706
- [33] A. J. Dualeh, C. A. Steiner: *Macromolecules*. **1991**, 24 (1), 112–116

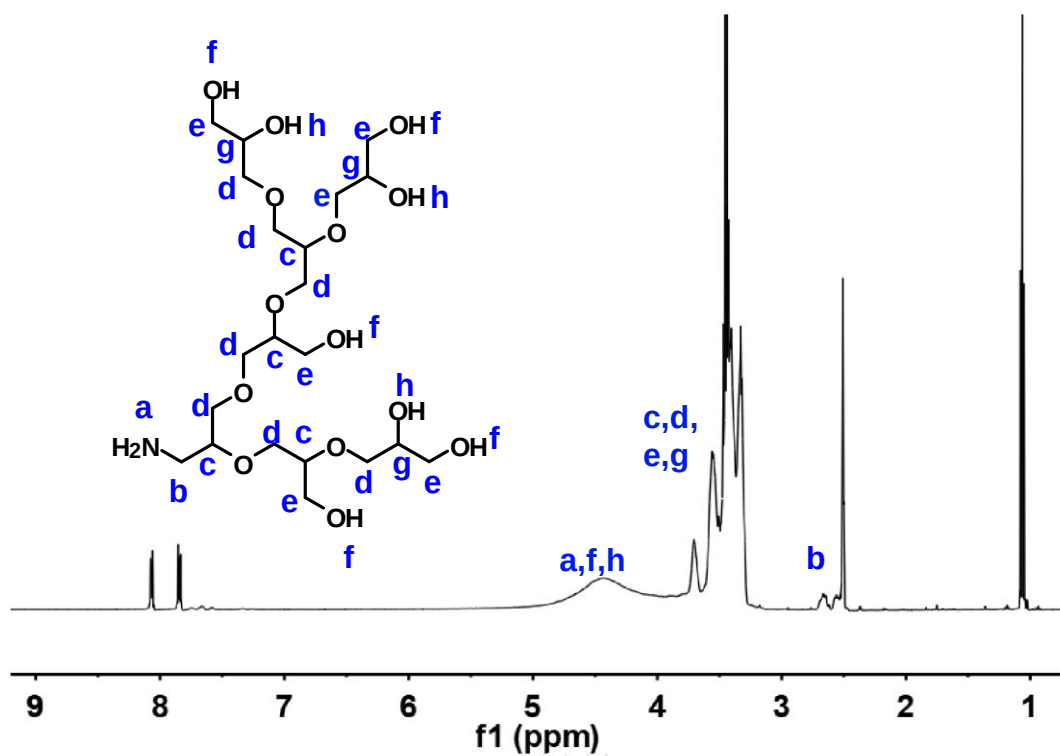
- [34] N. Muramatsu, Y. Yoshida, T. Kondo: *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **1990**, 38 (11), 3175–3176.
- [35] S. Gupta, P. Singh, B. Moghadas, B. J. Grim, V. D. Kobidagkar, M. D. Green: *ACS Applied Polymer Materials*, **2020**, 2, 1856-1864
- [36] A. Al-Nahain, K. S. Lee, T. Mosaiab, S. Y. Park: *Journal of Applied Polymer science* **2013**, 130, 1, 168-174
- [37] D. Gan, L. A. Lyon: *Macromolecules*, **2002**, 35, 26, 9634–9639
- [38] A. Al-Nahain, K. S. Lee, S. Y. Park: *Journal of Applied polymer Science*, **2013**, 130(1), 168-174
- [39] D. Schmaljohann, J. Oswald, B. Jørgensen, M. Nitschke, D. Beyerlein, C. Werner: *Biomacromolecules*, **2003**, 4, 6, 1733–1739
- [40] N. Isiklan, H. Kazan: *J. Appl. Polym. Sci.*, **2018**, 135, 45969
- [41] N. Isiklan, S. Tokmak: *Carbohydrate Polymers*, **2019**, 218, 112-125
- [42] A. Sunder, R. Hanselmann, H. Frey, R. Mülhaupt: *Macromolecules*, **1999**, 32, 4240-4246
- [43] A. T. Royappa, M. L. Vogt, V. Sharma: *J. Appl. Polym. Sci.*, **2004**, 91, 1344
- [44] A. Dworak, W. Walach, B. Trzebicka: *Macromolecular Chemistry and Physics*, **1995**, 196, 1963-1970
- [45] R. Haag, J. F Stumbé, A. Sunder, H. Frey, A. Hebel: *Macromolecules*, **2000**, 33, 22, 8158–8166
- [46] L. Ye, K. Letchford, M. Heller, R. Liggins, D Guan, J. N. Kizhakkedathu, D. E. Brooks, J. K. Jackson, H. M. Burt: *Biomacromolecules*, **2011**, 12, 1, 145–155
- [47] Gy. Kasza, G. Kali, A. Domján, L. Pethő, Gy. Szarka, B. Iván: *Macromolecules*, **2017**, 50, 3078-3088
- [48] E. Moore, A. T. Zill, C. A. Anderson, A. R. Jochem, S. C. Zimmerman, C. S. Bonder, T. Kraus, H. Thissen, N. H. Voelcke: *Macromolecular Chemistry and Physics*, **2016**, 217, 20, 2252-2261
- [49] A. Zill, A. L. Rutz, R. E. Kohman, A. M. Alkilany, C. J. Murphy, H. Kong, S. C. Zimmerman: *Chemical Communication*, **2011**, 47, 1279-1281

- [50] Gy. Kasza, G. Gyulai, Á. Ábrahám, Gy. Szarka, B. Iván, É. Kiss: *RSC Advances*, **2017**, *7*, 4348-4352
- [51] S. Luo, X. Hu, Y. Zhang, C. Ling, X. Liu, S. Chen: *Polymer Journal*, **2011**, *43*, 41-50
- [52] J. C. Cuggino, C. I. Alvarez, M. C. Strumia, P. Welker, K. Licha, D. Steinhilber, R. C. Mutihac, M. Calderón: *Soft Matter*, **2011**, *7*, 11259-11266
- [53] C. Kojima, K. Yoshimura, A. Harada, Y. Sakanishi, K. Kono: *Bioconjugate Chem.*, **2009**, *20*, *5*, 1054–1057
- [54] H. T. Yin, D. Zhang, X. Wu, X.E. Huang, G. Chem: *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **2013**, *14*, 409-412
- [55] J. Zhang, S. Li, F. An, J. Liu, S. Jin, J. C. Zhang, P. C. Wang, X. Zhang, C. S. Lee X. J. Liang: *Nanoscale*, **2015**, *7*, 13503-13510
- [56] A. Anitha, V. G. Deepagan, V. V. D. Rani, D. Menon, S. V. Nair, R. Jayakumar: *Carbohydrate Polymers*, **2011**, *84* (3), 1158-1164
- [57] H. Danafar, S. Davaran, K. Rostamizadeh, H. Valizadeh, M. Hamidi: *Adv Pharm Bull.*, **2014**, *4*(6), 501-510.
- [58] Z. Ma, A. Haddadi, O. Molavi, A. Lavasanifar, R. Lai, J. Samuel: *Journal of Biomedical Materials Research*, **2008**, *86A*, *2*, 300-310
- [59] H. Zhang, Y. Wu, X. Xu C. Chen, X. Xue, B. Xu, T. Li, Z. Chen: *Polymers*, **2021**, *13*(1), 67

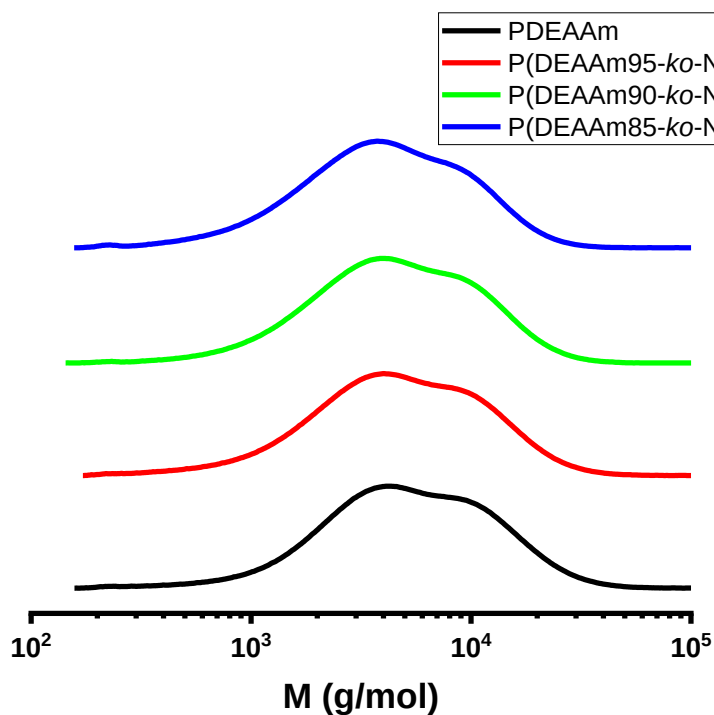
Függelék



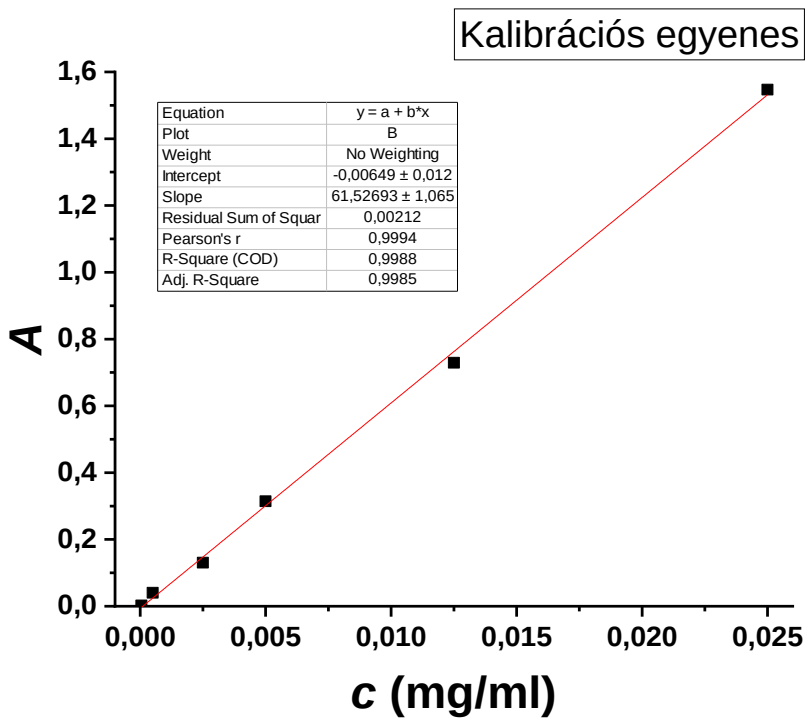
F1. ábra: A PDEAAm homopolimer $^1\text{H-NMR}$ spektruma



F2. ábra: Az amin-HbPG $^1\text{H-NMR}$ spektruma



F3. ábra: A különböző összetételű homo- és kopolimerek molekulatömeg- eloszlás görbéi



F4. ábra: A kurkumin abszorpciós kalibrációs egyenese