

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze  
Katedra fyzikální a makromolekulární chemie

Charles University in Prague, Faculty of Science  
Department of Physical and Macromolecular Chemistry

Doktorský studijní program: Fyzikální Chemie  
Ph.D. study program: Physical Chemistry

Autoreferát disertační práce  
Summary of the Ph.D. Thesis



**SAMOORGANIZACE VE SMĚSÍCH SURFAKTANTŮ A POLYMERŮ  
S KOMPLEXNÍ STRUKTUROU CITLIVÝCH KE ZMĚNĚ VNĚJŠÍHO PROSTŘEDÍ**  
**SELF-ASSEMBLY IN MIXTURE OF SURFACTANTS AND STIMULI-RESPONSIVE  
POLYMERS WITH COMPLEX ARCHITECTURE**

Anna Bogomolova

Ústav Makromolekulární Chemie, AV ČR, v.v.i.  
Institute of Macromolecular Chemistry, AS CR, v.v.i.

Školitel/Supervisor: Ph.D. Sergey K. Filippov

Prague 2014

Title: Self-assembly in mixture of surfactants and stimuli-responsive polymers with complex architecture

Author: Anna Bogomolova

Department: Physical and Macromolecular Chemistry

Supervisor: PhD. Sergey K. Filippov, IMC AS CR, v.v.i.

Supervisor's e-mail address: filippov@imc.cas.cz

**Abstract:** The issue of construction of complex multi-block copolymers is currently one of the most researched areas. It became a logic consequence of the continuous development in polymer chemistry. Nowadays, a great interest is attracted to multi-responsive block copolymers. As a rule, they consist of hydrophilic, hydrophobic and responsive blocks. That responsive block can be either thermo-sensitive or pH-sensitive as well as sensitive to some other external stimuli. In the present work, we will try to cover topic of stimuli-responsive block copolymers and their interactions with different types of surfactants. Understanding of polymer/surfactant interactions can be a crucial step for future modeling of drug/polymer or protein(DNA)/surfactant interactions. There is a great interest in the investigation of polymer-surfactant interactions. However, while the homopolymer-surfactant interactions are characterized well enough, the same interactions for block copolymers are poorly described. The main development in the latter topic has been achieved for Pluronic molecules (block copolymers of PEO and PPO) in the presence of a variety of surfactants. In our work we took an attempt to expand our knowledge about polymer-surfactant interactions to the more complex systems and to figure out the driving forces for such processes.

Within this work we analyze two principal systems, thermo-sensitive block copolymers on the base of poly(2-alkyl-2-oxazolines) in the order of increase the structure complexity of polymers and their behavior in the presence of ionic and polymeric surfactants, and pH-sensitive polymers on the basis of amino acids in the presence of nonionic surfactant. Three articles devoted to the former topic and one article devoted to the latter one topic have been published and included in the current doctoral thesis.

We also pay a great attention to the careful analysis and interpretation of isothermal titration calorimetry data that is an important aspect of the present work. We took an attempt not only to qualitatively characterize the experimental results, but also to provide the quantitative analysis by using the modern regular solution theory.

We believe that the findings obtained in the present work can lift a veil in understanding the interaction mechanisms between polymers of the complex structure and different surfactants and also shed light on the methods of their characterization.

**Keywords:** self-assembly, polymer/surfactant interactions, calorimetry, light scattering, small angle X-ray scattering.

Název práce: Samoorganizace ve směsích surfaktantů a polymerů s komplexní strukturou citlivých ke změně vnějšího prostředí

Autor: Anna Bogomolova

Katedra: Fyzikální a makromolekulární chemie

Vedoucí doktorské práce: Ph.D. Sergey K. Filippov, IMC AS ČR, v.v.i.

E-mail vedoucího: filippov@imc.cas.cz

**Abstrakt:** Problematika syntézy komplexních multi-blokových kopolymerů je v současné době jednou z nejvíce zkoumaných oblastí polymerní chemie, jakožto logický výsledek dlouhodobého vývoje v této oblasti. V současné době je velký zájem o blokové kopolymery citlivé ke změně vnějšího prostředí. Takové kopolymery se zpravidla skládají z hydrofilních, hydrofobních či reaktivních bloků. Jeden z těchto bloků může být termo- nebo pH-senzitivní, popřípadě i citlivý na jiné vnější podněty. V této práci jsme se snažili pokrýt téma kopolymerů citlivých ke změně vnějšího prostředí a jejich interakce s různými typy povrchově aktivních látek (surfaktantů). Pochopení interakcí mezi polymerem a surfaktantem může být rozhodujícím krokem pro budoucí modelování interakcí v systému léčivo/polymer (popřípadě protein)/surfaktant. Zatímco povrchové interakce homopolymerů se surfaktanty jsou popsány poměrně dobře, stejné interakce u blokové kopolymery nebyly příliš zkoumány. Výjimku tvoří molekuly typu Pluronic (blokové kopolymery PEO a PPO) v přítomnosti různých surfaktantů. V naší práci jsme se pokusili rozšířit naše znalosti o interakcích složitějších polymerních systémů se surfaktanty a zjistit hnací síly pro tyto procesy.

V rámci této práci jsme analyzovali dva základní systémy. Jednak termosenzitivní blokové kopolymery na bázi poly(2-alkyl-2-oxazolinů) a jejich chování v přítomnosti iontových a polymerních surfaktantů. Dále pak pH-senzitivní polymery na bázi aminokyselin v přítomnosti neiontových surfaktantů. V této dizertační práci byly zahrnuty tři články věnované prvnímu typu systému a jeden článek věnovaný typu druhému.

Důležitým aspektem této práce byla také pečlivá analýza a interpretace výsledků pomocí izotermální titrační kalorimetrie. Pokusili jsme se nejen kvalitativně charakterizovat experimentální výsledky, ale také poskytnout kvantitativní analýzu pomocí moderní teorie regulárních roztoků.

Jsmo přesvědčeni, že získané poznatky v této dizertační práci můžou přispět k objasnění mechanismů interakce mezi složitými polymerními systémy a různými surfaktanty a také vrhnout světlo na nové metody jejich charakterizace.

**Klíčová slova:** samoskladné struktury, interakce polymer/surfaktant, kalorimetrie, rozptyl světla, malouhlový rozptyl záření X.

## INTRODUCTION

---

Stimuli-responsive polymers or smart polymers are polymers that change their conformation according to environment. Such materials can be sensitive to a number of factors, such as temperature, humidity, pH, ionic strength, solvent conditions, the intensity of incident light or strength of electrical or magnetic field and can respond in various ways, like altering color or transparency, becoming conductive or permeable to water or changing shape (shape memory polymers). Usually, minor changes in the environment are sufficient to induce greater change in the polymer's properties. The nonlinear response in stimuli-responsive polymers makes them unique and effective.

Here, we also have to mention the special type of responsive polymers – stimuli-responsive block copolymers. These polymers are built up from blocks of different nature. One or two of blocks can possess either pH- or thermo-responsivity or even be responsive to other stimuli. Stimuli-responsive block copolymers enable the formation of micelles at certain conditions. Common features of polymeric micelles constructed of such polymers are their high solubility, low toxicity and longtime stability. The thermodynamic and kinetic stability of the micelles is controlled by the mass ratio of hydrophobic and hydrophilic blocks. The unique characteristics of amphiphilic block copolymers are responsible for the special advantage of using micelles for various applications.

The behavior of polymer-surfactant systems and their interactions observed in mixtures are important for understanding of biochemically and physiologically related issues. Further developments showed that polymer-surfactant mixtures have more appealing applications as gelling agents, stabilizers, thickeners, and regulators of matter exchange. Furthermore, polymer-surfactant systems find more intensive application in field of control drug delivery systems.

Polymers and surfactants are often used together in industrial formulations to combine advantages of their different properties. Polymer-surfactant combinations in aqueous solutions can be broadly classified into four categories, namely uncharged polymer - ionic surfactant, oppositely charged polymer-surfactant, hydrophobically modified polymer-surfactant and charged polymer – nonionic surfactant systems. While the dominant forces responsible for interactions in the second and third systems are obvious, the reasons for the interaction in the remaining two cases are less clear. Obviously, there are several properties of polymers which influence their interaction with surfactants. In charged polymer-oppositely charged surfactant systems, the interactions are significantly stronger than those in uncharged polymer-charged surfactant systems because of the dominant electrostatic forces. But even here it is quite apparent that it is not only the charge density of the polymer which is important.

## AIMS OF THE STUDY

---

In the present work we focus on structural and thermodynamic interpretation of processes between complex stimuli-responsive block copolymers and surfactants. Due to unprecedented complexity of the copolymers the analysis of their interaction with ionic and non-ionic surfactants has to be performed very thoroughly. To achieve that purpose, scattering techniques and the isothermal titration calorimetry method were exploited. Moreover, our sideline purpose was to shed light on the interpretation of titration curves obtained from ITC experiment.

- ♣ The analysis of solution behavior of the statistical block copolymers PBuOZ-co-PiPrOZ in the presence and absence of polymeric nonionic surfactant F127;
- ♣ The structural characterization of hybrid nanoparticles formed by the copolymer PBuOZ-co-PiPrOZ of different composition ratios and polymeric surfactant F127. The study of temperature-dependent behavior in such nanoparticles;
- ♣ The analysis of solution behavior of the triblock copolymers PMeOZ-stat-(PBuOZ-co-PiPrOZ)-MeOZ with different ratios of hydrophilic, hydrophobic and thermosensitive blocks. The investigation of the temperature behavior of the triblock copolymers and their interactions with ionic surfactants (SDS, CTAB). The analysis of structure and thermodynamic evolution in the polymer/surfactant complex nanoparticles.
- ♣ The analysis of solution behavior of pH-sensitive amino acid based polymers in the presence and absence of nonionic surfactant Brij98. The structure and thermodynamic characterization of polymer/surfactant interactions and of the resulting complexes.

## METHODS OF CHARACTERIZATION

---

The samples studied in this work are diluted aqueous solutions of polymers or polymer/surfactant mixtures. Several experimental techniques were exploited for samples characterization. Scattering techniques, such as dynamic light scattering (DLS), static light scattering (SLS), small-angle X-ray scattering (SAXS) and small-angle neutron scattering (SANS) have been used for structure characterization of polymer/surfactant complexes in solution and to monitor the evolution of them under the change in the environment. The physical principles of scattering are the same for wide-angle and small-angle scattering. Scattering occurs in the presence of fluctuations in the medium which have two main sources: density fluctuations and concentration fluctuations. The term density fluctuation is used in respect to fluctuation in electron density, nuclear density or refractive index for X-ray, neutron or light scattering, respectively. In general, the specific properties of these sources and their characteristic interactions with matter allow for exploring in a typical

spatial scale from 1 to 20,000 nanometers and a typical dynamic range of seconds to picoseconds.

Isothermal titration calorimetry (ITC) is widely used to study the thermodynamics of interactions in solution. The range of interactions studied by ITC is very general and covers, although not exclusively, protein-protein, protein-peptide or polymer-surfactant interactions. The general principle of ITC technique is based on measurement of the heat that is generated or absorbed in an interaction between two molecules mixed together at constant temperature. Historically, the ITC method has been developed for investigation of interaction in biologically active substances (proteins and peptides). These compounds are, typically, characterized by specific binding sites, that determine the fitting model applied for ITC analysis. That model supposes a noncooperative binding in the system and fails in case of polymer/surfactant interactions. It is well known that the reason for surface activity lies in cooperation of surfactant molecules. Recently, the regular solution theory has been suggested for the treatment of ITC data. The theory is based on the assumption, that the enthalpy of interaction is a combination of heat effects (heat of reaction, heat of dilution, heat of transfer from one solvent to another, heat of aggregation and etc.) The addition of one component to the other one leads to the formation of one type of complexes irrespective of their mixing ratios. Further addition of a component promotes a rearrangement of the existing complexes. The process takes place until the full exhaustion of the added component.

We have shown a good applicability of the regular solution theory to the analysis of interactions in polyelectrolyte - nonionic surfactant systems and believe in the perspective of using it for other polymer/surfactant systems.

The important aspect of the current work was the interpretation of ITC data. We were able to compare the results obtained from SAXS/SANS experiment at certain polymer/surfactant concentration ratios with the results of ITC experiment. In other words, we have tried to analyze the thermodynamic processes in the system and the conformation changes that are responsible for a particular heat effect. Such procedure of investigation is extremely important if we are dealing with a complex process, where a number of stages can be assumed. Assuredly, single measurement of complex structure cannot be used for interpretation of the whole process but a number of consecutive measurements make the process of transformation in such systems more understandable.

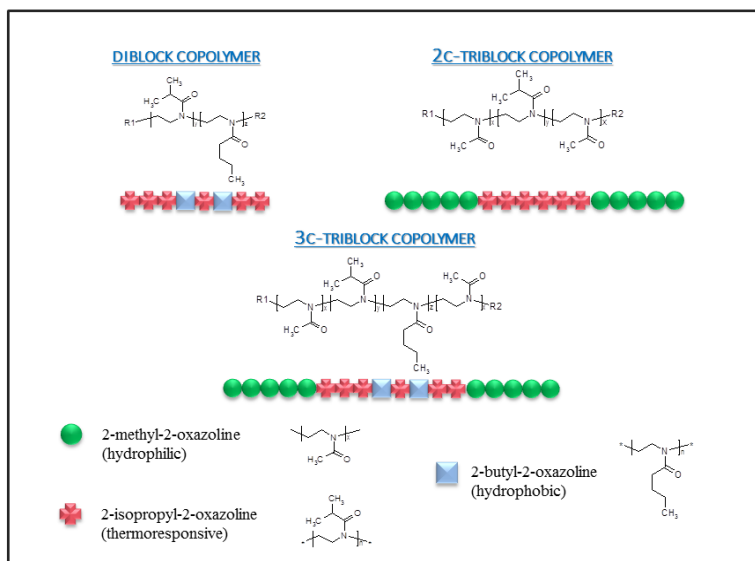
## DISCUSSION

In the current part, we attempt to characterize polymer/surfactant interaction considering three aspects of system: type of polymer/surfactant interactions, architecture of a polymer and nature of a surfactant. We will begin our consideration describing the structure and complexity of stimuli-responsive copolymers; then we will explain a motivation for involvement a specific surfactant within a particular system; and finally we will provide a characterization of each system regarding the type of polymer/surfactant interaction.

The idea of controlled phase separation was explored for all of our systems. That idea assumes the careful adjustment of separation process in polymer through the change in surrounding conditions in the presence of surfactant that prevents macroscopic phase separation of a stimuli-responsive polymer. Two external variables were chosen for investigation, temperature and pH.

### Thermoresponsive polymer systems

#### Uncharged polymer - polymeric surfactant interactions (Articles 1 and 2)



Scheme 1. Chemical structure and schematic image of poly(2-alkyl-2-oxazoline)s block copolymers.

The statistical diblock copolymer, PBuOZ-co-PiPrOZ, consists only from hydrophobic (BuOZ) and thermo-responsive (PiPrOZ) part with absence of any hydrophilic one (Scheme 1.). The absence of hydrophilic part creates a high instability of polymer with increasing temperature and results in abrupt micro and

macro-phase separation in system. For purpose of creation a stable system, where the phase separation process can be regulated, the polymeric surfactant F127 was used. Polymeric structure of F127 surfactant effectively stabilizes the polymer and solubilizes it inside of micellar hydrophobic core. Interestingly, not only the polymer but also the surfactant displays thermo-responsive properties in this case. That leads to the extra complexity in the analysis of such mixed system. The polymer/surfactant interactions could be examined in this particular system as a process of solubilization of hydrophobic moiety by surfactant molecules.

We have found that the interactions between statistical polymer and F127 can be detected long before the transition temperature of the polymer as well as that of the surfactant. The premicellar complexes were observed by DLS and ITC technics (Figure 1. a, b). Moreover, the polymer composition has essential effect to the structure of resulting complexes.

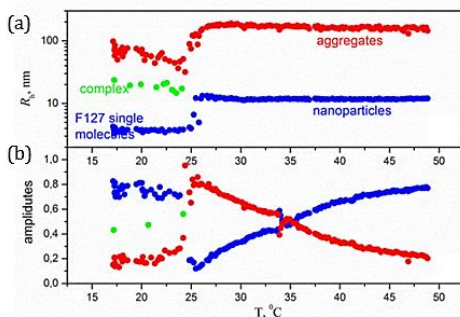


Figure 1. DLS data for the Polymer +F127 system. a)  $R_h$  data for: (●) – aggregates, (●)- complexes and (●)- single F127 molecules and nanoparticles ;  $c(\text{pol})/c(\text{F127})=0.1$ ; b) Amplitudes data: (●) – aggregates; (●)- complexes, (●)- single F127 molecules and nanoparticles.

It was observed that the hydrophobicity of the polymers in particular is more important than the thermosensitivity of them in respect to the strength of interactions. While the process of interaction for the hydrophobic and for the thermo-responsive polymers is the same, the final structure of more hydrophobic polymer/F127 nanoparticles is more compact (at equal amount of surfactant). The evolution of polymer/surfactant complexes as a function of temperature is presented on Figure 2 in the form of SAXS curves. It is possible to interpret the structure sequence in the polymer/surfactant complexation process in the following way.



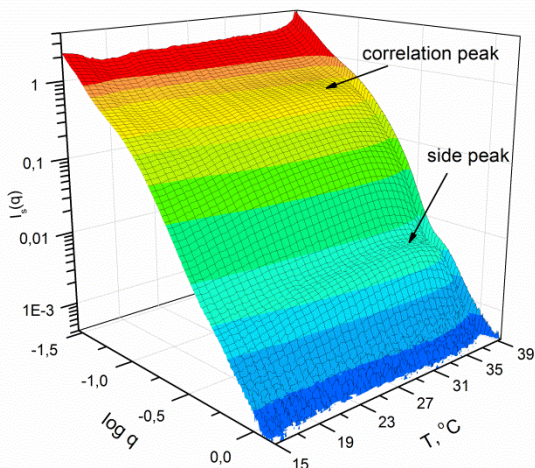


Figure 2. 3D plot of SAXS data as a function of scattering vector  $q$  and temperature for the Polymer B/F127 system.

F127 molecules at low temperature interact with the hydrophobic moieties (BuOZ) of macromolecule and form intermediate complexes as can be seen from the Figure 1. Small polydisperse objects are visible by SAXS at low temperatures (Figure 2). With increasing temperature, the polymer as well as the surfactant molecules start to aggregate since both have thermo-sensitive properties. There is a certain competition between homo- and hetero-association at these temperatures. Reasonably, the homo-association is a preferable process for the polymer molecules possessed hydrophobic moieties at intermediate temperatures. The aggregation of the polyoxazoline molecules increases the local concentration of surfactant, resulting in F127 micelles formation observed as a strong correlation peak on the SAXS curves (Figure 2). With further increasing temperature, hybrid (mixed) nanoparticles occur in solution what can be explained by hetero-association mechanism. The structure of such nanoparticles can be described by a spherical shell model, where the core consists of the statistical polymer and the PPO group of F127 and the shell is a sequence of the PEO group of F127. Eventually, enough surfactant molecules are transferred from solution to the polyoxazoline molecules to cover them, the correlation peak disappears and the shape of complexes becomes nearly identical to pure F127 micelles.

### Uncharged polymer – ionic surfactant interactions (Article 3)

The complex polymers with statistical BuOZ-co-PiPrOZ central block and hydrophilic terminated PMeOZ blocks (Scheme 1.) show better stability than diblock copolymers and form micelles with temperature increase. Thus, there is no need to use a polymeric surfactant to stabilize the system. Therefore, low molecular weight surfactants (CTAB, SDS) were taken to analyze the polymer/surfactant interactions. The purpose of that part of research was to assess the mechanism of

polymer/surfactant interactions; how it changes with temperature and what is different in that process of interactions if we use the thermo-responsive polymer of complex architecture in contrast to homopolymer. Experiments show that the behavior in the mixed system is sensitive to the chemical structure of polymers as well as to the surrounding temperature. Both parameters affect the compactness of polymeric micelles.

In general the mechanism can be presented as follows (Figure 6). At the temperature above  $cpt$  (cloud point temperature), the polymer exists in the form of swollen Gaussian coil and forms aggregates before the addition of surfactant. The addition of surfactant induces two simultaneous processes. The first one results in an increase the volume of single Gaussian chain in the polymer aggregates, and the second one promotes the breaking down of large mixed aggregates and the formation of small ones. Furthermore, the first process starts at the lowest concentration and proceeds more intensively. As soon as a sufficient amount of surfactant was added, the aggregates disappear from the solution, and polymer/surfactant complexes become traceable. These complexes can be characterized by a model of sphere with an attached Gaussian coil. One can assume that the micelles of surfactant with the hydrophobic central block of polymer are hidden inside, whereas the MeOZ blocks are expanded to the aqueous solution. If the addition of surfactant to polymer is performed at temperature below  $cpt$ , then any copolymer can be regarded as homopolymer. The mechanism of interactions can be described in two stages: a single step of interaction and the release of bonding water from the surrounding shell.

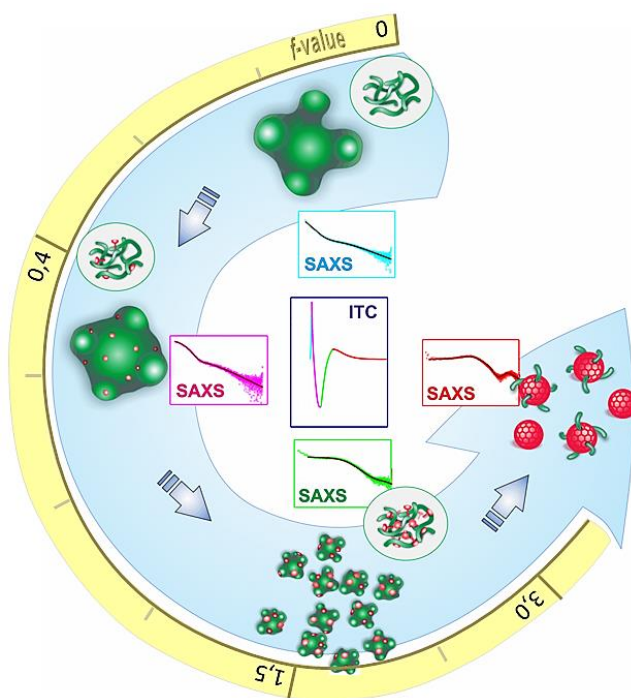


Figure 6. Structure sequence of the complexation process of triblock poly(2-alkyl-2-oxazolines) with increasing the concentration of surfactants.

Analysis of ITC thermograms exhibits that there is no difference in the principle mechanism of interactions between tri-block copolymer and either anionic SDS or cationic CTAB. The only point is that the cationic CTAB is more sensitive to the conformation of the polymer (Table 2).

Table 2. Parameters of the interaction between the polymers and surfactant.

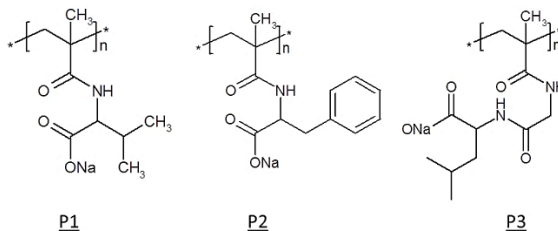
surfactant	$cmc^*$ , mM	$cac^{**}$ (molecular state), mM	$cac$ (micellar state), mM	$C_2$ , mM
SDS	8.4	0.15	0.35	12-14
CTAB	1.25	0.7	0.07	>20

\* -  $cmc$  is taken from the blank titration of surfactant to water and does not show a significant variation with temperature; \*\* -  $cac$  is an average value across all polymers; the molecular state and the micellar state correspond to the conformation of the polymer at 15 and 25 (or 41) °C, respectively.

## pH-responsive polymer systems

### Charged polymer – nonionic surfactant interactions (Article 4)

Weak polyacids are usually described as polyelectrolytes. They undergoes to micro and sometimes macro phase separation at low pHs. In our work we used modification of polymethacrylic acid with some amino acids on the side chain of polymer (Scheme 2). The polymers were synthesized by H. Mackova and M. Hruby from Department of Supramolecular Polymer Systems in Institute of Macromolecular Chemistry.



Scheme 2. Chemical structure of poly(*N*-methacryloyl-*L*-valine) (P1), poly(*N*-methacryloyl-*L*-phenylalanine) (P2) and poly(*N*-methacryloyl glycyl-*L*-leucine) (P3) (sodium salt forms).

The addition of surfactants is a typical way to prevent macrophase separation in polymer solution. Our polymers showed a good solubility in the solution of nonionic surfactant Brij98. Because of only little information about charged polymer – nonionic surfactant interactions, we decided to analyze that type of interactions thoroughly. We found that the type of amino acid regulates the predominant way of interactions in the mixed system that can be driven either by hydrophobic forces or through hydrogen bonding. At the same time, while the hydrogen bonding between polyacids and etoxylated surfactants has been described recently, the existence of

hydrophobic interactions in such system has not yet been mentioned. The type of interactions has a strong effect on the structure of the final complexes. Complexes which have been formed through the hydrophobic interactions are characterized by a pearl-necklace model. Oppositely, the core-shell structure with the polymer placed on the micellar surface is a result of predominant hydrogen bonding (Figure 8).

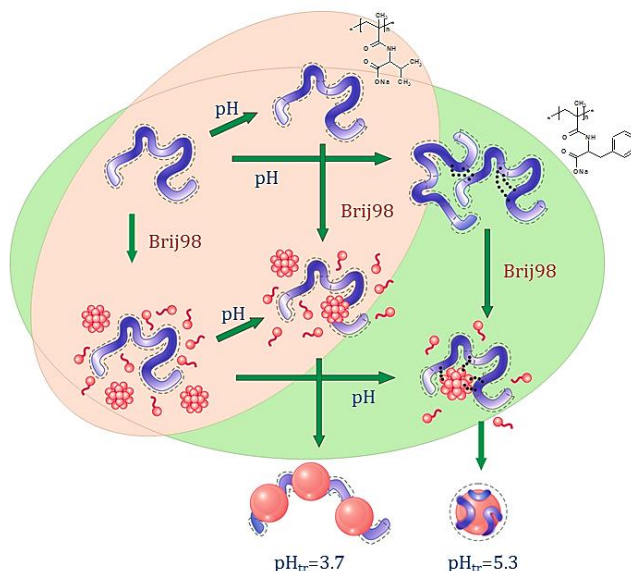


Figure 8. Structure sequence of the complexation process in amino-acid-based polymers with increasing the concentration of surfactants and decreasing the pH of solution.

## CONCLUSION

During this thesis different classes of polymer/surfactant interactions were described. The effect of compositional and structural complexity of polymers to the course of interactions was analyzed. A challenge of the current systems is a stimuli-responsive nature that possesses the polymers. Thus, we attempted to compile all data from various technics and approaches and identify relationship between different aspects of interaction. Finally, complete interpretation of interaction mechanism was gained.

Polymery reagující na podněty neboli „chytré polymery“ jsou polymery, které mění svou konformaci vlivem svého prostředí. Takové materiály mohou být citlivé na řadu faktorů, jako je teplota, vlhkost, pH, iontová síla, typ rozpouštědla, intenzita dopadajícího světla nebo sílu elektromagnetického pole, na které mohou reagovat různými způsoby, stejně jako měnit barvu nebo transparentnost, stát se vodivými, propustnými pro vodu nebo změnit tvar (polymery s tvarovou pamětí). Drobná změna v prostředí polymerů je často dostatečná pro vyvolání větší změny jeho vlastností. Nelineární odezvy těchto „chytrých polymerů“ na podněty je činí jedinečné a efektivní.

Jeden ze speciálních typů „chytrých polymerů“ jsou blokované kopolymery reagující na vnější podněty. Tyto kopolymery jsou vytvořeny z polymerních bloků různého charakteru. Jeden nebo dva z bloků mohou mít buď pH- nebo termo-responzivní chování, nebo dokonce být citlivé na jiné podněty. Blokované kopolymery citlivé na vnější podněty umožňují za určitých podmínek tvorbu micel. Společnými rysy polymerních micel vyrobených z těchto polymerů je jejich vysoká rozpustnost, nízká toxicita a dlouholetá stabilita. Termodynamická a kinetická stabilita micel je řízena hmotnostním poměrem hydrofobních a hydrofilních bloků. Jedinečné vlastnosti amfifilních blokovaných kopolymerů předurčují tyto polymery pro přípravu micel pro různé aplikace.

Chování systémů polymer/surfaktant a jejich interakce pozorované ve směsích jsou důležité pro pochopení biochemicky a fyziologicky souvisejících problémů. Dlouhý vývoj ukázal, že tyto systémy mají přitažlivé aplikace, je příprava gelů, stabilizátorů, zahušťovadel a regulátorů látkové výměny. Kromě toho nacházejí systémy polymer/surfaktant stále intenzivnější uplatnění v oblasti systémů pro řízený biologický transport a uvolňování léčiv (tzv. „drug delivery“ systémy).

Polymery a surfaktanty se často používají společně v průmyslových přípravcích výhodně kombinujících jejich odlišné vlastnosti. Kombinace polymeru se surfaktantem ve vodných roztocích lze obecně rozdělit do čtyř skupin, a to nenabítený polymer/iontový surfaktant; nenabítený polymer/opačně nabítený surfaktant; nenabítený polymer/hydrofobně modifikovaný polymerní surfaktant a nabítený polymer/nenabítený surfaktant. Zatímco dominantní síly odpovědné za působení ve druhém a třetím systému jsou zřejmé, důvody pro interakci ve dvou zbývajících případech jsou méně jasné.

Interakci polymerů se surfaktanty ovlivňuje několik jejich vlastností. Interakce v systému nabitých polymerů se surfaktanty opačného náboje jsou interakce daleko silnější než v systému nenabitých polymerů/nabitých surfaktantů, a to díky dominanci elektrostatických sil. Ale i zde je zcela zřejmé, že pouhá hustota náboje na polymeru není jediná důležitá veličina.

## CÍLE PRÁCE

---

V této dizertační práci jsme se zaměřili na strukturní a termodynamický výklad procesů mezi blokovými kopolymery reagujícími na množství komplexních podněty a povrchově aktivními látkami (surfaktanty). Vzhledem k rozsáhlé složitosti těchto kopolymerů musí být analýza jejich interakce s iontovými a neiontových povrchově aktivními látkami prováděna velmi pečlivě. K dosažení tohoto cíle byly využity pokročilé metody rozptylu a izotermální titrační kalorimetrie (ITC). Naším vedlejším úkolem bylo vrhnout světlo na výklad titračních křivek získaných z ITC experimentů.

- ♣ Analýza chování statistických a blokových kopolymerů PBuOZ-co-PiPrOZ v přítomnosti a nepřítomnosti polymerního neiontového surfaktantu F127 v roztoku;
- ♣ Strukturní charakterizace hybridních nanočástic tvořených kopolymeru PBuOZ-co-PiPrOZ různého složení, a polymerní povrchově aktivní látky F127. Studie chování těchto nanočástic v závislosti na teplotě;
- ♣ Analýza chování triblokových kopolymerů PMeOZ-stat-(PBuOZ-co-PiPrOZ)-MeOZ s různými podíly hydrofilních, hydrofobních a termosenzitivních bloků v roztoku. Analýza teplotního chování triblokových kopolymerů a jejich interakce s iontovými surfaktanty (SDS, CTAB). Analýza struktury a termodynamického vývoje v komplexních nanočásticích obsahujících polymer a surfaktant;
- ♣ Analýza chování pH-senzitivních polymerů na bázi aminokyselin v přítomnosti a nepřítomnosti neiontového surfaktantu Brij98. Struktura a termodynamická charakterizace systémů polymer/surfaktant a výsledných komplexů.

## METODY CHARAKTERIZACE

---

Vzorky studované v této práci jsou zředěné vodné roztoky polymerů nebo směsi polymerů a surfaktantů. K charakterizaci vzorků bylo využito několik experimentálních technik. Rozptylové techniky, jako je dynamický rozptyl světla (DLS), statický rozptyl světla (SLS), SAXS a SANS byly použity pro charakterizaci struktury komplexů polymer - surfaktant v roztoku a ke sledování jejich vývoje při změně prostředí. Fyzikální principy rozptylových metod jsou stejné pro širokoúhlý a malouhlý rozptyl. Rozptyl je patrný při fluktuacích v médiu, které mají dva hlavní zdroje: fluktuace hustoty a fluktuace koncentrace. Fluktuace hustoty označuje fluktuace elektronové hustoty, jaderné hustoty nebo indexu lomu pro X-ray, neutronový nebo světelný rozptyl. Obecně platí, že specifické vlastnosti těchto zdrojů a jejich charakteristické interakce s hmotou umožňují zkoumání typicky v měřítku od 1 do 20 000 nm a v rozsahu sekund až pikosekund.

Izotermální titrační kalorimetrie (ITC) je široce používána pro studium termodynamiky interakcí v roztoku. Rozsah interakcí zkoumaných pomocí ITC je

velký a pokrývá, i když ne výlučně, interakce protein - protein, protein - peptid nebo polymer - surfaktant. Obecně je ITC založena na měření tepla, které je generováno nebo absorbováno při interakci mezi dvěma molekulami smíchanými při konstantní teplotě. Původně byla metoda ITC vyvinuta pro zkoumání interakcí biologicky aktivních látek (proteinů a peptidů). Tyto sloučeniny mají obvykle specifická vazebná místa, která určují fitovací model použitý k ITC analýze. Tento model předpokládá nekooperativní vazby v systému, proto selhává v případě interakcí polymer-surfaktant. Je dobře známo, že důvodem povrchové aktivity je kooperace mnoha molekul surfaktantu. Nedávno bylo pro analýzu ITC dat navrženo použití teorie regulárního roztoku. Teorie je založena na předpokladu, že entalpie interakce je kombinací tepelných efektů (reakční teplo, teplo ředění, teplo přechodu z jednoho do druhého rozpouštědla, teplo agregace atd.). Přidání jedné složky do druhé vede k vytvoření jednoho typu komplexů bez ohledu na jejich směšovací poměry. Další přidávání složky podporuje přeuspořádání stávajících komplexů. Tento proces probíhá až do úplného vyčerpání přidávané složky.

Ukázali jsme dobrou použitelnost teorie regulárního roztoku pro analýzu interakcí v systému polyelektrolyt - neiontový surfaktant a věříme, že je perspektivní i pro jiné systémy polymer - surfaktant.

Důležitým aspektem této práce byla interpretace ITC dat. Měli jsme možnost porovnat výsledky získané z SAXS / SANS experimentu při určitých poměrech koncentrací polymeru a surfaktantu s výsledky ITC experimentu. Jinými slovy jsme se pokusili analyzovat termodynamické procesy v systému a konformační změny, které jsou odpovědné za konkrétní tepelné efekty. Takový postup je při výzkumu velmi důležitý, pokud máme co do činění s komplexním procesem, kde se dá předpokládat větší počet stupňů. Jistě, jediné měření složité struktury nemůže být použito pro interpretaci celého procesu, ale řada po sobě jdoucích měření dělá proces transformace v těchto systémech srozumitelnější.

## DISKUSE

V této části se pokusíme charakterizovat interakce polymer/surfaktant s ohledem ke třem aspektům systému: typ interakce polymer/surfaktant, architektura polymeru a charakter surfaktantu. Naše úvahy začneme popisem struktury a složitosti responzivních kopolymerů; pak objasníme motivaci pro použití jednotlivých surfaktantů v rámci daného systému; a nakonec charakterizujeme každý systém, s ohledem na interakci polymeru se surfaktantem.

Řízená fázová separace byla zkoumána u všech našich systémů. Tato myšlenka předpokládá pečlivou kontrolu procesu fázové separace polymeru prostřednictvím změny okolních podmínek v přítomnosti surfaktantu, který zabraňuje makroskopické fázové separaci responzivního polymeru. Pro studii byly zvoleny dvě externí proměnné, a to teplota a pH.

### Termoresponzivní polymerní systémy

#### Interakce nenabitého polymeru a polymerního surfaktantu (Publikace 1 a 2)

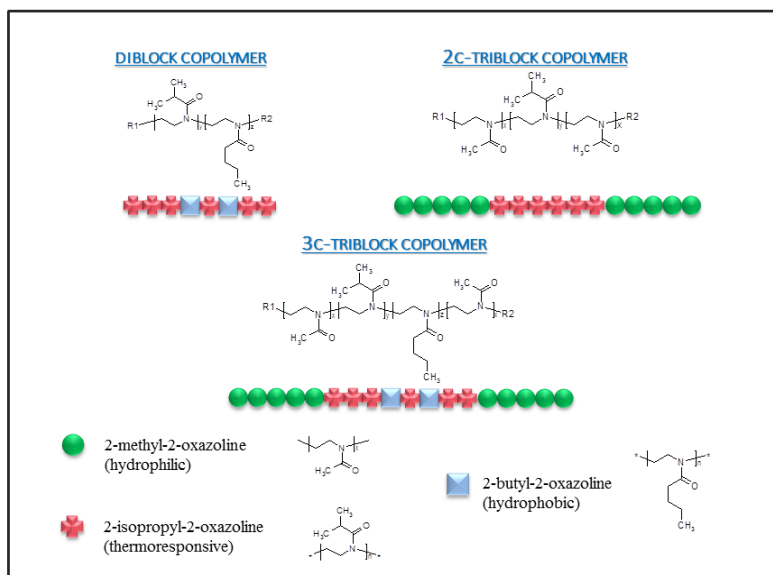


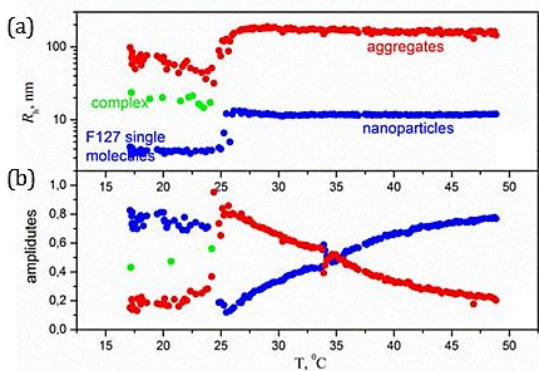
Schéma 1. Chemická struktura blokových kopolymerů na bázi poly(2-alkyl-2-oxazolinů).

Statistický diblokový kopolymer, PBuOZ-co-PiPrOZ, se skládá pouze z hydrofobní (PBuOZ) a termosenzitivní (PiPrOZ) části s absencí jakéhokoliv hydrofilního bloku (Schéma 1). Absence hydrofilní části vytváří vysokou nestabilitu polymeru s rostoucí teplotou a má za následek prudké mikro- a makrofázové separace v systému. Pro účely vytvoření stabilního systému pro řízenou regulaci fázové separace byl použit polymerní surfaktant F127. Polymerní struktura surfaktantu F127 účinně stabilizuje



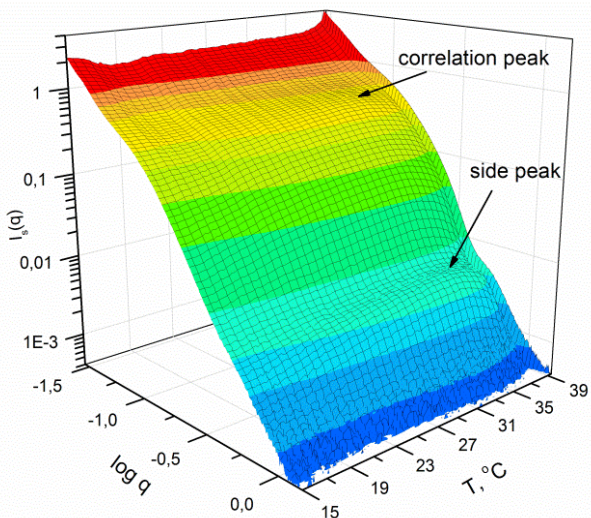
polymer a rozpouští ho uvnitř micelárního hydrofobního jádra. Zajímavé je, v tomto případě vykazuje termosenzitivní chování nejen studovaný polymer, ale i surfaktant. To se projevuje ve vyšší náročnosti při analýze takového smíšeného systému. Interakce polymer/surfaktant by zde mohla být zkoumána jako proces rozpouštění hydrofobní části prostřednictvím molekul surfaktantu.

Zjistili jsme, že interakce mezi statistickým kopolymerem a F127 lze odhalit dlouho před dosažením teplota fázového přechodu polymeru, jakož i surfaktantu. Tyto „před-micelární“ komplexy byly pozorovány pomocí technik DLS a ITC (Obrázek 1. a, b). Kromě toho, má složení kopolymeru zásadní vliv na strukturu výsledných komplexů.



Obrázek 1. DLS data systému Polymer + F127. a)  $R_h$  pro: (●) - agregáty, (●)- komplexy, (●)- volné molekuly F127 a nanočástice;  $c(\text{pol})/c(\text{F127}) = 0,1$ ; b) Amplitudy pro: (●) - agregáty; (●)-komplexy, (●)- volné molekuly F127 a nanočástice.

Bylo zjištěno, že hydrofobicita polymerů byla pro pevnost interakcí důležitější než jejich termosenzitivita. Zatímco proces interakce pro hydrofobní a termosenzitivní polymery je stejný, finální struktura nanočástic hydrofobní polymer / F127 je kompaktnější (při stejném obsahu surfaktantu). Vývoj komplexu polymer/surfaktant v závislosti na teplotě je zobrazen na Obrázku 2 ve formě SAXS křivek. Strukturální sekvenci komplexace systému polymer/surfaktant lze interpretovat následujícím způsobem.



Obrázek 2. 3D SAXS graf jako funkce vektoru rozptylu  $q$  a teploty systém Polymer B/F127.

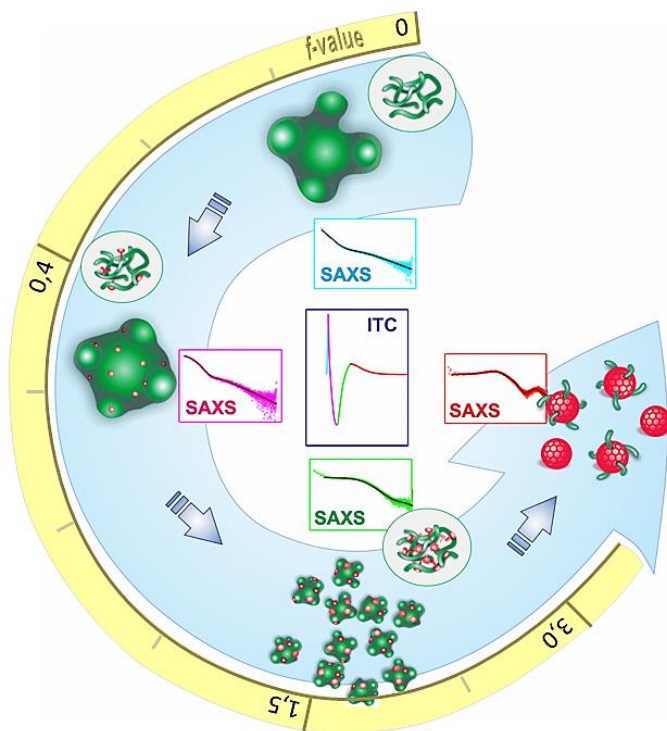
Molekuly F127 při nízké teplotě interagují s hydrofobními skupinami (BuOZ) makromolekuly a tvoří komplexy meziproduktů, jak je vidět na Obrázku 1. Malé polydisperzní objekty jsou viditelné pomocí metody SAXS při nízkých teplotách (Obrázek 2). Se zvyšující se teplotou začnou molekuly polymeru a surfaktantu agregovat, jelikož obě látky vykazují termoresponzivní chování. Při těchto teplotách je určitá kompetice mezi homo- a hetero-asociací s převládajícími homo-agregacemi polymerů obsahujícími hydrofobní části. Agregace molekul polyoxazolinu zvyšuje lokální koncentrace surfaktantu, což má za následek tvorbu micel F127 pozorovanou jako silný korelační vrchol na křivce SAXS (obrázek 2). S dalším zvýšením teploty vznikají v roztoku hybridní (smíšené) nanočástice jako důsledek hetero-asociačního mechanismu. Struktura těchto nanočástic lze popsat pomocí sférického slupkového modelu, kde se jádro skládá ze statistického polymeru a PPO skupiny F127 a obal je tvořen sekvencí PEO skupiny F127. Nakonec je převedeno z roztoku do molekul polyoxazolinu (na jejich krytí) dostatek molekul surfaktantu, takže korelační vrchol zmizí a tvar nanočástic se stává téměř identickým s tvarem micel F127.

### Interakce nenabitého polymeru a iontového surfaktantu (Publikace 3)

Blokové ABA kopolymery skládající se z centrálního bloku tvořeného BuOZ-stat-PiPrOZ a hydrofilními koncovými PMeOZ bloky (Schéma 1) vykazují lepší stabilitu než diblokové kopolymery a vytvářejí micely při zvýšené teplotě. Proto není nutné pro stabilizaci systému používat polymerní surfaktanty. Z tohoto důvodu byly pro studii interakcí polymer/surfaktant použity surfaktanty s nízkou molekulovou hmotností (CTAB, SDS). Cílem této části výzkumu bylo posoudit mechanismus interakcí polymeru se surfaktantem; jak se mění s teplotou, jakož i odlišnosti v procesu interakcí, pokud nahradíme homopolymer termoresponzivním

kopolymerem komplexní architektury. Experimenty ukazují, že chování v takových směsných systémech je citlivé jak na změnu chemické struktury polymerů, tak i na teplotu okolního prostředí. Oba parametry mají vliv na kompaktnost polymerních micel.

Obecně může být mechanismus rozdělen do několika částí (Obrázek 3). Při teplotě nad CPT (teplota bodu zákalu) polymer existuje ve formě botnálného gaussova klubka a tvoří agregáty i před přidáním surfaktantu. Přídavek povrchově aktivní látky vyvolává dva simultánní procesy. První z nich má za následek zvětšení objemu jednoduchých gaussových klubek agregátů, a druhý podporuje disociaci velkých smíšených agregátů a vznik malých. Kromě toho, první proces začíná v nízkých koncentracích a probíhá intenzivněji. Jakmile se přidá dostatečné množství surfaktantu, agregáty zmizí z roztoku a pozorujeme tvorbu komplexů polymer/surfaktant. Tyto komplexy mohou být charakterizovány modelem koule s připojenými gaussovými klubky. Dá se předpokládat, že micely surfaktantu a hydrofobním centrálním blokem polymeru jsou skryty uvnitř, zatímco hydrofilní bloky PMeOZ expandují do vodného roztoku. V případě, že je surfaktant přidán při teplotě nižší než CPT, pak jakýkoliv kopolymer se chová jako homopolymer. Mechanismus interakce může být popsán ve dvou stupních: prvním krokem je interakce řetězců, po které následuje uvolnění navázané vody z hydrofilního pláště.



Obrázek 3. Sekvence komplexačního procesu triblokového poly(2-alkyl-2-oxazolinu) se zvyšující se koncentrací surfaktantu.

Analýza ITC termogramů prokazuje, že není žádný rozdíl v mechanismu interakce mezi tri-blokovým kopolymerem a buď aniontovým SDS nebo kationtovým CTAB. Jediný rozdíl je v tom, že kationtový CTAB je citlivější na konformaci polymeru (Tabulka 1).

Tabulka 1. Parametry interakce mezi polymery a surfaktanty.

surfaktant	$cmc^*$ , mM	$cac^{**}$ (molekulární stav), mM	$cac$ (micelární stav), mM	$C_2$ , mM
SDS	8.4	0.15	0.35	12-14
CTAB	1.25	0.7	0.07	>20

\* - CMC je stanovena titrací surfaktantu ve vodě a nevykazuje významné změny s teplotou, \*\* - CAC je průměrná hodnota všech polymerů; molekulární a micelární stav odpovídá konformaci polymeru při 15 a 25 (respektive 41 ° C).

## [pH-Responzivní polymerní systémy](#)

### Interakce nabitého polymeru a neiontového surfaktantu (Publikace 4)

Slabé polymerní kyseliny jsou obvykle popisovány jako polyelektrolyty. Při nízkých hodnotách pH je u nich pozorována mikroskopická, někdy i makroskopická fázová separace. V naší práci byla použita kyselina polymethakrylová modifikovaná na postranním řetězci polymeru některými aminokyselinami (Schéma 2). Polymery byly syntetizovány kolegy H. Mackovou a M. Hrubým z Oddělení supramolekulárních polymerních systémů v Ústavu makromolekulární chemie.

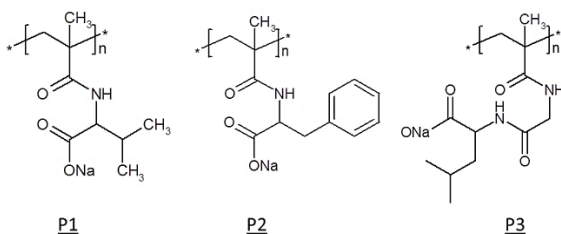
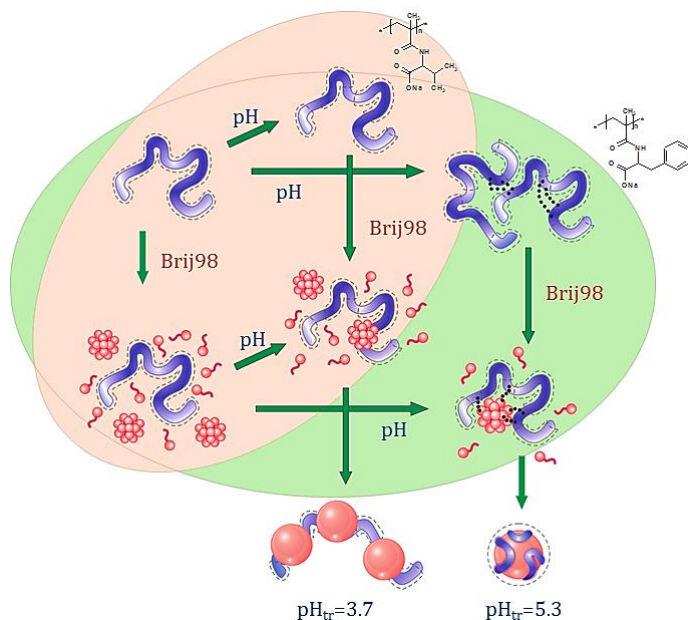


Schéma 2. Chemická struktura poly(*N*-methakryloyl-*L*-valinu) (P1), poly(*N*-methakryloyl-*L*-fenylalaninu) (P2) a poly(*N*-methakryloyl-glycyl-*L*-leucinu) (P3) (ve formě sodných solí).

Přidání surfaktantu je typický způsob, jakým zabránit makroskopické fázové separaci v roztoku polymeru. Naše polymery vykazují dobrou rozpustnost v roztoku neiontového surfaktantu Brij98. Protože existuje pouze málo informací o interakcích nabitého polymeru a neiontového surfaktantu, rozhodli jsme se analyzovat tento typ interakcí důkladně. Zjistili jsme, že typ aminokyseliny určuje převažující způsob

interakcí ve směsném systému, kde jsou hnací silou buď hydrofobní interakce nebo vodíkové vazby. Zatímco vliv vodíkových vazeb mezi polykyselinami a surfaktanty byl objasněn v nedávné době, existence hydrofobních interakcí v takovém systému nebyla doposud popsána. Typ interakcí má výrazný vliv na strukturu konečných komplexů. Komplexy, které byly vytvořeny prostřednictvím hydrofobních interakcí, mohou být popsány modelem perlového náhrdelníku. Na druhou stranu, sférická struktura jádro-plášť s polymerem umístěným na micelární povrchu je výsledkem převládajících vodíkových vazeb (Obrázek 4).



Obrázek 4. Sekvence komplexačního procesu polymerů na bázi aminokyselin se zvyšující se koncentrací surfaktantu a snižujícím se pH roztoku.

## ZÁVĚR

V rámci této práce byly studovány interakce různých druhů polymerů se surfaktanty. Byl analyzován vliv složení a strukturální složitosti polymerů na průběh interakcí. V současnosti je kladen velký důraz na polymery reagující na změnu vnějšího prostředí. Proto jsme se pokusili shromáždit všechna data z různých technik a určit vztah mezi různými aspekty interakcí. Nakonec bylo dosaženo kompletní interpretace interakčních mechanismů.

# Anna Yu. Bogomolova

---

U Blazenky 2066, Prague,  
Czech Republic, 150 00  
aubogomolova@gmail.com

## EDUCATION

---

### Charles University

PhD, Physical and Macromolecular Chemistry

Prague, Czech Republic  
2011-present time

### Saint-Petersburg State University

Dipl. , Polymer Chemistry

Saint-Petersburg, Russia  
2005-2010

## SCIENTIFIC INTERESTS

---

- Soft-matter
- Polymer, bio-polymer materials
- Self-assembly
- Drug delivery systems

## RESEARCH EXPERIANCE

---

### Institute of Macromolecular Chemistry

Department of Supromolecular Polymer Systems  
Researcher; Supervisor: Dr. Sergey K. Filippov  
Stimuli-responsive polymers and their behavior in  
surfactant environment.

Prague, Czech Republic  
2011-present time

## RESEARCH TECHNIQUES

---

Dynamic and Static Light Scattering (DLS, SLS)  
Small Angle Neutron, X-ray Scattering (SANS, SAXS)  
Isothermal Titration Calorimetry (ITC)  
Atomic Force Microscopy (AFM)

## CONFERENCES

---

5th ECNP Young Scientist Conference, April 2012

NanoFormulation , May 2012

Bombannes School, June 2012

Career in Polymers IV, June 2012

ECIS2012 Training Course "Thermodynamics and  
calorimetry of colloidal and biomolecular systems",  
September 2012

33rd Berlin School on Neutron Scattering, February 2013

European Polymer Congress, June 2013

International Symposium "Molecular Order and Mobility  
in Polymer Systems", June 2014 - *oral talk*

International Symposium on Surfactants in Solution - SIS,  
June 2014

International Society for Biomedical Polymers and  
Polymeric Biomaterials, July 2014 - *oral talk*

Prague, Czech Republic

Barcelona, Spain

Bordaux, France

Prague, Czech Republic

Malmo, Sweden

Berlin, Germany

Pisa, Italy

St. Petersburg, Russia

Coimbra, Portugal

Washington, D.C., USA

## FELLOWSHIPS

DAAD-Scholarship

University of Kaiserslautern

Germany

2013

## SELECTED PUBLICATIONS

The following list shows all articles published during my doctoral studies, including articles not attached to the thesis.

### Article 1:

Pánek, J., Filippov, S., Hrubý, M., Rabyk, M., Bogomolova, A., Kučka, J., Štěpánek, P., Thermoresponsive Nanoparticles Based on Poly(2-Alkyl-2-Oxazolines) and Pluronic F127, *Macromol. Rapid Commun.*, **2012**, 33, 1683-1689.

Klíčová, L., Šebej, P., Štacko, P., Filippov, S., Bogomolova, A., Padilla, M., Klán, P., CTAB/water/chloroform reverse micelles: a closed or open association model? *Langmuir*, **2012**, 28(43), 15185-15192.

Filippov, S., Sedláček, O., Bogomolova, A., Jiráček, D., Kovář, J., Kučka, J., Bals, S., Turner, S., Štěpánek, P., Hrubý, M., Glycogen as biodegradable construction nanomaterial for in vivo use, *Macromol. Biosci.*, **2012**, 12(12), 1731-1738.

Filippov, S., Franklin J., Konarev P., V., Chytil, P., Etrych, T., Bogomolova, A., Dyakonova, M., Papadakis C., Radulescu, A., Ulbrich, K., Štěpánek, P., Svergun D., I., Hydrolytically degradable polymer micelles for drug delivery: a SAXS/SANS kinetic study, *Biomacromol.*, **2013**, 14(11), 4061-4070.

### Article 2:

Bogomolova, A., Hrubý, M., Pánek, J., Rabyk, M., Turner, S., Bals, S., Steinhart, M., Zhigunov, A., Sedláček, O., Štěpánek, P., Filippov, S., Small-Angle X-ray Scattering and Light Scattering Study of Hybrid Nanoparticles Composed of Thermoresponsive Triblock Copolymer F127 and Thermoresponsive Statistical Polyoxazolines with Hydrophobic Moieties, *J. Appl. Crystallogr.*, **2013**, 46, 1690-1698.

### Article 3:

Bogomolova, A., Filippov, S., Starovoytova, L., Angelov, B., Konarev, P., Sedlacek, O., Hruby, M., Stepanek, P., Study of Complex Thermosensitive Amphiphilic Polyoxazolines and Their Interaction with Ionic Surfactants. Are Hydrophobic, Thermosensitive, and Hydrophilic Moieties Equally Important?

*J. Phys. Chem. B*, **2014**, 118, 4940-4950.

Pechar, M., Pola, R., Laga, R., Braunova, A., Filippov, S., Bogomolova, A., Bednarova, L., Vanek, O., Ulbrich, K.,

Coiled coil peptides and polymer-peptide conjugates: synthesis, self-assembly, characterization and potential in drug delivery systems, *Biomacromolecules*, **2014**, 15 (7), 2590-2599.

Sergeeva, O., Vlasov, P., Domnina, N., Bogomolova, A., Konarev P., Svergun D., Walterová, Z., Horský, J., Štěpánek, P., Filippov, S.,

Novel thermosensitive telechelic PEGs with antioxidant activity: synthesis, molecular properties and conformational behaviour, *RSC Advances*, **2014**, 4 (79), 41763-41771.

Article 4:

Bogomolova, A., Keller, S., Klingler, J., Sedlak, M., Rak, D., Sturcova, A., Hruby, M., Stepanek, P., Filippov, S. K.,

Self-Assembly Thermodynamics of pH-Responsive Amino Acid-Based Polymers with a Non-Ionic Surfactant. *Langmuir*, **2014**, 30, 11307-11318.