

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie



Adam Hašpl

**Syntéza a charakterizace glukózou modifikovaných ABA blokových kopolymerů
s využitím thiol – enové click reakce**

Synthesis and characterization of ABA triblock copolymers modified with glucose
via thiol – ene click reaction

Bakalářská práce

Školitel: Ing. Mariusz Marcin Uchman, Ph.D.

Konzultant: doc. RNDr. Pavel Matějíček, Ph.D.

Praha, 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 17. 1. 2022

.....

Poděkování

Tímto bych upřímně rád poděkoval svému školiteli Ing. Mariuszi Uchmanovi, Ph.D. za velmi laskavý přístup při vedení této bakalářské práce. Velice si vážím ochotného jednání, cenných rad a trpělivosti, se kterou se mi Dr. Uchman po celou dobu intenzivně věnoval. Poděkování patří též doc. RNDr. Pavlu Matějčíkovi, Ph.D. za možnost konzultování řešené problematiky a za příležitost kdykoliv se na něj obrátit s jakýmkoliv nejasnostmi. Vřele děkuji i kolegyni Bc. Pavlíně Markové, která mi mnohokrát podala pomocnou ruku v nesnázích jak při získávání, tak vyhodnocování experimentálních dat, a kolegovi Sombdebu Janovi, který mi pomohl v přípravě provedených modifikačních reakcí.

V neposlední řadě bych rád poděkoval své rodině za pochopení a bezmeznou podporu při mém studiu a svým blízkým přátelům a spolužákům za motivaci, bez které bych nebyl schopen tuto práci dokončit.

Abstrakt

Bakalářská práce se věnuje způsobu postpolymerizační modifikace dvou vzorků amfifilního blokového kopolymeru poly(ethylen oxid-*b*-1,2-butadien-*b*-ethylen oxid) s vysokým zastoupením jednotek 1,2-izomeru vnitřního bloku polybutadienu metodou thiol-ene click. Jako modifikační činidlo byla použita 1-Thio- β -D-glukóza tetraacetát.

Práce se dále zaměřuje na metody charakterizace vzorků kopolymeru před i po provedení modifikační reakce. Struktura a stupeň funkcionalizace vinylických jednotek bloku polybutadienu po provedení modifikace byly stanoveny metodou spektroskopie nukleární magnetické rezonance. Rozměry připravených polymerních částic v roztoku byly studovány metodami statického a dynamického rozptylu světla.

Klíčová slova: ABA blokované kopolymery, samoskladba polymerů, click reakce, NMR spektroskopie, rozptyl světla

Abstract

The bachelor thesis is focused on method of postpolymerisation modification of two poly(ethylene oxid-b-1,2-butadiene-b-ethylene oxide) amphiphilic block copolymer samples with high content of 1,2-isomer units in inner polybutadiene block by thiolene click. The implemented modification agent was 1-thio- β -D-glucose tetraacetate.

The thesis is further focused on methods of copolymer sample characterization before and after modification reaction. Structure and degree of functionalization of vinylic units in polybutadiene block after modification was determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy. The dimensions of prepared polymeric particles were studied by static and dynamic light scattering methods.

Keywords: ABA triblock copolymers, self-assembly, click reaction, NMR spectroscopy, light scattering

Seznam použitých zkratek

ATRP – atom transfer radical polymerization (polymerizace přenosem atomu)

AIBN – azobisisobutyronitril

DLS – dynamic light scattering (dynamický rozptyl světla)

DMF – dimethylformamid

DNA – deoxyribonucleic acid (deoxyribonukleová kyselina)

FID – free induction decay (volně doznívající indukce)

GPC – gel permeation chromatography (gelová permeační chromatografie)

NMR – nuclear magnetic resonance (nukleární magnetická rezonance)

PB – poly(butadien)

PE – poly(ethylen)

PEO – poly(ethylenoxid)

PET- poly(ethylenetereftalát)

PVC – poly(vinylchlorid)

SEC – Size-exclusion chromatography (rozměrově vylučovací chromatografie)

S-GLUAC - 1-Thio- β -D-glukóza tetraacetát

SLS – static light scattering (statický rozptyl světla)

THF – tetrahydrofuran

UV – ultraviolet (ultrafialový)

VIS – visible (viditelné spektrum)

Obsah

1. Úvod.....	8
1.1. Molekulová hmotnost polymerů, dispersita	8
1.2. Kovalentní struktura polymerů	10
1.3. Blokový kopolymer poly(ethylen oxid- <i>b</i> -butadien- <i>b</i> -ethylen oxid)	12
2. Click reakce.....	17
2.1. Definice, charakter a druhy click reakcí	17
2.2. Modifikace blokového kopolymeru metodou thiol-ene click.....	19
3. Techniky charakterizace polymerů	22
3.1. Rozptyl světla	22
3.2. Nukleární magnetická rezonance.....	24
4. Cíle práce.....	28
5. Experimentální část práce	29
5.1. Použité chemikálie.....	29
5.2. Modifikace thiol-ene click reakcí	30
5.3. Izolace produktu	31
5.4. Gelová permeační chromatografie (GPC)	32
5.5. Statický a dynamický rozptyl světla	32
5.6. NMR spektroskopie	33
6. Výsledky a diskuse.....	34
6.1. Stanovení M_n , M_w a D výchozích blokových kopolymerů metodou GPC	34
6.2. Charakterizace blokových kopolymerů metodou NMR spektroskopie.....	35
6.3. Pozorování polymerních nanočástic metodami SLS a DLS.....	38
7. Závěr.....	42
8. Seznam použité literatury	43

1. Úvod

1.1. Molekulová hmotnost polymerů, dispersita

Cílem této kapitoly je uvedení do problematiky polymerů, zejména představení jejich základních vlastností a charakteristika klíčové komponenty experimentální části této práce - trojblokového kopolymeru poly(ethylen oxid-*b*-1,2-butadien-*b*-ethylen oxid) použitého ve dvou variantách o různých molekulových hmotnostech a dispersitách.

Budeme-li se zabývat definicí polymerů, jedná se o makromolekulární látky vzniklé z jednoduchých molekul, monomerů, a tvořené množstvím opakujících se konstitučních jednotek, merů [1]. Počet těchto jednotek v polymerním řetězci nazýváme polymerizačním stupněm n . Obecně platí, že n musí být dostatečně vysoké, aby se fyzikálně-chemické vlastnosti výsledné molekuly již významně neměnily přidáním další opakující se jednotky [2]. Pro stupeň polymerizace platí vztah:

$$n = \frac{M}{M_0} \quad (1)$$

kde M je molekulová hmotnost polymeru a M_0 molekulová hmotnost konstituční jednotky.

Zaměříme se nyní na molekulové hmotnosti polymerních řetězců podrobněji. Různé, nejčastěji průmyslově syntetické polymery, obsahují řetězce zcela různých délek. U těchto polymerních vzorků pak hovoříme o distribuci molekulových hmotností. Následkem existence této distribuce se obvykle při experimentálním stanovení molekulové hmotnosti stanoví její střední hodnoty [2, 3]. Ačkoliv je známo několik způsobů statistického vyjádření těchto středních hodnot, budeme se soustředit na dvě konkrétní, a to v makromolekulární chemii nejvýznamnější: číselně (početně) střední molekulovou hmotnost a hmotnostně střední molekulovou hmotnost. Tyto průměrné hodnoty lze matematicky popsat a experimentálně stanovit [4].

Číselně střední molekulovou hmotnost M_n lze získat experimentálními metodami, jejichž měřené veličiny souvisejí s počtem makromolekul v polymerním vzorku a jsou tak založeny na takzvaných koligativních vlastnostech roztoků [5]. Koligativní jevy roztoků netěkavých látek v rozpouštědle závisí pouze na počtu rozpuštěných částic, nikoliv na jejich dalších vlastnostech, například hmotnosti. Příčinou vzniku těchto jevů je snížení hodnoty chemického potenciálu rozpouštědla v roztoku μ_A oproti hodnotě chemického potenciálu čistého rozpouštědla μ_A^* [6]. Pro μ_A platí:

$$\mu_A = \mu_A^0 + RT \ln x_A \quad (2)$$

kde μ_A^0 je standardní chemický potenciál rozpouštědla a x_A jeho molární zlomek. Mezi metody zkoumající tyto vlastnosti roztoků řadíme ebullioskopii (zvýšení bodu varu roztoku oproti čistému rozpouštědlu), kryoskopii (snížení teploty tání roztoku oproti čistému rozpouštědlu), parní osmometrii, tj. měření teplotního rozdílu mezi kapkami čistého rozpouštědla a zředěného roztoku polymeru v parách rozpouštědla, a membránovou osmometrii zahrnující měření osmotického tlaku [4, 5]. Podstatou osmózy je pasivní transport rozpouštědla přes polopropustnou membránu z prostředí o menší koncentraci rozpuštěné látky do prostředí o vyšší koncentraci. Matematicky popíšeme číselně střední molekulovou hmotnost M_n následovně:

$$M_n = \frac{\Sigma(n_i \cdot M_i)}{\Sigma n_i} \quad (3)$$

kde n_i představuje počet částic a M_i molární hmotnost jednotlivých frakcí makromolekul. Alternativně lze M_n vyjádřit ve tvaru:

$$M_n = \Sigma(x_i \cdot M_i) \quad (4)$$

kde x_i ($x_i = \frac{n_i}{\Sigma n_i}$) je molární zlomek i -té frakce.

Druhou ze zmíněných běžně užívaných středních hodnot je hmotnostně střední molekulová hmotnost M_w . Experimentálně lze tuto hodnotu stanovit například měřením rozptylu světla polymerních roztoků. Rozptyl světla je jednou ze zásadních metod použitých v experimentální části této práce a bude podrobně diskutován v kapitole 3.1. Pro výpočet M_w platí vztah:

$$M_w = \frac{\Sigma(m_i \cdot M_i)}{\Sigma m_i} = \frac{\Sigma[(n_i \cdot M_i) \cdot M_i]}{\Sigma(n_i \cdot M_i)} \quad (5)$$

Ze vztahu výše plyne, že hmotnost frakcí molekul m_i s molární hmotností M_i je dána součinem počtu částic n_i ve vzorku a jejich jednotlivých molárních hmotností M_i . Výše uvedený vztah lze zapsat i následovně:

$$M_w = \Sigma(w_i \cdot M_i) \quad (6)$$

kde w_i ($w_i = \frac{m_i}{\Sigma m_i}$) je hmotnostní zlomek molekul s molární hmotností M_i .

Mezi uvedenými středními hodnotami, M_n a M_w , platí vztah:

$$M_n \leq M_w \quad (7)$$

Definujme si nyní dispersitu D . Jedná se o důležitou veličinu, která je typická a specifická pro všechny polymerní systémy. Jak bylo zmíněno v úvodu, polymerní řetězce na rozdíl od malých molekul nemají jedinečnou molekulovou hmotnost, ale vykazují distribuci molekulových hmotností. Dispersita je tedy měřítkem této distribuce a popisuje heterogenitu nebo uniformitu molekulových hmotností řetězců v polymerním materiálu [7]. Hodnotu dispersity vyjádříme jako podíl hmotnostně střední a číselně střední molekulové hmotnosti:

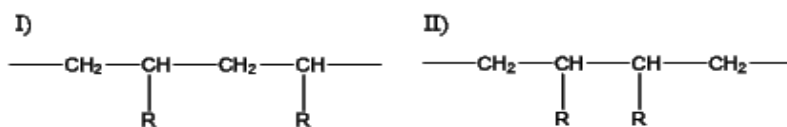
$$D = \frac{M_w}{M_n} \quad (8)$$

Pokud se hodnoty M_w a M_n shodují, znamená to, že všechny zkoumané makromolekuly mají přesně stejnou délku a složení. Takové vzorky označujeme jako uniformní ($D = 1$). V praxi je dokonalá uniformita výjimkou, vzácný příklad představují biomolekuly DNA, peptidů či proteinů [2]. V případě, že $M_w \neq M_n$, hovoříme o vzorcích neuniformních, čili s dispersitou ($D > 1$). Tuto vlastnost splňují veškeré syntetické polymery. Dosažení uniformity syntetických polymerů představuje velkou výzvu polymerní vědy. Objevením metod aniontové, kationtové či kontrolované radikálové polymerizace zahrnující například metodu polymerizace přenosem atomu (*atom transfer radical polymerisation, ATRP*), můžeme syntetizovat makromolekuly s definovanou architekturou a molekulovou hmotností. Takto kontrolovanými polymerizacemi lze docílit nízkých dispersit běžně dosahujících hodnot $D \approx 1,01-1,20$ [8].

1.2. Kovalentní struktura polymerů

Kompozice makromolekulárních řetězců je různorodá a v úvodním přehledu se na ni zaměříme z hlediska opakujících se konstitučních jednotek. Rozeznáváme dva základní druhy polymerů: homopolymery a kopolymery. Struktura homopolymerů se skládá pouze z jedné opakující se jednotky vytvořené z jednoho či více druhů monomerů [1, 3]. Není tedy správné uvádět pouze z jednoho druhu monomeru, jak některé zdroje popisují. Pro ilustraci: běžně dostupný polyester, PET, označujeme jako homopolymer, přestože jsou výchozími komponenty dva druhy monomerů - ethylenglykol a kyselina tereftalová (Obr. 1).

Přibližme si nejprve poziční isomerii. Substituované monomery s C-C dvojnou vazbou a substituované cyklické monomery mohou být v principu propojovány dvěma způsoby: hlava-pata (*head-to-tail, H-T*) a hlava-hlava (*head-to-head, H-H*) [11], jak znázorňuje Obr. 2. Výsledkem konvenčně prováděných adičních polymerizací vinylických monomerů je převážně uspořádání hlava-pata v důsledku rezonanční stabilizace a sterických efektů [10, 11, 12].



Obr. 2: I) propojení hlava-pata, II), propojení hlava-hlava

U stereoizomerie je podstatná poloha substituentů na řetězcích. Pro popis opakující se jednotky užíváme název konfigurační jednotka a zavádíme pojem takticitu, tj. pořádek v posloupnosti těchto jednotek, přičemž se setkáváme se třemi druhy uspořádání: izotaktické, syndiotaktické a ataktické. Izotaktické polymery mají všechny substituenty shodně orientované. U syndiotaktických polymerů se pravidelně střídají dvě konfigurační jednotky a ataktické polymery mají orientaci substituentů zcela náhodnou. Polymery o odlišné takticitě se mohou mírně lišit ve svých fyzikálně-chemických vlastnostech.

Geometrickou isomerii předpokládáme například po polymerizaci 1,3-dienů. Zajímá nás, jakým způsobem se daný monomer včlenil do rostoucího řetězce, přičemž rozlišujeme tři typy izomerů. 1,4-izomery mají přetrvávající dvojnou vazbu jako přímou součást polymerního skeletu. U těchto izomerů dále hodnotíme polohu ostatních atomů či skupin atomů okolo dvojné vazby. Cis izomery mají 1. a 4. atom uhlíku původního monomeru v jedné rovině směřující na stejnou stranu dvojné vazby, u trans izomerů jsou tyto uhlíkové atomy také v jedné rovině, ale směřují na opačnou stranu vzhledem k dvojné vazbě v hlavním řetězci. U 1,2-izomerů a 3,4-izomerů nejsou již dvojná vazby včleněny do hlavního řetězce, ale vystupují jako postranní substituenty. 2-Methylbuta-1,3-dien či 2-chlorbuta-1,3-dien jsou typickými příklady monomerů a z nich vzniklých polymerů, u kterých můžeme pozorovat všechny typy tohoto druhu isomerie. V případě buta-1,3-dienu, jenž nemá na druhém atomu uhlíku vodíky substituovány jiným atomem či skupinou atomů, 3,4-izomerii nepozorujeme.

1.3. Blokovaný kopolymer poly(ethylen oxid-*b*-butadien-*b*-ethylen oxid)

Vzorky trojblokového kopolymeru studované v předložené práci nebyly připraveny v naší laboratoři, ale byly zakoupeny od externího dodavatele (detail viz kapitola 5.1). Jejich syntéza proběhla ve dvou krocích živou aniontovou polymerizací v THF při 0 °C, zahrnující nejprve polymerizaci bloku z 1,3-butadienu, iniciovanou naftalenidem lithným a terminovanou etylenoxidem. V druhém kroku byly vybudovány postranní bloky z etylenoxidu, přičemž jejich aktivním centrem již nefigurovala lithná, nýbrž draselná sůl.

V následující kapitole si přiblížíme podstatu aniontových polymerizací a dále si teoreticky nastíníme průběh syntézy kopolymeru se všemi aspekty majícími vliv na jeho výslednou strukturu.

Aniontovým mechanismem se polymerizují monomery s elektronakceptorními substituenty, typicky vinylické struktury s nitrilovými a karbonylovými skupinami, či cyklické struktury jako laktony, siloxany a karbonáty. Iniciátory polymerizace se vybírají dle schopnosti tvorby aktivního centra a obecně se jejich požadovaná síla snižuje se zvyšující se elektronegativitou substituentů na monomerech. Pro představu - polymerizaci akrylonitrylu můžeme iniciovat relativně slabou bází methoxidem sodným, dále pak vinyliden kyanidu se iniciuje aminy nebo vodou [1]. Naopak pro polymerizaci nepolárních monomerů, konjugovaných olefinů, je potřeba iniciace pomocí velmi silných bází.

Princip samotné iniciace spočívá v nukleofilním ataku monomeru či elektronovém přenosu pomocí alkalických kovů. Iniciací nukleofilními činidly, tzv. monofunkčními iniciátory, vzniká jedno aktivní centrum. Mezi iniciátory řadíme báze o různé síle; C_4H_9Li , $EtMgBr$, $NaNH_2$ a KOH . Na solvataci a reaktivitu aktivních center má velký vliv rozpouštědlo. Například alkyly sodíku a draslíku jsou špatně rozpustné v benzenu nebo pentanu díky velkému iontovému charakteru molekul. Lepší rozpustnost je vykazována v etherech, přičemž syntéza se provádí regulovaně při laboratorní teplotě, nebo až při velmi nízkých teplotách (-50 až -80 °C), aby se zamezilo vedlejším reakcím s iniciátory. Lze použít i méně reaktivní, rezonančně stabilizované iniciátory jako kumylcesium a difenylmethylithium [5]. Rozpouštědlo bezprostředně ovlivňuje rychlost tvorby aktivních center i stereochemii produktů a s klesající polaritou roste stupeň asociace mezi ionty [13]. Pro zajímavost - při polymerizaci styrenu pomocí KNH_2 v kapalném amoniaku je vzniklé aktivní centrum izolovaný aniont a draslíkové kationty se volně pohybují v roztoku díky vysoké dielektrické konstantě a vysoké solvatační schopnosti kapalného amoniaku.

Při iniciaci metodou přenosu elektronu se vytváří bifunkční aktivní centrum. Polymerizace iniciujeme buď samotnými alkalickými kovy, jejich suspenzemi v inertních rozpouštědlech či éterových roztocích, kde disociují na radikály, nebo reakcí polycyklických aromátů s alkalickými kovy. V obou případech dochází k přenosu elektronů na monomery, tvorbě anionradikálů a dimerizaci na dianionty. Vzniklé aktivní centrum atakuje první monomer a nukleofilní adicí probíhá každý další propagační krok. Polymerizace nepolárních monomerů jako styren a 1,3-butadien probíhají hladce bez přenosových reakcí (transferů) a terminace. Problém vyvstává u monomerů s polárními substituenty vykazujícími reaktivitu vůči iniciátorům - jmenujme metylmetakrylát. Propagační centra se stabilizují rezonancí za formování enolátových aniontů a probíhají nežádoucí substituční a přenosové reakce [5]. Abychom jim zamezili a podpořili živou polymerizaci, aplikujeme stabilizační aditiva (ligandy) tvořící sterickou zábranu a snižující nukleofilitu karbaniontu, ovšem stále dostatečně reaktivního pro adici dalších monomerů. Pro požadovanou stabilizaci se nabízí halogenidy alkalických kovů, nejčastěji $LiCl$, terc-alkoxydy alkalických kovů [14] či porfyriny s koordinačně vázanými centrálními atomy hliníku [5].

Až na výjimky a při vhodných podmínkách zůstávají aktivní centra po konverzi všech monomerů v reakčním systému zachována a schopna další propagace. Přenosové jevy též pozorujeme ojediněle. Nechceme-li v syntéze dále pokračovat, nabízí se možnost řízené terminace kontaminací vhodnými činidly - vodou, aminy, alkoholy či pevným oxidem uhličitým, která deaktivují koncová růstová centra. Fakt, že tyto polymerizace nazýváme živé, ovšem ještě neznamená neomezeně dlouhou existenci aktivních center. V řádu několika týdnů dochází k poklesu jejich koncentrace, spontánní terminaci eliminací hydridu [2]. Za vzniku terminální dvojně vazby se přenáší z β polohy makroaniontu vodík a v kombinaci s protiiontem vzniká hydrid. S terminální dvojnou vazbou řetězce následně reaguje jiný karbaniont a vytváří se nereaktivní allylový aniont. Mimochodem, eliminovaný hydrid může v přítomnosti monomeru polymerizaci znovu iniciovat [2].

V bakalářské práci studovaný kopolymer byl vybrán tak, aby vnitřní blok z 1,3-butadienu obsahoval vysoké zastoupení jednotek 1,2-izomeru vhodných pro následné modifikační reakce. Vliv rozpouštědla na solvataci iontového páru má na geometrickou izomerii řetězce samozřejmě značný vliv. Velkou roli ovšem hraje i protiiont a jeho poloha vůči makroiontu ovlivňující regioselektivitu při polymerizaci. Právě lithiový kationt oproti jiným iontům alkalických kovů podléhá specifické solvataci v důsledku krátké meziiontové vzdálenosti v porovnání s „objemnějšími kovy“ [15]. Pro srovnání - poloměr draselného kationtu je vůči lithnému přibližně dvojnásobný. Jak již bylo zmíněno, polymerizací 1,3-butadienu můžeme získat uspořádání makromolekul obsahující jednotky 1,2-izomeru a 1,4-izomeru v uspořádání cis/trans. Formování řetězců obsahujících 1,4-izomer polybutadienu je upřednostňováno při nízkých teplotách v nepolárních rozpouštědlech. Při syntéze zahrnující lithiový kationt ve spojení s rozpouštědlem o vyšší polaritě nebo přidáním Lewisovy báze do nepolárního rozpouštědla [16] se obsadí koordinační pozice okolo lithiového kationtu a dochází k bránění adice monomeru jeho koncovým atomem. Místo toho je favorizována adice v γ -poloze [15] přispívající k zvýšení podílu jednotek 1,2-izomeru.

V případě studovaného kopolymeru iniciace polymerizace proběhla reakcí lithia s naftalenem za vzniku anionradikálu a rychlým transferem elektronu na α -metylstyren za regenerace naftalenu. Anionradikály α -metylstyrenu představují rezonanční hybridy schopné dimerizovat za tvorby dianiontů připravených k propagaci.

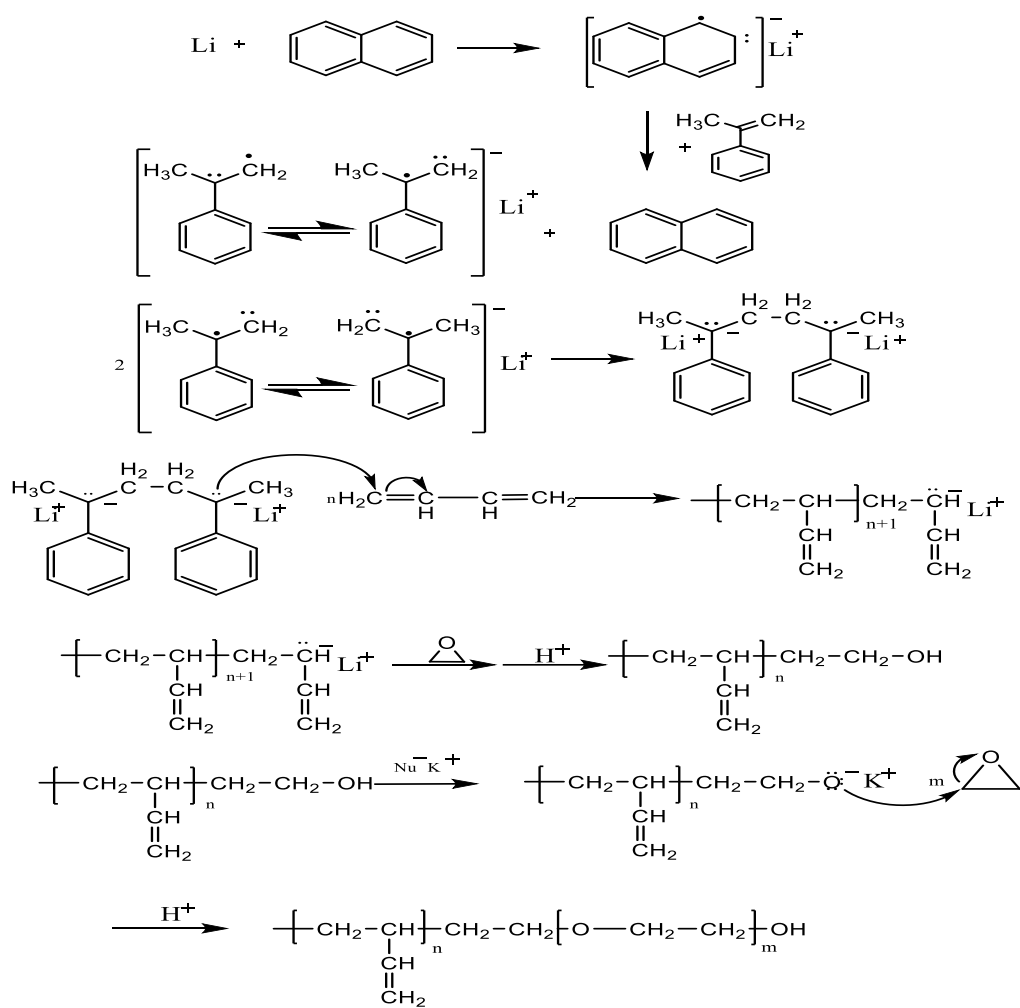
Propagace spočívající v nukleofilním ataku monomeru postupovala kvantitativně podle přidaného množství 1,3-butadienu a následovala terminace polybutadienylového dianiontu etylenoxidem a protonace. S tím vyvstává otázka, proč se ihned nepokračovalo v samotné polymerizaci dalších bloků. V této konkrétní situaci by došlo k adici jednoho monomeru etylenoxidu a další propagace by nefungovala či běžela velmi pomalu [10]. Některé blokové kopolymery mohou být připravovány sekvenčně bez terminace, jiné nikoliv, protože monomery mohou podléhat zcela odlišným podmínkám. Sekvenční polymerizace je omezena rozdílnou reaktivitou monomerů a předpokladem je jejich stoupající elektronová afinita, viz sekvence styren < 1,3-butadien < metyl akrylát < etylenoxid [17], což by v našem případě bylo dodrženo. Obtíž se objevuje v kompatibilitě aktivního centra, respektive kationtu.

Za těchto okolností se buď nejprve připraví bloky homopolymerů a následně se kovalentně propojí s dalšími bloky prostřednictvím reaktivních konců řetězců, anebo je provedena zmíněná terminace a nová iniciace bází s rozdílným kationtem. K druhé iniciaci byla opět použita silná báze s draslíkovým kationtem (v reakčním schématu označena jako nukleofil, neboť nebyla výrobcem přesně specifikována). Tím se vytvořil makroiniciátor s terminálními alkoksidovými skupinami na obou koncích řetězce, též nazývaný telechelický polymer [10]. Opakující se propagační krok spočíval v nukleofilním ataku uhlíkového atomu etylenoxidu a otevření jeho kruhu.

Popsanou syntézou, jejíž reakční mechanismus je znázorněn na Obr. 3, byl připraven amfifilní kopolymer obsahující hydrofilní a hydrofobní bloky. Bloky z etylenoxidu i další polymery na bázi polyetherů vykazují vysokou flexibilitu polymerních řetězců vedoucí k nízkým teplotám skelného přechodu pod $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ a obvykle výraznou hydrofilicitu díky kostře obsahující vazby C-O-C. Polymery s uhlíkovým skeletem na bázi uhlíku polyolefinů nebo jiných vinylových polymerů jsou obvykle nepolární a mají odlišné fyzikální vlastnosti [18].

Máme-li dva homopolymery vykazující rozdílnou rozpustnost například ve vodě, rozpustí se pouze makromolekuly hydrofilního homopolymeru, přičemž hydrofobní homopolymer zůstane fázově separovaný. V případě kovalentně propojených bloků u amfifilních dvojblokových kopolymerů dochází k mikrofázové separaci, bloky se segregují do domén a vytvářejí se micely různých tvarů - sférické, cylindrické, lamelární či dvojrstvé [10]. Tato samoskladba kopolymerů, pro niž užíváme anglické označení „self-assembly“, je samovolný proces doprovázený poklesem volné Gibbsovy energie, řízený v případě dvojblokových kopolymerů v organických selektivních rozpouštědlech výrazně zápornou změnou směšovací entalpie ve spojení s nevýrazným příspěvkem směšovací entropie [17]. Ve vodných roztocích je však tento proces entropicky řízený vlivem hydrofobního efektu. Proces samoskladby je ovlivnitelný i vnějšími zásahy, a to změnou pH, teploty, kvalitou rozpouštědla nebo přidáním aditiv.

Nanočástice tvořené z blokových kopolymerů mají široké potenciální uplatnění v materiálové chemii, biotechnologiích a medicíně. Medicínským aplikacím jako nosičům léčiv (*drug delivery*) aplikovatelných například při léčbě rakoviny [19] je v posledních letech věnována velká pozornost a přináší řadu nových možností léčby pacientů.



Obr. 3: Poly(ethylen oxid-b-butadiene-b-ethylen oxid): schéma dvoustupňové aniontové polymerizace blokového kopolymeru

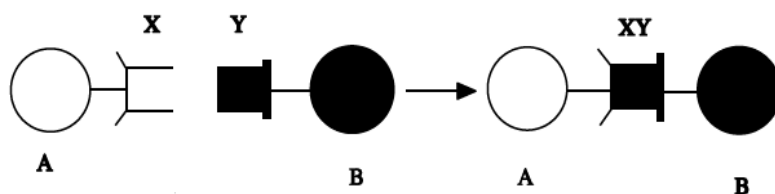
2. Click reakce

2.1. Definice, charakter a druhy click reakcí

Chemie jako vědní obor se neustále dynamicky rozvíjí, přináší další poznatky o struktuře látek a zavádí nové rozmanité způsoby přípravy a postsyntetických úprav přírodních i syntetických chemických individuí. V posledních dvou desetiletích se nejen v oblasti makromolekulární chemie začala utvářet disciplína založená na moderních a zároveň jednoduchých přístupech v syntéze a modifikaci specifických molekul, následně široce využitelných v materiálovém inženýrství [20], medicíně a farmacii [21].

Průkopníkem této disciplíny „Click chemistry“ se stal americký profesor a nositel Nobelovy ceny za chemii K. B. Sharpless [20, 22]. Ten oproti prováděným konvenčním a poměrně náročným reakcím zaměřujícím se na tvorbu stereospecifických uhlíkových vazeb a vyžadujícím řadu sekvenčních reakcí s nutností aplikace chránících skupin [20] vnesl do chemie nový koncept a zavedl neotřelé způsoby syntézy striktně splňující stanovená kritéria. Dle jeho definice musí být click reakce modulární, stereospecifické a poskytující vysoké výtěžky bez vzniku škodlivých vedlejších produktů, které lze z reakční směsi separovat nechromatografickými metodami [23], například destilací či krystalizací. Reakce by měly být proveditelné za co nejjednodušších podmínek, ideálně bez nutnosti inertní atmosféry a sušení. Důraz se klade též na vysokou stabilitu produktů.

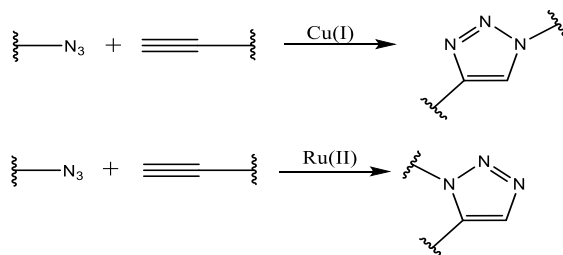
Click reakce dosahují svých požadovaných vlastností, protože se kromě jiného jedná o silně termodynamicky řízené reakce s volnou energií obvykle vyšší než 20 kcal/mol [20, 23]. V případě polymerních systémů můžeme pomocí click reakcí vytvářet blokové kopolymery z homopolymerů, roubovat boční části řetězců na hlavní řetězce, provádět reakce s koncovými skupinami či různé intramolekulární reakce. „Click chemistry“ se tedy neomezuje na jeden typ reakcí, ale představuje jistý rámec zahrnující různé reakční mechanismy se společnou reakční trajektorií (viz Obr. 4).



Obr. 4: Obecné schéma click reakcí [1]

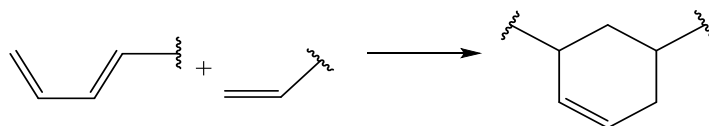
Z celé škály dnes existujících click reakcí si přiblížíme a klasifikujeme několik typických příkladů. Prvním takovým je Huisgenova 1,3-dipolární cykloadice terminálních alkynů s azidy za vzniku 1,2,3-triazolů [24] (Obr. 5). Sama o sobě tato reakce probíhá pomalu a poskytuje směs 1,4 a 1,5 izomerů vzhledem k substituentům na triazolovém cyklu [20, 25], tj. není regioselektivní. Použijeme-li ovšem vhodnou katalýzu v podobě Cu^+ , získáme

výlučně 1,4 substituované produkty a můžeme syntézu provádět v širokém rozsahu teplot (0-160 ° C) i hodnot pH (5 až 12) a v rozmanité škále rozpouštědel včetně vody [21]. Jinou volbu katalýzy představuje Ru^{2+} poskytující zásadně 1,5 substituované produkty. Katalyzátory se generují buď z prekurzorů (hydrazin a $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) nebo se využívají koordinační sloučeniny či soli s kovem v požadovaném oxidačním stavu (CuBr, CuI) [1]. Předností této click reakce je skutečnost, že pomocí ní reagují substituované primární, sekundární, terciární a aromatické azidy jakož i terminální alkyne s různě větvenými a substituovanými postranními řetězci [26].



Obr. 5: 1,3-dipolární cykloadice azidů a terminálních alkynů

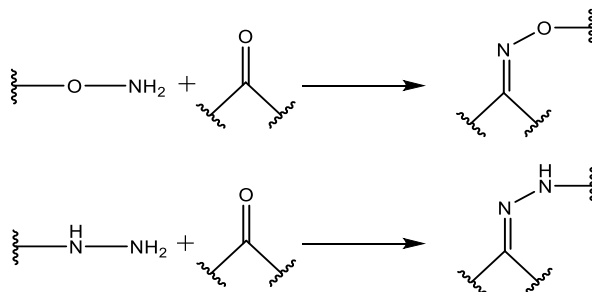
Mezi click reakce se jako další řadí Dielsova-Alderova cykloadice elektronově bohatého dienu (1,3-cyklopentadien, furan a jeho deriváty) a elektronově chudého dienofilu (deriváty kyseliny maleinové, vinyl ketony) při tvorbě cyklohexenového kruhu [27] (Obr. 6). Vzniklý kruh není omezen pouze na vazby uhlík-uhlík, může obsahovat též heteroatomy. Pro polymerní chemii atraktivita této organickými chemiky masově využívané reakce spočívá v její termální reverzibilitě využitelné například při tvorbě teplotně řízených polymerních sítí, nacházejících aplikace v medicíně při léčbě a hojení povrchových zranění [28]. Nutné je ovšem podotknout, že označení click reakce v případě provádění Dielsovy-Alderovy cykloadice je limitováno pouze při použití definovaných reaktantů. Konvenčně prováděné reakce totiž vyžadují pro vysoký stupeň konverze zvýšené teploty často přesahující 100 °C [20]. Tím zcela nesplňují výše zmíněná kritéria. Jako click reakci můžeme například charakterizovat selektivní Dielsovu-Alderovu cykloadici substituovaných furanů či anthracenů s deriváty maleimidů .



Obr. 6: Dielsova-Alderova cykloadice dienu a dienofilu

Typickými click reakcemi jsou též ne-aldolové kondenzace aldehydů či ketonů s nukleofilními aminy při tvorbě iminové vazby (Obr. 7). V případě interakce se substituovanými hydraziny vznikají hydrazony a při syntéze oximů reagují karbonyly s hydroxylaminy, respektive aminoroxyskupinami. Tyto reakce se vyznačují chemoselektivitou a kompatibilitou s funkčními skupinami v biomolekulách, bývají proto

voleny k přípravě funkčních biokonjugátů [20]. Zajímají-li nás praktická využití, uplatnění se nachází opět na poli medicíny a biotechnologií, například v přípravě nových generací léčiv nebo biokompatibilních hydrogelů podporujících buněčnou adhezi a rychlou regeneraci tkání [29].

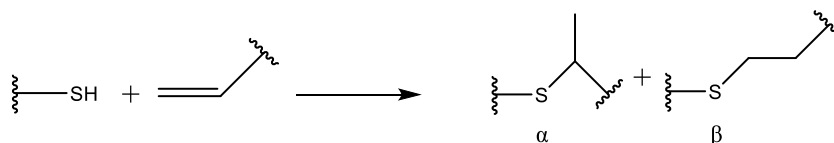


Obr. 7: Kondenzační reakce syntézy oximů/hydrazonů

2.2. Modifikace blokového kopolymeru metodou thiol-ene click

V následujícím textu si nejprve obecně přiblížíme charakter často používaných adičních click reakcí alkenů s thioley. Následně se budeme již konkrétně zabývat modifikací námi studovaného kopolymeru a seznámíme se s reakčním schématem prováděné syntézy.

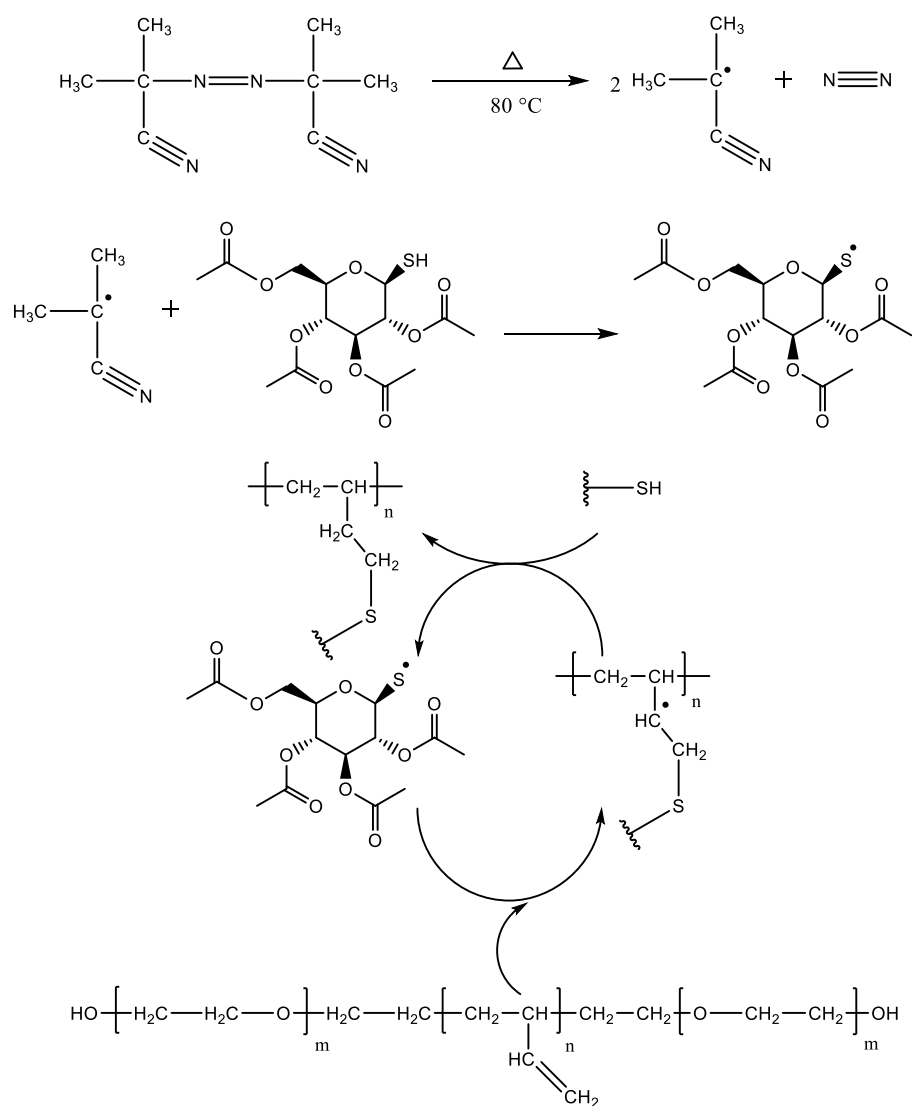
Dle intenzity elektronové hustoty na dvojně vazbě alkenů se iniciace provádí dvěma způsoby. Je-li nízká z důvodu přítomnosti skupin odčerpávacích elektrony, užívají se nukleofilní činidla a syntéza se řídí mechanismem Michaelovy adice [20, 30]. V nepřítomnosti takových skupin se provádí radikálová iniciace termickým či fotochemickým rozkladem prekurzorů. Reakce, při níž vzniká stabilní thioetherová vazba, probíhá buď za vzniku α -produktu, nebo se dle anti-Markovnikova pravidla formuje obvykle převažující β -produkt [1], jak znázorňuje Obr. 8.



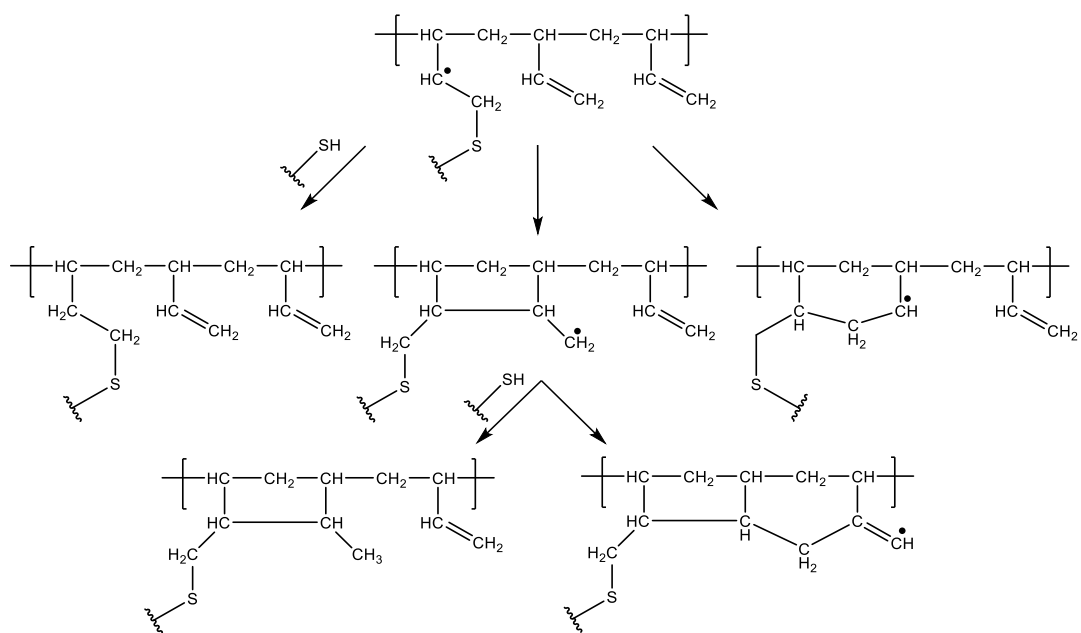
Obr. 8: Obecné schéma reakce thiolů s alkeny s možnými formami produktů

Modifikace námi studovaného kopolymeru byla provedena s užitím radikálového iniciátoru. Hlavní cíl představuje funkcionalizace vinylových skupin vnitřního bloku polybutadienu thiolem, kterým je v našem případě 1-Thio- β -D-glukóza tetraacetát (S-GLUAC). V první fázi se provede generace radikálů termickým rozkladem iniciátoru AIBN. Interakcí těchto radikálů s užitým thiolem se vytvoří thioylvé radikály adující se na dvojnou vazbu alkenů, přičemž vznikají radikály na atomech uhlíků. Ty pak abstrahují vodíky z dalších thiolů přítomných v reakční směsi a regenerují se thioylvé radikály. Ideální

mechanismus reakce (Obr. 9) spočívá ve střídání adičních a vodíkových abstrakčních reakcí [20] a předpokládá funkcionalizaci vinylových skupin thiolem ze 100 %. V reálné situaci však musíme uvažovat i existenci simultánně probíhajících bočních reakcí, například předčasné terminace či přenosy radikálů působící síťování (Obr. 10), které jsou pro nás nežádoucí. Naší snahou je tyto reakce v maximální míře eliminovat. Jak víme, click reakce musí fungovat za běžných okolních podmínek a působení kyslíku či vody by je nemělo jakkoliv narušit. Průběh však dokáže významně ovlivnit množství použitého thiolu a iniciátoru. Bylo prokázáno, že nadbytek thiolu k alkenu 5:1 až 10:1 přináší uspokojivé výsledky [31]. Naopak v poměru 1:1 se úspěšně funkcionalizuje jen malá frakce dvojných vazeb.



Obr. 9: Reakční schéma modifikace blokového kopolymeru



Obr. 10: Možné nežádoucí simultánní reakce v průběhu modifikace

3. Techniky charakterizace polymerů

3.1. Rozptyl světla

Tato metoda užívaná mimo jiné pro stanovení molekulové hmotnosti rozpuštěných částic polymerů v roztoku je založena na interakci těchto částic se světelným zářením. Světlo charakterizujeme jako elektromagnetické příčné vlnění o určité vlnové délce šířící se prostorem v určitém směru. Představme si libovolnou chemickou látku. Atomy jakékoliv takové látky vykazují parciální rozložení elektrických nábojů. V případě interakce záření s náboji dané molekuly dochází ke změně prostorového rozložení těchto nábojů. Velikost tohoto jevu je určena polarizovatelností, tedy schopností přesouvání nábojů molekulou [32]. Vytváří se oscilující dipólové momenty působící jako emitory sekundárního (rozptýleného) záření, jehož intenzita je nepřímo úměrná čtvrté mocnině jeho vlnové délky.

Podstatnou roli při zkoumání částic touto metodou hraje jejich velikost. Jsou-li dostatečně malé v porovnání s vlnovou délkou λ interagujícího záření, tj. menší než $\lambda/20$, považujeme je za bodové zdroje rozptýleného záření [33]. Molekuly pak světlo rozptylují stejně ve všech směrech. Tento jev nazýváme izotropní rozptyl závisející pouze na hmotnosti dané částice, nikoliv na úhlu rozptýleného záření vzhledem k primárnímu paprsku [32]. Naopak na částice větší než $\lambda/20$ nemůžeme nahlížet jako na bodové zdroje rozptýleného záření. Díky rozptylu z více míst v rámci jedné částice dochází k interferenčnímu efektu rozptýleného záření v důsledku fázového posunu emitovaných vln. Rozptýlené záření se šíří všemi směry vyjma směru dopadajícího paprsku, avšak jeho intenzita klesá s rostoucím úhlem pozorování. V plné míře se tak projevuje úhlová závislost intenzity rozptýleného světla [32].

Úhlová závislost intenzity rozptýleného záření se nejčastěji vyjadřuje v závislosti na velikosti rozptylového vektoru q , neboli rozdílu vlnových vektorů primárního a rozptýleného paprsku. Hodnotu q vyjádříme vztahem:

$$q = \frac{4\pi n_0}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad (9)$$

kde n_0 je index lomu rozpouštědla a θ rozptylový úhel mezi směrem primárního paprsku a směrem rozptýleného paprsku. U částic menších než $\lambda/20$ intenzita rozptýleného záření na q nezávisí. Naopak u větších částic se v důsledku interference záření intenzita stává směrově závislou veličinou, jak již bylo výše uvedeno.

Popišme si krátce chování pozorovaných částic v rozpouštědle. V důsledku teplotních, hustotních či koncentračních fluktuací konají molekuly Brownův pohyb. Tím rozptyl světla z různých míst vzorku vykazuje různou intenzitu. Pozorujeme tak prostorové fluktuace v intenzitě rozptylu. Zároveň se projevují i časové fluktuace, tj. že se intenzita rozptýleného záření v pozorovaném místě mění s časem.

Chceme-li stanovit M_w polymerních vzorků, použijeme metodu statického rozptylu světla (SLS). Princip spočívá v přípravě vzorků (zředěných polymerních roztoků o různé koncentraci) a proměření rozptylu při stanovené teplotě. Na rozdíl od měření časově závislých fluktuací intenzity rozptylu statický rozptyl světla využívá časově zprůměrované intenzity rozptýleného světla [34]. Intenzitu rozptýleného světla částicemi popisuje rovnice (10):

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{M_w P_\theta} + 2A_2 c \quad (10)$$

kde R_θ je Rayleighův poměr, tedy poměr intenzity rozptýleného světla vyzářeného jednotkovým objemem vzorku ve vzdálenosti r od tohoto objemu k intenzitě světla dopadajícího na vzorek vynásobený r^2 . A_2 je druhý virální koeficient, c koncentrace vzorku, P_θ úhlová závislost intenzity rozptylu vzorku, tzv. částicový faktor, a K optická konstanta, definovaná následovně:

$$K = \frac{4\pi^2}{\lambda_0^4 N_A} \left(n_0 \frac{dn}{dc} \right)^2 \quad (11)$$

přičemž N_A značí Avogadrovu konstantu, λ_0 vlnovou délku zdroje záření (laseru), n_0 index lomu rozpouštědla a dn/dc je inkrement indexu lomu, tj. změna indexu lomu jako funkce změny koncentrace. Přibližme si význam virálního koeficientu A_2 . Hodnota této veličiny vypovídá o vzájemných interakcích mezi částicemi rozpouštědla a rozpuštěné látky. V dobrém rozpouštědle je A_2 pozitivní, ve špatném rozpouštědle nebo srážedle nabývá A_2 záporných hodnot [35]. V dobrém rozpouštědle budou mít řetězce rozpuštěného polymeru tendenci maximalizovat kontakt s molekulami rozpouštědla. V opačném případě se řetězce shlukují pro minimalizaci takové interakce. Může však nastat i situace, ve které je hodnota A_2 právě rovna nule. V tomto případě se řetězce v roztoku vyskytují v podobě statistických klubek (ve smyslu polymerního klubka popisovaného modelem „náhodné procházky“) a interakce dlouhého dosahu mezi molekulárními segmenty polymeru jsou vyváženy interakcemi polymeru s rozpouštědlem. Takový typ rozpouštědla označujeme termínem théta-rozpouštědlo [36].

Z naměřených experimentálních dat získáme hodnotu M_w dosazením výrazu pro částicový faktor P_θ do rovnice (10):

$$P_\theta = 1 - \frac{1}{3} R_g^2 q^2 \approx \frac{1}{1 + \frac{1}{3} R_g^2 q^2} \quad (12)$$

kde R_g je gyrační poloměr částice. Tímto dosazením pro malé hodnoty q a c získáme Zimmovu rovnici (13):

$$\frac{Kc}{R_\theta} = \frac{1}{M_w} \left(1 + \frac{R_g^2}{3} q^2 \right) + 2A_2c \quad (13)$$

Experimentální data vynášíme do Zimmova diagramu, přičemž jednak provádíme extrapolaci na nulovou koncentraci proti různým úhlům pozorování ($c \rightarrow 0$) a také extrapolaci na nulový úhel pozorování proti různým koncentracím vzorků ($q \rightarrow 0$). Tím získáme reciprokou hodnotu hmotnostně střední molární hmotnosti polymeru $1/M_w$. Kromě určení molekulové hmotnosti můžeme ze směrnice křivky pro nulový úhel pozorování stanovit A_2 a ze směrnice křivky pro nulovou koncentraci hodnotu R_g .

Pro stanovení velikosti polymerních (koloidních) částic v roztoku z jejich difúzního pohybu použijeme metodu dynamického rozptylu světla (DLS). Na rozdíl od metody SLS měříme časově závislé fluktuační intenzity rozptýleného záření. Rychlost změny těchto časových fluktuačních charakterizuje časová autokorelační funkce. Z naměřených experimentálních dat lze stanovit difúzní koeficient D . Tato veličina charakterizuje, jak snadno určitá látka difunduje daným prostředím a vyjadřuje počet molů látky, které za jednotku času projdou jednotkovou plochou při jednotkovém koncentračním gradientu. Při znalosti D pomocí Einsteinova-Stokesova vztahu určíme hydrodynamický poloměr částic R_H :

$$R_H = \frac{kT}{6\pi\eta D} \quad (14)$$

kde k je Boltzmanova konstanta, T teplota a η viskozita rozpouštědla.

3.2. Nukleární magnetická rezonance

Spektroskopie nukleární magnetické rezonance je analytická metoda založená na měření spektrálních přechodů mezi jadernými spinovými hladinami rozštěpenými působením vnějšího magnetického pole [37]. Tato technika poskytuje přesné kvalitativní a kvantitativní informace o struktuře polymerních materiálů a o aspektech struktury řetězců nedosažitelných jakoukoliv jinou metodou [38]. K zmíněným přechodům dochází interakcí spinových magnetických momentů jader s oscilujícím magnetickým polem elektromagnetického záření s frekvencí odpovídající rozdílu energií příslušných spinových hladin [37].

Podobně jako elektrony mají i atomová jádra spinové a orbitální momenty hybnosti, které mohou vyvolávat magnetické momenty a tím se do jisté míry chovat jako malé tyčové magnety s energiemi závislé na jejich orientaci ve vnějším magnetickém poli [39]. Jádro charakterizované spinovým kvantovým číslem I se projevuje spinovým momentem hybnosti I :

$$|I| = \hbar\sqrt{I(I+1)} \quad (15)$$

kde \hbar je redukovaná Planckova konstanta, přičemž $\hbar = \frac{h}{2\pi}$. Analogicky jako pro elektron platí pro spinový moment jádra I jaderný spinový magnetický moment μ_I :

$$\mu_I = \gamma I \quad (16)$$

kde γ je gyromagnetický poměr jádra, empirická hodnota charakteristická pro dané jádro plynoucí z jeho struktury a lze jej vyjádřit ve tvaru:

$$\gamma = (g_n \mu_N / \hbar) \quad (17)$$

konstanta g_n vyjadřuje jaderný g-faktor a μ_N jaderný magneton, který je přibližně 2000-krát menší než Bohrov magneton ($\mu_B = 9,27 \cdot 10^{-24} \text{ J} \cdot \text{T}^{-1}$) [39, 40], nejnižší hodnota magnetického momentu elektronu, a tedy i energie interakcí s vnějším magnetickým polem je asi 2000-krát slabší v porovnání s elektrony. Veličinu μ_N můžeme dále rozepsat:

$$\mu_N = e\hbar/2m_p \quad (18)$$

kde e představuje elementární náboj a m_p hmotnost protonu.

Předmětem studia v NMR spektroskopii jsou pouze magneticky aktivní jádra ($I > 0$). Tuto podmínku splňují atomy s lichým atomovým číslem a sudým nukleonovým číslem mající celočíselné spiny a atomy s lichým nukleonovým číslem mající poločíselné spiny. Nejčastěji bývají využívány izotopy ^1H , ^{13}C či ^{31}P s $I = 1/2$. Naopak jádra se sudým počtem protonů i neutronů (^{12}C , ^{16}O) mají nulový magnetický moment.

Jádro se spinovým kvantovým číslem má složku momentu hybnosti $m_I \hbar$ ve směru určité osy a $m_I = I, I - 1, \dots, -I$. Spin i magnetický moment jádra mohou zaujímat $2I + 1$ orientací vzhledem k souřadné ose [39]. Uvažujme nyní vzorek obsahující množství jader se spiny $1/2$. Spiny jádra tedy mohou, například vůči ose z , zaujímat dvě možné orientace, kdy $m_I = \pm 1/2$. V nepřítomnosti vnějšího magnetického pole se populace spinových hladin jader N_α a N_β rovnají, vektory jejich magnetických momentů jsou náhodně orientovány na površích pomyslných kuželů a výsledný jaderný magnetický moment vzorku, magnetizace M_0 , je nulový. Působí-li na vzorek vnější statické magnetické pole o indukci B_0 ve směru osy z , pozorujeme Zeemanův jev [37], neboli štěpení degenerovaných spinových hladin, jak můžeme vidět na Obr. 11. Magnetické pole působí posunutí spinů α k nižší energii a spinů β k vyšší energii. Dále dochází k změně populací obou spinových stavů, kdy se zvyšuje počet stavů α na úkor stavů β a jejich relativní populace určuje Boltzmannovo rozdělení:

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = \exp(h\nu/kT) \quad (19)$$

kde k je Boltzmannova konstanta a T termodynamická teplota. Musíme zmínit, že i při vysoké intenzitě pole B_0 (11-12 T) docílené supravodivým magnetem a při teplotě 273 K se v uvažované populaci 10^5 spinů zvýší počet stavů α pouze přibližně o devět [41]. To má za následek nižší citlivost oproti jiným spektrálním metodám.

Vektory magnetizace v poli B_0 konají precesní pohyb po povrchu kuželů s rezonanční (Larmorovou) frekvencí ν_0 :

$$\omega_0 = 2\pi f_0 = \gamma B_0 \quad (20)$$

$$\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi$$

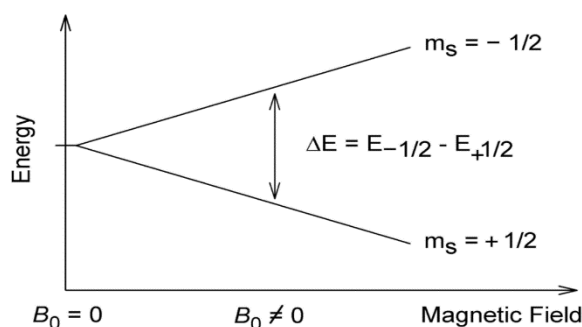
Výsledný vektor M_0 se orientuje shodně jako vektor magnetické indukce B_0 , tedy ve směru osy z . Energetický rozdíl ΔE mezi stavy $m_I = +\frac{1}{2}$ (nižším pro kladné γ) a $m_I = -\frac{1}{2}$ (vyšším pro kladné γ) je pro jádro se spinem $I = \frac{1}{2}$:

$$\Delta E = h\nu = E_{-1/2} - E_{+1/2} \quad (21)$$

$$= \frac{1}{2}\gamma\hbar B_0 - (-\frac{1}{2}\gamma\hbar B_0)$$

$$= \gamma\hbar B_0 = (\gamma h B_0 / 2\pi)$$

Velikost energetického rozdílu je právě rovna velikosti rezonanční frekvence. K rezonanci mezi spinem jádra s frekvencí ν_0 a elektromagnetickým polem radiofrekvenčního pulzu o frekvenci ν dochází tehdy, pokud $\nu_0 = \nu$.



Obr. 11: Štěpení degenerovaných spinových hladin vlivem statického magnetického pole [38]

Přibližme si důležité aspekty mající vliv na výslednou podobu NMR spekter. Uvažujme jádra jednoho izotopu, na něž působí statické magnetické pole o indukci B_0 . Ta by teoreticky měla rezonovat při stejné frekvenci. Nicméně vnější magnetické pole působící na elektrony v okolí jader vyvolá jejich proudový pohyb. Elektrony se tak chovají jako proudové smyčky [40] indukující vlastní slabé magnetické pole B působící na jádro v opačném směru než statické pole B_0 a je mu úměrné:

$$\delta B = -\sigma B_0 \quad (22)$$

kde δ je chemický posun a σ stínící konstanta. Výsledné lokální magnetické pole působící na jádro závisí na uspořádání elektronů v jeho blízkosti, přičemž jádra různých chemických skupin mají odlišné stínící konstanty [39]. Celkové lokální pole B_{loc} má velikost:

$$B_{loc} = (1 - \sigma)B_0 \quad (23)$$

a pro Larmorovu frekvenci ν_0 platí:

$$\begin{aligned}\nu_0 &= \gamma B_{loc}/2\pi \\ &= (1 - \sigma)\gamma B_0/2\pi\end{aligned}\quad (24)$$

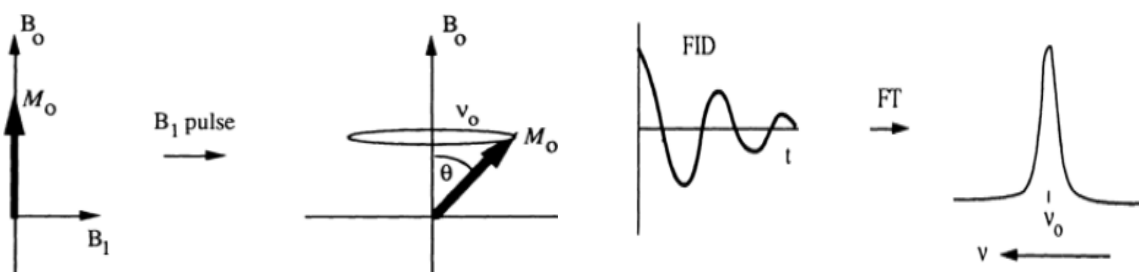
Ta se liší pro jádra s různým chemickým okolím. Rezonanční frekvence se vyjadřují prostřednictvím chemického posunu δ :

$$\delta = 10^6(\nu - \nu^\circ) \nu^\circ \quad (25)$$

kde ν je rezonanční frekvence daného jádra a ν° rezonanční frekvence referenčního standardu, tetramethylsilanu, mající $\delta = 0$. O jádrech s vysokým chemickým posunem říkáme, že jsou silně odstíněna a naopak [42].

Vedle chemického posunu podobu NMR spekter ovlivňují spin-spinové interakce způsobující štěpení linií daného jádra, což je pozorováno například pro jádra vodíku. Tato interakce skupiny protonů s protony druhé skupiny závisí na počtu ekvivalentních protonů v sousedních skupinách. N ekvivalentních jader se spinem $\frac{1}{2}$ štěpí signál sousedního jádra či skupiny ekvivalentních jader na $N + 1$ linií. Velikost této interakce se vyjadřuje pomocí interakční konstanty J , jinak také nazývané konstantou spin-spinové vazby, a udává vzdálenost dvou sousedních linií daného multipletu [37, 38].

Pro úplnost si charakterizujeme vznik NMR signálů (Obr. 12). Působením radiofrekvenčního pulzu obvykle trvajícího několik mikrosekund a majícího stejnou frekvenci jako Larmorova frekvence je způsobena excitace všech jaderných spinů do vyšších energetických hladin. Radiofrekvenční pulz B_1 způsobí pootočení vektoru magnetizace M_0 z roviny z do roviny xy , který rotuje v rovině kolmé kolem pole B_1 a indukuje v cívice detektoru proud, respektive signál, který osciluje a po odeznění pulsu se zmenšuje. Vektor M_0 se následně vrací do původní polohy. Tuto časovou závislost nazýváme volně dozívající indukci (z ang. *free induction decay*, *FID*) [39, 42]. Pro získání vyhovujících dat se převádí signály z časové škály do frekvenční domény Fourierovou transformací.



Obr. 12: Vlevo: působení radiofrekvenčního pulzu na celkovou jadernou magnetizaci. θ je úhel pootočení. Vpravo: časově závislá volně dozívající indukce a Fourierova transformace za vzniku frekvenčního spektra [41]

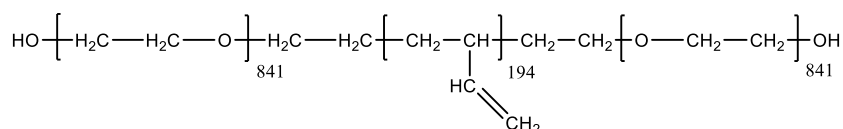
4. Cíle práce

- 1) Modifikace blokových kopolymerů s vysokým stupněm funkcionalizace vinylových skupin 1-Thio- β -D-glukózou tetraacetátem, radikálově iniciovanou thiol-ene click reakcí a následná izolace a čištění produktů.
- 2) Stanovení M_n , M_w a \bar{D} výchozích blokových kopolymerů metodou gelové permeační chromatografie (GPC).
- 3) Charakterizace struktury a stupně funkcionalizace modifikovaných blokových kopolymerů prostřednictvím spektroskopie nukleární magnetické rezonance.
- 4) Pozorování polymerních nanočástic ve vodě připravených z modifikovaných blokových kopolymerů metodami statického rozptylu světla (SLS) a dynamického rozptylu světla (DLS).

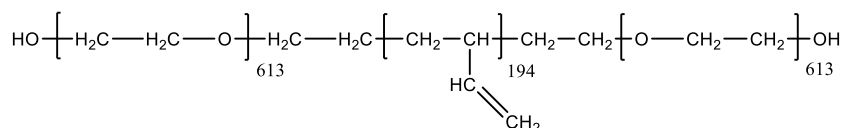
5. Experimentální část práce

5.1. Použité chemikálie

Dva vzorky blokového kopolymeru poly(ethylen oxid-*b*-1,2-butadien-*b*-ethylen oxid), PEO-*b*-1,2-PB-*b*-PEO, určené k modifikaci, obsahující z více jak 85 % jednotky 1,2-izomeru v PB bloku, byly zakoupeny od firmy Polymer Source Inc. (Kanada). Způsobu syntézy a vlastnostem těchto kopolymerů je věnována kapitola 1.3. Rozdíl mezi oběma vzorky kopolymerů spočíval v různé velikosti PEO bloků a odlišné disperzitě, přičemž tyto výrobcem stanovené vlastnosti byly následující: vzorek s identifikačním kódem P41728-EOBdEO (Obr. 13) o $\bar{D} = 1,01$ měl početně střední molekulovou hmotnost (M_n) jednotlivých bloků 37.0-*b*-10.5-*b*-37.0 kg/mol a vzorek s kódem P41729-EOBdEO (Obr. 14) o $\bar{D} = 1,02$ měl početně střední molekulovou hmotnost (M_n) jednotlivých bloků 27.0-*b*-10.5-*b*-27.0 kg/mol.

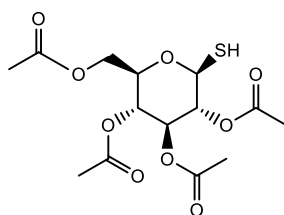


Obr. 13: Struktura kopolymeru poly(ethylen oxid-*b*-1,2-butadien-*b*-ethylen oxid), počet segmentů uveden pro vzorek s kódem P41728-EOBdEO se střední hmotností jednotlivých bloků 37.0-*b*-10.5-*b*-37.0 kg/mol



Obr. 14: Struktura kopolymeru poly(ethylen oxid-*b*-1,2-butadien-*b*-ethylen oxid), počet segmentů uveden pro vzorek s kódem P41729-EOBdEO se střední hmotností jednotlivých bloků 27.0-*b*-10.5-*b*-27.0 kg/mol

1-Thio- β -D-glukóza tetraacetát (S-GLUAC), (Obr. 15) o molekulové hmotnosti 364,37 g/mol a čistotě 97 % byla jako modifikační činidlo zakoupena od firmy Sigma-Aldrich (USA).



Obr. 15: Struktura 1-Thio- β -D-glukózy tetraacetátu

Další použité chemikálie jsou pro lepší přehlednost uvedeny níže v Tab. 1:

Chemikálie	M (g/mol)	Výrobce
DMF	73,10	Lach-Ner, s.r.o., ČR
CDCl ₃ (99,8% D)	120,38	Chemotrade, Německo
THF	72,11	VWR International, USA
KOH	56,11	PENTA s.r.o., ČR
Benzofenon (99 %)	182,22	Sigma-Aldrich, USA
AIBN (98 %)	164,21	Fluka, Švýcarsko

Tab. 1: Seznam použitých chemikálií v experimentální části práce

5.2. Modifikace thiol-ene click reakcí

Jako vhodné rozpouštědlo pro modifikační reakce byl zvolen čerstvě destilovaný THF. 300 ml THF bylo 24 hodin sušeno 50 g hydroxidu draselného. Následně se THF přelil do 500ml trojhrdlé destilační baňky, přidalo se 25 g nakrájeného kovového sodíku a směs byla 15 minut zahřívána na topném hníždě. Po 20 minutách chlazení bylo do baňky přes septum přidáno 10 ml roztoku benzofenonu připraveného rozpuštěním 10 g benzofenonu v 20 ml THF. Obsah baňky se přivedl k varu, přičemž se po 5 minutách začal zbarvovat do sytě modré barvy. Toto zbarvení indikovalo, že se v rozpouštědle nenacházejí stopy vody ani rozpuštěného kyslíku [43]. Pro upřesnění: při reakci benzofenonu se sodíkem dochází ke vzniku ketylového radikálu (modré zbarvení). V případě obsahu vody nebo kyslíku v rozpouštědle rychle dochází k reakci s ketylovými radikály, modré zbarvení by tedy nebylo indikováno a to by svědčilo a nedostatečné čistotě THF.

Pro modifikační reakci kopolymeru P41728-EOBdEO byly použity následující navážky reagujících složek: 224,9 mg (0,00266 mmol) kopolymeru, 977,3 mg (2,68 mmol) 1-Thio-β-D-glukózy tetraacetátu, tj. 5,2 násobný nadbytek thiolu k dvojným vazbám PB bloku a 44,1 mg AIBN (0,269 mmol).

Pro modifikační reakci kopolymeru P41729-EOBdEO byly použity následující navážky reagujících složek: 214,6 mg (0,00333 mmol) kopolymeru, 1080,6 mg (2,97 mmol) 1-Thio-β-D-glukózy tetraacetátu, tj. 4,6 násobný nadbytek thiolu k dvojným vazbám PB bloku a 45,3 mg AIBN (0,276 mmol).

Dále prezentovaný postup byl použit v obou případech modifikace. Výše uvedené navážky reaktantů byly společně s magnetickým míchadlem vloženy do 100ml destilační baňky. Baňka se uzavřela septem, přes které se do ní injekční stříkačkou přidalo 20 ml THF. Pro dokonalé rozpuštění jednotlivých komponent byla baňka zahřívána mírným proudem

horkovzdušné pistole přibližně při 50 °C, aby ještě nedošlo k rozkladu AIBN. Dále byla do baňky zavedena hadička, jejímž prostřednictvím se reakční směs 30 minut probublávala argonem. Po evakuaci se směs umístila do olejové lázně na magnetické ploténce temperované na 70 °C, přičemž se při této teplotě promíchávala 48 hodin. Teoretické podstatě provedených reakcí zahrnující reakční schémata se věnuje kapitola 2.2.

5.3. Izolace produktu

Po 48 hodinách byla baňka s reakční směsí vyjmuta z olejové lázně a ponechala se dvě hodiny chladit při laboratorní teplotě. Bylo pozorováno zežloutnutí původně čirého obsahu baňky. Reakční směs obsahující modifikovaný kopolymer, rezidua iniciátoru a volný thiol byla přenesena do vaku utvořeného z dialyzační membrány Spectrum™ Spectra/Por™ 1 RC (Spectrum Chemical Mfg. Corp., Spojené státy americké), s MWCO (*Molecular weight cutoff*), charakterizující velikost pórů, 6000-8000 Da. Užití membrány byly vždy před použitím máčeny ve zředěném roztoku azidu sodného a následně pečlivě opláchnuty destilovanou vodou. Proces dialýzy, při kterém polopropustnou membránou prochází molekuly z prostředí o vyšší koncentraci do prostředí o nižší koncentraci, bylo nutné provést pro odloučení volné 1-Thio-β-D-glukózy tetraacetátu z reakční směsi.

Dialyzační vak byl vložen do kádinky o objemu 1l obsahující dialyzační lázeň připravenou ze 400 ml vody a 600 ml THF. Lázeň s dialyzačním vakem byla mírně promíchávána magnetickým míchadlem při laboratorní teplotě a po 24 hodinových intervalech obměňována. Výměna lázně proběhla u každého vzorku třikrát. Pro odloučení THF a získání surového produktu bylo dále provedeno sušení pomocí lyofilizace. Před analýzou NMR byla u obou produktů provedena orientační zkouška na přítomnost volného thiolu. V 20ml lékovkách bylo k vzorkům kapátkem přidáno 6 ml destilované vody. Lékovky se uzavřely a protřepaly, přičemž se vytvořila gelová hmota. Lékovky se umístily na 5 minut do sušárny temperované při 70 °C. Po vyjmutí lékovek ze sušárny a otevření byl zaznamenán štiplavý zápach indikující přetrvávající přítomnost volného thiolu.

Produkty bylo nutné znovu dialyzovat. Do lékovek bylo přidáno po 12 ml THF. Pro dokonalé rozpuštění se lékovky protřepaly a jejich obsah byl přelit do dialyzačních vaků. Dialýza probíhala 48 hodin za mírného míchání v kádince, dialyzační lázeň byla tentokrát připravena z 500 ml vody a 500 ml THF a po 24 hodinách byla obměňována. Následně se opět provedla lyofilizace. Finální produkt u obou vzorků představoval nažloutle bílý prášek.

5.4. Gelová permeační chromatografie (GPC)

Pro ověření výrobcem deklarovaných vlastností dvou vzorků blokového kopolymeru, a to početně střední molekulové hmotnosti, hmotnostně střední molekulové hmotnosti a disperzity byla použita metoda gelové permeační chromatografie (GPC), též známá jako rozměrově vylučovací chromatografie (SEC). Jedná se o analytickou separační techniku umožňující dělení rozpuštěných makromolekul dle jejich rozdílné molekulové hmotnosti a molekulární architektury [2, 44]. Kromě syntetických polymerů lze tímto způsobem stanovit vlastnosti biomolekul, například polysacharidů, bílkovin či nukleových kyselin. Princip metody spočívá v unášení rozpuštěných částic stanovovaného vzorku mobilní fází chromatografickou kolonou vyplněnou kuličkami porézního gelu. Molekuly, jejichž velikost je větší než velikost pórů gelu, prostupují kolonou snadno a opouštějí ji nejrychleji. Naopak menší molekuly pronikají do pórů gelu, čímž se jejich rychlost průchodu kolonou značně snižuje. Látky jsou tedy eluovány dle klesající molekulové hmotnosti [45]. Ze závislosti koncentrace na elučním objemu je následně možné získat distribuci molekulových hmotností, a to po předchozí kalibraci standardy o známé molekulové hmotnosti či přímo za použití vhodné detekce.

Stanovení výše zmíněných vlastností polymerních vzorků proběhlo ve spolupráci s Laboratoří analytické chemie Ústavu makromolekulární chemie AV ČR, v. v. i., pod vedením RNDr. Olgy Trhlíkové, PhD. Analýza byla provedena při laboratorní teplotě (23,5 °C) pomocí vysokotlaké pumpy Deltachrom (Watrex Ltd.) s autosamplerem MIDAS (Spark Ltd.) s objemem injekční smyčky 0,1 ml. Jako mobilní fáze byl při analýze použit DMF. Průtokový objem mobilní fáze byl nastaven na 0,01 ml/min. Stacionární fázi v chromatografické koloně Reprosil Si 300 SEC (Watrex Praha Ltd), 300 × 4,6 mm, představoval silikagel o velikosti částic 5 μm. K detekci byly použity diferenciální refraktometr Optimal T-rEX ((Wyatt Technology Corp.) a spektrofotometr DeltaChrom UVD 200 UV/VIS.

5.5. Statický a dynamický rozptyl světla

Po provedení modifikačních reakcí byly vzorky blokových kopolymerů podrobeny zkoumání metodou statického a dynamického rozptylu světla. Měření proběhlo pomocí fotometru firmy ALV (Německo). Fotometr se skládá z diodou čerpaného pevnolátkového laseru o výkonu 100 mW a vlnové délce 660 nm (Cobolt AB, Švédsko), automatického goniometru CGS-3, dvou pseudo-cross-korelačních detektorů typu high-QE APD a autokorelátoru typu ALV 7004 multitaumultibit. Měrná cela fotometru byla naplněna toluenem, tj. izorefraktivní kapalinou o podobném indexu lomu jako má sklo, ve které byla umístěna skleněná cylindrická kyveta s měřeným vzorkem. Důvod užití toluenu spočívá v eliminaci nežádoucího lomu rozptýleného záření na vnějších stěnách kyvety.

Vzorky polymerních částic o různých koncentracích byly pro měření připraveny dle Tab. 2, přičemž byl nejprve připraven koncentrovaný roztok z 10 ml deionizované vody a 20 mg modifikovaného kopolymeru:

Vzorek, požadovaná c (g/l)	Roztok 2 g/l (μl)	Voda (μl)
2	-	-
1	1000	1000
0,5	500	1500
0,250	250	1750

Tab. 2: Použité objemy koncentrovaného roztoku a deionizované vody pro přípravu roztoků o požadovaných koncentracích

Deionizovanou vodu bylo nutné před přípravou roztoků přefiltrovat přes membránový filtr o velikosti pórů 0,45 μm, aby se ve vzorcích předešlo výskytu prachových částic, které silně rozptylují světlo a měření by znehodnotily. Měření bylo provedeno při 21 °C. Rozsah snímaných rozptylových úhlů byl v rozmezí 30° až 150° s úhlovým krokem 10°. Naměřená data byla zpracována prostřednictvím softwaru Alvstat.

5.6. NMR spektroskopie

Metodou NMR spektroskopie byl proveden rozbor modifikovaných blokových kopolymerů a pro porovnání i výchozích kopolymerů. ¹H Spektra byla měřena pomocí spektrometru Bruker 400 MHz. Vzorky byly připravovány v eppendorfových zkumavkách rozpuštěním 20 mg kopolymeru v 1 ml CDCl₃. Následně se 600 μl vzorku pipetovalo do NMR kyvety připravené k měření.

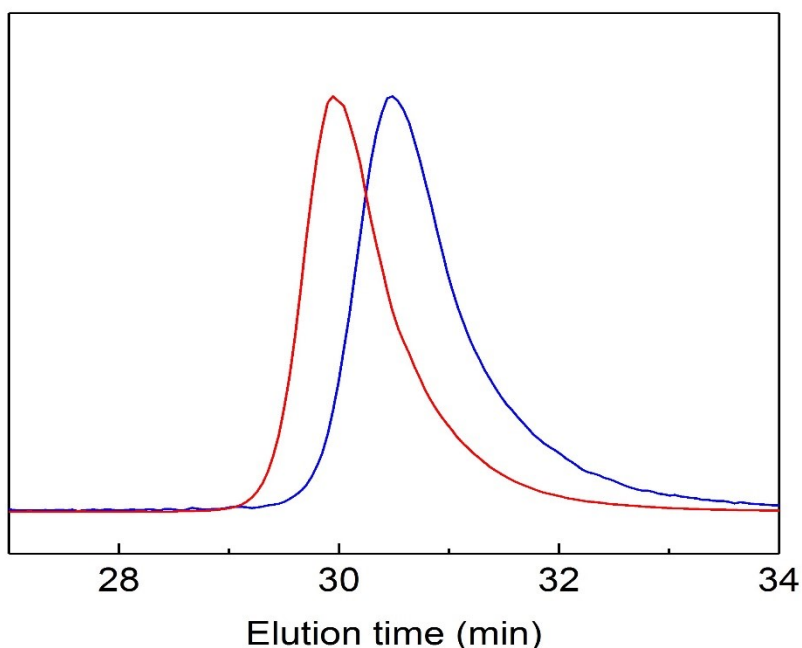
6. Výsledky a diskuse

6.1. Stanovení M_n , M_w a \bar{D} výchozích blokových kopolymerů metodou GPC

Vyhodnocení experimentálních dat proběhlo prostřednictvím softwaru Clarity GPC Extension. Stanovené hodnoty M_n , M_w a \bar{D} jsou uvedeny v Tab. 3. Normalizované eluční křivky znázorňující průběh chromatografického stanovení prezentuje Obr. 16. Retenční čas zkoumaného vzorku blokového kopolymeru P41728-EOBdEO činil 29,96 minut a kopolymeru P41729-EOBdEO činil 30,52 min. Stanovené hodnoty M_n a M_w jsou v porovnání s údaji od výrobce (viz kapitola 5.1) vyšší a kopolymery především vykazují menší uniformitu molekulových hmotností řetězců, než jaká je deklarována.

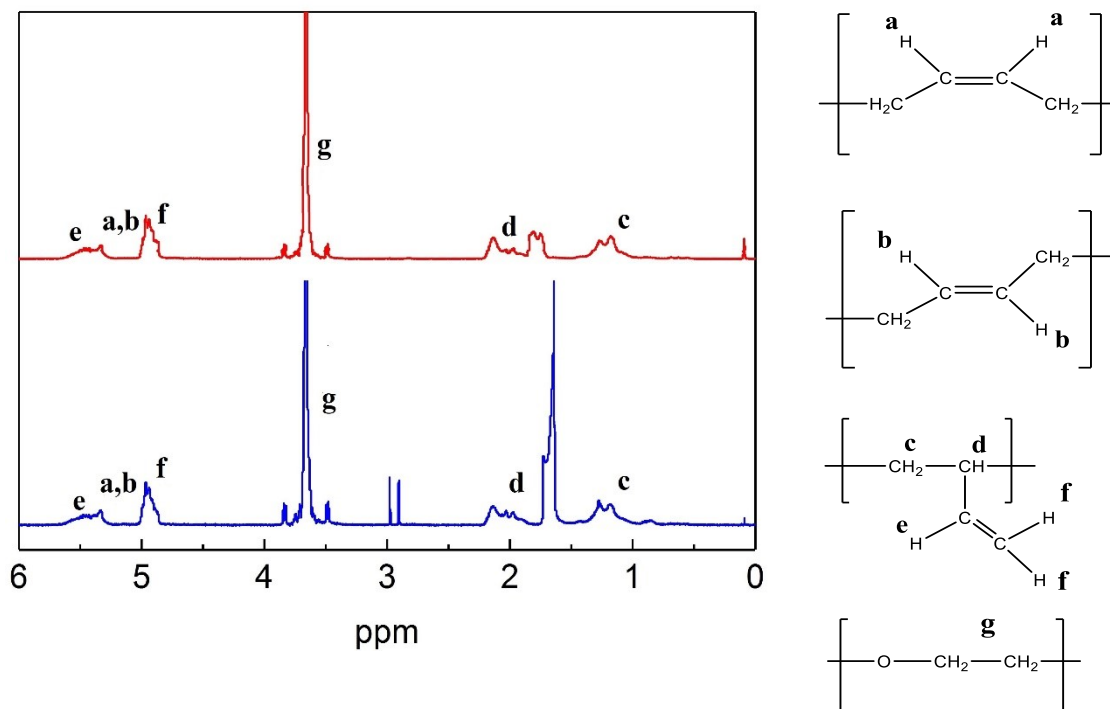
Kopolymer	M_n	M_w	\bar{D}
P41728-EOBdEO	86 841	91 458	1,05
P41729-EOBdEO	66 702	72 036	1,08

Tab. 3: Stanovené hodnoty M_n , M_w a \bar{D} zkoumaných blokových kopolymerů

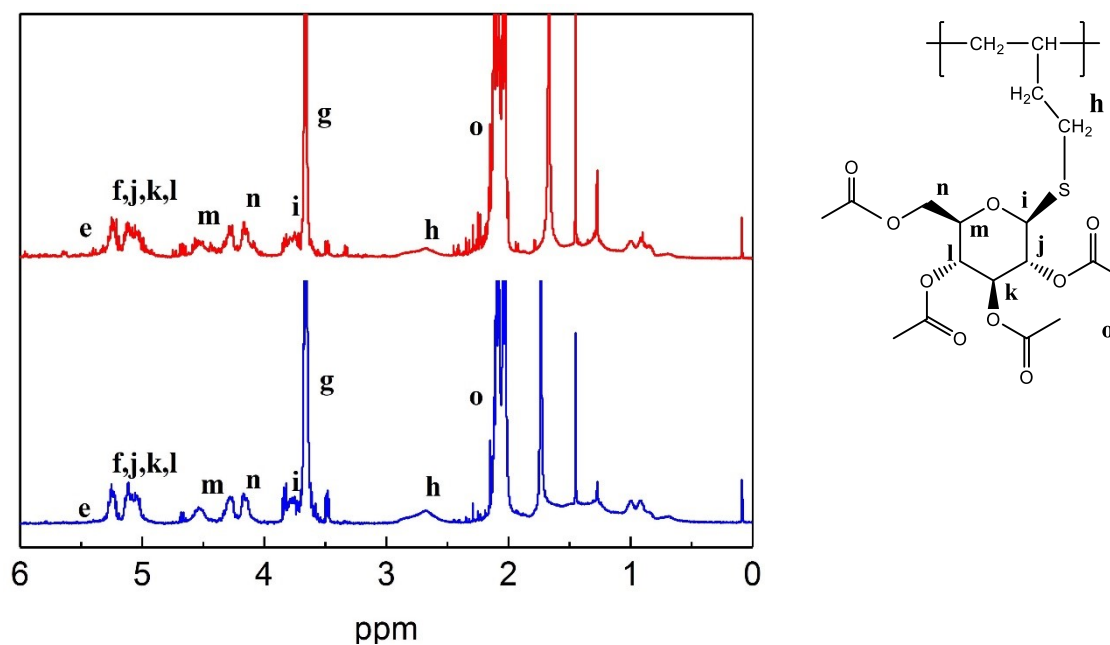


Obr. 16: Normalizované eluční křivky vzorků blokových kopolymerů P41728-EOBdEO (červená barva) s retenčním časem 29,96 minut a P41729-EOBdEO (modrá barva) s retenčním časem 30,52 minut

6.2. Charakterizace blokových kopolymerů metodou NMR spektroskopie



Obr. 17: ^1H NMR spektra vzorků výchozích blokových kopolymerů P41728-EOBdEO (modrá barva) a P41729-EOBdEO (červená barva) před provedením modifikační reakce



Obr. 18: ^1H NMR spektra vzorků modifikovaných blokových kopolymerů P41728-EOBdEO (modrá barva) a P41729-EOBdEO (červená barva)

Spektra uvedená na Obr. 16 charakterizují strukturu blokových kopolymerů před provedením modifikační reakce a na Obr. 17 modifikovaných produktů. Jednotlivé signály ve spektrech jsou písmeny přiřazeny ke struktuře kopolymerů. Ze spekter na Obr. 16 je patrné, že kromě převažujících jednotek 1,2-izomeru PB bloku byla detekována i přítomnost jednotek 1,4-izomeru, pro vzorek P41728-EOBdEO z 9 %, pro vzorek P41729-EOBdEO z 6 %, a to v obou možných typech uspořádání cis a trans. Ze spekter na Obr. 17, respektive identifikovaných signálů, můžeme potvrdit, že adice 1-Thio- β -D-glukózy tetraacetátu na vinylické skupiny úspěšně proběhla. Rozborem spektra můžeme určit, jakého stupně funkcionalizace bylo dosaženo. K tomu dospějeme integrací příslušných signálů, jak je podrobně popsáno v následujícím odstavci.

Při rozboru spekter na Obr. 17 byla v obou případech nejprve provedena integrace signálu odpovídající PEO blokům (**g**), přičemž intenzitě tohoto signálu byla přiřazena právě hodnota 1,00. Kopolymer P41728-EOBdEO obsahuje PEO bloky o celkové molární hmotnosti 74000 g/mol. Molární hmotnost jedné jednotky je 44 g/mol a v kopolymeru se vyskytuje celkem 1682 těchto jednotek. Každá opakující se jednotka přitom obsahuje 4 atomy vodíku a celkově 6728 atomů vodíku. Hodnota intenzity signálu 1,00 tedy odpovídá počtu 6728 atomů vodíku. Jednomu atomu vodíku, jakémukoliv ve vzorku, přísluší velikost signálu $1,486 \cdot 10^{-4}$. Integrací oblasti odpovídající atomům vodíku vyskytujících se na uhlíku propojeném s atomem síry (**h**) byla zjištěna intenzita signálu o hodnotě 0,04. Vydělíme-li toto číslo stanovenou intenzitou jednoho vodíku a dále dvěma (2 vodíky na uhlíku propojeného se sírou), získáme počet adovaných jednotek S-GLUAC: 135. Tuto hodnotu si můžeme ověřit i jiným výpočtem, a to integrací signálu, ve spektru reprezentovaném jako **m**, jež nabývá intenzity 0,02. Dále pouze vydělíme $1,486 \cdot 10^{-4}$ a získáme opět počet adovaných funkčních skupin 135.

Analogicky postupujeme i u kopolymeru P41729-EOBdEO, obsahující PEO bloky o molární hmotnosti 54000 g/mol a celkový počet jednotek je 1227 s 4908 atomy vodíku. Jednomu atomu vodíku tedy přísluší velikost signálu $2,037 \cdot 10^{-4}$. Integrací oblasti odpovídající atomům vodíku vyskytujících se na uhlíku propojeném s atomem síry (**h**) byla zjištěna intenzita signálu o hodnotě 0,07. Po vydělení již zjistíme počet adovaných jednotek S-GLUAC: 172. Budeme-li integrovat signál **m** nabývající intenzitu 0,04 a následně vydělíme $2,037 \cdot 10^{-4}$, získáme překvapivě hodnotu 196. Jak si ale vzápětí ukážeme, tato hodnota je nerealistická a vyšší než maximální možný počet modifikovaných segmentů. Tento rozdíl ve výpočtu si můžeme vysvětlit značnou chybou při ohraničování vybraných integrovaných oblastí a automatickým zaokrouhlením hodnot signálů použitým programem.

Nyní již můžeme určit stupeň funkcionalizace vzorků. PB bloky obou kopolymerů mající molekulovou hmotnost 10,5 kg/mol obsahují shodně 194 opakujících se jednotek, přičemž molekulová hmotnost jedné jednotky je 54 g/mol. Celkové výsledky modifikačních reakcí jsou uvedeny v Tab. 4:

Kopolymer	Množství vázané S-GLUAC	Fukncionalizace, f
P41728-EOBdEO	135	0,696
P41729-EOBdEO	172	0,887

Tab. 4: Stupeň funkcionlizace studovaných kopolymerů

Při hodnocení úspěšnosti provedených modifikací přináší potěšující výsledek zejména vysoký stupeň funkcionaliace u P41729-EOBdEO. Zde můžeme hovořit o splnění zadaného cíle, vezmeme-li navíc v potaz, že bloky PB nebyly dokonale ze 100 % tvořeny 1,2-jednotkami. V porovnání s experimenty provedenými na jiných pracovištích můžeme i výsledek u kopolymeru P41728-EOBdEO hodnotit kladně. Konkrétně zmiňme reakce prováděné na Institutu Maxe Plancka v Německu. Při modifikačních reakcích 1,2-polybutadienu ($M_n=4300$ g/mol, $D = 1,07$, 96 % 1,2-jednotek) s S-GLUAC a iniciací UV-zářením bylo po 24 hodinách při dvojnásobném nadbytku thiolu vůči dvojným vazbám PB dosaženo $f = 0,46$ a po 48 hodinách při pětinasobném nadbytku thiolu $f = 0,48$ [46].

Z literatury je patrné, že čím větší nadbytek thiolu je vůči dvojným vazbám použit, tím uspokojivější výsledky získáme [31]. Náš experiment byl tímto faktem mírně limitován. Jelikož bylo pro každou reakci k dispozici jen omezené množství S-GLUAC, musely se redukovat navážky kopolymerů, abychom získali alespoň pětinasobný nadbytek vůči dvojným vazbám. Předpokládáme, že při poměru 10:1 a vyšším by se stupeň funkcionlizace ještě zvýšil, ačkoliv ne skokově.

V kapitole 2 jsme se též seznámili s definicí a podmínkami click reakcí, které by měly probíhat za co nejjednodušších podmínek, kde by voda ani kyslík neměly reakci ovlivňovat či inhibovat. V našem experimentu byl ovšem kladen důraz na vysokou čistotu rozpouštědla THF a reakce byla prováděna bez přístupu vzduchu v ochranné atmosféře. Hlavním důvodem byla eliminace výše zmíněných vlivů zejména z důvodu ochrany modifikujících se kopolymerů před degradací. Vyšší teplota, při které syntéza probíhala, nebyla primárně nastavena na 70 °C kvůli termodynamickým či kinetickým aspektům reakce, ale zejména kvůli dobré aktivaci radikálového iniciátoru AIBN.

Zastavíme-li se u izolace produktů, samotný proces dialýzy není nikterak složitý. V našem případě byl však poměrně zdlouhavý, než se podařilo od kopolymerů odseparovat veškerý nezreagovaný thiol. Do budoucna se tedy nabízí možnost výběru jiného druhu dialyzační membrány a změna poměru složek dialyzační lázně.

6.3. Pozorování polymerních nanočástic metodami SLS a DLS

Aby bylo vůbec možné rozptylem světla stanovit M_w jakéhokoliv polymeru, musíme u daného polymerního roztoku znát inkrement indexu lomu dn/dc , viz rovnice 11. Jedná se o konstantu charakterizující změnu, respektive kolísání, indexu lomu při dané vlnové délce záření s koncentrací rozpuštěné látky v daném rozpouštědle. Hodnota dn/dc závisí na struktuře a molární hmotnosti polymeru, druhu rozpouštědla, vlnové délce laseru a teplotě. Hodnoty inkrementů pro jednotlivé polymery ve stanovených rozpouštědlech jsou tabelovány, případně je lze změřit prostřednictvím diferenční refraktometrie.

Situaci v našem případě velmi komplikuje fakt, že pracujeme s chemicky modifikovaným blokovým kopolymerem, jehož vlastnosti jednotlivých částí se liší a hodnota inkrementu není tabelována. Z literatury jsou ovšem dostupné hodnoty inkrementů pro jednotlivé výchozí bloky (homopolymery) a hodnotu dn/dc pro studovaný nemodifikovaný kopolymer v rozpouštědle, v našem případě ve vodě, lze odhadnout výpočtem. Hodnoty dn/dc dohledané pro samotné bloky jsou uvedeny v Tab. 5:

homopolymer	dn/dc (ml/g) ve vodě
PEO	0.134 [47]
PB	0.238 [48]

Tab. 5: Hodnoty dn/dc pro polyethylenoxid a polybutadien ve vodě

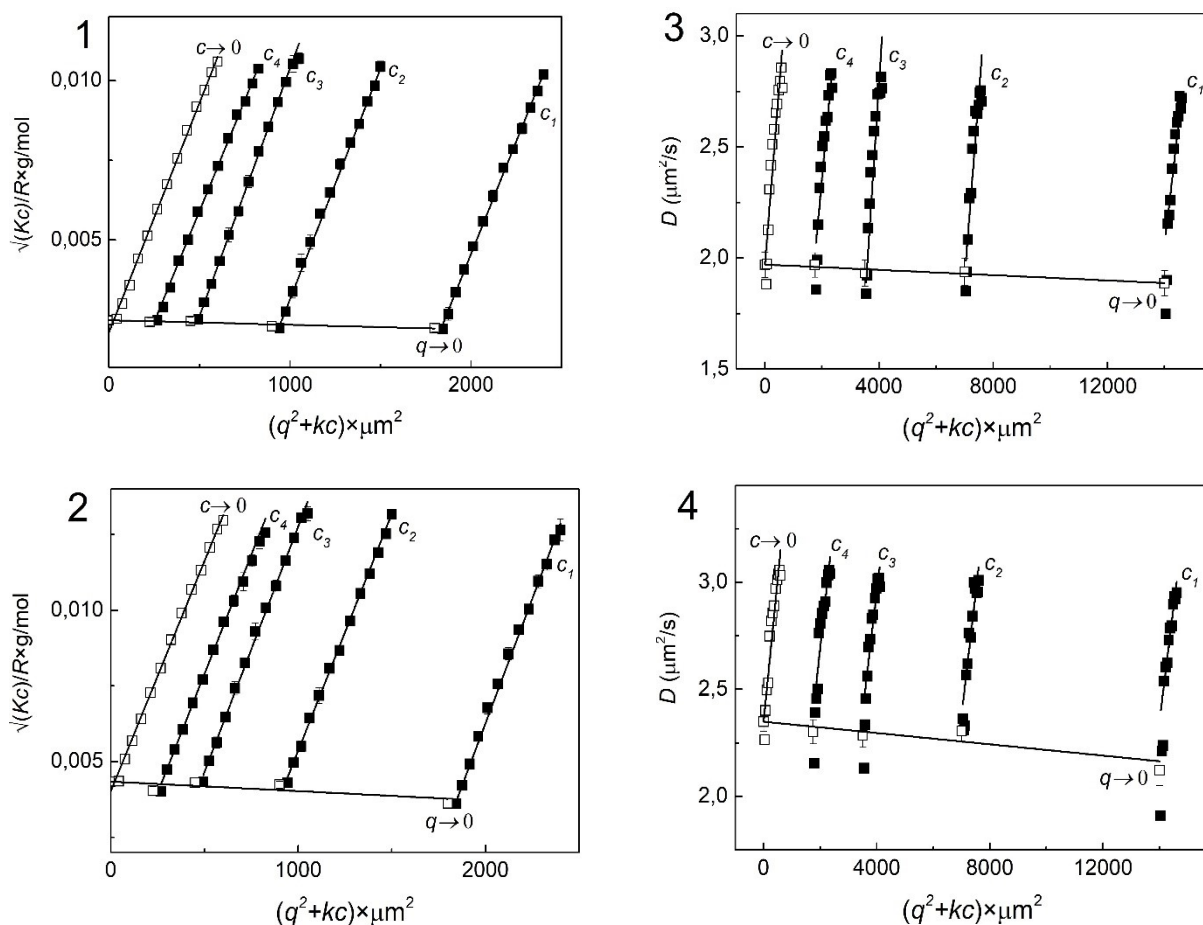
Pro výpočet hodnoty dn/dc studovaných kopolymerů použijeme vzorec z literatury [47]:

$$\left(\frac{dn}{dc}\right)_{kopolymer} = \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PEO} \times w_{PEO} + \left(\frac{dn}{dc}\right)_{PB} \times w_{PB} \quad (26)$$

Výsledky provedených výpočtů pro nemodifikované vzorky jsou uvedeny v Tab. 6. Tyto hodnoty byly jako velmi aproximativní použity pro měření modifikovaných vzorků. Pro experimentální stanovení hodnot inkrementu indexu lomu nebylo k dispozici dostatečné množství vzorku.

PEO-b-PBd-b-PEO (kg/mol)	$w(PEO)$	$w(PB)$	dn/dc (ml/g)
27-10.5-27	0.8372	0.1628	0.1509
37-10.5-37	0.8757	0.1243	0.1469

Tab. 6: Stanovené hodnoty dn/dc pro studované vzorky nemodifikovaných kopolymerů



Obr. 19: Berryho diagramy statického rozptylu světla (vlevo) a Zimmovy diagramy dynamického rozptylu světla (vpravo) modifikovaných blokových kopolymerů P41728-EOBdEO(2,4) P41729-EOBdEO (1,3) měřené ve vodě pro koncentrace c_1, c_2, c_3, c_4 (tj. 2, 1, 0.5 a 0.25 g/l). Velikost konstanty k je zvolena tak, aby byly vizuálně zřetelně odlišeny experimentální body pro jednotlivé koncentrace

Kopolymer*	R_g (nm)	R_H (nm)	(R_g/R_H)	M_w (10^5 g/mol)
P41728-EOBdEO	88 ($\pm 1,79$ %)	105	0,84	2,3 ($\pm 5,14$ %)
P41729-EOBdEO	106 ($\pm 2,19$ %)	123	0,86	4,0 ($\pm 1,77$ %)

Tab. 7: Experimentální hodnoty získané měřením statického a dynamického rozptylu světla polymerních vzorků ve vodě. R_g vyjadřuje gyrační poloměr částic, R_H hydrodynamický poloměr částic a (R_g/R_H) jejich poměr. M_w vyjadřuje hmotnostně střední molekulovou hmotnost. *Jedná se o chemicky modifikované vzorky.

Graficky znázorňují výsledky měření metodou statického rozptylu světla tzv. Berryho diagramy (Obr. 18-1, 2), které se ukázaly pro naše systémy jako vhodnější než Zimmovy diagramy (viz kapitola 3.1.), a to pravděpodobně z důvodu velikosti polymerních klubek v roztoku. Při vynesení v podobě Zimmových diagramů byly úhlové závislosti nelineární. Aby bylo vůbec možné získat hodnotu M_w , je nutné provést extrapolaci na nulovou koncentraci pozorovaného vzorku a na nulový úhel měření, přičemž se tyto extrapolace protnou právě v jednom bodě, který odpovídá nulovému úhlu a nulové koncentraci. Metodou SLS zároveň stanovíme i gyrační poloměr částic R_g . Příslušné hodnoty jsou uvedeny v Tab. 7. Výsledky měření metodou dynamického rozptylu světla graficky znázorňují Zimmovy diagramy (Obr. 18- 3, 4). Extrapolací na nulový úhel měření a nulovou koncentraci vzorku získáme hodnotu difúzního koeficientu D , s jehož znalostí vypočítáme pomocí rovnice 14 hydrodynamický poloměr částic R_H , jehož hodnoty jsou pro oba polymerní vzorky uvedeny v Tab. 7.

Ukazatelem charakterizující uspořádání polymerních částic v roztoku je poměr gyračního a hydrodynamického poloměru částic (R_g/R_H). Jak bylo popsáno v kapitole 1. 3., jednotlivé bloky amfifilních blokových kopolymerů vykazují v daném rozpouštědle rozdílné vlastnosti. V závislosti na tom se bloky segregují do domén a vytvářejí se micely různých tvarů. Námi stanovené hodnoty (R_g/R_H) 0,84 pro vzorek modifikovaného kopolymeru P41728-EOBdEO, respektive 0,86 pro P41729-EOBdEO, naznačují, že ve studovaných roztocích polymerních vzorků částice neodpovídají volným polymerním klubkům a pravděpodobně se uspořádaly do micel s morfologií elipsoidů.

Pro bližší popis micel provedeme výpočet agregačního čísla vzniklých agregátů. Tato hodnota charakterizuje, jaký počet polymerních řetězců průměrně vytváří jednu micelu. Agregační číslo vypočítáme jako podíl hmotnostně středních molekulových hmotností stanovených metodami SLS a GPC (Tab. 3 a 7) s ohledem na výše stanovenou chemickou modifikaci PB bloků acetylovanou glukózou (Tab. 4), což vede ke značnému zvýšení molární hmotnosti modifikovaných kopolymerů. Vypočtené hodnoty agregačních čísel pro oba polymerní vzorky jsou uvedeny v Tab. 8:

Kopolymer*	M_w (SLS)	M_w (GPC) *	N_{agg}
P41728-EOBdEO	230 000	140 000	1,6
P41729-EOBdEO	400 000	134 000	3,0

Tab. 8: Hodnoty M_w stanovené metodami SLS, respektive GPC, a z nich vypočítaná hodnota agregačního čísla N_{agg} . *Jedná se o chemicky modifikované vzorky a hodnoty určené metodou GPC byly přepočítány s ohledem na obsah acetylované glukózy.

Nízké hodnoty agregačních čísel vypovídají, že vzniklé nanočástice jsou v porovnání s obvykle publikovanými micelami amfifilních blokových kopolymerů obsahující desítky až stovky polymerních řetězců poměrně málo kompaktní a pravděpodobně také neuniformní. Diskutovat musíme i situaci, zdali jsou takto nízké hodnoty N_{agg} statisticky signifikantní a zdali k agregaci modifikovaných polymerních částic do micel došlo. Tvzení, že částice kopolymeru micely ve vodě vytváří, můžeme podpořit faktem hydrofobní modifikace vnitřního PB bloku 1-Thio- β -D-glukózou tetraacetátem a rozdílnými hodnotami N_{agg} pro oba modifikované kopolymery. Z charakterizace produktů metodou NMR bylo určeno, že vinylické skupiny PB bloku vzorku P41728-EOBdEO byly funkcionalizovány z 69 % a vzorku P41729-EOBdEO z 88 %. Stupeň modifikace druhého kopolymeru je tedy vyšší, zároveň mají řetězce kratší hydrofilní bloky z PEO, kopolymer tedy vykazuje větší hydrofobicitu, a proto se vytváří částice o vyšším agregačním čísle.

7. Závěr

Radikálově iniciovanou thiol-enovou click reakcí byla provedena modifikace dvou vzorků blokového kopolymeru poly(ethylen oxid-b-1,2-butadien-b-ethylen oxid) 1-Thio- β -D-glukózou tetraacetátem. Přes dílčí potíže při izolaci a čištění modifikovaných kopolymerů se podařilo získat produkty takové čistoty, které mohly být následně zkoumány a charakterizovány.

Metodou spektroskopie nukleární magnetické rezonance byla pozorována struktura modifikovaných kopolymerů. Z rozboru získaných spekter se potvrdilo, že modifikační reakce u obou vzorků proběhly. S úspěchem byl zejména funkcionalizován kopolymer s označením P41729-EOBdEO, kde proběhla adice thiolu na dvojně vazby jednotek 1,2-izomeru vnitřního bloku polybutadienu z více jak 88 %. I u vzorku P41728-EOBdEO můžeme hovořit o dobrém výsledku (69 %) v porovnání s podobnými systémy uváděnými v literatuře. Jelikož byly reakce prováděny s pětinasobným nadbytkem thiolu vůči dvojným vazbám, otvírá se do budoucna možnost dosažení ještě vyšších stupňů funkcionalizace, a to za použití většího množství thiolu.

V další části práce bylo prostřednictvím statického a dynamického rozptylu světla pozorováno chování polymerních nanočástic vzniklých samoskládáním z hydrofobně modifikovaných kopolymerů ve vodě. Byla stanovena jejich hmotnostně střední molekulová hmotnost, dále girační poloměr, hydrodynamický poloměr a jejich poměr (R_g/R_H) mající hodnotu 0,84 pro vzorek P41728-EOBdEO a 0,86 pro vzorek P41729-EOBdEO. Ačkoliv polymerní řetězce s velkou pravděpodobností vytvářely ve vodě micelám podobné nanostruktury, vypočítané hodnoty agregačních čísel 1,6 pro P41728-EOBdEO a 3,0 pro P41729-EOBdEO zřetelně naznačují, že vzniklé nanočástice zřejmě nemají klasickou morfologii micel blokových kopolymerů a částice mohou být tvořeny jednou makromolekulou. Vznik těchto nanočástic a agregátů je však i v rámci možné experimentální chyby při stanovení jejich agregačního čísla pravděpodobný, protože studované ABA trojblokové kopolymery obsahují hydrofilní bloky A tvořené PEO a hydrofobní blok B tvořený 1,2-PB modifikovaný hydrofobizovanou glukózou.

Do budoucna se nabízí možnosti ovlivnění hydrofobního charakteru bloku B jednak funkcionalizací s vyšší hydrofobicitou (například s obsahem fluorovaných uhlovodíků) a pak změnou charakteru tohoto bloku na hydrofilní, a to „odchráněním“ glukózových jednotek.

8. Seznam použité literatury

- [1] Chanda, M.: *Introduction to Polymer Science and Chemistry, A Problem-Solving Approach*. 2nd ed. Boca Raton, CRC Press (2013).
- [2] Koltzenburg, S.; Maskos, M.; Nuyken, O.: *Polymer Chemistry*. Heidelberg, Springer-Verlag Berlín (2017).
- [3] Ebewele, R. O.: *Polymer Science and Technology*. Boca Raton, CRC Press (2000).
- [4] Carraher, C. E.: *Seymour/Carraher's Polymer Chemistry*. 7th ed. Boca Raton, CRC Press (2007).
- [5] Odian, G.: *Principles of Polymerization*. 4th ed. Hoboken, John Wiley & Sons (2004).
- [6] Zusková, I.; Ušelová, K.: *Praktikum z fyzikální chemie*. Praha, Univerzita Karlova (2000).
- [7] Gilbert, R. G.; Hess, M.; Jenkins, A. D.; Jones, R.; Kratochvíl, P.; Stepto, R. F. T.: Dispersity in polymer science. *Pure and Applied Chemistry*, 81(2), 351-353 (2009).
- [8] Whitfield, R.; Truong, N. P.; Messmer, D.; Parkatzidis, K.; Rolland, M.; Anastasaki, A.: Tailoring polymer dispersity and shape of molecular weight distributions: methods and applications. *Chemical Science*, 10(38), 8724-8734 (2019).
- [9] Young, R. J.; Lovell, P. A.: *Introduction to Polymers*. 3rd ed. Boca Raton, CRC Press (2011).
- [10] Hiemenz, P. C.; Lodge, T. P.: *Polymer Chemistry*. 2nd ed. Boca Raton, CRC Press (2007).
- [11] O. Vogl, Qin, M.; Zilkha, A.: Head to head polymers. *Progress in Polymer Science*, 24(10), 1481-1525 (1999).
- [12] Vogl, O.: Head-to-head polymers. *Polymer Chemistry*, 38(22), 4013-4022 (2000).
- [13] Hocking, M. B.: *Handbook of Chemical Technology and Pollution Control*. 3rd ed. Cambridge, Academic Press (2006).
- [14] Vlček, P.; Lochmann, L.: Anionic polymerization of (meth)acrylate esters in the presence of stabilizers of active centres. *Progress in Polymer Science*, 24(6), 793-873 (1999).
- [15] Matyjaszewski, K.; Müller, A. H. E.: *Controlled and Living Polymerizations: From Mechanisms to Applications*. Weinheim, Wiley-VCH (2009).

- [16] Hsieh, H.; Quirk, R. P.: *Anionic Polymerization: Principles and Practical Applications*. Boca Raton, CRC Press (1996).
- [17] Feng, H.; Lu, X.; Wang, W.; Kang, N.; Mays, J. W.: Block Copolymers: Synthesis, Self-Assembly, and Applications. *Polymers*, 9(10), 494-525 (2017).
- [18] Herzberger, J.; Niederer, K.; Pohlit, H.; Seiwert, J.; Worm, M.; Wurm, F. R.; Frey, H.: Polymerization of Ethylene Oxide, Propylene Oxide, and Other Alkylene Oxides: Synthesis, Novel Polymer Architectures, and Bioconjugation. *Chemical Reviews*, 116(4), 2170-2243 (2016).
- [19] Li, S.; Byrne, B.; Welsh, J. O.; Palmer, A. F.: Self-Assembled Poly(butadiene)-b-poly(ethylene oxide) Polymersomes as Paclitaxel Carriers. *Biotechnology Progress*, 23(1), 278-285 (2007).
- [20] Xi, W.; Scott, T. F.; Kloxin, C. J. J.; Bowman, C. N.: Click Chemistry in Materials Science. *Advanced Functional Materials*, 24(18), 2572-2590 (2014).
- [21] Hein, C. D.; Liu, X. M.; Wang, D.: Click chemistry, a powerful tool for pharmaceutical sciences. *Pharmaceutical research*, 25(10), 2216-2230 (2008).
- [22] Lahann, J.: *Click Chemistry for Biotechnology and Materials Science*. Hoboken, John Wiley & Sons (2009).
- [23] Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.: Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie*, 40(11), 2004-2021 (2001).
- [24] Huisgen, R.: 1,3-Dipolar cycloaddition. *Proceedings of the Chemical Society*, 28, 357-396 (1961).
- [25] Binder, W. H.; Sachsenhofer, R.: 'Click' Chemistry in Polymer and Material Science: An Update. *Macromolecular Rapid Communications*, 29(12-13), 952-981 (2008).
- [26] Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K. B.: A stepwise huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. *Angewandte Chemie*, 41(14), 2596-2599 (2002).
- [27] Tasdelen, M. A.: Diels–Alder “click” reactions: recent applications in polymer and material science. *Polymer Chemistry*, 2(10), 2133-2145 (2011).
- [28] Liu, Y. L.; Chuo, T. W.: Self-healing polymers based on thermally reversible Diels–Alder chemistry. *Polymer Chemistry*, 4(7), 2194-2205 (2013).
- [29] Grover, G. N.; Lam, J.; Nguyen, T. H.; Segura, T.; Maynard, H. D.: Biocompatible Hydrogels by Oxime Click Chemistry. *Biomacromolecules*, 13(10), 3013-3017 (2012).

- [30] Kade, M. J.; Burke, D. J.; Hawker, C. J.: The power of thiol-ene chemistry. *Polymer Chemistry*, 48(4), 743-750 (2010).
- [31] Koo, S. P. S.; Stamenović, M. M.; Prasath, R. A.; Inglis, A. J.; Du Prez, F. E.; Barner-Kowollik, C.; Camp, W. V.; Junker, T.: Limitations of radical thiol-ene reactions for polymer–polymer conjugation. *Polymer Chemistry*, 48(8), 1699-1713, (2010).
- [32] Schärfl, W.: *Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions*. Heidelberg, Springer-Verlag Berlín (2007).
- [33] Murphy, R. M.: Static and dynamic light scattering of biological macromolecules: what can we learn?. *Current Opinion in Biotechnology*, 8(1), 25-30 (1997).
- [34] Puskás, I.; Szemjonov, A.; Fenyvesi, É.; Malanga, M.; Szente, L.: Aspects of determining the molecular weight of cyclodextrin polymers and oligomers by static light scattering. *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 124-128 (2013).
- [35] Debye, P.: Molecular-weight Determination by Light Scattering. *The Journal of Physical Chemistry*, 51(1), 18-32 (1947).
- [36] Kamide, K.; Dobashi, T.: *Physical Chemistry of Polymer Solutions*. Amsterdam, Elsevier (2000).
- [37] Nachtigall, P.; Fišer, J.: Chemická struktura [přednáška]. Praha, Universita Karlova, Přírodovědecká fakulta (2020).
- [38] Ibbett, R. N.: *NMR Spectroscopy of Polymers*. Dordrecht, Springer Science+Business Media (1993).
- [39] Atkins, P.; de Paula, J.: *Fyzikální chemie*. Praha, VŠCHT (2013).
- [40] Procházka, F.; Praus, P.: Fyzika II [přednáška]. Praha, Universita Karlova, Matematicko-Fyzikální fakulta (2020).
- [41] Hatada K.; Kitayama T.: *NMR spectroscopy of polymers*. Haidelberg, Springer-Verlag Berlín (2004).
- [42] Němec, I.; Štícha, M.; Tošner, Z.: Základy spektroskopie molekul [přednáška]. Praha, Universita Karlova, Přírodovědecká fakulta (2020).
- [43] Simas, A. B. C.; Pereira, V. L. P.; Barreto, C. B.; de Sales, D. L.; de Carvalho, L. L.: An expeditious and consistent procedure for tetrahydrofuran (THF) drying and deoxygenation by the still apparatus. *Química Nova*, 32(9), 2473-2475 (2009).

- [44] Vilenchic, L. Z.; Belenky, B. G.: Comments on the theoretical basis of gel permeation chromatography of polymers. *Journal of Chromatography*, 56, 13-22 (1971).
- [45] Matějčík, P.; Sedláček, J.; Uchman, M.: Makromolekulární chemie [přednáška]. Praha, Universita Karlova, Přírodovědecká fakulta (2019).
- [46] Brummelhuis, N.; Diehl, C.; Schlaad, H.: Thiol–Ene Modification of 1,2-Polybutadiene Using UV Light or Sunlight. *Macromolecules*, 41(24), 9946–9947 (2008).
- [47] Huglin, M. B.: Specific Refractive Index Increments of Polymer Solutions. Part I. Literature Values. *Journal of applied polymer science*, 9(12), 3963-4001 (1965).
- [48] Hanley, B.F.: A practical method for estimating specific refractive index increments for flexible non-electrolyte polymers and copolymers in pure and mixed solvents using the Gladstone-Dale and Lorentz-Lorenz equations in conjunction with molar refraction structural constants, and solvent physical property databases. *Materials Today Communications*, 25, 2352-4928 (2020).