

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITA' DI
BOLOGNA
SEDE DI CESENA
SECONDA FACOLTA' DI INGEGNERIA
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**SINTESI E CARATTERIZZAZIONE
DI NUOVI COPOLIESTERI
ALIFATICI PER USO BIOMEDICALE**

Elaborato in:
FONDAMENTI DI CHIMICA

Relatore :
Prof.ssa Nadia Lotti

Presentata da:
Ernesto Scibona

Correlatore:
Ing. Matteo Gigli

PRIMA SESSIONE
ANNO ACCADEMICO 2011/2012

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITA' DI
BOLOGNA
SEDE DI CESENA
SECONDA FACOLTA' DI INGEGNERIA
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**SINTESI E CARATTERIZZAZIONE
DI NUOVI COPOLIESTERI
ALIFATICI PER USO BIOMEDICALE**

Elaborato in:
FONDAMENTI DI CHIMICA

Relatore :
Prof.ssa Nadia Lotti

Presentata da:
Ernesto Scibona

Correlatore:
Ing. Matteo Gigli

PRIMA SESSIONE
ANNO ACCADEMICO 2011/2012

Indice

Capitolo 1: Introduzione	1
1.1 Biomateriali	1
1.1.1 Introduzione ai biomateriali	1
1.1.2 Definizione	3
1.1.3 Classificazione	3
1.1.3.1 I metalli	3
1.1.3.2 I ceramici	4
1.1.3.3 I biologici	6
1.1.3.4 I compositi	6
1.2 Materiali polimerici	9
1.2.1 Definizione	9
1.2.2 Struttura	10
1.2.3 Cristallinità	12
1.2.4 Proprietà termomeccaniche	13
1.2.5 Massa e peso molecolare	16
1.2.6 Meccanismi di polimerizzazione	19
1.2.6.1 Poliaddizione	19
1.2.6.2 Policondensazione	20
1.2.7 Polimeri come biomateriali	21
1.3 Copolimeri	26
1.3.1 Generalità	26
1.3.2 Classificazione	27
1.3.3 Copolimeri statistici	28
1.4 Poliesteri alifatici	35
1.4.1 Generalità	35
1.4.2 Sintesi	36

1.4.3	Proprietà fisiche	36
1.4.4	Degradazione	37
1.4.5	Poliesteri alifatici per uso biomedicale	38
1.4.5.1	Acido Poliglicolico (PGA)	38
1.4.5.2	Acido Polilattico (PLA)	39
1.4.5.3	Poli(ϵ -caprolattone) (PCL)	40
1.5	Ingegneria Tissutale	42
1.5.1	Introduzione	42
1.5.2	Scaffold	47
1.5.3	Distribuzione dei segnali in ingegneria tissutale	48
1.5.4	Polimeri nell'ingegneria tissutale	51
1.6	Sistemi a rilascio controllato di farmaci	52
1.6.1	Introduzione	52
1.6.2	Meccanismi di rilascio controllato	55
1.6.3	Polimeri nei sistemi a rilascio controllato di farmaci	59
	Bibliografia	63
	Capitolo 2: Scopo della Tesi	65
	Capitolo 3: Materiali e Metodi	68
3.1	Sintesi	68
3.2	Caratterizzazione	71
3.2.1	Caratterizzazione Molecolare	71
3.2.1.1	Risonanza magnetica nucleare (NMR)	71
3.2.1.2	Cromatografia a permeazione su gel (GPC)	74
3.2.2	Caratterizzazione Termica	76
3.2.2.1	Calorimetria differenziale a scansione (DSC)	76
3.2.2.2	Termogravimetria (TGA)	80

3.2.3 Raggi X	81
3.2.4 Caratterizzazione Meccanica	82
3.2.5 Misura dell'angolo di contatto	84
Capitolo 4: Risultati e discussione	86
4.1 Sintesi e caratterizzazione molecolare	86
4.2 Caratterizzazione termica	89
4.3 Misure di bagnabilità	99
4.4 Prove meccaniche	101
Capitolo 5: Conclusioni e prospettive future	104

Capitolo 1: Introduzione

1.1 Biomateriali

1.1.1 Introduzione ai biomateriali

Negli ultimi anni la medicina e la chirurgia stanno facendo sempre più ricorso a materiali estranei all'organismo al fine di ripristinare o sostituire una funzione fisiologica tramite sostituzione di organi o tessuti danneggiati. A questo scopo si stanno investendo molte risorse nella ricerca di nuovi biomateriali modellabili a seconda delle singole esigenze legate alla varietà di patologie e tessuti coinvolti.

1.1.2 Definizione

La definizione di biomateriale sulla quale attualmente esiste il più ampio consenso è quella stabilita nel corso della II *International consensus conference on biomaterials*, tenutasi a Chester (Gran Bretagna) nel 1991: "Si definisce biomateriale un materiale concepito per interfacciarsi con i sistemi biologici al fine di valutare, dare supporto o sostituire un qualsiasi tessuto, organo o funzione del corpo". Strettamente collegata è la definizione di dispositivo medico, contenuta nella Direttiva 93/42/CEE: "S'intende per dispositivo medico qualsiasi strumento, apparecchio, impianto, sostanza, o altro prodotto usato da solo o in combinazione, compreso il software informatico impiegato per il corretto funzionamento, e destinato dal fabbricante a essere impiegato nell'uomo a scopo di: diagnosi, prevenzione, controllo, terapia o attenuazione di una malattia; diagnosi, controllo, terapia, attenuazione o compensazione di una ferita o di

un **handicap**; studio, sostituzione o modifica dell'anatomia o di un processo fisiologico; intervento sul concepimento, purché non eserciti l'azione principale nel o sul corpo umano cui è destinato, con mezzi farmacologici o immunologici, né mediante processo metabolico, ma la cui funzione possa essere coadiuvata da tali mezzi."

Data l'importanza rivestita dai biomateriali nelle cure e nelle terapie si è reso necessario garantire che i prodotti commerciali rispettino determinati standard che tengano conto di aspetti biologici, meccanici e chimici al fine di garantire la salute del paziente. La compatibilità può essere suddivisa in tre aspetti principali:

- **Compatibilità morfologica:** aspetto che riguarda le interfacce dimensionali, relative a geometria e masse. Un dispositivo impiantabile deve avere forma e dimensione tali da essere inseribile al posto del tessuto naturale ed interfacciarsi geometricamente con l'ambiente circostante.
- **Compatibilità funzionale:** aspetto che riguarda il ruolo svolto dal dispositivo rispetto al ruolo atteso. Deve rispondere al maggior numero di caratteristiche funzionali possibili tra quelle richieste.
- **Biocompatibilità:** La biocompatibilità può essere definita come la capacità di un materiale di non provocare da parte del sistema vivente nel quale è impiegato un insieme di reazioni sfavorevoli tali da pregiudicare la possibilità di utilizzarlo per tutto il tempo previsto.

Molto spesso nella progettazione di un dispositivo occorre tenere in considerazione tali aspetti, che purtroppo non sono quasi mai noti in termini quantitativi a causa dell'interazione dinamica con l'organismo. La compatibilità nel suo complesso conduce al problema dell'affidabilità. È infatti indispensabile che un dispositivo medico sia affidabile in quanto molte volte la sua manutenzione o riparazione è praticamente impossibile.

1.1.3 Classificazione

I biomateriali possono essere classificati in modo del tutto analogo ai materiali in genere. Possiamo quindi distinguere cinque categorie di biomateriali: metallici, ceramici, biologici, compositi, e polimerici. Ognuna di queste categorie presenta caratteristiche proprie, che ne rendono conveniente l'uso in applicazioni mediche specifiche.

Altri tipi di classificazione possono riguardare gli effetti prodotti sul materiale (bioinerti o biodegradabili), oppure sull'interazione con l'organismo (bioattivi o bioassorbibili).

1.1.3.1 I metalli

I metalli trovano larghissimo uso come materiali da costruzione per dispositivi biomedici.

Gli impieghi sono i più svariati e vanno da componenti di apparecchiature a intere protesi o loro parti. La maggior parte trova applicazione nella fabbricazione di strumentario chirurgico, di protesi ortopediche e dentali e di mezzi di osteosintesi. I materiali metallici si prestano bene a risolvere i problemi legati alla sostituzione di tessuti duri quali ossa e denti in forza delle loro elevate proprietà meccaniche; queste ultime possono sintetizzarsi in un elevato modulo elastico, dell'ordine dei GPa ed un'elevata resistenza di snervamento, che rende possibile la costruzione di strutture in grado di sopportare carichi elevati senza grandi deformazioni, una buona duttilità, che permette di evitare la rottura fragile in caso venga superato il limite di snervamento, consentendo di intervenire sostituendo il componente prima che si rompa, ed un'elevata resistenza alla fatica meccanica, che li rende indicati in tutte le applicazioni per le quali si prevedono cicli di carico.

Il primo metallo sviluppato specificamente per uso umano è stato il cosiddetto Sherman Vanadium Steel (1912, acciaio al Vanadio), adoperato per fabbricare placche e viti utilizzate nel caso di fratture ossee; altri metalli impiegati nel tempo sono: ferro, cromo, cobalto, nichel, titanio, tantalio, molibdeno, e tungsteno. Alcuni di essi per problemi di tossicità possono essere usati soltanto in leghe. In generale l'organismo tollera la presenza di piccole quantità di questi metalli (che a volte sono essenziali per la sopravvivenza), ma elevate quantità possono risultare dannose.

La biocompatibilità dei metalli è legata alla facilità o meno della loro corrosione in ambiente biologico: i fluidi biologici hanno infatti un elevato potere corrosivo nei confronti dei metalli: tale fenomeno è da evitare in quanto il rilascio di ioni metallici comporta danni sia alla struttura, col peggioramento delle proprietà meccaniche, sia all'organismo, se si supera la dose letale.

Per ottenere migliori prestazioni in genere i metalli vengono utilizzati in leghe: per esempio l'aggiunta di cromo o molibdeno può aumentare sensibilmente la resistenza alla corrosione.

1.1.3.2 I ceramici

I materiali ceramici sono composti inorganici che contengono elementi sia metallici che non metallici e possono esistere in una grande quantità di forme, sia cristalline che vetrose, con legami che vanno dal covalente puro allo ionico. Alcuni esempi sono gli ossidi come allumina, silice, ossido di magnesio e di titanio e i sali ionici come il cloruro di sodio, il cloruro di cesio e il solfuro di zinco. Altri materiali ceramici che costituiscono un'eccezione sono il diamante e le altre strutture del carbonio quali la grafite e il carbonio pirolitico.

La struttura atomica dei materiali ceramici, causata dalla natura del legame chimico, conferisce loro ottime proprietà di resistenza al calore e all'attacco degli agenti chimici (inerzia chimica), nonché di isolamento elettrico e termico e di buona resistenza ai carichi di compressione. Purtroppo essa è anche causa di un comportamento meccanico caratterizzato da fragilità: la struttura cristallina dei materiali ceramici non consente il movimento relativo degli atomi, così che quando il materiale è deformato oltre un certo limite subisce una frattura fragile. La curva sforzo-tensione avrà quindi un andamento lineare molto ripido, con modulo di Young dell'ordine di centinaia di GPa, ma con deformazione a rottura molto piccola, quindi con bassa tenacità, che li rende inadeguati a sopportare gli urti.

Nonostante l'elevata inerzia chimica, alcuni trattamenti meccanici di superficie possono conferire ai materiali ceramici caratteristiche di bioattività, ovvero la capacità di indurre nei tessuti una risposta attivando processi chimici e biologici all'interfaccia (per esempio l'attività rigeneratrice dell'osso).

Si possono riconoscere due categorie differenti:

- I ceramici intrinsecamente bioattivi i quali favoriscono la bioattività grazie alla loro composizione chimica, quali BioCeramiche (Idrossiapatite) e BioVetri (Bioglass, Cervital).
- I ceramici nei quali la bioattività è indotta o da trattamenti di superficie (ad esempio il rivestimento con sostanza polimeriche o con eparina) o a seguito del riempimento dei pori del materiale con sostanze farmacologicamente attive.

I principali usi in medicina dei materiali ceramici coinvolgono la realizzazione di dispositivi per la sostituzione funzionale di tessuti duri. Alcune applicazioni tipiche comprendono l'ambito ortopedico nella realizzazioni di protesi, odontoiatrico per quanto riguarda impianti dentali, otorinolaringoiatrico per la sostituzione degli ossicini dell'orecchio interno

e la chirurgia ricostruttiva di naso e gola, cardiovascolare con la realizzazione di protesi valvolari.

1.1.3.3 I biologici

I materiali biologici sono materiali di origine sia animale sia umana, in strutture già organizzate o allo stadio molecolare, il cui uso è possibile solo dopo l'eliminazione delle tracce cellulari responsabili della vitalità del materiale. I materiali biologici di maggior interesse in campo biomedico sono i tessuti. Per i materiali costituiti da tessuti molli, l'utilizzazione principale si è avuta nel settore cardiovascolare per protesi valvolari e di vasi sanguigni; prima dell'utilizzazione questi materiali debbono essere sottoposti a una serie di trattamenti che, distruggendone la componente deteriorabile, li rendono immuni all'attacco dei batteri. I materiali costituiti da tessuti duri sono utilizzati prevalentemente in ortopedia, per riempimenti nel caso di difetti ossei o di asportazione di tumori. Di particolare importanza sono i tessuti connettivi, che comprendono ossa, cartilagini, sangue, endoteli e linfa. Ultimamente sta crescendo l'interesse nell'uso del collagene per la fabbricazione di dispositivi medici.

Esiste però una forte limitazione all'uso dei materiali biologici legata alla calcificazione, cioè all'accumulo di calcio nel tempo che irrigidisce inevitabilmente il tessuto.

1.1.3.4 I compositi

I materiali compositi sono solidi che contengono al loro interno due o più fasi con un grado di dispersione maggiore di quello atomico. I singoli materiali che formano i compositi sono chiamati costituenti, e a seconda della loro funzione prendono il nome di matrice o rinforzo (carica).

La matrice è costituita da una fase continua omogenea, che ha il compito di:

- racchiudere il rinforzo, garantendo la coesione del materiale composito (e degli eventuali strati di cui esso è composto, nel caso di composito laminato);
- garantire che le particelle o le fibre di rinforzo presentino la giusta dispersione all'interno del composito e non si abbia segregazione.

Il rinforzo è rappresentato da una fase dispersa, che viene appunto dispersa in varie modalità all'interno della matrice e ha il compito di assicurare rigidità e resistenza meccanica, assumendo su di sé la maggior parte del carico esterno.

A seconda del tipo di rinforzo, i materiali compositi si suddividono in:

- compositi particellari;
- compositi rinforzati con fibre;
- compositi strutturati.

I materiali compositi offrono numerosi vantaggi perché le loro proprietà possono essere facilmente modulate a seconda del tipo di utilizzo. Alcune tra le applicazioni in campo biomedico sono composti per riempimenti dentali, rinforzi per cementi ossei, impianti ortopedici.

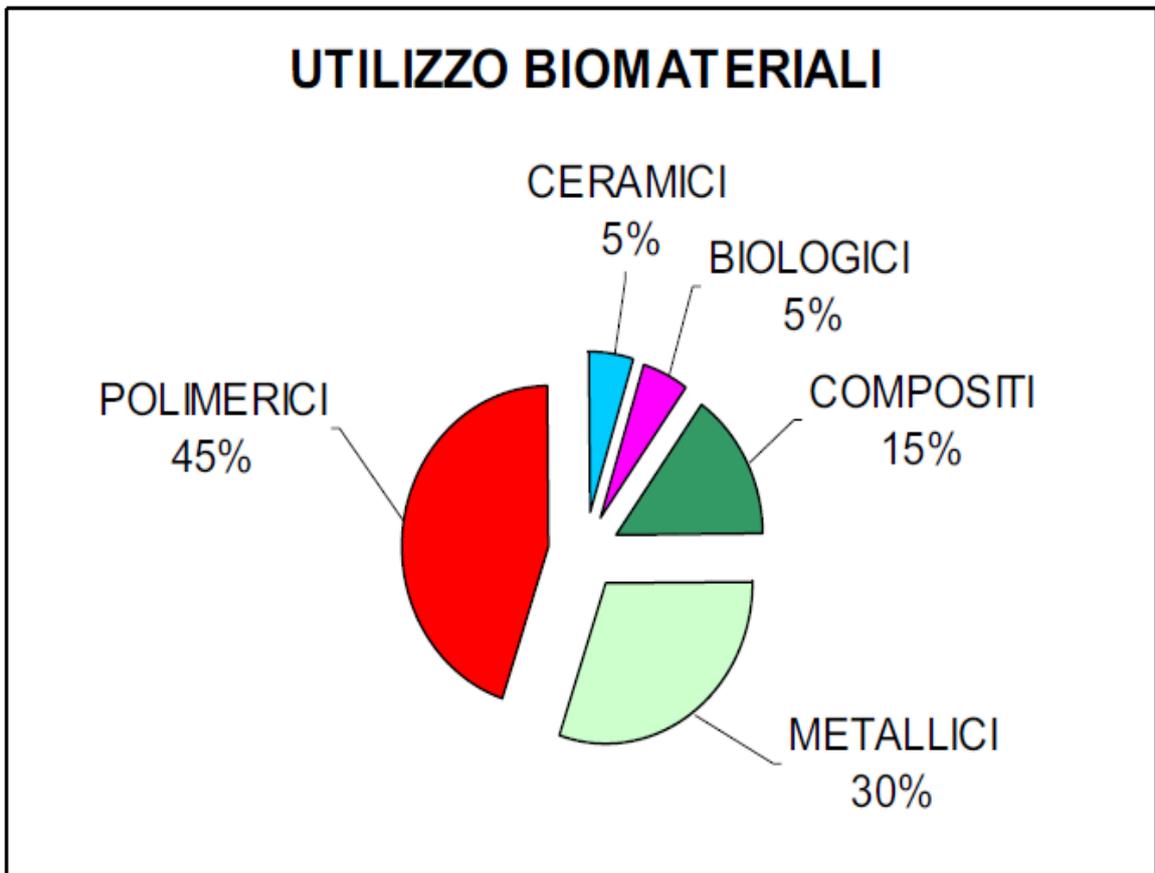


Figura 1.1: utilizzo dei vari tipi di biomateriali nella fabbricazione di dispositivi medici.

1.2 Materiali Polimerici

1.2.1 Definizione

I polimeri sono macromolecole formate dalla ripetizione di unità strutturali dette monomeri, che si uniscono tra di loro a formare lunghe catene. Non c'è un metodo soddisfacente per determinare il valore limite del numero di segmenti in una molecola prima che possa essere classificata come polimero, perchè le unità strutturali (o monomeri) variano in peso e in dimensione molecolare, inoltre la transizione delle proprietà da non polimeriche a polimeriche è graduale con l'incremento del peso molecolare. Si definiscono tuttavia oligomeri molecole con al massimo 1500 unità ripetenti, da 1500 a 5000 si comincia a parlare di polimeri a basso peso molecolare, da 10000 in poi si parla di polimeri ad elevato peso molecolare.

A sua volta un polimero può essere classificato come segue:

- omopolimero: catene costituite da un singolo tipo di monomero
- copolimero: catene costituite da due differenti unità monomeriche in sequenza generalmente irregolare
- terpolimero (ecc.): catene costituite da tre differenti unità monomeriche in sequenza irregolare

I copolimeri possono inoltre essere suddivisi in:

- copolimeri statistici in cui la distribuzione dei due monomeri è essenzialmente casuale
- copolimeri alternanti costituiti da sequenze regolarmente alternate delle due unità monomeriche lungo la catena
- copolimeri a blocchi formati da sequenze di blocchi delle due unità monomeriche

- copolimeri ad innesto in cui blocchi di un monomero sono innestati sullo scheletro dell'altro come ramificazione.

I polimeri sono caratterizzati da basso peso specifico, notevole inerzia chimica, in molti casi da modesto carico di snervamento e da grande allungamento a rottura; hanno come limite per le applicazioni una scarsa resistenza alle alte temperature e la difficoltà a trasmettere carichi.

1.2.2 Struttura

La conformazione spaziale del polimero influenza le sue proprietà. Si parla di isomeria strutturale o stereoisomeria quando composti chimici con identica composizione (quindi con stessa formula bruta) hanno struttura diversa e di conseguenza proprietà diverse, in quanto possono cambiare i legami tra le molecole (Figura 1.2).

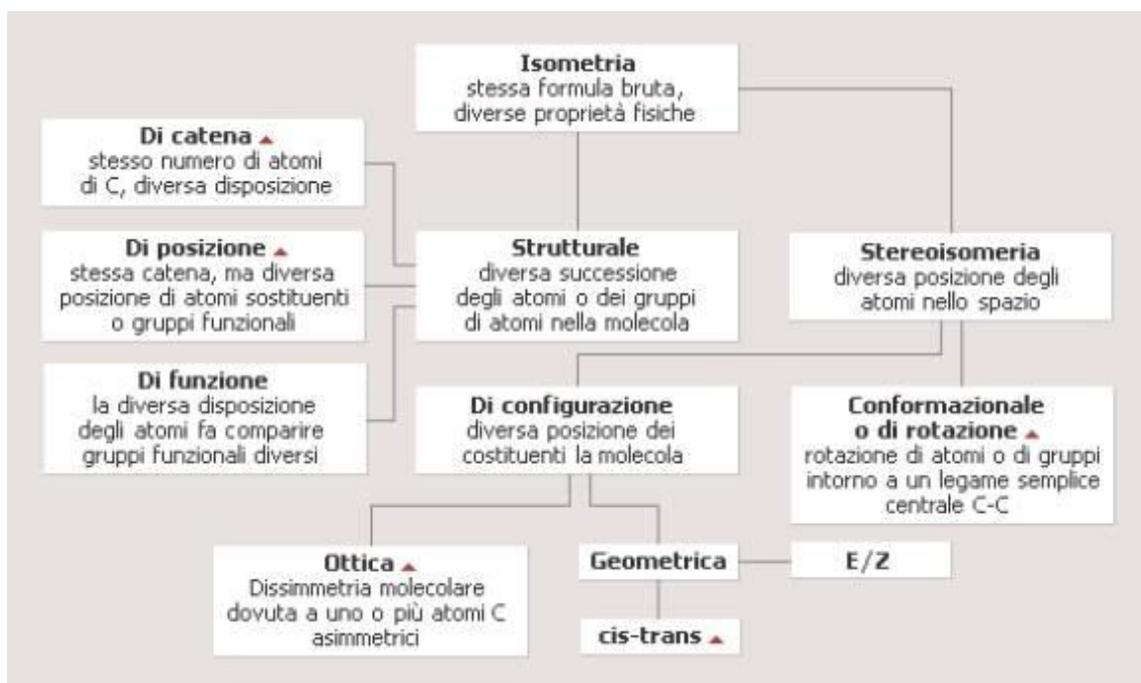


Figura 1.2: vari casi di isomeria.

All'interno del polimero ogni monomero si lega a formare lunghe catene. Anche la struttura in cui si organizzano le catene influenza le proprietà del polimero. Possiamo avere tre tipi di struttura (Figura 1.3):

- Lineare: le catene sono organizzate in lunghe strutture filiformi, ognuna indipendente dalle altre, che vengono tenute insieme da legami deboli come forze di Van der Waals, legami ad idrogeno, interazioni dipolo-dipolo.
- Ramificata: le catene presentano una struttura filiforme principale, da cui si dipartono catene laterali più o meno lunghe. Anche in questo caso le singole catene ramificate vengono tenute insieme da legami deboli.
- Reticolata: ogni catena è legata alle altre da catene laterali e quindi da legami forti. Si crea una struttura a rete.

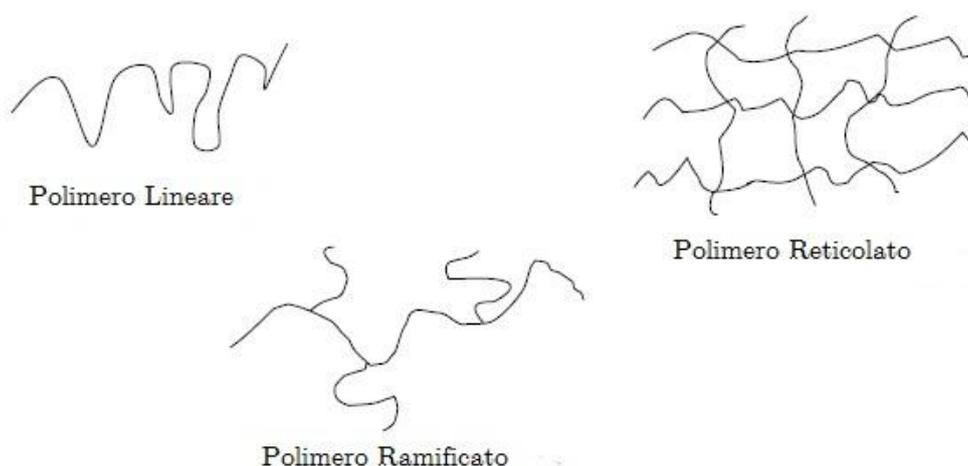


Figura 1.3: tipi di strutture dei polimeri.

Per via dei legami che tengono insieme le catene, i polimeri con struttura lineare e ramificata risultano meno rigidi di quelli a struttura reticolata ed hanno un comportamento viscoelastico, in quanto i legami deboli permettono alle catene di scivolare le une sulle altre. Ciò non accade con i polimeri a struttura reticolata, che presentano anche una maggiore resistenza alle sollecitazioni.

1.2.3 Cristallinità

Un materiale si trova allo stato solido in fase cristallina quando le sue unità costituenti sono disposte in maniera ordinata secondo un motivo che si ripete nello spazio. Si può così identificare una porzione di struttura, detta cella elementare, che contiene tutte le operazioni di simmetria del cristallo e che, traslata nelle tre direzioni dello spazio, riproduce il reticolo cristallino.

Nessun polimero è completamente cristallino (Figura 1.4): in generale si distinguono zone amorphe e zone cristalline. Vari fattori regolano la possibilità di formare cristalli: innanzitutto più è regolare la catena, più è facile che le macromolecole si allineino nello spazio, se le catene sono lineari, è possibile un ordinamento più compatto e quindi gradi di cristallinità maggiori (la presenza di legami trasversali riduce questa possibilità), infine la possibilità da parte di alcuni gruppi funzionali di formare legami tra catene mediante forze a corto raggio permette alle catene di attrarsi reciprocamente se esse si trovano nella forma distesa, dando luogo a porzioni di spazio con strutture regolari.

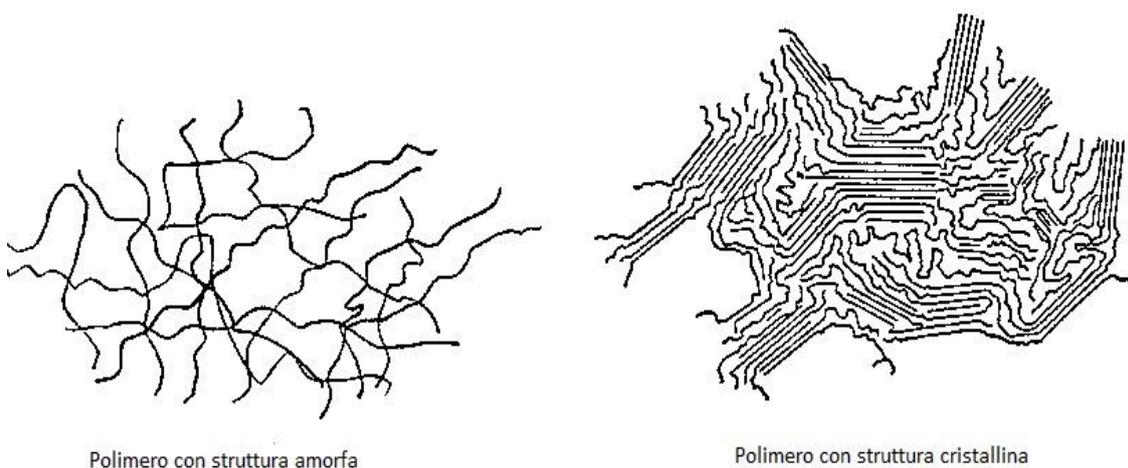


Figura 1.4: cristallinità nei polimeri.

Alcuni esempi sono i legami ad idrogeno che si instaurano tra i gruppi ammidici polari delle catene di nylon e poliuretani o attrazioni dipolo-dipolo da parte dei gruppi polari carbonilico e nitrilico in alcuni poliesteri. I processi di lavorazione effettuati sul polimero possono influire sul grado di cristallinità finale: una lavorazione che allinei le catene meccanicamente, come l'estrusione, o anche la laminazione se realizzata sotto condizioni opportune, possono aumentare la cristallinità. Un maggior impacchettamento delle macromolecole porta numerosi vantaggi: aumento di densità e rigidità, minor attrito, miglior resistenza all'usura, maggiore durezza e resistenza all'aggressione ambientale, riduzione dei fenomeni viscoelastici quali creep.

12.4 Proprietà Termomeccaniche

I polimeri possono distinguersi in due gruppi in base alle loro proprietà termomeccaniche:

- I polimeri termoplastici sono polimeri formati da catene lineari o poco ramificate, che reagiscono ad un aumento della temperatura diminuendo la loro viscosità, permettendone il rimodellamento. Questo può avvenire per infiniti cicli in un certo intervallo di temperature senza che il polimero degradi e perda le sue proprietà.
- I polimeri termoindurenti sono polimeri in genere reticolati, che una volta prodotti non possono essere fusi senza incorrere in degradazione chimica. Piccoli aumenti di temperatura rendono in genere il materiale più duro in quanto aumenta la possibilità che si formino legami tra le catene, che irrigidiscono la struttura. Per questo non sono né modellabili né solubili nei solventi organici.

I termoindurenti presentano generalmente migliori caratteristiche meccaniche rispetto ai termoplastici, a causa del cross-linking

tridimensionale, e resistono meglio ad elevate temperature (sotto il punto di fusione). Presentano inoltre temperature di transizione vetrosa più alte.

Per ogni polimero sono definite alcune temperature caratteristiche in base alle quali cambiano i comportamenti delle varie sostanze:

- T_L : temperatura limite di stabilità chimica, ovvero la massima temperatura oltre la quale il polimero perde la sua struttura ed ogni tipo di caratteristica meccanica
- T_m : temperatura di fusione, ovvero il limite oltre il quale il polimero si trova allo stato fuso. E' una caratteristica solo dei polimeri che presentano fase cristallina
- T_r : temperatura di rammollimento, rappresenta l'analogo della T_m per i materiali amorfi
- T_g : temperatura di transizione vetrosa. Rappresenta il passaggio del polimero da uno stato vetroso ad uno stato gommoso. Al di sotto di questa vengono congelati i movimenti delle catene, portando alla formazione di una fase amorfa tipica dei vetri. Al di sopra lo stato diventa gommoso, come un liquido ad elevatissima viscosità. L'esistenza di forti legami intermolecolari provoca un aumento della T_g , così come la presenza di zone cristalline.

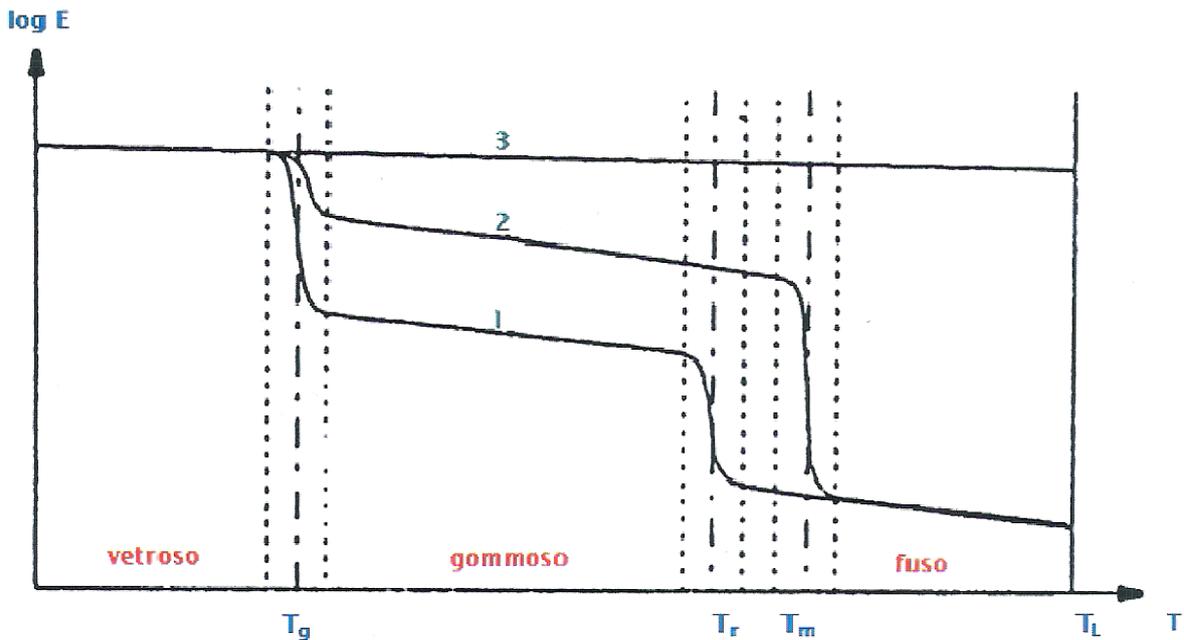


Figura 1.5: andamento del modulo elastico E al variare della temperatura per tre diverse strutture polimeriche: amorfa (1), semicristallina (2), reticolata (3).

Come si può notare dalla Figura 1.5, in un polimero a struttura reticolata risulta difficile individuare valori esatti per la T_g e la T_m , dato che le proprietà meccaniche rimangono costanti (in realtà c'è una leggera diminuzione) all'interno del range di stabilità, oltre al quale E va a zero. Un polimero semicristallino mantiene E costante fino alla T_g , oltre la quale subisce una leggera caduta, dovuta alla rottura dei legami della fase amorfa (la fase cristallina rimane intatta). Aumentando la temperatura si entra nello stato gommoso, dove il polimero presenta un comportamento duttile ed elastico. Oltre la temperatura di fusione il polimero diventa liquido e si ha una brusca caduta del modulo elastico, dovuta alla rottura dei legami della fase cristallina. Un polimero amorfo presenta invece E costante fino alla T_g , oltre la quale si ha un brusco calo (non c'è fase cristallina) e si entra nella fase gommosa. Quando si giunge alla temperatura di rammollimento

si presenta un'altra brusca diminuzione del modulo elastico e il polimero può considerarsi liquido.

1.2.5 Massa e peso molecolare

La maggior parte dei sistemi polimerici non sono uniformi per quanto riguarda massa, forma e dimensione. Solo alcune sostanze di origine naturale, per esempio le proteine globulari, presentano caratteristiche di uniformità. Da ciò deriva la necessità di affrontare il problema delle masse molecolari in termini statistici, definendo dei valori medi e individuando le funzioni che ne descrivono la distribuzione.

Il peso molecolare dei polimeri determina il valore di molte proprietà fisiche, come le temperature di fusione e di transizione vetrosa e le proprietà meccaniche come rigidità, resistenza, viscoelasticità, tenacità, e viscosità. Per esempio, se il peso molecolare è troppo basso, le temperature di transizione sono generalmente basse e le proprietà meccaniche scarse per permettere al materiale polimerico di avere qualche applicazione commerciale.

Consideriamo per esempio la resistenza alla trazione (Figura 1.6). A bassi pesi molecolari questo assume valori troppo bassi per rendere il polimero utile in un qualche utilizzo. Aumentando il peso molecolare, la resistenza aumenta raggiungendo eventualmente una saturazione al livello di peso molecolare infinito. La relazione tra modulo elastico e peso molecolare può essere approssimata dalla relazione: E_{∞}

$$E = E(\infty) - \frac{A}{M}$$

dove A è una costante e M il peso molecolare. Molte altre proprietà hanno un simile andamento, ovvero a basso peso molecolare corrisponde un basso valore in uscita, e saturano per pesi molto alti.

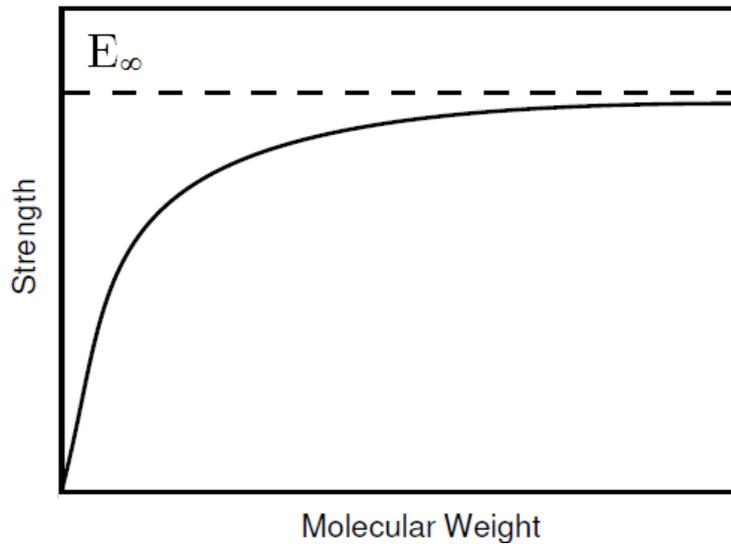


Figura 1.6: andamento della resistenza a trazione al variare del peso molecolare.

A differenza delle piccole molecole il peso molecolare di un polimero non è un valore univoco. Non possiamo quindi parlare di peso molecolare, ma di distribuzione di peso molecolare, $P(M)$, o di peso molecolare medio, $\langle M \rangle$. Le proprietà fisiche del polimero saranno dunque funzione della distribuzione.

Il peso molecolare medio segue la formula convenzionale per il valor medio di una qualunque distribuzione statistica, tenendo a mente che esso può assumere solo valori discreti. Se N_i è il polimero con peso molecolare M_i , allora il peso totale del polimero sarà:

$$Peso\ Totale = \sum_{i=1}^{\infty} N_i M_i$$

e il numero totale di molecole del polimero

$$Totale = \sum_{i=1}^{\infty} N_i$$

definendo la frazione molecolare della specie i -esima

$$n_i = \frac{N_i}{\sum_{i=1}^{\infty} N_i}$$

Il peso molecolare medio può essere riscritto nel seguente modulo

$$Mn = \sum_{i=1}^{\infty} niMi$$

e il grado di polimerizzazione medio numerico

$$Xn = \sum_{i=1}^{\infty} niXi$$

dove X_i è la frazione molare.

Sia il peso molecolare sia il grado di polimerizzazione sono proprietà discrete, che variano solo per multipli del peso dell'unità strutturale. Per facilitare i calcoli, dato l'ampio intervallo di variabilità, si può assumere le due funzioni come continue

$$Mn = \int_0^{\infty} Mn(M)dM$$

considerando come peso statistico la frazione ponderale w_i , definita come rapporto tra il peso delle molecole con peso molecolare M_i ed il peso di tutto il campione

$$Xn = \int_0^{\infty} Xn(X)dX$$

Si ottiene un ulteriore modo per esprimere il peso molecolare, in termini di frazione ponderale.

Generalmente $M_w > M_n$. Il rapporto M_w/M_n viene chiamato indice del grado di dispersione o indice di polidispersità ed è un indice della larghezza della distribuzione dei pesi molecolari.

$$D = M_w/M_n$$

Il valore di 1 è difficilmente raggiungibile nella pratica per i polimeri sintetici (si arriva ad un massimo di 1.1). Generalmente la dispersione si assesta su valori medi di 1,5-2,5.

1.2.6 Meccanismi di Polimerizzazione

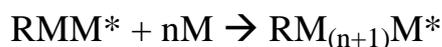
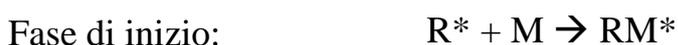
La polimerizzazione rappresenta il meccanismo di formazione dei polimeri. Esistono due meccanismi di formazione, la polimerizzazione per poliaddizione e per policondensazione. La distinzione tra i due metodi si basa sul tipo di crescita della catena polimerica.

1.2.6.1 Poliaddizione

Il meccanismo completo di polimerizzazione procede in tre stadi distinti:

- a) inizio: creazione del centro attivo che agisce come propagatore della catena
- b) propagazione: crescita della catena con un meccanismo cinetico caratterizzato da una lunga sequenza di eventi identici
- c) terminazione: interruzione della crescita della catena per neutralizzazione o trasferimento del centro attivo (o sito reattivo).

Lo schema delle tre fasi è il seguente



La fase di inizio coincide con l'attivazione del monomero da parte del catalizzatore. La reazione procede per interazione dell'elettrone spaiato con l'elettrone del legame π di un altro monomero. Si forma così un polimero lineare. La catena aumenta di lunghezza per continua addizione di

monomeri. Questa reazione avviene spontaneamente perché l'energia del sistema chimico si abbassa (somma delle energie dei prodotti < somma delle energie dei monomeri), con rilascio di calore.

La terminazione della catena in crescita può avvenire in diversi modi:

- a) interazione di una catena attiva con un radicale iniziatore,
- b) trasferimento del centro attivo a un'altra molecola, per esempio solvente, iniziatore, monomero
- c) interazione con impurezze
- d) interazione di due catene attive. Quest'ultimo meccanismo è il più importante e si distingue in accoppiamento: due catene si combinano a formare una lunga catena, disproporzionamento: dà luogo a due catene polimeriche inattive.

A sua volta la poliaddizione può differenziarsi a seconda che il catalizzatore, necessario per l'avvenimento dell'intero processo, sia un radicale o uno ione. Un radicale libero è una specie atomica o molecolare in cui è stato modificato il normale sistema di legami in modo che alla nuova struttura rimanga associato un elettrone spaiato. I radicali liberi possono formarsi attraverso decomposizione termica, esposizione a luce ultravioletta, esposizione a radiazione ionizzante, decomposizione omolitica.

1.2.6.2 Policondensazione

La policondensazione è una polimerizzazione a stadi con produzione di prodotti secondari di reazione come acqua, metanolo, cloruro di sodio, idracidi, ecc. Nella polimerizzazione a stadi si assume che la reattività dei gruppi terminali di un monomero e di un polimero di qualsiasi dimensione sia circa la stessa, perciò le unità monomeriche possono reagire sia tra loro

sia con polimeri in formazione. Tipici policondensati sono i poliesteri, poliammidi, poliuretani e polisilossani. La policondensazione ha una velocità di reazione più lenta rispetto alla poliaddizione, e i prodotti hanno un peso molecolare mediamente più basso, ma coinvolge tutta la massa delle sostanze reagenti: infatti, tutte le molecole presenti possono reagire contemporaneamente e quindi i monomeri si esauriscono fin dalle prime fasi della reazione.

1.2.7 Polimeri come Biomateriali

I principali vantaggi che i polimeri presentano rispetto alle altre classi di materiali sono una maggiore biocompatibilità, la possibilità di modificarne ampiamente composizione e proprietà fisico-meccaniche, bassi coefficienti di attrito, facile processabilità e lavorabilità anche in forme e strutture complesse, possibilità di modificarne chimicamente e/o fisicamente la superficie, possibilità di immobilizzare cellule o biomolecole al loro intorno o sulla superficie. Gli svantaggi principali sono la presenza di sostanze che possono essere rilasciate nell'organismo (monomeri, catalizzatori, additivi, ecc.), la facilità di assorbimento di acqua e biomolecole dall'ambiente circostante (anche nelle applicazioni in cui non è richiesto), le basse proprietà meccaniche e, in alcuni casi, la difficoltà di sterilizzazione.

I polimeri costituiscono circa il 45% dei biomateriali (Figura 1.1) e risultano quindi i più impiegati nei dispositivi medici.

I campi in cui i biopolimeri trovano maggiore applicazione sono:

- Ortopedia: le protesi articolari (ginocchio, anca, etc.), il cemento osseo, la sostituzione di legamenti, la fissazione interna ed esterna.

- Odontostomatologia: i cementi, le amalgame, i materiali da impronta, i materiali ortodontici, gli impianti ossei.
- Chirurgia cardiovascolare: le valvole cardiache, le protesi vascolari di grande e medio calibro, stimolatori cardiaci (*pacemakers*, *stents*).
- Chirurgia plastica: gli espansori cutanei.
- Oculistica: le lenti a contatto, i cristallini artificiali, il silicone nel trattamento dei distacchi di retina, gli impianti corneali e le cornee artificiali, le lenti intraoculari.
- Chirurgia generale (suture e cateteri), neurochirurgia, controllo del concepimento, dispensazione di farmaci, adesivi e sigillanti (tessutali), impianti cocleari, pelle artificiale.

Di seguito sono riportate le principali categorie di polimeri in ambito biomedico:

Poliesteri: i poliesteri sono polimeri contenenti il gruppo funzionale estereo sulla catena carboniosa. Quelli usati maggiormente per applicazioni biomediche sono i termoplastici lineari aromatici o alifatici (la cui trattazione avverrà più approfonditamente in seguito). Esempi dei più famosi poliesteri sono il polietilentereftalato (PET) (Figura 1.7), l'acido polilattico (PLA) e l'acido poliglicolico (PGA).

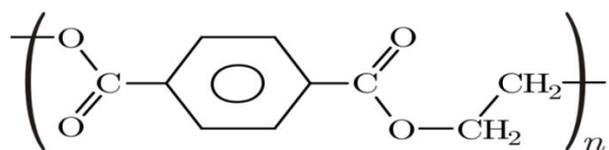


Figura 1.7: struttura del PET.

Poliammidi: polimeri caratterizzati dal gruppo amminico. Le più utilizzate sono il nylon, in versione sia aromatica che alifatica, e il kevlar (Figura 1.8).

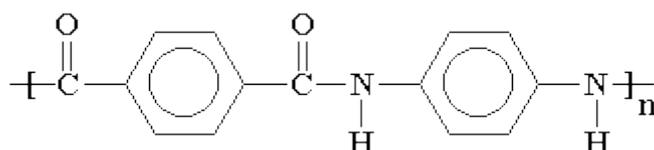


Figura 1.8: struttura del kevlar.

Poliesteri e poliammidi sono considerati abbastanza biocompatibili e biodegradabili, rendendoli utilizzabili come fili da sutura.

Polietilene: è il polimero formato dal monomero con struttura più semplice (C_2H_4) (Figura 1.9). Viene prodotto in differenti tipi, conosciuti come *low-density* (LDPE), *linear low-density* (LLDPE) e *high-density* (HDPE). Negli ultimi tempi è comparso anche sulla scena l'*ultra high molecular weight polyethylene* (UHMWPE), utilizzato come piatto tibiale e protesi di rotula. Nel campo biomedicale il polietilene è utilizzato principalmente per la fabbricazione di pellicoli, contenitori e tubi.

Possiede ottime proprietà antiattrito, alta resistenza alle forze impulsive e alla fatica meccanica e poca usura.

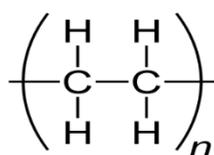


Figura 1.9: struttura del polietilene.

Polisilossani: polimeri a basi di silicio (Figura 1.10), comprendono materiali quali elastomeri, gel, fluidi, lubrificanti, antischiumanti, adesivi, etc. La loro principale caratteristica è la stabilità, in quanto difficilmente reagiscono con altre sostanze, per cui vengono utilizzati per la

fabbricazione di cateteri e tubi per condurre fluidi biologici all'interno dell'organismo. Sono utilizzati anche in chirurgia plastica come riempitivi per ricostruire tessuti mancanti.

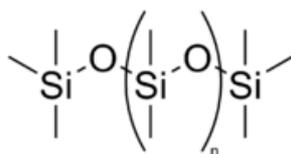


Figura 1.10: struttura dei polislossani.

Politetrafluoretilene: il PTFE (Figura 1.11) è altamente cristallino, con peso molecolare molto elevato (circa 10^6), molto stabile ed inerte chimicamente, con temperatura di fusione di 327 °C. La struttura monomerica è la stessa del polietilene, con gli atomi di idrogeno sostituiti da fluori. Possiede eccellenti caratteristiche anti attrito, ma modeste proprietà meccaniche, in particolare basso limite elastico. Di solito viene utilizzato assieme a dei riempitivi per formare un composito. L'applicazione più usata è quella per fabbricare il Gore-Tex, un particolare tessuto impiegato per la realizzazione di protesi vascolari.

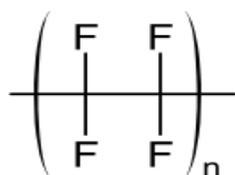


Figura 1.11: Struttura del PTFE

Poliuretani: polimeri chimicamente molto complessi per il fatto che il gruppo uretano può appartenere ad una grande varietà di strutture polimeriche (Figura 1.12) che mostrano interessanti proprietà, molto diverse tra loro. Sono in genere copolimeri a blocchi in cui una fase è più

rigida dell'altra, e il rapporto in peso tra le due determina le caratteristiche meccaniche finali del polimero. Hanno ottime proprietà di emocompatibilità e trovano il loro utilizzo in campo vascolare nella realizzazione di camere di pompaggio dei cuori artificiali e dei ventricoli di assistenza per la circolazione assistita e protesi vascolari. Altre applicazioni riguardano la realizzazione di guanti chirurgici e i rivestimenti delle protesi di arto superiore.

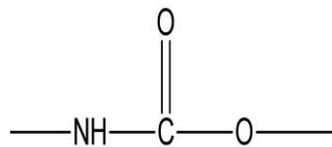


Figura 1.12: struttura dei poliuretani.

Polimetilmetacrilato: il PMMA (Figura 1.13) è noto per le sue proprietà di trasparenza alla luce visibile e all'ottima biocompatibilità. Ha buone caratteristiche meccaniche e presenta un comportamento rigido a temperatura ambiente. È impiegato nella fabbricazione di contenitori e componenti attivi quali filtri, ossigenatori e pompe. Una particolare applicazione è quella del cemento per ossa nelle protesi articolari.

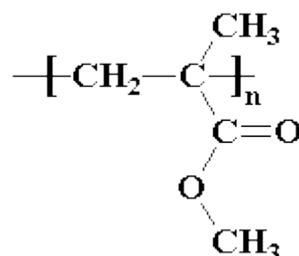


Figura 1.13: struttura del PMMA.

1.3 Copolimeri

1.3.1 Generalità

I copolimeri sono macromolecole che contengono due o più unità monomeriche strutturalmente distinte. Questa definizione, valida per copolimeri da poliaddizione, non si applica ai polimeri ottenibili con processi di policondensazione, o crescita a stadi, che coinvolgono necessariamente due unità monomeriche.

I copolimeri sono una classe di composti molto importante poiché l'inserimento di un secondo monomero nella catena principale di un polimero, consente di modulare molte proprietà di grande valore applicativo, anche con modeste quantità del secondo componente. La disposizione del secondo monomero rispetto al primo, la sua concentrazione relativa, l'influenza del secondo monomero sul processo di sintesi e sulla struttura finale della macromolecola, sono aspetti che hanno implicazioni a livello di meccanismo di reazione, assetto delle catene nello stato solido e quindi influiscono significativamente sulle proprietà fisiche e chimiche del copolimero.

La descrizione completa della struttura di un copolimero richiede la determinazione di diversi parametri e la possibilità di poterli calcolare sulla base di modelli cinetici o statistici che consentono di descrivere i processi di concatenamento delle unità monomeriche e la loro distribuzione nelle catene.

Occorre conoscere:

- 1) La composizione, cioè il quantitativo relativo del monomero A e B, e la distribuzione delle composizioni.

- 2) La tipologia delle unità ripetitive derivanti da A e B nella catena, rispetto alle caratteristiche intrinseche del monomero (testa-coda o viceversa, possibili strutture isometriche nei monomeri polifunzionali, eventuali riarrangiamenti).
- 3) L'ordine di incorporazione di A relativamente a B, che comporta la formazione di sequenze monomeriche di diversa lunghezza e la loro distribuzione.
- 4) La dimensione delle catene (pesi molecolari) e la loro distribuzione.
- 5) La misura diretta delle costanti di velocità di propagazione e di terminazione da cui sono derivabili le grandezze di cui al punto precedente.
- 6) La presenza di ramificazioni, ciclizzazioni o reticolazioni, risultanti da processi non controllati.

1.3.2 Classificazione

I copolimeri sono classificabili in 4 grandi gruppi:

- 1) **Copolimeri statistici o random**, aventi una distribuzione casuale dei monomeri secondo le leggi della distribuzione statistica di Markov del 1° ordine.



- 2) **Copolimeri a blocchi**, in cui esistono lunghe sequenze lineari di un monomero o di entrambi.



Poiché la reattività dei due monomeri durante il processo di copolimerizzazione è diversa, ne risulta che la composizione del copolimero è continuamente differente da quella del mezzo di reazione e, di conseguenza, quest'ultima cambia continuamente nel tempo.

Pertanto la composizione di un copolimero, che può essere definita in corrispondenza ad una certa miscela di alimentazione, è una composizione istantanea, risultante dopo una conversione infinitesima di monomeri.

Come nel caso degli omopolimeri, la fusione della componente cristallina e la transizione vetrosa della fase amorfa, che si manifestano rispettivamente alle temperature T_m e T_g , sono transizioni termiche fondamentali anche nei copolimeri. Questi ultimi possono, inoltre, mostrare più di una singola fase amorfa e cristallina, e di conseguenza è possibile individuare più processi di fusione o di transizione vetrosa. La transizione vetrosa dei copolimeri statistici nella maggioranza dei casi varia in maniera monotona con la composizione. Inoltre, quando una o entrambe le unità monomeriche possono cristallizzare, tali copolimeri esibiscono un comportamento di cristallizzazione molto complesso.

La transizione vetrosa che caratterizza la fase amorfa si manifesta ad una temperatura T_g intermedia rispetto a quelle caratteristiche dei due omopolimeri, T_{gA} e T_{gB} . Sono state proposte varie equazioni che descrivono l'andamento di T_g al variare della composizione del copolimero, tra le quali si può citare la classica equazione di Fox:

$$\frac{1}{T_g} = \frac{W_A}{T_{gA}} + \frac{W_B}{T_{gB}}$$

dove W_A e W_B sono le frazioni in peso rispettivamente dei monomeri A e B , e la più recente equazione proposta da Couchman per miscele polimeriche, utilizzata anche nel caso di copolimeri statistici con comportamenti di T_g regolari

$$\ln(T_g) = \frac{\ln(T_{gA}) + \left(k \cdot \frac{W_B}{W_A}\right) \ln(T_{gB})}{1 + k \left(\frac{W_B}{W_A}\right)}$$

dove k corrisponde al rapporto tra gli incrementi di calore specifico alla T_g degli omopolimeri.

Entrambe le equazioni prevedono una variazione monotona crescente di T_g in funzione della composizione, ma non sempre descrivono in maniera soddisfacente l'andamento sperimentale. Alcuni copolimeri mostrano un massimo o un minimo di T_g a composizioni intermedie: ad esempio, i copolimeri vinilidencloruro-etilacrilato hanno T_g superiori a quelle dei rispettivi omopolimeri a tutte le composizioni, con un massimo attorno alla composizione equimolare. Se si assume che la sequenza delle unità monomeriche influenzi la T_g del copolimero, ossia che siano le diadi AA, BB, AB (o BA) a determinare il valore della temperatura di transizione vetrosa, si può modificare l'equazione di Fox nel seguente modo:

$$\frac{1}{T_g} = W_{AA}/T_{gAA} + \frac{W_{BB}}{T_{gBB}} + \frac{W_{AB}}{T_{gAB}}$$

dove T_{gAB} è la T_g del copolimero ad unità A e B alternate, T_{gAA} e T_{gBB} sono le T_g degli omopolimeri e W_{AA} , W_{AB} e W_{BB} sono le frazioni in peso delle diverse diadi. Utilizzando T_{gAB} come parametro "aggiustabile", l'equazione descrive abbastanza bene l'andamento sperimentale delle transizioni vetrose al variare della composizione.

Johnston ha proposto equazioni analoghe, estendibili anche al caso in cui anziché le diadi si considerano le triadi: utilizzando il valore sperimentale di T_{gAB} per il copolimero alternato, ha ottenuto un buon accordo tra i risultati sperimentali e le previsioni. Anche Couchman ha modificato

l'equazione considerando il copolimero statistico come una miscela a tre componenti, costituiti dalle diadi, ottenendo un buon accordo tra l'equazione modificata e i dati sperimentali.

Per ciò che concerne la fase cristallina dei copolimeri, occorre precisare che se nella catena di un omopolimero (A) cristallizzabile vengono introdotte unità chimicamente o strutturalmente diverse (B) è prevedibile che la capacità di cristallizzazione del polimero A venga modificata. In generale, le unità B possono:

- 1) venire totalmente escluse dal reticolo cristallino.
- 2) entrare nel reticolo cristallino in condizioni di equilibrio.
- 3) entrare nel reticolo cristallino sotto forma di difetto, ossia in condizioni di non-equilibrio.

Nel caso di comonomeri esclusi dal reticolo cristallino, entrambe le fasi cristalline risultano pure.

Dalla trattazione dell'abbassamento del punto di fusione di polimeri cristallizzabili ad opera di diluenti, Flory ha proposto una teoria per la fusione all'equilibrio. Per i copolimeri statistici la temperatura di fusione T_m è data da:

$$\frac{1}{T_m} - \frac{1}{T_m^\circ} = - \left(\frac{R}{\Delta H_u} \right) \ln(X_A)$$

dove T_m° è la temperatura di fusione di equilibrio dell'omopolimero cristallizzabile (A), ΔH_u è l'entalpia di fusione per unità ripetitiva di A nel cristallo perfetto e X_A è la frazione molare di A nel copolimero.

L'equazione prevede che la temperatura di fusione del copolimero a distribuzione statistica dipenda dalla composizione, ma non dalla natura del comonomero B, quando questo sia effettivamente escluso dal reticolo cristallino. In numerosi casi riportando $1/T_m$ in funzione di $-\ln X_A$ si

ottiene un andamento lineare, come previsto dall'equazione, ma il valore di ΔH_u che si ottiene dalla pendenza è molto minore di quello ricavato con altri metodi. Questo è dovuto al fatto che la temperatura di fusione "reale" del copolimero statistico è relativa alla scomparsa di sequenze di A molto più brevi di quanto richiesto dalla teoria di fusione all'equilibrio termodinamico. I copolimeri pertanto, anche se cristallizzati accuratamente, hanno T_m° sempre inferiori al valore previsto dalla teoria e tale differenza cresce all'aumentare del contenuto di co-unità B.

I copolimeri a distribuzione statistica possono, inoltre, mostrare co-cristallizzazione, cioè la sostituzione isomorfa delle unità comonomeriche, analogamente a quanto avviene nelle sostanze a basso peso molecolare. Se ciò avviene, i copolimeri assumono un elevato grado di cristallinità in tutto il campo di composizione, diversamente da quanto si osserva nel caso trattato precedentemente. Si possono distinguere due tipi di sostituzione isomorfa.

1) Quando gli omopolimeri dei due comonomeri hanno struttura cristallina molto simile, il copolimero mostra una fase cristallina i cui parametri cambiano gradualmente al variare della composizione, da quelli caratteristici di un omopolimero a quelli dell'altro.

2) Se i due omopolimeri hanno struttura cristallina differente, una delle unità monomeriche risulta inclusa in una struttura cristallina diversa da quella del proprio omopolimero: si parla di "isodimorfismo". Esiste una composizione precisa alla quale il copolimero passa da una struttura cristallina all'altra. A causa delle unità estranee ospitate, i parametri del reticolo cristallino variano rispetto a quelli dell'omopolimero corrispondente.

È evidente che in entrambi i casi l'andamento della temperatura di fusione con la composizione si discosterà da quello previsto per copolimeri in cui la fase cristallina rimane pura, cioè inaccessibile alle unità del secondo

monomero. Recentemente Wendling e Suter hanno proposto un nuovo modello che combina insieme quello di esclusione di Baur e quello di inclusione del comonomero nella fase cristallina del componente cristallizzabile di Sanchez-Eby.

L'equazione è:

$$\frac{1}{T_m(X_B)} - \frac{1}{T_m^0} = \frac{R}{\Delta H_m^0} \left[\frac{\varepsilon X_{CB}}{RT} + (1 - X_{CB}) \ln \frac{1 - X_{CB}}{1 - X_B} + X_{CB} \ln \frac{X_{CB}}{X_B} + \langle \tilde{\xi} \rangle^{-1} \right]$$

$$\langle \tilde{\xi} \rangle^{-1} = 2(X_B - X_B e^{-\varepsilon/RT}) (1 - X_B + X_B e^{-\varepsilon/RT})$$

dove T_m^0 e ΔH_m^0 rappresentano la temperatura di fusione di equilibrio e il calore di fusione dell'omopolimero cristallizzabile (A), X_B è la frazione molare di B nel copolimero, X_{CB} quella del comonomero B nel cocristallo, ε l'energia libera media di Gibbs di difetto e ξ la lunghezza media delle sequenze cristallizzabili.

La concentrazione del comonomero B nel cristallo formato dalle unità A è data da:

$$X_{CB}^{eq} = \frac{X_B e^{-\varepsilon/RT}}{1 - X_B + X_B e^{-\varepsilon/RT}}$$

Semplificabile se si sostituisce X_{CB} nell'equazione precedente:

$$\frac{1}{T_m^0} - \frac{1}{T_m(X_B)} = \frac{R}{\Delta H_m^0} \left[\ln(1 - X_B + X_B e^{-\varepsilon/RT}) - \langle \tilde{\xi} \rangle^{-1} \right]$$

quando $X_{CB}=X_B$ ricadiamo nel modello di inclusione, mentre quando $X_{CB}=0$ ($\varepsilon \rightarrow 0$) in quello della totale esclusione (modello di Baur).

La classe di copolimeri statistici è costituita da una vasta gamma di materiali macromolecolari, alcuni noti da lungo tempo.

Un primo gruppo di copolimeri ha carattere elastomerico per l'elevata flessibilità delle catene che possono essere reticolate, o vulcanizzate, in quanto dispongono di siti reattivi: copolimeri stirenebutadiene (SBR), acrilonitrile-butadiene (NBR), acrilici, (AR), isobutene-isoprene (IIR), isobutenestirene (IS), etilene-propilene (EPR), terpolimeri insaturi a base di etilene e propilene (EPDM), tetrafluoroetilene (TFE), esafluoropropilene (EFP).

Un secondo gruppo di copolimeri fornisce materiali a prevalente carattere termoplastico, più o meno rigidi, in funzione del tenore di secondo monomero che riduce la regolarità, ossia la cristallinità, della catena principale.

Con la tecnologia ad alta pressione dell'LDPE, *low density poly(ethylene)*, sono prodotti i copolimeri etilene-vinilacetato (EVA), etilene-acido metacrilico (EMA), etilene-acido acrilico (EAA), etilene-esteri acrilici (EEA).

Di grande interesse tecnologico è l'LLDPE, *linear low density poly(ethylene)*, termine con cui si descrivono vari tipi di copolimeri dell'etilene con olefine superiori, quali l'1-butene, l'1-esene, l'1-ottene. Tecnologie sofisticate, operanti in fase gas, in condizioni ipercritiche, oppure in soluzione o in sospensione, si avvalgono di catalizzatori di coordinazione ad altissima attività, che consentono di escludere l'intera sezione di purificazione del polimero.

In soluzione, o in soluzione-sospensione, sono prodotti i copolimeri iniziati da meccanismi ionici o di coordinazione, quali: EPR, EPDM, ossido di etilene-ossido di propilene (EO-PO), formaldeideossido di etilene (FM-EO). Solo in soluzione sono prodotti quei polimeri che vengono sottoposti a processi di filatura (ACN-VDC, ACN-MAC, ACN-VAC) o che subiscono processi di postmodificazione, ad esempio l'idrogenazione.

I processi radicalici sono realizzabili con tecnologie diverse: i copolimeri del cloruro di vinile con vinilacetato (VA-VAC) sono ottenibili in soluzione, sospensione o in emulsione; un'analogia situazione si ha anche nel caso di polimeri TFE-VDF, o di altre fluoroolefine o clorofluoroolefine. L'analogia prosegue se si considerando i copolimeri dello stirene, ad esempio con l'acrilonitrile, SAN: essi si possono ottenere in sospensione o in emulsione.

1.4 Poliesteri Alifatici

1.4.1 Generalità

I poliesteri sono una famiglia di polimeri che contengono il gruppo funzionale estereo lungo la catena principale. La loro comparsa nella storia come prodotti commerciali avviene dopo la prima guerra mondiale come materiali da rivestimento, oggi si sono imposti come i più usati nell'ambito biomedicale nella realizzazione di dispositivi soprattutto per le loro proprietà di biodegradabilità.

I poliesteri si dividono in due grandi gruppi: aromatici e alifatici. I primi sono caratterizzati dall'anello aromatico all'interno della struttura, e i più diffusi sono quelli derivati dall'acido tereftalico. I poliesteri alifatici (Figura 1.14) si differenziano per l'assenza di strutture aromatiche e per la caratteristica di biodegradabilità che li ha resi protagonisti in medicina e non solo.

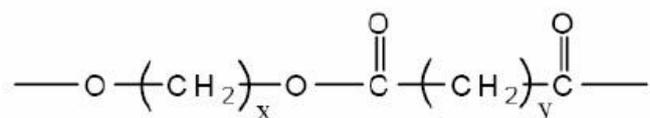


Figura 1.14: struttura generale di un poliestere alifatico.

1.4.2 Sintesi

I poliesteri vengono sintetizzati tramite policondensazione a partire da dioli, diacidi o idracidi. Date la difficoltà a raggiungere un alto peso molecolare, e la necessità di dover rimuovere costantemente i prodotti di scarto, nonché l'elevata durata di tutto il processo di condensazione, si preferisce il meccanismo di ring-opening: in questo caso si parte da lattoni, diesteri ciclici e acetali chetonici ciclici. In tutti i casi la metodologia consiste nello scindere i legami delle strutture ad anello per ottenere una molecola lineare con un gruppo estereo. La costruzione della macromolecola avviene sempre per policondensazione, ma grazie alla ROP si hanno reazioni più veloci con assenza di produzione di prodotti di scarto ed inoltre si può controllare il peso molecolare dei polimeri.

1.4.3 Proprietà fisiche

Le proprietà dei poliesteri alifatici dipendono da vari fattori, come la struttura, la presenza di gruppi polari, il peso molecolare, il grado di cristallinità, la presenza di ramificazioni e la composizione. Poliesteri alifatici con $x, y \geq 2$ sono caratterizzati da una consistente fase cristallina, con temperatura di fusione, compresa tra 40 e 130°C, una temperatura di transizione vetrosa, compresa tra -70 e -30°C e densità comprese tra 0.9 – 1.3 g/cm³.

Sono facilmente solubili in chetoni, ammidi, fenoli e idrocarburi clorurati, e poco solubili in tetraidrofurano, e ancor meno in alcoli. Questi polimeri presentano un'eccellente stabilità termica fin sopra 200-250 °C, ma a temperature superiori possono intervenire diversi processi degradativi che portano alla formazione di terminali vinilici.

La temperatura di fusione aumenta sensibilmente all'aumentare del rapporto tra il numero di gruppi metilenici e carbossilato in catena, anche se resta piuttosto bassa. Questa è una grossa limitazione che impedisce la diffusione di questi polimeri, i quali costituirebbero, grazie alle loro proprietà, ottimi materiali per la realizzazione di fibre.

Le proprietà dei poliesteri alifatici possono essere modulate attraverso blending, copolimerizzazione oppure attraverso un cambiamento dell'architettura macromolecolare.

1.4.4 Degradazione

La biodegradabilità dei poliesteri dipende principalmente, come per tutti i polimeri, dalla struttura della catena principale. Il requisito necessario è la presenza di collegamenti idrolizzabili e/o ossidabili nella catena, per i poliesteri è soprattutto il legame estereo.

La velocità di degradazione, invece, dipende da vari fattori: tipologia di unità ripetitive, composizione, lunghezza della sequenza, geometria molecolare, peso molecolare, morfologia (es: cristallinità), idrofilicità, area superficiale, etc.

I poliesteri subiscono una degradazione idrolitica omogenea, che può avvenire entro un intervallo limitato da due casi limite: l'erosione di bulk e l'erosione superficiale. Da notare che con il termine erosione si intende la vera e propria perdita di materiale (per degradazione si intende la scissione dei legami).

L'erosione di bulk si verifica quando il polimero perde materiale dall'intero volume, quindi l'erosione avviene in maniera omogenea; è il caso di degradazione idrolitica. L'erosione superficiale invece si ha quando il polimero perde materiale solo dalla superficie, erodendosi in maniera non omogenea: ciò succede se la degradazione è mediata da catalizzatori proteici, che non riescono a penetrare all'interno della struttura.

Entrambe le modalità sono influenzate da fattori quali idrofilicità e cristallinità; l'erosione superficiale dipende anche dall'area esposta. La degradazione può essere monitorata misurando le variazioni di peso molecolare, il quale decresce con la scissione dei legami, oppure misurando la perdita di peso, che è dovuta alla perdita di materiale.

1.4.5 Poliesteri Alifatici per uso biomedicale

In seguito verranno elencati i principali poliesteri alifatici utilizzati in campo biomedicale.

1.4.5.1 Acido Poliglicolico (PGA)

L'acido poliglicolico è un polimero altamente cristallino (45-55% di cristallinità), con elevato modulo elastico e bassa solubilità. La temperatura di transizione vetrosa va dai 35 ai 40 °C e il punto di ebollizione supera i 200 °C. Questo polimero mostra eccellenti proprietà meccaniche dovute all'alta cristallinità, che lo rendono uno dei sistemi più rigidi usati in medicina. Il *PGA* soffre di degradazione di bulk, a causa della scissione dei legami esterei. Studi riportati in letteratura hanno dimostrato che il polimero perde le prestazioni meccaniche dopo 1 o 2 mesi se sottoposto a idrolisi e perde peso in 6 – 12 mesi. Nel corpo umano l'acido poliglicolico

viene frammentato in glicina, che viene secreta tramite urina o convertita in diossido di carbonio e acqua tramite il ciclo dell'acido citrico (Figura 1.15).

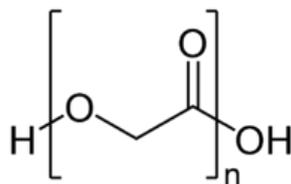


Figura 1.15: struttura chimica del PGA.

1.4.5.2 Acido Polilattico (PLA)

A differenza dei glicolidi, i lattidi sono molecole chirali ed esistono in due forme, L e D. Fermentato, l'acido lattico è per il 99,5% in forma L-isomero e per lo 0,5% in forma D-isomero. La polimerizzazione del lattide verso polimeri ricchi di L-isomero dà prodotti cristallini, mentre quelli che contengono più del 15% di D-isomero sono amorfi. Le proprietà variano a seconda dell'isomeria: nel caso del PLLA, il polimero è semicristallino con punto di fusione compreso tra 173-178 °C e una temperatura di transizione vetrosa di 60-65 °C, possiede un elevato modulo elastico ma una bassa deformazione a rottura; il PDLLA 50:50 invece, più diffuso, caratterizzato da una distribuzione random di unità L e D, è amorfo, con minor carico a rottura, elevata deformabilità e i tempi di degradazione più brevi (Figura 1.16).

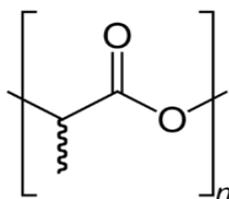


Figura 1.16: struttura chimica del PLA.

1.4.5.3 Poli(ϵ –caprolattone) (PCL)

E' un polimero semicristallino con una temperatura di fusione intorno ai 59-64 °C ed una temperatura di transizione vetrosa intorno ai -60 C°. Viene sintetizzato a partire dalla ROP dell' ϵ – *caprolattone* (Figura 1.17). Ha un'elevata biocompatibilità ed un tempo di degradazione intorno ai 2 anni, il che lo rende più utilizzabile sotto forma di copolimero.

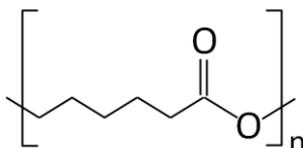


Figura 1.17: struttura chimica del PCL.

Tabella 1.18: strutture chimiche di altri poliesteri utilizzati in campo biomedicale.

POLIMERI	STRUTTURA
Acido poliglicolico (PGA)	$\left[\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO} \right]_n$
Acido polilattico (PLA)	$\left[\text{O}-\underset{\text{CH}_3}{\overset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{CO} \right]_n$
Poli(ϵ -caprolattone) (PCL)	$\left[\text{O}-(\text{CH}_2)_5-\text{CO} \right]_n$
Poli(para-diossanone) (PDS)	$\left[\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO} \right]_n$
Poli(3-idrossibutirrato) (PHB)	$\left[\text{O}-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{CO} \right]_n$
Poli(valerolattone) (PVL)	$\left[\text{O}-(\text{CH}_2)_4-\text{CO} \right]_n$
Poli(idrossivalerato) (PHV)	$\left[\text{O}-\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{CO} \right]_n$

1.5 Ingegneria tissutale

1.5.1 Introduzione

Durante il 1st *Tissue Engineering (TE) Symposium*, tenutosi nel 1988 in California, si assiste al primo tentativo ufficiale di definire l'ingegneria tissutale come "l'applicazione dei principi e dei metodi dell'ingegneria e delle scienze della vita per comprendere a fondo la relazione che esiste tra struttura e funzione nei tessuti viventi normali e patologici, per lo sviluppo di sostituti biologici che possano ripristinare, mantenere e migliorare la funzione tissutale" (Fox and Skalak, 1988). La necessità era quella di inquadrare una nuova tendenza della ricerca medica e coordinare i molti progressi già raggiunti nelle più distanti aree scientifiche, per trasferirne i frutti alla pratica clinica. Questa grande operazione che vide scienze come l'ingegneria, la chimica, la fisica, la biologia, le biotecnologie e la medicina confrontarsi ed impegnarsi in un approccio multidisciplinare all'ingegneria dei tessuti, forse è il punto che meglio segna il passaggio ad una nuova era di ricerca. La strategia nuova dell'ingegneria tissutale consisteva nell'avvalersi di cellule viventi (e/o loro prodotti) e di supporti innovativi, per sviluppare sostituti tissutali bioattivi in alternativa agli impianti inerti.

In un primo momento furono condotti studi per creare sistemi che riproducessero fedelmente i tessuti e gli organi naturali nella forma, nelle proprietà e nella funzione. In poco tempo fu evidente che la complessità dei tessuti biologici in termini di composizione macromolecolare, organizzazione ultrastrutturale e interazioni tra cellule e ambiente, rendevano difficile il passaggio dei costrutti ingegnerizzati dall'ambito sperimentale a quello clinico. Durante quel periodo è stata approfondita la conoscenza sulle potenzialità dell'utilizzo di cellule, fattori e *scaffolds*

biocompatibili per la ricostruzione tissutale, ma non è stata posta alcuna attenzione al mimare la ‘non omogeneità’ dei tessuti nativi, cioè quella combinazione di elementi cellulari, molecole tessuto specifiche, micro e macro struttura che determinano le peculiari proprietà chimiche, fisiche e meccaniche del tessuto necessarie allo svolgimento della propria funzione. Sul finire della prima decade di studi è stato chiaro che l’ingegneria tissutale non aveva ancora risposto alle grandi aspettative di fornire nuove modalità terapeutiche per i trattamenti clinici con tessuti ingegnerizzati o sostituzioni d’organo con cellule viventi. Quindi si doveva andare oltre. Così nel 1998 la comunità scientifica decise di adottare un nuovo paradigma per enfatizzare l’importanza della biomeccanica nel design e nello sviluppo di impianti *cell-* e *matrix-based* per la riparazione dei tessuti molli e di quelli duri. In questo senso si può parlare di un’evoluzione della TE, in ingegneria tissutale funzionale (FTE), il cui obiettivo era focalizzarsi sull’importanza di ristabilire la funzione del tessuto o organo, identificando le esigenze meccaniche e strutturali critiche in situ, del tessuto da ripristinare. Questo è stato il secondo grande passo alla luce dell’esperienza collettiva della TE della prima decade. Questo tipo di approccio ha avuto riscontro in particolare per quei tessuti che devono sopportare ingenti carichi o ripetute sollecitazioni, come quello muscolo-scheletrico o cardiaco (Ingber et al, 2006).

Gli studi nell’ambito dell’ingegneria tissutale, settore tuttora in grande espansione, hanno aggiunto agli sforzi per lo sviluppo di una sempre maggiore varietà di costrutti ingegnerizzati, la considerazione delle qualità funzionali e meccaniche che questi devono possedere per adempiere le funzioni e soddisfare gli intenti perseguiti: primo fra tutti superare i limiti dei trattamenti convenzionali di trapianto d’organo e impianto protesico. La prospettiva finale è quella di non dover far più ricorso al trapianto di

organi, pratica costosa e pericolosa, consentendo ai tessuti danneggiati o malati di rigenerare se stessi.

Per l'ingegneria tissutale risultano fondamentali tre diversi fattori (Figura 1.19):

- *scaffold*, ovvero materiali studiati per supportare la crescita cellulare e l'integrazione con i tessuti viventi
- cellule, adatte al tipo di tessuto che si vuole rigenerare (cellule autologhe, allogene, xenogene, isogene)
- molecole segnale, ad esempio fattori di crescita e proteine di adesione che devono trasmettere alle cellule lo stimolo per colonizzare e diffondere all'interno dei materiali.

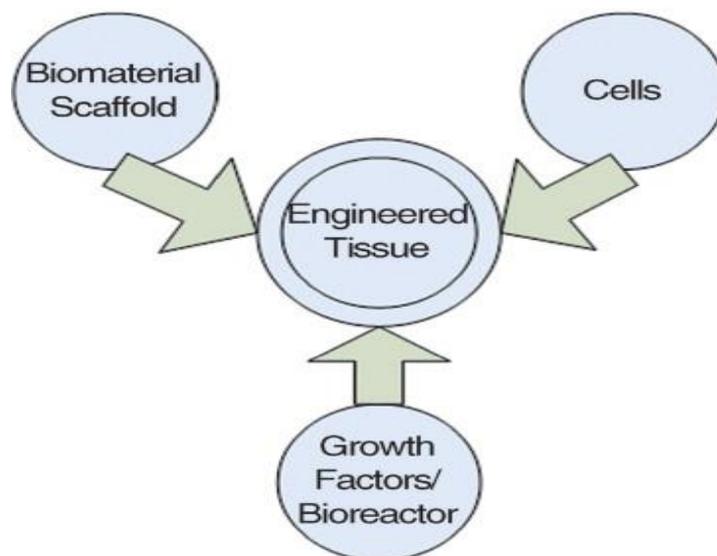


Figura 1.19: la “triade” del tissue engineering.

Langer e Vacanti hanno spiegato le strategie generali praticate in Tissue Engineering:

- infusione di cellule isolate (ed eventualmente manipolate) o sostituti di cellule;

- infusione o impianto di sostanze che inducono la crescita di tessuti, come polipeptidi fattori di crescita o morfogenetici;
- impianto di cellule con o senza matrice.

I concetti alla base di queste strategie sono: le cellule possiedono un potenziale innato ad organizzarsi in tessuti ed organi se fornite dell'ambiente appropriato e di segnali biochimici, meccanici ed elettrici; le cellule coltivate in un ambiente che simula l'originale ambiente di crescita si evolveranno in tessuti che assomigliano alle strutture native.

Nello sviluppo dei nuovi biomateriali attraverso le tecniche del *Tissue Engineering* devono essere studiate le condizioni per la rigenerazione del tessuto in situazioni in cui il corpo non ha il potenziale per la rigenerazione. Ciò avviene usando sostituti biologici viventi attraverso la selezione, l'espansione e la modulazione delle cellule progenitrici in combinazione con materiali che supportino e guidino la rigenerazione. Le cellule capaci di iniziare e sostenere il processo vengono innescate attraverso segnali biologici come i fattori di crescita o geni in modo che possano generare nuovi e funzionali tessuti del tipo richiesto.

Si possono ingegnerizzare le matrici che circondano i materiali per facilitare la crescita delle cellule per ottenere una rigenerazione *in situ* di ossa o cartilagini.

Tra le cellule sotto studio come potenziali risorse dell'ingegneria tissutale la maggior attenzione è riservata a quelle staminali. La ricerca nel campo della biologia cellulare ha sviluppato metodi che consentono di prelevare cellule staminali embrionali, cellule progenitrici o cellule già specializzate e di utilizzarle nella riparazione di lesioni e nella rigenerazione di tessuti mediante coltura su scaffolds. La creazione di tessuti ad uso medico è già una realtà (Figura 1.20). Alcuni tessuti ingegnerizzati, come quelli dell'epidermide e della cartilagine vengono già impiegati in clinica, altri,

tra cui l'osso, i tendini, i legamenti, le pareti vascolari e gli epiteli, sono ancora in una fase di specializzazione, benchè l'applicazione clinica sia vicina. A titolo di esempio si po' citare la cute artificiale, che permette il trattamento di lesioni cutanee e specialmente delle ustioni profonde.

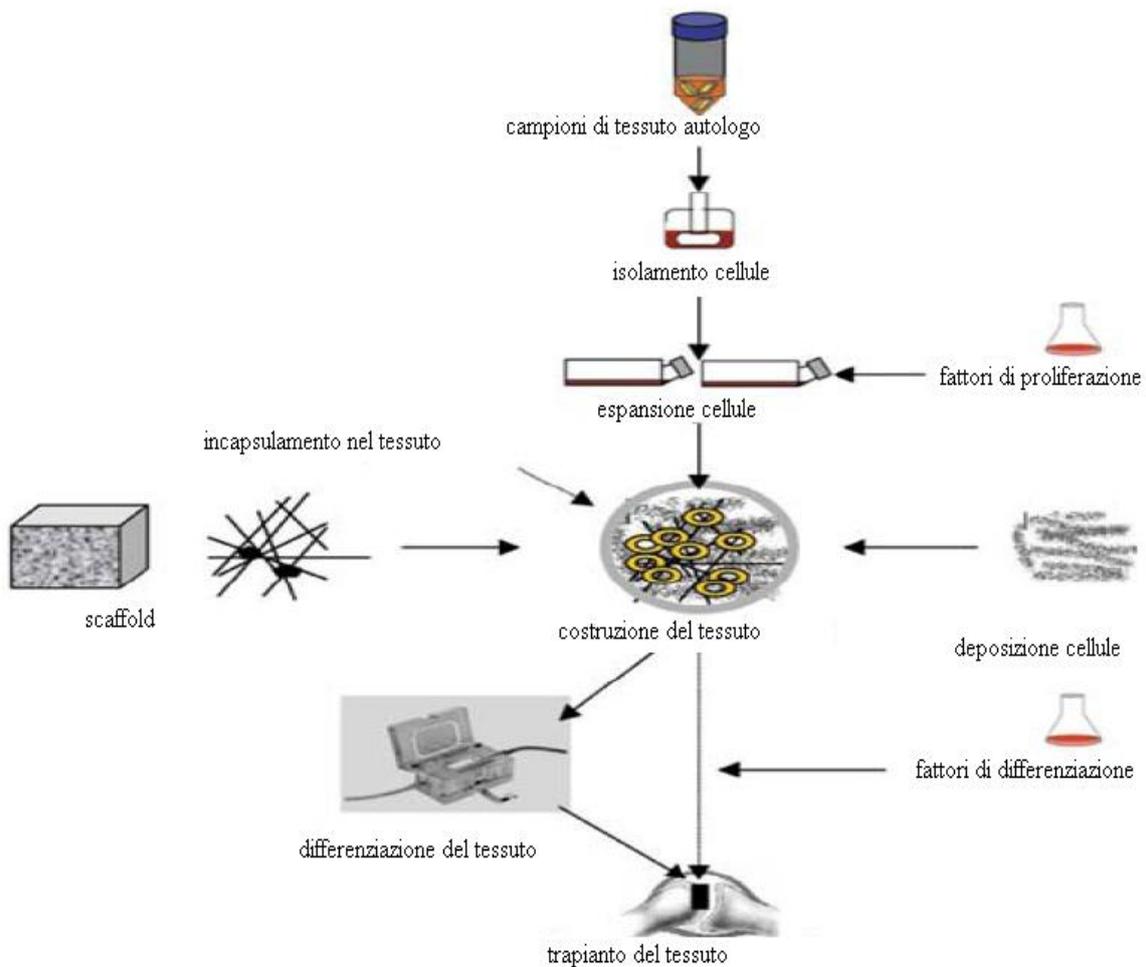


Figura 1.20: schema dei diversi passaggi che portano alla nascita di un impianto per *Tissue Engineering*.

1.5.2 Scaffold

Gli *scaffolds* per l'ingegneria tissutale sono strutture altamente sofisticate studiate per favorire inizialmente l'attacco, l'adesione e la distensione (*spreading*) cellulare, ed in seguito la deposizione di nuovo tessuto. Le caratteristiche peculiari che un biomateriale deve possedere affinché possa essere processato come scaffold si possono riassumere come segue:

- deve essere biocompatibile e biodegradabile, e possedere proprietà fisiche e meccaniche confrontabili con quelle del tessuto da sostituire
- deve produrre cataboliti atossici e promuovere l'adesione e la mobilizzazione cellulare
- deve essere riconoscibile e rimodellabile dalle cellule tissutali e dagli enzimi della matrice extracellulare (ECM)
- deve essere angiogenico e suturabile ed essere caratterizzato da bassa trombogenicità e immunogenicità.

Gli *scaffold* non sono dunque supporti meccanici passivi, ma partecipano attivamente alla ricostruzione dei tessuti, provvedendo alla stabilità meccanica della struttura, necessaria per l'organizzazione tridimensionale delle cellule che si devono sviluppare fino alla formazione del tessuto. Mentre il tessuto si forma, il materiale polimerico viene assorbito dalle cellule ospiti con una velocità di degradazione comparabile con quella di biosintesi cellulare.

I requisiti che gli *scaffold* devono possedere sono:

- porosità elevata e tridimensionale con rete di pori interconnessi che permettono la crescita cellulare, il trasporto dei nutrienti e l'eliminazione dei cataboliti

- velocità di degradazione e di riassorbimento controllabile e proporzionale alla crescita del tessuto
- superficie chimicamente adatta all'erosione, alla proliferazione e alla differenziazione delle cellule;
- proprietà meccaniche il più possibile simili a quelle dei tessuti che si trovano nel sito d'impianto;
- riproducibilità in forme e dimensioni differenti;
- diametro dei pori opportuno (tra 200 e 500 μm).

Queste proprietà dipendono da due livelli di organizzazione del materiale di cui lo *scaffold* è composto:

- livello microscopico: le proprietà chimiche superficiali determinano l'adesione, la proliferazione cellulare e l'interazione con le proteine che regolano la risposta immunitaria dell'organismo, per cui si richiede un buon rapporto superficie/volume;
- livello macroscopico: le proprietà strutturali nel complesso determinano le risposte meccaniche quali elasticità, resistenza alla compressione, capacità di trasmettere carichi.

È importante evidenziare che la distribuzione di pori in scaffold polimerici tridimensionali deve essere opportunamente elevata per evitare la presenza di regioni non vascolarizzate ed ottimizzare il trasporto dei nutrienti e dei prodotti del metabolismo cellulare.

1.5.2 Distribuzione dei segnali in ingegneria tissutale

Per favorire la ricrescita del tessuto non bastano scaffold e cellule, ma c'è bisogno anche di fornire alle cellule stesse i segnali che ne guidino la

differenziazione, la migrazione e la proliferazione. Questi segnali sono distribuiti dai fattori di crescita, particolari polipeptidi che, legandosi con recettori transmembranalici specifici nella cellula bersaglio, forniscono l'informazione necessaria al nucleo per indurre un certo tipo di risposta nella cellula (Figura 1.21). Tipicamente questi polipeptidi esibiscono un range di azione limitato dovuto alla diffusione attraverso la matrice extracellulare.

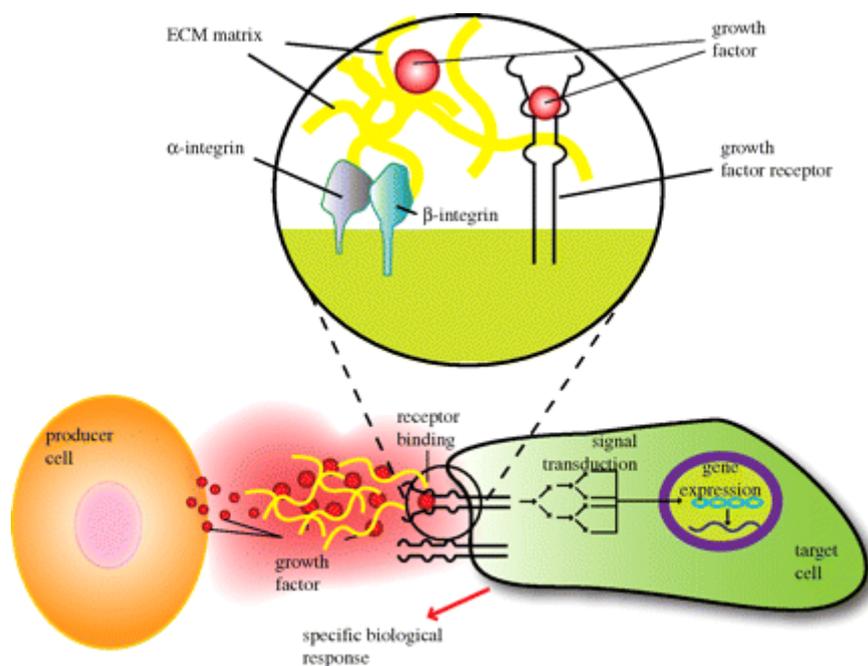


Figura 1.21: meccanismo di trasmissione del segnale biochimico.

L'ingegneria ha sviluppato due strategie distinte per il trasporto di questi fattori di crescita: l'immobilizzazione chimica all'interno di una matrice polimerica o l'incapsulamento fisico all'interno di una membrana, anch'essa polimerica. Entrambi questi approcci si basano sulla diffusione e sul rilascio programmato nel tessuto circostante, favoriti dall'avvento degli scaffold a pattern tridimensionali, che consentono un alto livello di

controllo sulla distribuzione del segnale, dato che allo *scaffold* sono legate anche le cellule bersaglio.

Le due tecniche principali usate per coniugare i fattori di crescita ai biomateriali (sintetici o naturali), rendendoli disponibili alle cellule che verranno in contatto con la matrice, si basano :

- 1) sull'adsorbimento fisico dovuto a legami a idrogeno o ad interazioni idrofobiche con molecole eccipienti (approccio non covalente);
- 2) sull'immobilizzazione covalente dei fattori di crescita (o molecole che ne mimano il funzionamento) alla matrice (approccio covalente).

L'assorbimento di fattori di crescita sfrutta in genere interazioni secondarie dipolo dipolo o legami a idrogeno tra questi e le matrici, o interazioni indirette attraverso proteine intermedie o altre molecole biologiche: proteine come eparina, fibronectina, gelatina e piccoli oligopeptidi possono essere rivestite chimicamente o fisicamente per fornire siti specifici per immobilizzare i fattori di crescita o morfogeni. I materiali usati per percorrere questa strategia sono essenzialmente gel biopolimerici contenenti fibronectina, laminina, collagene, elastina, acido ialuronico o una varietà di idrogel sintetici, per le loro proprietà di riprodurre la membrana extracellulare.

L'approccio covalente permette ai fattori di crescita legati alla matrice di degradarsi molto più lentamente, consentendo un rilascio prolungato. I fattori vengono coniugati ai polimeri tramite gruppi funzionali precedentemente incorporati durante il processo di copolimerizzazione o tramite trattamenti chimici o fisici. Questa strategia non è immune da limitazioni, come la difficoltà nell'assegnazione del sito di accoppiamento sulla proteina e la possibile perdita di bioattività delle proteine a causa dell'immobilizzazione o del danneggiamento dei gruppi funzionali.

È importante notare come l'ingegneria tissutale sfrutti meccanismi tipici del *drug delivery* (introdotto nel prossimo capitolo) per il trasporto dei fattori di crescita (al posto dei farmaci) come i meccanismi diffusionali, il *linking* alle matrici polimeriche, il rilascio controllato da fattori esterni come pH, temperatura e pattern tridimensionale dello scaffold.

1.5.4 Polimeri nell'ingegneria tissutale

I polimeri trovano largo uso nell'ingegneria tissutale per le loro ottime caratteristiche di biocompatibilità e per la possibilità di immobilizzare cellule e biomolecole al loro interno o sulla superficie. Numerosi polimeri sintetici sono stati utilizzati nel tentativo di produrre scaffold, tra cui il polistirene, l'acido polilattico, l'acido poliglicolico, e l'acido poli(DL-lattico-*co*-glicolico). Tutti si sono mostrati abbastanza promettenti per quanto riguarda la possibilità di essere fabbricati con un'architettura su misura e la possibilità di controllarne la degradazione variando la composizione chimica, ma presentano contemporaneamente svantaggi per via della ridotta bioattività; inoltre i processi degradativi del PLLA e del PGA producono diossido di carbonio, che abbassa localmente il valore del pH, portando alla necrosi di parti di tessuto. La ricerca si è quindi spostata verso l'uso di polimeri naturali, per definizione biocompatibili e biodegradabili, ma inoltre biologicamente attivi, in grado di promuovere la crescita e la specializzazione cellulare, come collagene e proteoglicani. Gli svantaggi consistono principalmente nella difficoltà a riprodurre esattamente la stessa struttura e nelle basse proprietà meccaniche, che ne impediscono l'uso in molti settori (soprattutto quello ortopedico).

Vista l'impossibilità di garantire valori accettabili a tutte le proprietà richieste dall'ingegneria tissutale da parte di un singolo materiale, lo

sviluppo di nuovi materiali si è spostato verso i copolimeri, che permettono, mediante l'inserimento in percentuali variabili di più unità monomeriche, di modulare alcune caratteristiche come la cristallinità, l'idrofilicità, la velocità di degradazione, le proprietà meccaniche etc. Inoltre tali polimeri, essendo di natura sintetica, garantiscono l'uniformità e la riproducibilità dei prodotti.

I polimeri attualmente più studiati sono i poliesteri, i poli(ortoesteri), le polianidridi, e le poliammidi; in ambiti più specifici, come ad esempio l'ingegneria tissutale delle ossa, sono allo studio sistemi a base di poli(propilene fumarato) (PPF) e di poliidrossialcanoati (PHA), per le loro caratteristiche di rigidità e trasmissibilità dei carichi.

1.6 Sistemi a rilascio controllato di farmaci

1.6.1 Introduzione

Uno dei maggiori inconvenienti nella somministrazione convenzionale di farmaci è legato alla distribuzione del farmaco stesso in tutto il corpo del paziente, che si realizza in maniera più o meno indiscriminata ed incontrollata attraverso il circolo sanguigno. La quantità desiderata di farmaco non è quindi sempre in grado di raggiungere i siti recettoriali specifici localizzati sulle cellule bersaglio, in quanto penalizzata dalla perdita in compartimenti che nulla o poco hanno a che fare con l'effetto terapeutico del farmaco. Ciò può rendere necessario l'impiego di dosi maggiori, con rischio di tossicità. Soprattutto nel caso di farmaci a breve emivita, per poter mantenere un adeguato livello terapeutico nell'organo

prescelto, si richiede l'impiego di trattamenti ripetuti, ma in questo caso la concentrazione plasmatica del farmaco segue un tipico andamento pulsato, con indesiderate punte di massimo che possono superare i limiti di tossicità, e gole di minimo che possono scendere al di sotto del livello ottimale. La Figura 1.22 mette a confronto l'andamento temporale della concentrazione di un farmaco somministrato in maniera tradizionale, e quello che si cerca di realizzare tramite il “*controlled drug release*”.

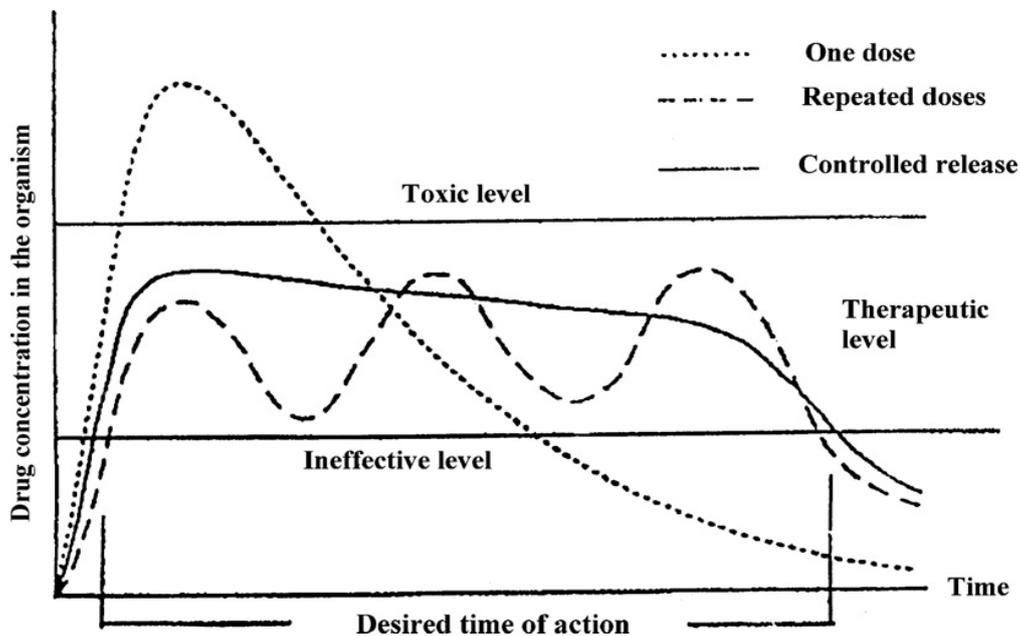


Figura 1.22: andamento della concentrazione del farmaco nei tessuti dopo l'assunzione secondo la tecnica tradizionale e mediante rilascio controllato.

La tecnologia del *controlled drug delivery* si propone come obiettivo l'eliminazione di questi problemi mediante l'utilizzo di sistemi, in genere polimerici che consentano di:

- 1) mantenere costante l'azione del farmaco, conservando per un determinato intervallo di tempo la concentrazione desiderata nel corpo umano, riducendo contemporaneamente gli effetti collaterali

associati ad un modello cinetico del tipo “dente di sega”, legato ad iniezioni successive.

- 2) localizzare spazialmente l'azione del farmaco, limitandola alla zona (tessuto o organo) che necessita del trattamento.
- 3) specificare ulteriormente il target d'azione (a livello del tipo di cellula) del farmaco mediante l'utilizzo di vettori o derivatizzazioni chimiche.
- 4) creare condizioni per il rilascio riproducibili, prevedibili e controllabili.

Si ottengono dunque numerosi vantaggi rispetto alle tradizionali forme di dosaggio, come aumento dell'efficacia della terapia farmacologica, riduzione della tossicità, degli effetti collaterali e del numero di assunzioni del farmaco richieste all'interno del trattamento, miglioramento in termini di affidabilità e convenienza per il paziente. In termini più pratici, si riescono ad ottenere risultati migliori rispetto alle terapie usuali agendo sulla distribuzione temporale e spaziale del farmaco.

I sistemi a rilascio controllato permettono infatti di distribuire il farmaco in una finestra temporale estesa, evitando che la concentrazione dell'agente raggiunga livelli di tossicità o di inattività, come succede nel caso di iniezioni ripetute, ma mantenga le oscillazioni all'interno della finestra terapeutica: per esempio, nel caso di antidolorifici, il paziente non prova dolore dato che la concentrazione non scende sotto soglia, come avverrebbe nel caso tradizionale di iniezioni.

L'uso di sistemi polimerici consente la distribuzione del farmaco in siti precisi di attività all'interno del corpo. Questo comporta benefici nel caso in cui la diffusione naturale porta le molecole del farmaco ad incontrare tessuti sani causandone danni (come ad esempio in chemioterapia), oppure quando il mezzo di trasmissione del farmaco all'interno del corpo non consente al farmaco di raggiungere il proprio sito di azione molecolare

(per esempio una molecola che dovrebbe agire come recettore nel cervello non sarà attiva se è distribuita attraverso il sistema circolatorio, non potendo attraversare essa la barriera emato-encefalica).

Una vasta classe di farmaci può usufruire dei benefici dei sistemi a rilascio controllato, tra cui chemioterapia, immunosoppressori, agenti antiinfiammatori, antibiotici, oppiacei, steroidi, ormoni, anestetici, vaccini. Recentemente, il bisogno di sviluppare nuovi sistemi di rilascio controllato si è intensificato visto l'avanzamento della ricerca nel settore dei farmaci peptidici e l'emergere della terapia genica, possibili protagonisti nella prossima generazione della produzione di farmaci e il cui successo è fortemente legato a quello dei sistemi a rilascio controllato.

1.6.2 Meccanismi di rilascio controllato

Dato l'alto numero di variabili in gioco, tra cui la tipologia del farmaco, la quantità da somministrare, il sito d'azione, la durata della terapia, la stabilità delle molecole attive, etc, è necessario che i sistemi di rilascio controllato forniscano un range di utilizzo molto ampio, presentando diverse cinetiche di rilascio che rispettano la necessità del farmaco di essere somministrato in determinate finestre temporali, e diverse meccaniche di rilascio, che permettano al farmaco di essere distribuito solo ed esclusivamente in quei tessuti che necessitano del trattamento.

Le possibili cinetiche di rilascio sono le seguenti (Figura 1.23).

Profilo I) rilascio convenzionale, ritardato, non costante.

Profilo II) rilascio di ordine zero. La concentrazione è mantenuta al livello ottimale per gli effetti terapeutici. I primi due profili sono quelli oggi più comuni.

Profilo III) rilascio ritardato seguito da rilascio costante. Utile per il rilascio di agenti attivi che devono svolgere la loro azione durante la notte.

Profilo IV) rilascio impulsivo ritardato. Anch'esso valido per un'azione notturna, in questo caso per un ormone, la cui somministrazione deve essere effettuata una singola volta e non in modo graduale.

Profilo V) rilascio impulsivo periodico. Per somministrazioni che vanno effettuate a distanze temporali costanti.

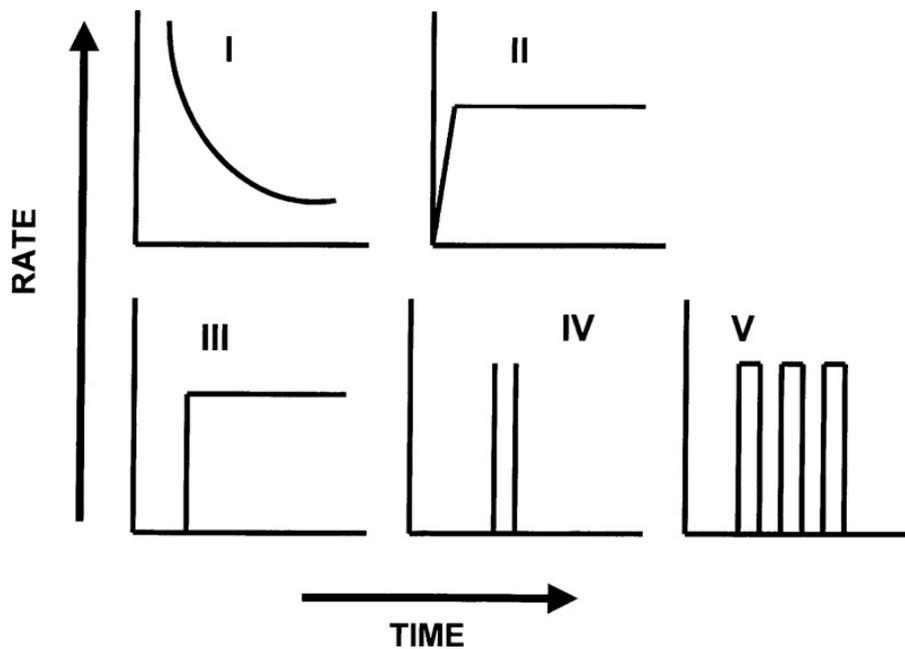


Figura 1.23: cinetiche di rilascio controllato.

Alternativamente, i sistemi di trasporto possono essere classificati a seconda del meccanismo che controlla il rilascio del farmaco:

- 1) Sistemi a diffusione controllata
 - a) Mediante serbatoio (sistemi a membrana)
 - b) Mediante matrice (sistemi monolitici)
- 2) Sistemi controllati chimicamente
 - a) Sistemi bioerodibili e biodegradabili
 - b) Sistemi a catena pendente
- 3) Sistemi attivati da solvente

- a) Sistemi controllati osmoliticamente
- b) Sistemi controllati mediante rigonfiamento
- 4) Sistemi a rilascio modulato

La Figura 1.24 illustra schematicamente tutti i modi di rilascio. Occorre specificare che molti apparati in realtà sono frutto di una combinazione dei precedenti meccanismi.

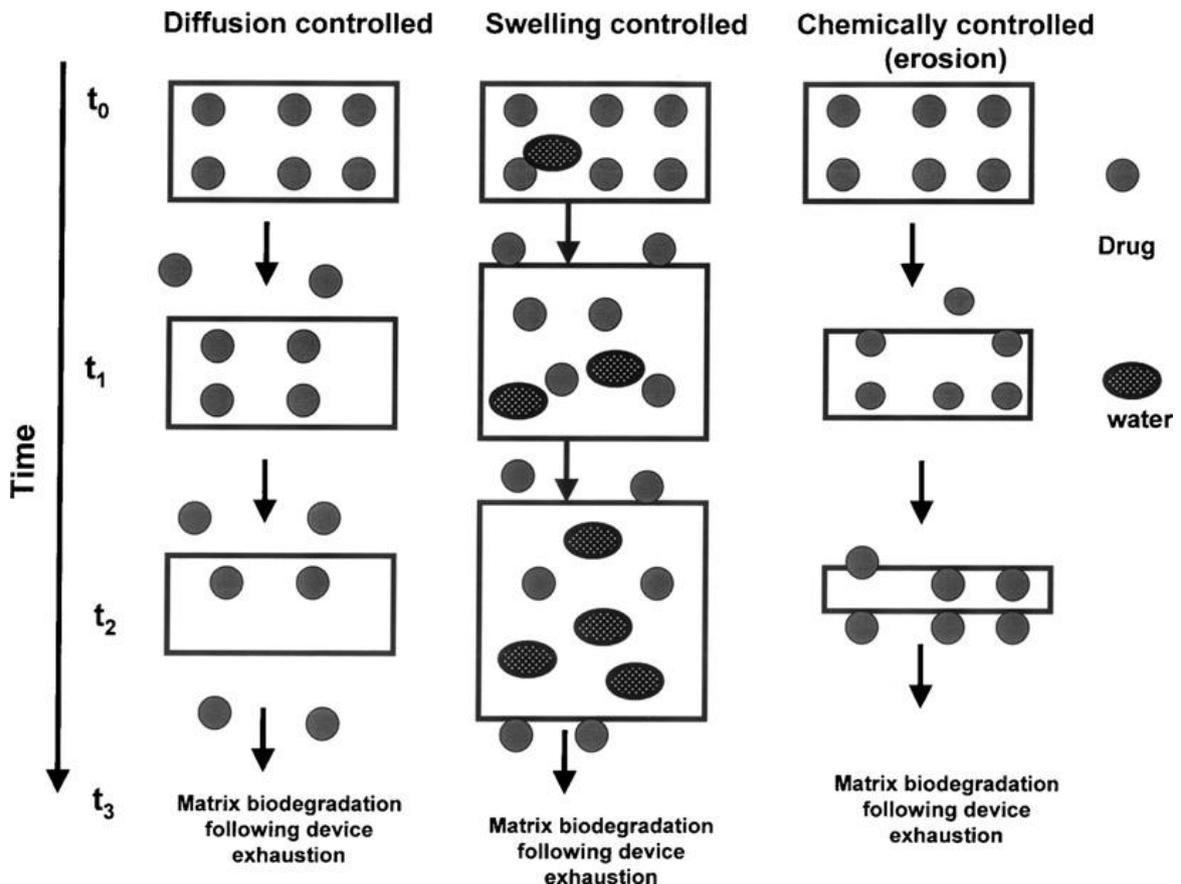


Figura 1.24: schema di alcuni meccanismi diffusionali

Sistemi a diffusione controllata: sfruttano il meccanismo di diffusione del farmaco attraverso il polimero, che subirà biodegradazione una volta assolto il proprio compito. I sistemi a serbatoio sono sistemi cavi in cui un nucleo interno di farmaco è circondato da una membrana polimerica. Il trasporto avviene tipicamente secondo meccanismi di diffusione, con cinetica tipicamente di ordine zero finchè il farmaco è in alta concentrazione all'interno della membrana. Nel secondo tipo di sistemi, il

farmaco è dissolto (o disperso) uniformemente in una matrice polimerica. Questa modalità presenta una cinetica di rilascio di primo ordine, in cui si ha un'alto tasso di diffusione all'inizio, che poi decresce a causa dell'aumento del percorso di diffusione e alla diminuzione di area all'aumentare del processo.

Sistemi controllati chimicamente: in questi sistemi il rilascio ha luogo in ambiente acquoso, dove il polimero si degrada a causa della presenza di legami labili idroliticamente o enzimaticamente, che coinvolgono o la superficie o il bulk. Ciò evita la necessità di una rimozione chirurgica ma i prodotti di degradazione non dovranno provocare reazioni tossiche o cancerogene, condizione abbastanza difficile da raggiungere. Nei sistemi a catena pendente la molecola del farmaco è legata chimicamente al polimero e viene rilasciata da una scissione idrolitica o enzimatica. La velocità di rilascio è legata alla velocità con cui i legami vengono rotti dall'azione dell'acqua o delle proteine, consentendo al farmaco di agire su uno specifico tipo di cellule o tessuti.

Sistemi attivati dal solvente: gli idrogeli sono particolari macromolecole a struttura reticolata create in modo da formare una maglia aggrovigliata che funge da matrice per l'intrappolamento di farmaci. Quando questi idrogeli vengono a contatto con un solvente compatibile termodinamicamente, le catene polimeriche si rilassano (specialmente quando la temperatura di transizione vetrosa è inferiore a quella dell'ambiente circostante), permettendo un flusso di acqua verso l'interno e la diffusione verso l'esterno del farmaco.

Sistemi a rilascio modulato: in questi sistemi il rilascio è controllato da stimoli esterni quali temperatura, pH, campi elettrici, campi magnetici, radiazione elettromagnetica, raggi UV, ecc.

1.6.3 Polimeri nei sistemi a rilascio controllato di farmaci

La ricerca negli ultimi anni si è concentrata sulla creazione di nanoparticelle, ovvero particelle colloidali formate da sostanze macromolecolari le cui dimensioni variano dai 10 ai 100 nm. Rispetto agli altri *carrier* si differenziano per via della loro alta stabilità a contatto coi fluidi biologici, e presentano promettenti proprietà chimico-fisiche in termini di dimensione, potenziale superficiale, equilibrio idrofobico-idrofilico. La loro grandezza permette la somministrazione in vivo tramite siringa.

Una considerazione fondamentale nella progettazione di questi sistemi riguarda il destino dei polimeri esaurita la loro funzione.

Lo sviluppo dei sistemi di rilascio controllato è stato possibile in seguito alla scoperta di polimeri biodegradabili o bioassorbibili, che in ambito medico hanno sempre più sostituito i sistemi biostabili e inerti quali i metallici e ceramici, soprattutto per le funzioni terapeutiche di durata limitata. Nonostante tutti i polimeri vadano prima o poi incontro ad invecchiamento per cause fisiche o chimiche, affinché un polimero possa essere impiegato all'interno del corpo umano, esso oltre alla biodegradabilità deve offrire garanzie di biocompatibilità e non tossicità. L'erosione può riguardare il bulk o la superficie, a seconda che la velocità di reazione sia maggiore o minore della velocità di diffusione verso l'interno dell'agente che scinde i legami più labili, consentendo, mediante l'introduzione di unità monomeriche differenti, di modulare il tipo di degradazione in funzione della modalità di rilascio richiesta. I polimeri che

vengono escreti naturalmente dal corpo (per via renale o tramite biodegradazione in molecole più piccole espulse successivamente) sono desiderabili nella maggior parte delle applicazioni. Polimeri che non si degradano di solito vengono utilizzati in applicazioni orali o gastrointestinali, dove è più facile la rimozione.

Le principali classi di polimeri che interessano questa disciplina sono:

- **Poliesteri:** essi (Figura 1.25) sono noti da tempo per le loro ottime proprietà di degradazione in ambiente biologico, il che li rende i polimeri più ampiamente studiati e caratterizzati in questo ambito. Sono polimeri termoplastici che presentano legami esterei idroliticamente labili. La degradazione è teoricamente possibile per ogni tipo di poliesteri, ma solo quelli alifatici con peso molecolare non troppo elevato sono utilizzabili in ambito biomedicale in quanto la loro vita utile corrisponde a quella di molti trattamenti. L'erosione coinvolge principalmente il bulk. Nella classe dei poli(α -esteri) i più utilizzati sono l'acido polilattico e il poliglicolico, sintetizzati tramite apertura di anello, con peso molecolare dell'ordine di 10-20000.

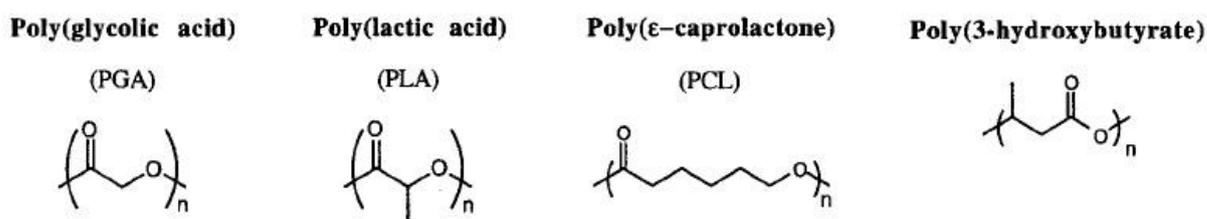


Figura 1.25: struttura chimica dei poliesteri più utilizzati.

- **Poli(orto esteri):** il motivo per cui vengono utilizzati nel *drug delivery* deriva dalla necessità di avere polimeri biodegradabili che inibiscono i meccanismi diffusionali del farmaco e ne consentono il rilascio solo dopo l'idrolisi delle catene superficiali. La loro idrofobicità rende la loro erosione lenta abbastanza da consentire un

periodo di *delay* tra la somministrazione e l'effettivo inizio della terapia. È possibile agire sulla sensibilità al pH e sulla temperatura di transizione vetrosa inserendo nella struttura dei dioli con diversi livelli di flessibilità. Un esempio di monomero è mostrato in Figura 1.26.

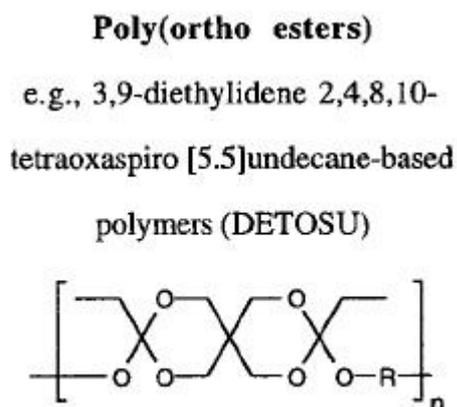


Figura 1.26: esempio di poliortoestere.

- **Polianidridi:** questo tipo di polimeri consentono la creazione di impianti che si erodono eterogeneamente, possedendo sia una natura idrofobica che legami scindibili dall'acqua. Subiscono prevalentemente l'erosione superficiale, visto che la loro idrofobicità non consente all'acqua di penetrare nel bulk. La velocità di degradazione è controllabile agendo sulla composizione del polimero: l'aggiunta di monomeri idrofobici rende più stabile la struttura (Figura 1.27)

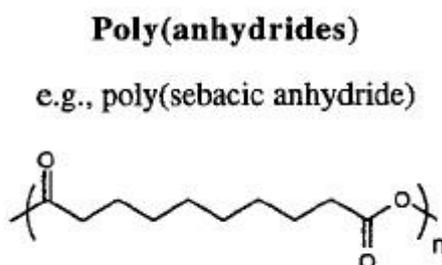


Figura 1.27: esempio di polianidride.

- **Poliammidi:** le poliammidi rappresentano una classe molto interessante per il rilascio controllato di farmaci data la possibilità di manipolare le sequenze di amminoacidi, tuttavia il loro uso risulta limitato dalla loro non ottima biocompatibilità, dovuta alla loro natura antigenica. Possiedono inoltre legami molto stabili idroliticamente che rendono necessaria la presenza di enzimi per dar luogo all'erosione. (Figura 1.28).

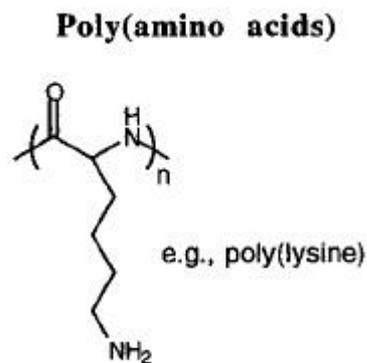


Figura 1.28: monomero della lisina

Bibliografia

1. O'Brien Fergal J. *Biomaterials & scaffold for tissue engineering*, 2011
2. Sabir_Muhammad Iqbal, Xu_Xiaoxue, Li Li A *review on biodegradable polymeric materials for bone tissue engineering applications*, 2009
3. Uhrich Kathryn E., Cannizzaro Scott M., Langer Robert S., Shakesheff Kevin M. *Polymeric Systems for Controlled Drug Release*, 1999
4. Lakshmi S. Nair, Cato T. Laurencin *Biodegradable polymers as biomaterials*, 2007
5. Michel Vert *Degradable and bioresorbable polymers in surgery and in pharmacology: beliefs and facts*, 2008
6. A.k. Bajpai, Sandeep K. Shukla, Simtha Bhany, Sanjana Kankane *Responsive polymers in controlled drug delivery*, 2008
7. Guaraldi Chiara, Soccio Michelina, Saino Enrica, Focarete Maria Letizia, Lotti Nadia, Munari Andrea, Moroni Lorenzo, Visai Livia *Early synthesized novel biodegradable copolyesters with adjustable properties for biomedical applications*, 2012
8. www.ias.ac.in/initiat/sci_ed/resources/chemistry/MolWeight.pdf
9. www.treccani.it
10. www.wikipedia.org
11. Lee Kangwon, Silva Eduardo A., Mooney David J. *Growth factor delivery-based tissue engineering: general approaches and a review of recent developments*, 2010
12. Pietrabissa R., "Biomateriali per protesi e organi artificiali – Introduzione alla biocompatibilità, alla scienza e alla applicazione dei materiali per dispositivi biomedici", Patron Editore.

13. http://www.ias.ac.in/initiat/sci_ed/resources/chemistry/MolWeight.pdf
14. Luckachan Gisha E., Pillai C. K. S. *Biodegradable Polymers – A Review on Recent Trends and Emerging Perspectives*, 2011
15. Soccio M., Lotti N., Finelli L., Gazzano M., Munari A. *Aliphatic poly(propylene dycarboxylate)s: Effect of chain length on thermal properties and crystallization kinetics*, 2007

Capitolo 2: Scopo della Tesi

I dispositivi medici impiegati nell'ingegneria tissutale e per il “*controlled drug release*” si stanno sviluppando in modo considerevole grazie anche all'avanzamento della ricerca nel campo dei materiali polimerici; questi ultimi rappresentano infatti in entrambi gli ambiti un elemento fondamentale per il funzionamento dell'intero dispositivo in quanto forniscono il supporto per la crescita cellulare nel primo caso e permettono la diffusione a velocità controllata dei farmaci nei tessuti nell'altro.

Come già sottolineato, i polimeri vengono largamente impiegati per la realizzazione di dispositivi medici in quanto presentano numerosi vantaggi rispetto ad altre classi di materiali, tra cui una maggiore biocompatibilità, la possibilità di modificarne ampiamente composizione e proprietà fisico-meccaniche, bassi coefficienti di attrito, facile processabilità e lavorabilità anche in forme e strutture complesse, possibilità di modificarne chimicamente e/o fisicamente la superficie, possibilità di immobilizzare cellule o biomolecole al loro interno o sulla superficie. La preparazione di nuovi materiali con caratteristiche “*ad hoc*” per il tipo di applicazione scelta, rappresenta dunque il primo “*step*” per la realizzazione di un particolare dispositivo medico.

All'interno della classe dei polimeri, i poliesteri risultano particolarmente interessanti e promettenti, in quanto altamente biocompatibili /biodegradabili e caratterizzati da buone proprietà meccaniche. Tra i poliesteri alifatici, risultano già commercializzati per la realizzazione di dispositivi biomedicali l'acido poliglicolico (PGA) e l'acido poli(lattico) (PLA). Questi ultimi, tuttavia, risultano troppo rigidi per la realizzazione di dispositivi per la rigenerazione di tessuti molli e sono caratterizzati da un

profilo di degradazione idrolitica non idoneo per applicazioni che richiedano un riassorbimento del materiale in tempi lunghi.

Una valida alternativa a PLA e PGA può essere rappresentata dal polibutilencicloesandicarbossilato (PBCE), la cui struttura contiene un anello alifatico che conferisce al materiale buona stabilità termica, un alto punto di fusione e buone proprietà meccaniche. Il PBCE, dato l'elevato grado di cristallinità e la rigidità intrinseca conferita dall'anello alifatico, rimane tuttavia un materiale scarsamente deformabile e con tempi di biodegradazione fin troppo lunghi. Il presente lavoro di tesi si è sviluppato tenuto conto di questo scenario complesso, ed ha riguardato la modifica, tramite copolimerizzazione, del PBCE, al fine di migliorare le proprietà non soddisfacenti, senza però alterare sensibilmente quelle già buone.

Nello specifico, il processo di copolimerizzazione ha visto l'inserimento lungo la catena polimerica del PBCE di legami eterici, introdotti attraverso la unità comonomerica butilene diglicolato (BDG). Come noto, la capacità a cristallizzare dei copolimeri è ridotta rispetto a quella dell'omopolimero di riferimento e dunque ci si aspetta una significativa riduzione del grado di cristallinità, che influenza significativamente sia le proprietà meccaniche che il profilo di degradazione idrolitica. Inoltre, la significativa polarità dell'atomo di ossigeno eterico dovrebbe conferire maggiore idrofilicità al materiale finale, rendendolo più facilmente idrolizzabile.

La ricerca si è articolata nelle seguenti fasi:

- preliminare analisi bibliografica per conoscere gli sviluppi più recenti sull'argomento trattato;
- sintesi di copolimeri statistici $P(BCE_xBDG_y)$ a diversa composizione mediante policondensazione in massa allo stato fuso;
- stampaggio di film sottili mediante pressofusione;
- caratterizzazione molecolare dei campioni sintetizzati per mezzo di risonanza magnetica nucleare (NMR) per la verifica della struttura

chimica e di cromatografia a permeazione su gel (GPC) per la stima del peso molecolare;

- caratterizzazione termica mediante calorimetria differenziale a scansione (DSC) per studiare le transizioni termiche e analisi termogravimetrica (TGA) per verificare il campo di stabilità dei polimeri;
- analisi diffrattometrica a raggi X per ottenere informazioni sulla fase cristallina;
- caratterizzazione meccanica attraverso prove di trazione;
- misure di angolo di contatto per conoscere la bagnabilità dei campioni;
- analisi dei risultati ottenuti ed estrapolazione di correlazioni proprietà struttura.

Capitolo 3: Materiali e Metodi

3.1 Sintesi

Il presente lavoro di tesi è stato svolto presso i laboratori del Dipartimento di Ingegneria Civile, Ambientale e dei Materiali, Università di Bologna.

Gli omopolimeri di riferimento ed i copolimeri sono stati sintetizzati tramite policondensazione in massa a due stadi. Durante il primo stadio, condotto alla temperatura di 190 C° sotto flusso controllato di azoto, hanno luogo le reazioni di esterificazione diretta, con eliminazione di specie a basso peso molecolare, nel caso in esame acqua, al fine di spostare l'equilibrio della reazione verso i prodotti. Nel secondo stadio, che inizia quando almeno il 90% dell'acqua teorica si è raccolta tramite distillazione nella trappola, avvengono le reazioni di transesterificazione, con la formazione di catene polimeriche ad elevato peso molecolare. Durante questo stadio, la temperatura viene alzata a 250 °C, per poi rimanere costante fino al termine della reazione. Per favorire la distillazione del glicole in eccesso viene applicato il vuoto fino ad un massimo di 0,5 mbar. La strumentazione per la sintesi si compone di un reattore in vetro a tre colli che viene immerso in un bagno contenente una miscela di sali inorganici che garantiscono una temperatura uniforme e costante lungo tutto il corso della reazione, un agitatore meccanico con misuratore di *torque* e una pompa da vuoto (Figura 3.1).

Il sistema che garantisce l'agitazione dei reagenti è formato da un albero motore su cui sono attaccati degli estensimetri che misurano il momento torcente necessario a mantenere costante la rotazione delle pale: esse incontrano maggiore resistenza al procedere della polimerizzazione, a

causa dell'aumento della viscosità del fluido dovuta all'incremento di peso molecolare del polimero.

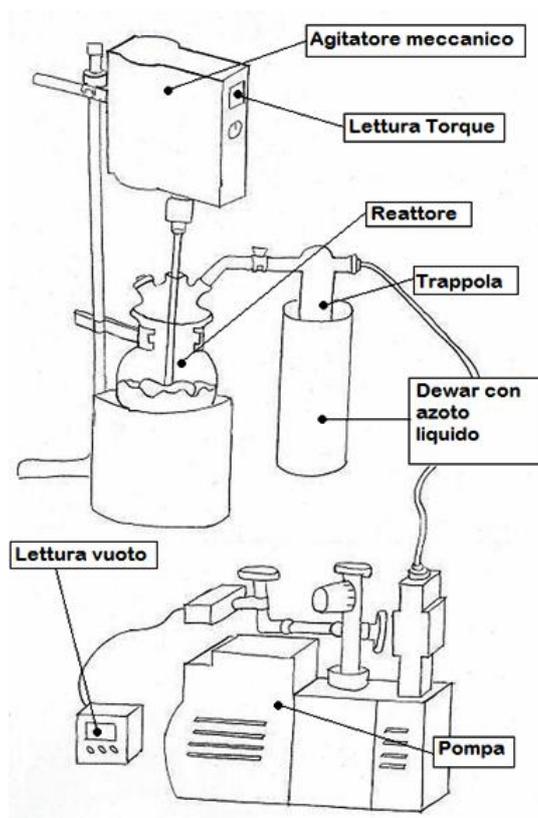
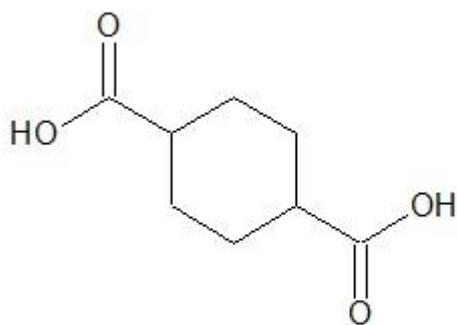


Figura 3.1: Schema dell'apparecchiatura per la polimerizzazione

In tutte le reazioni effettuate è stato impiegato un eccesso di diolo del 20%. Tale modo di procedere risponde alla necessità di avere al termine della prima fase oligomeri contenenti gruppi funzionali preferenzialmente di tipo -OH, che reagiscono facilmente nel secondo stadio. Il catalizzatore utilizzato è titanio tetrabutossido (TBOT) in quantità pari a 150 ppm di titanio. Per ogni reazione sono stati ottenuti circa 100 g di prodotto.

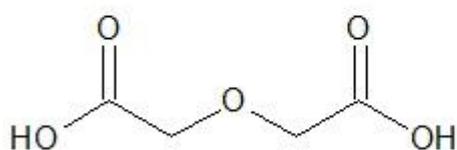
Le strutture chimiche dei reagenti utilizzati sono riportate di seguito:



acido 1,4-trans-
cicloesandicarbossilico
 $C_6H_{10}(CO_2H)_2$



1,4 butandiolo
 $HOCH_2CH_2CH_2CH_2OH$



acido diglicolico
 $O(CH_2COOH)_2$

La preparazione dei campioni sotto forma di film sottili è avvenuta tramite pressofusione utilizzando una pressa con piastre in alluminio raffreddate ad acqua (Carver Laboratory Press). Il polimero viene inserito tra due strati di teflon con in mezzo una maschera di alluminio teflonato per garantire uno spessore uniforme dei film (circa 0,2 mm).

La temperatura impostata per ciascuna prova è superiore di 40 °C alla T_m del polimero utilizzato. Una volta fuso, il materiale subisce l'effetto della pressione applicata (circa 1,5 MPa) per 2 minuti. Successivamente, le piastre, mantenute in pressione, vengono raffreddate con acqua a 10 °C per circa 20 minuti in modo da garantire una veloce solidificazione del campione nella nuova forma.

3.2 Caratterizzazione

3.2.1 Caratterizzazione Molecolare

3.2.1.1 Risonanza magnetica nucleare (NMR)

La risonanza magnetica nucleare è una tecnica utilizzata per determinare la struttura chimica dei materiali. Viene sfruttato il principio secondo cui i nuclei di alcuni elementi se sottoposti ad un campo magnetico esterno intenso e stazionario si orientano nella stessa direzione del campo.

Tale fenomeno è osservabile solo se l'atomo possiede spin non intero: in questo caso i nuclei, ruotando, danno origine ad un campo magnetico elementare μ che li rende simili a piccoli magneti (essendo i nuclei composti da cariche elettriche, sono assimilabili a delle spire percorse da corrente). Gli atomi usati tipicamente sono ^1H e ^{13}C (spin 1/2).

Quando un nucleo dotato di spin viene immerso in un campo magnetico, esso, come l'ago di una bussola, è sottoposto ad una coppia di forze che lo fanno ruotare per allinearli col campo magnetico esterno. Per un nucleo con spin 1/2, sono due gli orientamenti permessi: parallelo al campo (bassa energia) e contro il campo (alta energia) (Figura 3.2).

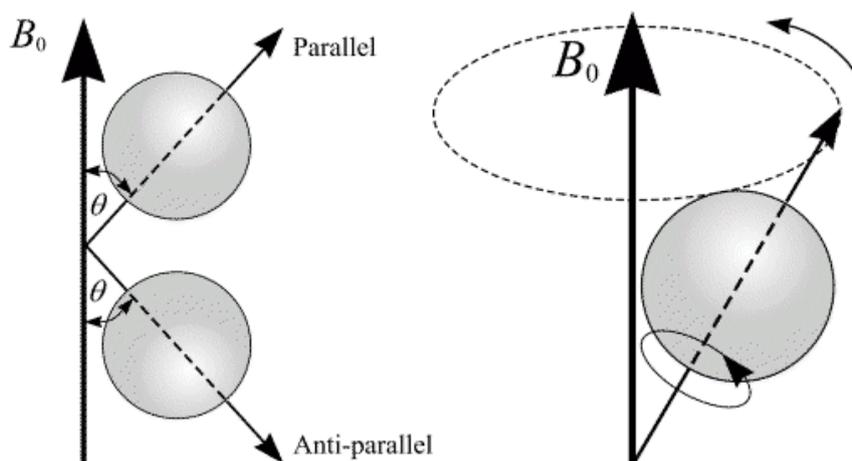


Figura 3.2: possibili orientamenti dei nuclei in presenza di campo magnetico

Il passaggio di un nucleo da una possibile orientazione all'altra è possibile tramite l'assorbimento (o l'emissione) di una quantità di energia pari a $E=h\nu=2\mu B$, dove h è la costante di Planck e ν è la frequenza della radiazione elettromagnetica assorbita.

Il segnale NMR di un certo nucleo risulta spostato nello spettro a frequenze più alte o più basse a seconda del suo intorno chimico. Questo accade perché gli elettroni sono particelle cariche e come tali, quando vengono immersi in un campo magnetico B_0 , si muovono e generano un piccolo campo magnetico opposto a quello molto più forte applicato. Questo campo magnetico secondario scherma il nucleo dalla piena forza del campo applicato. Tanto più grande è la densità elettronica, tanto maggiore sarà questa schermatura, così i nuclei che si trovano in un intorno ricco di elettroni, sentiranno un campo magnetico più basso e quindi subiranno la transizione ad una frequenza applicata più bassa rispetto ai nuclei situati in intorni poveri di elettroni.

Lo spostamento risultante nel segnale NMR per un dato nucleo è detto spostamento chimico e, in generale, protoni o carboni adiacenti ad atomi elettronegativi risultano deschermati quindi sentono un campo magnetico

applicato più intenso e subiscono transizione a frequenze maggiori e, nello spettro, si trovano ad uno spostamento chimico più alto. Lo spostamento chimico assoluto risulta tanto maggiore quanto più grande è il campo applicato, quindi strumenti diversi fornirebbero spostamenti chimici assoluti diversi in rapporto alla intensità del loro campo magnetico. Per questo si preferisce utilizzare lo spostamento chimico relativo δ definito dall'equazione:

$$\delta(ppm) = \frac{\nu_r - \nu}{\nu_r} * 10^6$$

Tipicamente per il nucleo dell'atomo ^1H e per gran parte delle molecole organiche δ è compreso nell'intervallo tra 0 e 10 ppm.

L'analisi sul nucleo ^{13}C è possibile ma vista la bassa quantità di tale isotopo presente in natura (il 99,89% è ^{12}C) solo pochi atomi di carbonio si orienteranno riducendo il rapporto segnale rumore.

In uno spettro ^1H -NMR, ad atomi di idrogeno con intorni chimici (reticoli) diversi corrispondono picchi diversi; considerando l'area sottesa da ogni picco, valutandola in termini relativi (in termini assoluti perde di valore dato che varia a seconda della concentrazione della soluzione) possiamo determinare il rapporto tra i vari tipi di atomi di idrogeno presenti. L'area di un picco è infatti indipendente dalla struttura a cui è legato l'atomo di idrogeno ma dipende solo dalla frequenza con cui tale atomo è ripetuto all'interno della molecola. Dividendo poi l'area di ogni picco per il numero di idrogeni a cui corrisponde, si ottengono valori perfettamente confrontabili con quelli dati dalla formula chimica del polimero analizzato. Gli spettri sono stati ottenuti usando uno spettrometro NMR Varian XL-400. Le soluzioni sono state preparate sciogliendo circa 10 mg di polimero in cloroformio deuterato (0.03%); come standard interno è stato utilizzato il tetrametilsilano. Gli spettri della spettroscopia ^1H -NMR sono stati acquisiti a temperatura ambiente con concentrazione dei polimeri pari al 0.5 wt%

(con tempo di rilassamento pari a 0 secondi, tempo di acquisizione di 1 secondo per 100 ripetizioni).

Gli spettri ^{13}C -NMR sono stati ottenuti utilizzando una concentrazione dei polimeri pari al 10 wt% (con tempo di rilassamento pari a 1 secondo, tempo di acquisizione di 1 secondo per 700 ripetizioni).

3.2.1.2 Cromatografia a permeazione su gel (GPC)

La cromatografia di permeazione su gel (GPC) è una tecnica di separazione fisica che consente di determinare la distribuzione di peso molecolare in un polimero. Il metodo di analisi dei campioni si basa sulla creazione di curve di taratura attraverso standard di polimeri a peso noto e ad una successiva analisi per il confronto.

Lo strumento è costituito da una pompa volumetrica, una colonna riempita di particelle porose (polistirene reticolato con divinilbenzene) ed un rivelatore, come illustrato in Figura 3.3.

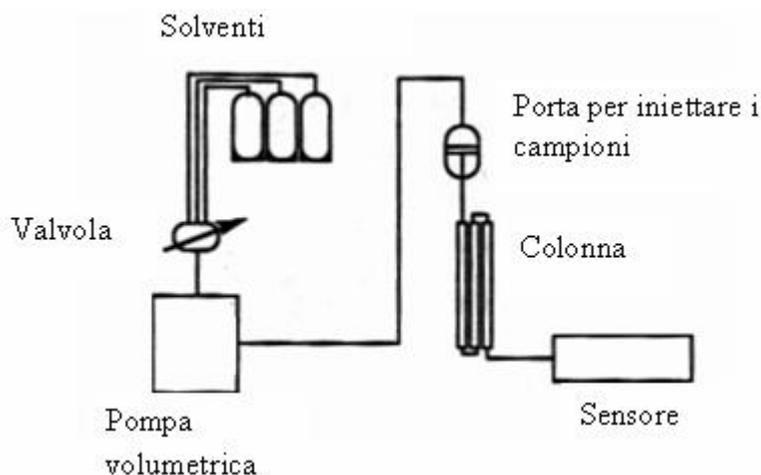


Figura 3.3: schematizzazione del cromatografo

La separazione dei diversi pesi molecolari è dovuta al fatto che le molecole più grandi non penetrano nei pori, limitandosi ad aggirare i corpi di

riempimento, le molecole più piccole invece riescono ad entrare nei pori, dove il liquido scorre più lentamente. Di conseguenza le molecole ad alto peso molecolare usciranno in tempi brevi, quelle a basso peso molecolare impiegheranno invece più tempo (Figura 3.4).

Durante la scansione in colonna viene fatto circolare un solvente con portata volumetrica costante. I campioni da analizzare vengono sciolti nello stesso solvente circolante in colonna, filtrati (attraverso l'utilizzo di un'apposita siringa al fine di eliminare eventuali particelle non solubili che potrebbero ostruire i pori) e quindi iniettati.

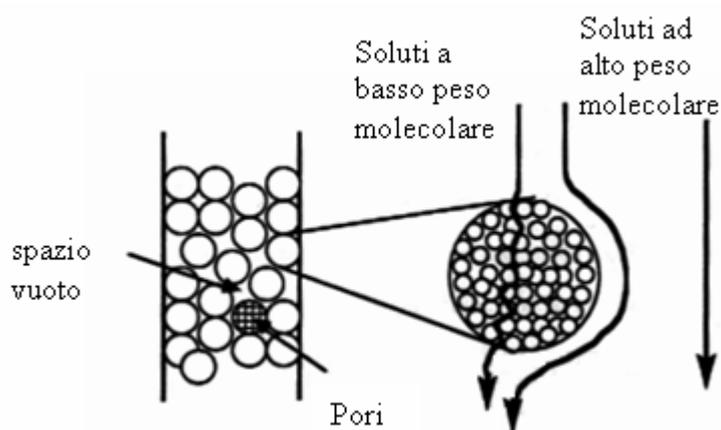


Figura 3.4: schematizzazione della separazione molecolare

La soluzione che esce dalla colonna viene analizzata da un sensore che fornisce, istante per istante, un segnale la cui intensità è proporzionale alla concentrazione del soluto. Il risultato dell'analisi è un grafico che riporta l'andamento dell'intensità del segnale in funzione del tempo. Per convertire i tempi in pesi molecolari ci si deve riferire alle curve di taratura, ottenute analizzando campioni standard di peso molecolare noto.

Le misure di GPC sono state ottenute a 30 °C con un cromatografo HP Series 1100 HPLC per mezzo di una colonna PL gel 5 μ Mini MIX-C (rapporto lunghezza/diametro in mm interno 250/4.6). I cromatogrammi sono stati registrati con HP Chemstation versione A.05.04 ed elaborati con

GPC Calculator 7.6 software sviluppato dalla General Electric Company. Come eluente è stato usato cloroformio (flusso in colonna 0.3 mL/min). Le soluzioni utilizzate erano tutte caratterizzate da una concentrazione di polimero pari a 2 mg/ml. Per costruire la curva di taratura sono stati impiegati vari standard di polistirene con peso molecolare variabile tra 2000 e 100000, usando una curva del terzo ordine.

3.2.2 Caratterizzazione Termica

3.2.2.1 Calorimetria differenziale a scansione (DSC)

La calorimetria differenziale a scansione è una tecnica usata per studiare le transizioni termiche dei materiali e determinarne le proprietà termodinamiche, in particolare temperatura di transizione vetrosa, punto di fusione e calore di fusione.

Il principio di base di questa tecnica consiste nel ricavare informazioni sul materiale riscaldandolo o raffreddandolo in maniera controllata. In particolare il DSC si basa sulla misura della differenza di flusso termico tra il campione in esame e uno di riferimento mentre i due sono vincolati ad una temperatura variabile definita da un programma prestabilito.

Le misure sono state condotte con un DSC7 Perkin-Elmer fornito di accessori per il raffreddamento al di sotto di 0 °C e calibrato con standard ad elevata purezza, quali indio e cicloesano. La strumentazione, schematizzata in Figura 3.5, consiste di due piatti dedicati all'alloggiamento di altrettante capsule, contenenti una il campione, in quantità di 10 mg, una il riferimento, nel nostro caso una capsula vuota. Le celle calorimetriche che contengono le capsule costituiscono

microcalorimetri, mantenuti in atmosfera di azoto inerte durante le misure. Le due celle sono sottoposte allo stesso programma termico: in assenza di transizioni di fase campione e riferimento sono alla stessa temperatura; al contrario, in caso di variazioni di fase, si crea uno squilibrio termico, che viene letto da termoresistenze. Queste consentono di controllare la potenza elettrica fornita ai microcalorimetri: tale flusso di energia è predisposto al fine di annullare la differenza di temperatura tra campione e riferimento. Il computer interfacciato allo strumento consente sia di impostare il programma, sia di rilevare ed elaborare i dati.

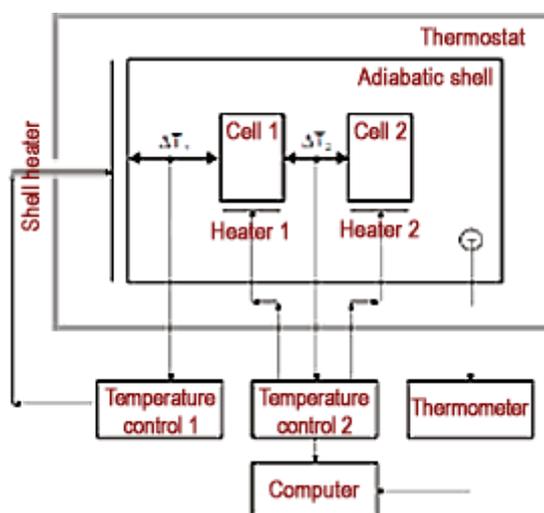


Figura 3.5: schematizzazione apparecchiatura dsc

La temperatura di transizione vetrosa (T_g) è un parametro, caratteristico dei solidi polimerici, rappresentante la soglia termica alla quale si verifica il passaggio dallo stato rigido-vetroso ad uno liquido viscoso/gommoso. Per un polimero amorfo il passaggio da stato vetroso a gommoso non avviene in modo netto, bensì si manifesta come una variazione endoderma della

linea di base; il valore di T_g è determinato in corrispondenza della metà della variazione di calore specifico associata alla transizione (Figura 3.6).

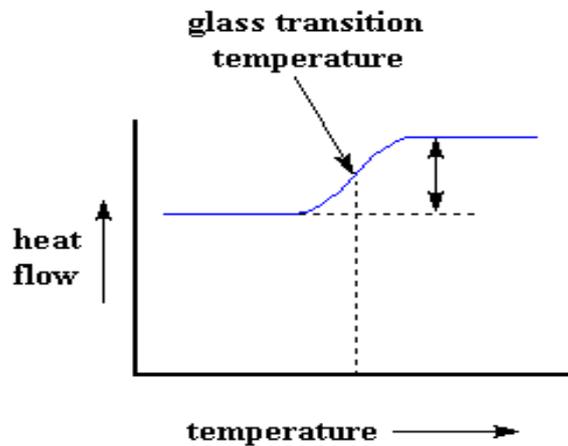


Figura 3.6: calcolo T_g

L'entità della variazione di calore specifico associato alla transizione vetrosa, proporzionale alla componente amorfa del materiale, è pari alla distanza verticale tra le linee di base estrapolate alla T_g :

$$\Delta cp = \Delta \left(\frac{dQ}{dT} \right) = \left(\frac{dQ}{dt} \right) \left(\frac{dT}{dt} \right)^{-1}$$

La temperatura di fusione (T_m) è la temperatura a cui avviene il passaggio da solido a liquido. Nel tracciato DSC si presenta come un picco endotermico.

Il valore della T_m si riferisce all'ascissa del picco, mentre l'area sottesa da esso corrisponde al calore di fusione ΔH_m [J/g] che è proporzionale alla cristallinità del polimero. Il rapporto tra quest'ultima grandezza ed il calore di fusione del polimero completamente cristallino costituisce il grado di cristallinità (Figura 3.7).

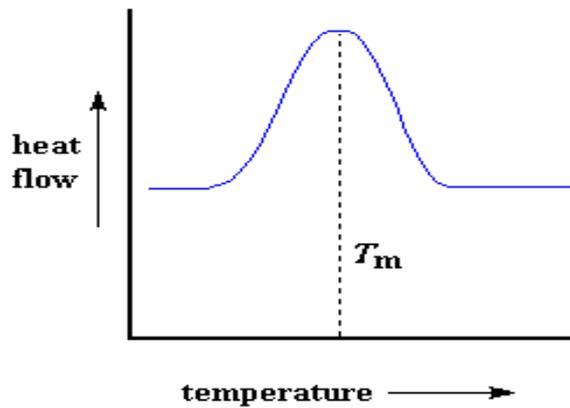


Figura 3.7: calcolo T_m

La procedura generale delle scansioni è stata la seguente:

1° scansione: riscaldamento ad una velocità di 20 °C/min da -65 °C a T_m+40 °C, isoterma di 3 minuti, raffreddamento rapido (100 °C/min) fino a -65 °C;

2° scansione: riscaldamento in analoghe condizioni di temperatura e velocità in seguito al raffreddamento veloce della fase precedente

3° scansione: analogo riscaldamento, seguito da un'isoterma, della durata di 3 minuti, e da raffreddamento, a 5 °C/min, fino ad una temperatura di -10 °C.

3.2.2.2 Termogravimetria (TGA)

L'analisi termogravimetrica di un campione permette di ottenere informazioni sia sulla cinetica del processo di decomposizione che sulla stabilità termica del materiale. Tali informazioni sono di fondamentale importanza per definire il valore di temperatura che non deve essere oltrepassato nel trattamento del polimero, per non incorrere nella sua degradazione. La tecnica consiste nella determinazione delle variazioni di peso del campione quando è sottoposto ad un graduale aumento di temperatura, in atmosfera controllata (N_2 , O_2 , aria). I cambiamenti di peso sono dovuti a perdite di sostanze volatili in seguito a processi fisici o chimici che modificano la natura del composto; nel caso dei polimeri i prodotti di decomposizione saranno CO_2 e acqua. La curva termogravimetrica per un polimero ha l'andamento tipico illustrato in Figura 3.8. Nella presente tesi verranno considerate la temperatura a cui corrisponde la perdita di peso pari al 5% ($T_{5\%loss}$) e la temperatura corrispondente alla massima velocità di perdita di peso (T_{max}).

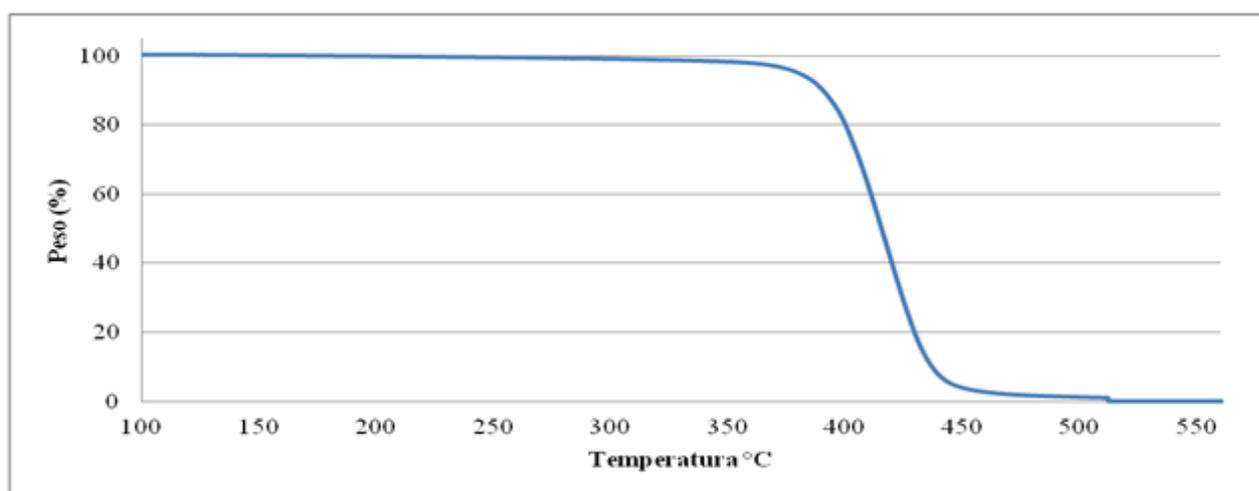


Figura 3.8: curva termogravimetrica

Le prove sono state condotte in atmosfera di azoto su campioni di 5 mg, riscaldati alla velocità di 10 °C/min nell'intervallo di temperature 60-850 °C, utilizzando la bilancia termogravimetrica PerkinElmer TGA 4000.

3.2.3 Raggi X

La diffrazione a raggi X è la principale tecnica utilizzata per determinare la struttura e il grado di cristallinità dei materiali. La cristallografia permette la determinazione della struttura, compresi distanza di legame, tipo di legame (semplice o multiplo), studi di transizione di fase e polimorfismo e possibili arrangiamenti spaziali.

Il principio di funzionamento di tale tecnica si basa sulla legge di Bragg (Figura 3.9):

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

che descrive l'interazione tra la radiazione incidente e il cristallo e permette, sotto le ipotesi di raggi paralleli e in fase di ricavare la distanza di legame d imponendo λ e misurando θ .

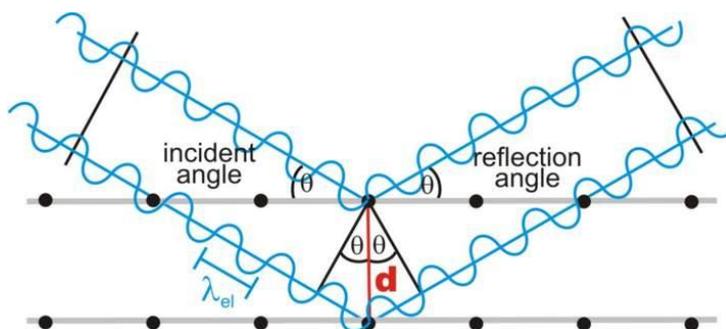


Figura 3.9: Legge di Bragg

I pattern di diffrazione a raggi X dei film polimerici sono stati effettuati utilizzando un diffrattometro PANalytical X'PertPro equipaggiato con un rivelatore allo stato solido X'Celerator che utilizza la lunghezza d'onda del rame ($\lambda = 0.15418$ nm). I dati sono stati acquisiti nell'intervallo 2θ da 5 a 60° con passo 0.10° . Gli indici di cristallinità χ_c sono stati calcolati in base ai profili XRD dal rapporto tra l'area di diffrazione cristallina (A_C) e l'area totale del profilo di diffrazione (A_T), $X_C = A_C / A_T$. L'area di diffrazione cristallina è stata ottenuta sottraendo all'area totale la parte amorfa, modellata come picco a campana sulla linea di base. Lo scattering non coerente è stato preso in considerazione.

3.2.4 Caratterizzazione Meccanica

Le misure di resistenza meccanica vengono utilizzate per studiare il comportamento dei materiali polimerici in presenza di sollecitazioni di diverso tipo.

Nelle prove tensili si definisce *stress* (tensione) il rapporto tra lo sforzo normale e l'area della sezione del provino a riposo:

$$\sigma = \frac{N}{A}$$

lo *strain* (deformazione) lo si definisce come l'allungamento del provino, rapportato alla lunghezza iniziale

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l}$$

Durante la prova si misura il valore dell'allungamento in funzione del carico applicato. I risultati vengono trasportati su un diagramma che presenta in ascissa ε e in ordinata σ , ottenendo la curva sforzo-

deformazione, caratteristica del materiale. Un andamento tipico è mostrato nella Figura 3.10.

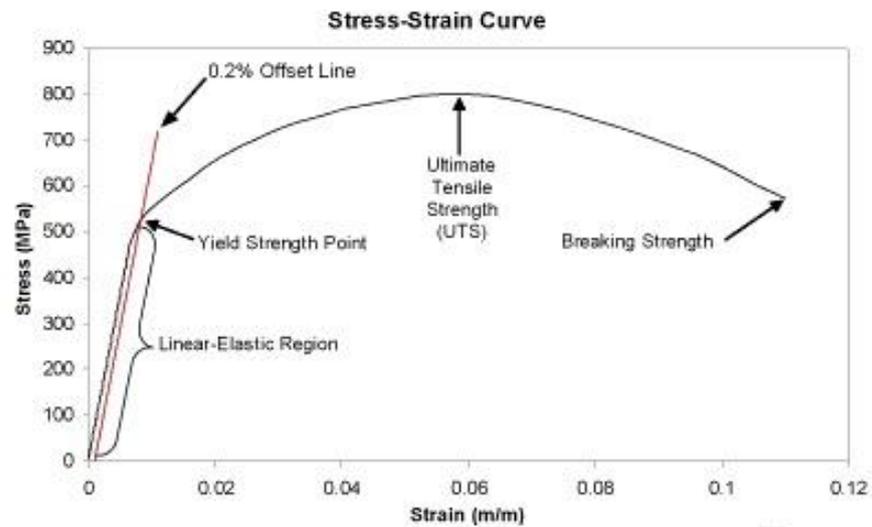


Figura 3.10: curva sforzo/deformazione

La prima parte di questa curva è sempre lineare: il materiale segue dunque, fino ad un certo carico, la legge di Hooke ($\sigma = E \cdot \varepsilon$) in cui la costante di proporzionalità E è il modulo elastico di Young, che corrisponde alla pendenza del tratto iniziale rettilineo della curva sforzo-deformazione.

All'aumentare della deformazione si arriva ad un punto, detto di snervamento, in cui la deformazione permane anche quando il carico è stato tolto, a causa dello scorrimento dei piani reticolari. Il materiale ha subito una deformazione permanente e si è entrati nel campo plastico.

Dall'area sottesa alla curva è possibile inoltre valutare la tenacità, che è una misura dell'energia necessaria per rompere il materiale.

E' necessario ricordare che i dati ottenuti risentono, oltre che del materiale utilizzato nel test, anche delle condizioni ambientali, quali temperatura e umidità, e delle condizioni sperimentali, come velocità di scorrimento, forma e dimensioni dei provini.

Le prove meccaniche sono state condotte utilizzando un dinamometro Instron 4465 con cella di carico 100 N. Lo strumento è costituito principalmente da una struttura rigida di base e una traversa mobile posta nella parte superiore. I polimeri, sotto forma di striscioline 5 x 40 mm vengono fissati tramite agganci, l'applicazione del carico è effettuata tramite il movimento verso l'alto della struttura superiore. La forza impressa è misurata dalla cella di carico, mentre l'allungamento viene determinato in base alla distanza percorsa dalla traversa mobile. Le prove sono state condotte a temperatura ambiente con velocità pari a 5 mm/min. Per ogni campione sono state effettuate misure su 5 provini diversi e il modulo elastico, calcolato dalla pendenza del tratto iniziale della curva sforzo-deformazione ottenuta, è stato riportato come valore medio delle 6 prove.

3.2.5 Misura dell'angolo di contatto

Le misure di angolo di contatto sono generalmente utilizzate per determinare la bagnabilità di una superficie. L'angolo di contatto è una grandezza termodinamica descritta dall'angolo formato dall'incontro di un solido con la tangente formata dal profilo della goccia del liquido nel punto di contatto (Figura 3.11).

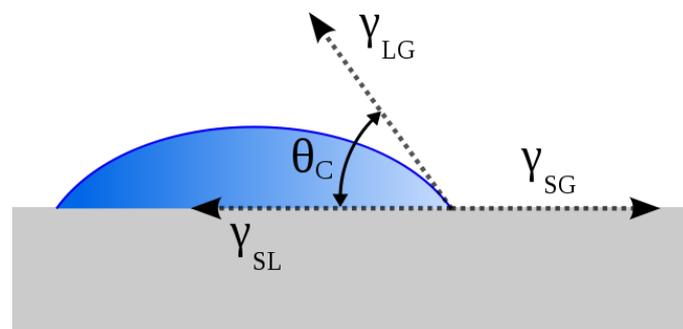


Figura 3.11: angolo di contatto

L'angolo di contatto, con queste ipotesi, corrisponde alla grandezza termodinamica che minimizza l'energia libera superficiale del sistema ed è fisicamente descritto dalla legge di Young, che corrisponde al bilancio delle forze orizzontali agenti su una goccia di volume trascurabile deposta su una superficie ideale.

$$0 = \gamma_{SV} - \gamma_{SL} - \gamma \cos \theta_C$$

Per convenzione si definiscono idrofobiche le superfici aventi un angolo di contatto con l'acqua maggiore di 90 gradi, idrofiliche le superfici con angoli minori di 90 gradi.

Le misure dell'angolo di contatto sono state effettuate mediante lo strumento Krüss DSA30S – Drop Shape Analysis. Questo è formato da un banco ottico costituito da una sorgente di luce ad intensità regolabile, un rivelatore costituito da una telecamera digitale dotata di zoom ottico e da un piatto portacampione mobile interposto tra le due. Sopra al portacampione è installato un sistema dosatore del liquido comandato elettronicamente. La telecamera è interfacciata con un software in grado di acquisire ed analizzare l'immagine.

Il software gestisce algoritmi che, tramite il calcolo ad approssimazioni successive, è in grado di ottenere il profilo della goccia che meglio si adatta al contorno reale ottenuto dall'immagine. Per ogni campione sono state depositate 5 gocce di 4 μL ciascuna, ad una velocità di 100 $\mu\text{L}/\text{min}$, in posti sempre diversi per evitare il contatto con superfici già bagnate. I dati di angolo di contatto per ogni provino sono espressi come valori medi \pm deviazione standard. Le prove sono state condotte alla temperatura di 25 °C in condizioni di umidità relativa pari al 38%.

Capitolo 4: risultati e discussione

4.1 Sintesi e caratterizzazione molecolare

Nella Parte Sperimentale sono riportate le condizioni di sintesi degli omopolimeri PBCE e PBDG e dei copolimeri P(BCE_xBDG_y).

A temperatura ambiente tutti i campioni sintetizzati si presentano come solidi semicristallini di colore giallo chiaro e presentano una buona solubilità nei più comuni solventi organici, come cloroformio, diclorometano e tetracloroetano.

I campioni oggetto della presente Tesi sono riportati in Tabella 4.1.

Tabella 4.1: Dati di caratterizzazione molecolare

Polimeri	M_n	D	PBDG (mol %) ¹H-NMR	L_{BCE}	L_{BDG}	b
<i>PBCE</i>	38500	2,0	0	/	/	/
<i>P(BCE90BDG10)</i>	31700	2,1	10,6	7,4	1,1	0,97
<i>P(BCE80BDG20)</i>	38700	2,3	18,1	5,5	1,2	1,07
<i>P(BCE70BDG30)</i>	32300	2,3	29,9	3,2	1,4	1,04
<i>P(BCE55BDG45)</i>	39000	2,2	45,2	2,1	2,0	0,98
<i>P(BCE40BDG60)</i>	33600	2,2	60,7	1,7	2,5	1,00
<i>P(BCE25BDG75)</i>	32000	2,1	72,9	1,4	3,6	1,02
<i>P(BCE5BDG95)</i>	31300	2,3	93,2	1,1	19,4	0,96
<i>PBDG</i>	46700	2,3	100	/	/	/

Come si può notare dalla Tabella, tutti i polimeri risultano caratterizzati da pesi molecolari elevati e confrontabili, e ciò indica un buon controllo del

processo di polimerizzazione; gli elevati pesi molecolari permettono anche di escludere un'influenza di M_n sulle proprietà termiche e meccaniche.

In tutti i casi gli spettri trovati hanno evidenziato una struttura chimica in accordo con quella prevista. La composizione dei copolimeri è stata calcolata considerando l'area del picco di risonanza dei protoni **1** della subunità cicloesandicarbossilica, collocata a 2.28 ppm, e dei protoni **5** dei gruppi metilenici della subunità diglicolica a 2,24 ppm. Dai dati in Tabella 4.1 si può notare come in tutti i casi la composizione molecolare è risultata praticamente analoga a quella di alimentazione.

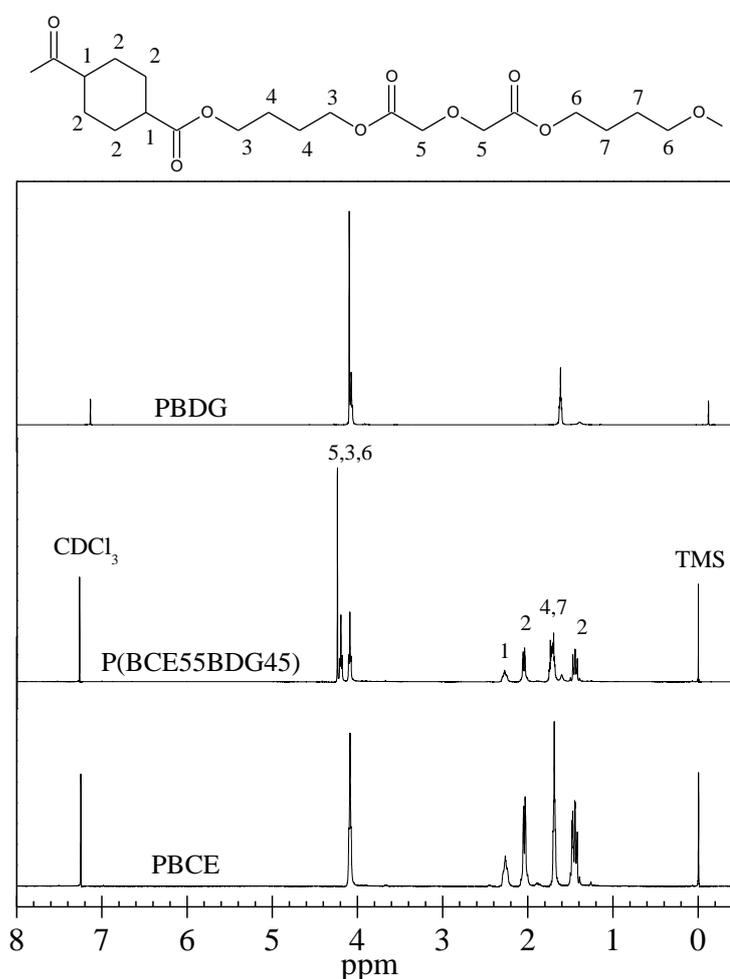


Figura 4.1: Spettro $^1\text{H-NMR}$ con relativa assegnazione dei picchi

Informazioni sulla disposizione delle unità comonomeriche in catena possono essere dedotte dal grado di statisticità b , determinato tramite spettroscopia ^{13}C -NMR. In particolare b assume valore uguale ad 1 per i copolimeri statistici, 2 per quelli alternati ed è compreso tra 0 e 1 per quelli a blocchi. Per il calcolo di b si è fatto riferimento ai picchi di risonanza dei carboni della subunità butandiolo (3 e 6) e può essere espresso come:

$$b = P_{CE-DG} + P_{DG-CE} \quad (1)$$

dove P_{CE-DG} e P_{DG-CE} corrispondono rispettivamente alla probabilità di trovare un'unità "cicloesandicarbossilica" accanto ad una "diglicolica" e alla probabilità di trovare un'unità "diglicolica" accanto ad una di "cicloesandicarbossilica". Tali probabilità possono essere espresse nella forma:

$$P_{CE-DG} = \frac{(I_{CE-DG} + I_{DG-CE})/2}{(I_{CE-DG} + I_{DG-CE})/2 + I_{CE-CE}} \quad (2)$$

$$P_{DG-CE} = \frac{(I_{DG-CE} + I_{CE-DG})/2}{(I_{DG-CE} + I_{CE-DG})/2 + I_{DG-DG}} \quad (3)$$

dove I_{CE-DG} , I_{DG-CE} , I_{CE-CE} e I_{DG-DG} sono le intensità integrate dei picchi di risonanza relativi rispettivamente alle sequenze CE-DG, DG-CE, CE-CE, e DG-DG.

La lunghezza dei blocchi è definita come:

$$L_{BS} = 1/P_{CE-D} \quad (4)$$

$$L_{BDG} = 1/P_{DG-CE} \quad (5)$$

La Tabella 4.1 riporta i valori di b ottenuti per tutti i campioni. Esso risulta circa 1, indicando che i copolimeri in esame sono effettivamente statistici. Tale risultato non sorprende considerate le elevate temperature di reazione

e l'impiego di $\text{Ti}(\text{OBu})_4$ come catalizzatore. E' ben noto, infatti, che tale catalizzatore favorisce le reazioni di transesterificazione.

I polimeri sono stati poi sottoposti al processo di pressofusione, ottenendo film di spessore compreso tra 0,24 e 0,34 mm. Prima delle successive caratterizzazioni i campioni sono stati mantenuti a temperatura ambiente sotto vuoto per 3 settimane in modo da consentirne la completa cristallizzazione e uniformare la storia termica.

4.2 Caratterizzazione Termica

La caratterizzazione dei copolimeri è proseguita sottoponendoli ad analisi termica e diffrattometrica:

- analisi termogravimetrica (TGA)
- calorimetria differenziale a scansione (DSC)
- diffrazione ai raggi X (WAXS)

I dati ottenuti sono raccolti in Tabella 4.2

Tabella 4.2: Dati di caratterizzazione termica

Polimeri	$T_{5\% \text{ w.loss}}$ (°C)	1 st scan		2 nd scan								
		T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	T_g (°C)	ΔC_p (J/°C g)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_m (°C)	ΔH_m (J/g)	T_{cc} (°C)	X_c	WCA (°)
<i>PBCE</i>	380	166	33	12	0,065	/	/	167	31	144	42 ± 3	110 ± 2
<i>P(BCE90BDG10)</i>	376	155	30	-1	0,062	/	/	155	29	135	43 ± 4	107 ± 1
<i>P(BCE80BDG20)</i>	371	141	25	-12	0,144	/	/	141	24	115	42 ± 3	96 ± 1
<i>P(BCE70BDG30)</i>	360	120	24	-15	0,237	/	/	121	22	97	39 ± 3	92 ± 2
<i>P(BCE55BDG45)</i>	353	93	17	-21	0,350	29	4	93	19	60	32 ± 3	87 ± 3
<i>P(BCE40BDG60)</i>	350	42	10	-25	0,511	/	/	/	/	/	19 ± 3	85 ± 1
<i>P(BCE25BDG75)</i>	347	40	20	-26	0,538	/	/	/	/	/	12 ± 2	82 ± 1
<i>P(BCE5BDG95)</i>	341	45	42	-27	0,640	/	/	/	/	/	31 ± 3	78 ± 2
<i>PBDG</i>	338	58	48	-27	0,678	/	/	/	/	/	38 ± 3	76 ± 2

Le prove termogravimetriche sono state condotte sotto atmosfera di azoto. Dalle curve termogravimetriche è stata determinata la temperatura corrispondente ad una perdita di peso del 5%, riportata in Tabella 4.2.

In tutti i casi la perdita di peso avviene in un unico stadio ed è pari al 100% (vedi Figura 4.2). Dalle curve termogravimetriche e dai dati riportati in tabella si osserva che il PBCE è significativamente più stabile rispetto al PBDG. Ciò non sorprende se si tiene conto che: *i)* l'introduzione di un eteroatomo lungo la catena di un poliestere alifatico riduce la stabilità termica di quest'ultimo, favorendo processi termoossidativi; *ii)* i poliesteri caratterizzati dalla presenza di anelli alifatici risultano addirittura più stabili del poliestere aromatico corrispondente, in questo caso poli(butilene tereftalato) (PBT).

Per quanto concerne i copolimeri P(BCE x BDG y), la stabilità termica, risulta dipendere dalla composizione, ed aumenta con il contenuto di unità BCE. E' comunque da segnalare il fatto che tutti i campioni esaminati sono

caratterizzati da una buona stabilità termica, come evidenziato dalle temperature corrispondenti ad una perdita di peso del 5%, $T_{5\%}$, che variano tra 338 e 380°C.

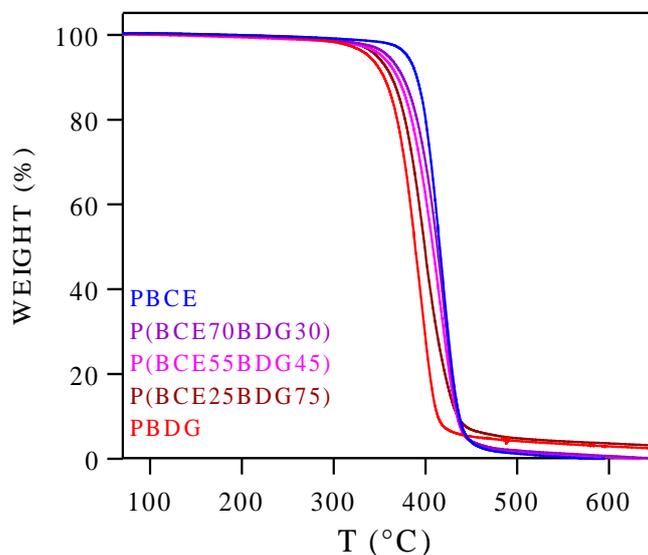


Figura 4.2: Curve TGA (in azoto, 10°C/min) per il PBCE, il PBDG e alcuni copolimeri P(BCE_xBDG_y)

Successivamente i campioni sono stati sottoposti a misure calorimetriche. Il peso molecolare elevato e comparabile di tutti i campioni in esame permette di escludere una sua influenza sulle proprietà termiche.

Le curve calorimetriche ottenute dalla prima scansione sono riportate nella figura 4.3, mentre i corrispondenti dati sono raccolti in tabella 4.2.

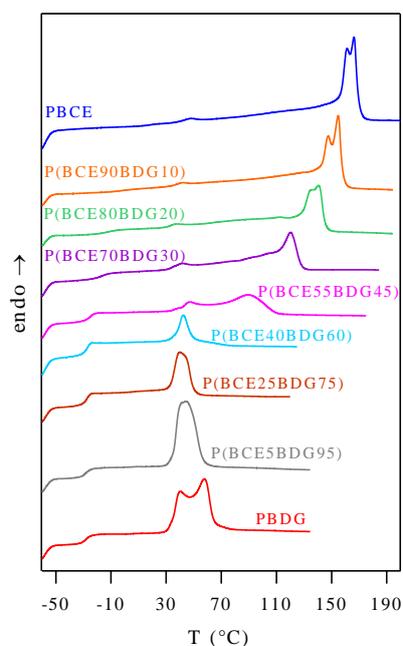


Figura 4.3: Curve calorimetriche del PBCE, PBDG e dei loro copolimeri statistici (prima scansione) P(BCE x BDG y).

Per quanto concerne gli omopolimeri, entrambi risultano semicristallini, come evidenziato dalla presenza di un cospicuo picco endotermico di fusione. Inoltre, entrambi gli omopolimeri sono caratterizzati da un picco di fusione multipla che può essere ricondotto a processi di fusione-recristallizzazione che avvengono durante la scansione calorimetrica. Come si può notare dalla Figura e dai dati riportati in Tabella 4.2, il PBDG fonde a temperature significativamente più basse del PBCE. La più alta temperatura di fusione di quest'ultimo è certamente da imputare alla presenza dell'anello alifatico che conferisce alla struttura una rigidità superiore rispetto a quella di una catena alifatica contenente gruppi metilenici. Nei copolimeri, la posizione del picco dipende dalla composizione; inoltre, i copolimeri mostrano un'endoterma di fusione più larga rispetto all'omopolimero di riferimento, e questo suggerisce la presenza di cristalliti con un'ampia distribuzione di gradi di perfezione. L'aumento della quantità di comonomero aggiunto alla catena di PBCE o

PBDG porta ad una riduzione del calore di fusione, indicando una diminuzione di cristallinità nei copolimeri rispetto agli omopolimeri. In tutti i campioni è presente il fenomeno della transizione vetrosa, che risulta tuttavia poco evidente nei casi in cui l'unità BCE sia superiore al 70% in moli, essendo questi ultimi molto cristallini.

Al fine di verificare la natura della fase cristallina presente nei copolimeri analizzati è stata eseguita l'analisi a raggi X. I diagrammi di diffrazione dei copolimeri statistici P(BCE x BDG y) sono riportati in Figura 4.4, insieme ai quelli di PBCE e PBDG per confronto. Come si può osservare dalla Figura, sono tipici dei materiali semicristallini avendo alcuni riflessi ben evidenti causati dalla parte ordinata del materiale sovrapposti ad una linea di base a campana dovuta al materiale amorfo. Relativamente ai copolimeri, i diagrammi di diffrazione sono caratterizzati da picchi relativamente intensi in tutto l'intervallo di composizione. Inoltre, considerando il profilo della curva di ogni campione, si può dedurre che in ognuno di essi è presente una sola fase cristallina. Gli spettri possono essere suddivisi in due gruppi, a seconda del contenuto di unità BCE: i campioni contenenti dal 40 al 90% in moli di unità BCE mostrano i quattro picchi principali caratteristici della fase del PBCE, agli angoli 2θ 15.0°, 18.1°, 20.7°, 22.6°, e pertanto la fase cristallina che si sviluppa in questi copolimeri è quella del PBCE. Invece, i copolimeri contenenti fino al 25% in moli di unità di BCE cristallizzano assumendo il reticolo del PBDG, caratterizzato da un picco molto intenso a 19.4°. La presenza di una piccola quantità di fase cristallina del PBDG nel campione P(BCE40BDG60) non può essere esclusa per via della presenza di un picco non trascurabile tra quelli a 18.1° e a 20.7°.

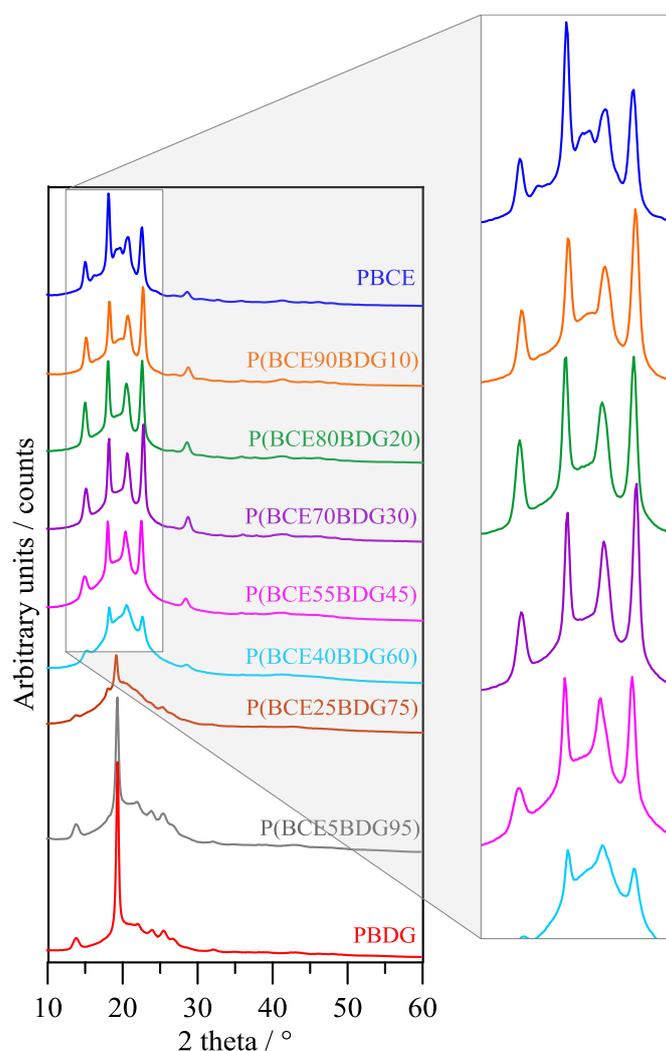


Figura 4.4: Diagrammi di diffrazione dei copolimeri statistici e di PBCE e PBDG. Porzione ingrandita dei diagrammi di diffrazione dei campioni caratterizzati dalla fase del PBCE.

Per quanto concerne il grado di cristallinità, nel caso dei copolimeri che cristallizzano nella fase del PBCE, questo diminuisce esclusivamente nei campioni contenenti quantità consistenti di unità BDG (superiori al 55%); nei copolimeri che sviluppano la fase cristallina del PBDG, invece, il grado di cristallinità diminuisce regolarmente all'aumentare del contenuto di co-unità BCE. Il risultato non sorprende considerato che la co-unità BCE presente nei copolimeri che cristallizzano nella fase PBDG è caratterizzata da elevata rigidità e ingombro sterico. In tutti i casi la posizione dei riflessi non risulta influenzata dalla composizione: ciò porta a ipotizzare la

completa esclusione della co-unità dal reticolo cristallino che si sviluppa. Anche tale risultato era alquanto prevedibile se si considera che le due unità comonomeriche hanno strutture chimiche significativamente diverse e i due omopolimeri sono caratterizzati da reticoli cristallini diversi.

Al fine di confermare i risultati dell'analisi a raggi X, è stata verificata l'applicabilità dell'equazione di Baur ai dati di T_m relativi ai copolimeri che cristallizzano nella fase del PBCE. Come evidenziato nella Figura 4.5 (a), la temperatura di fusione di tali copolimeri diminuisce regolarmente all'aumentare del contenuto di co-unità BDG. Come si può notare dalla figura 4.5 (b) che riporta $1/T_{m,co}$ in funzione della composizione, si ha un andamento lineare. Dalla pendenza e dall'ordinata all'origine della retta sono stati estrapolati la temperatura di fusione all'equilibrio e il calore di fusione per il PBCE, pari a 184 °C e 78 J/g, in accordo coi dati in letteratura. Tale risultato può essere considerato un'ulteriore prova della natura statistica dei copolimeri studiati, così come dell'esclusione delle co-unità BDG dal reticolo cristallino del PBCE.

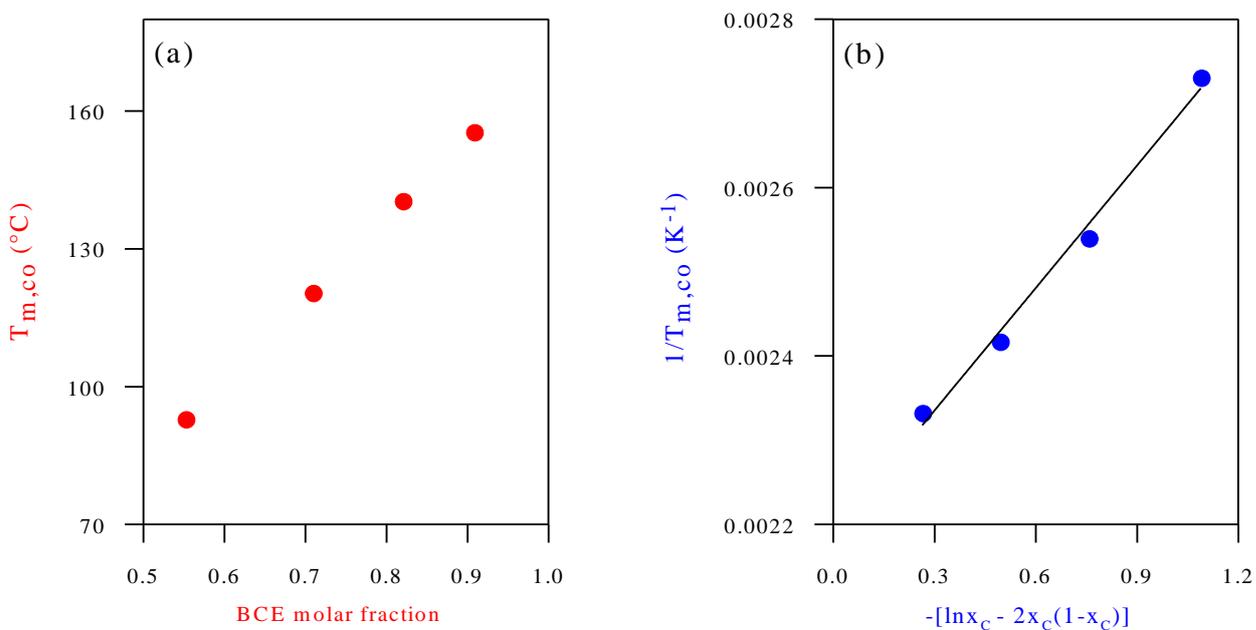


Figura 4.5: (a) Temperatura di fusione ($T_{m,co}$) dei copolimeri ricchi in unità BCE in funzione della composizione; (b) $1/T_{m,co}$ in funzione della composizione secondo l'equazione di Baur

In conclusione, si può affermare che i risultati ottenuti sono in perfetto accordo con quelli ottenuti dalle misure di diffrazione a raggi X.

Per confermare come la tendenza a cristallizzare del PBCE diminuisca in seguito all'inserimento in catena di co-unità di tipo diverso, sono stati condotti esperimenti di cristallizzazione in condizioni non isoterme.

Come riportato in letteratura, il tempo di semicristallizzazione ottenibile da misure di cinetica di cristallizzazione in condizioni isoterme è correlato alla temperatura corrispondente al massimo del picco di cristallizzazione (T_{cc}) ottenuto in condizioni non isoterme. I picchi esotermici dei campioni studiati sono riportati in figura 4.6.

Come si può notare nel riquadro, dove i valori di T_{cc} sono stati riportati in funzione della concentrazione di BDG, la temperatura corrispondente al massimo del picco di cristallizzazione esoterma diminuisce regolarmente all'aumentare del contenuto di tali co-unità.

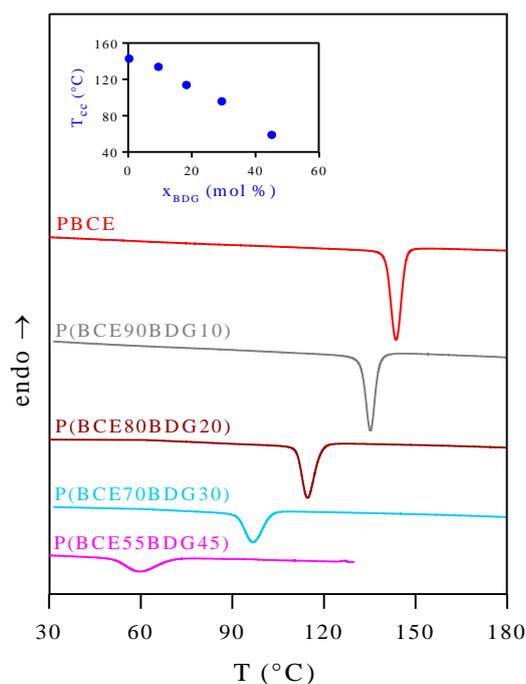


Figura 4.6: curve di cristallizzazione esoterma DSC del PBCE e dei copolimeri statistici raffreddati dal fuso a 5°C/min. In riquadro l'andamento della T_{cc} in funzione della concentrazione di BDG.

Il PBDG e i copolimeri che contengono dal 5 al 40% in moli di unità BCE non sono in grado di cristallizzare anche a velocità di raffreddamento molto basse (1°C/min). In particolare, una quantità di unità BDG del 60% (in moli) è sufficiente a deprimere completamente il processo di cristallizzazione del PBCE nelle condizioni sperimentali adottate. Inoltre, si può osservare che la velocità di cristallizzazione del PBCE diminuisce all'aumentare delle quantità di unità BDG: ciò può essere imputato alla presenza di tali unità che agiscono da ostacoli al regolare impacchettamento delle catene polimeriche del PBCE.

Come noto, il fenomeno della transizione vetrosa di un materiale parzialmente cristallino risulta diverso rispetto a quello del materiale analogo completamente amorfo. Sebbene sull'argomento in letteratura siano riportati risultati contrastanti, è comunemente accettato che la cristallinità agisca come punto di reticolazione in una struttura polimerica, riducendo perciò la mobilità delle catene amorphe e alzando quindi il valore

di T_g . Pertanto, nel caso dei copolimeri statistici, per studiare l'influenza della composizione sulla temperatura di transizione vetrosa, il fenomeno deve essere analizzato in assenza di cristallinità. Il rapido raffreddamento dallo stato fuso è il metodo comunemente utilizzato per evitare la cristallizzazione e ottenere polimeri completamente amorfi.

Le curve calorimetriche dei campioni sottoposti a tale trattamento sono riportate in figura 4.7.

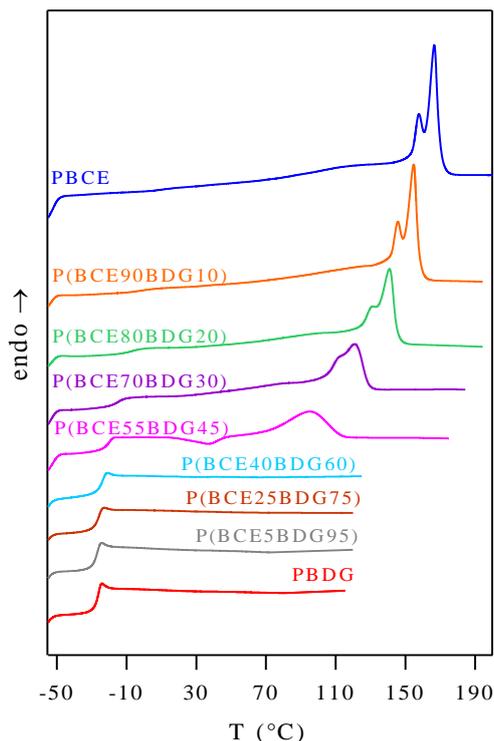


Figura 4.7: curve calorimetriche di PBCE, PBDG e dei copolimeri statistici dopo raffreddamento veloce dallo stato fuso.

Le curve calorimetriche del PBCE e dei copolimeri P(BCE x BDG y) contenenti fino al 30% in moli di unità BDG presentano una variazione endoterma della linea di base associata al fenomeno di transizione vetrosa seguita da un picco endotermico di fusione a più alta temperatura, indicando la natura semicristallina di questi campioni. Il P(BCE55BDG45) mostra una transizione vetrosa seguita da un picco esotermico e, a temperature più alte, da un picco endotermico. L'entalpia associata al fenomeno di cristallizzazione risulta inferiore rispetto a quello di fusione,

indicando che questo campione non può essere ottenuto, attraverso raffreddamento veloce, in uno stato completamente amorfo. La curva DSC del campione è dunque tipica di un polimero parzialmente cristallino. Per quanto riguarda le curve calorimetriche del PBDG puro e dei copolimeri che contengono più del 60% in moli di unità BDG, si osserva solo un'intensa deviazione endotermica della linea di base associata alla transizione vetrosa. Pertanto le curve DSC indicano un comportamento termico abbastanza diverso degli omopolimeri PBDG e PBCE: dopo un rapido raffreddamento il primo è completamente amorfo, mentre il secondo è parzialmente cristallino. Inoltre il comportamento di fase dei copolimeri P(BCE_xBDG_y) dipende dalla composizione: solo i campioni ad elevato contenuto di unità BCE (fino al 55% in moli) sono semicristallini dopo rapido raffreddamento dallo stato fuso.

Per quanto riguarda l'andamento della temperatura di transizione vetrosa in funzione della composizione, si può osservare che i valori di T_g diminuiscono all'aumentare del contenuto di unità BDG, data la maggiore flessibilità di queste ultime caratterizzate dalla presenza di gruppi metilenici rispetto alle unità BCE contenenti l'anello alifatico rigido.

4.3 Misure di bagnabilità

La misura dell'angolo di contatto fornisce informazioni sull'affinità di un materiale rispetto ad un solvente (in questo caso l'acqua). Per ogni goccia è stato misurato il valore dell'angolo 20 secondi dopo la sua deposizione. La tabella 4.2 riporta i valori per ciascun campione (calcolati sulla media di 5 gocce) con relativa deviazione standard.

Il PBCE è il materiale più idrofobico tra quelli esaminati con un angolo di contatto di 110°, il PBDG il più idrofilico con 76°, a causa della presenza

di ossigeni eteri che conferiscono polarità alla struttura. I copolimeri P(BCE_xBDG_y) in cui il contenuto delle unità BCE è maggiore del 70 % in moli possono considerarsi idrofobici ($WCA > 90^\circ$), mentre i restanti idrofilici. Si registra inoltre come al variare della composizione, più precisamente all'aumentare della quantità di unità BDG, l'angolo di contatto diminuisca regolarmente, consentendo una facile modulazione della bagnabilità dei materiali. I dati presentano deviazioni standard molto basse che confermano la validità delle misurazioni effettuate. Alcune gocce prese come campioni sono presentate in figura 4.8.

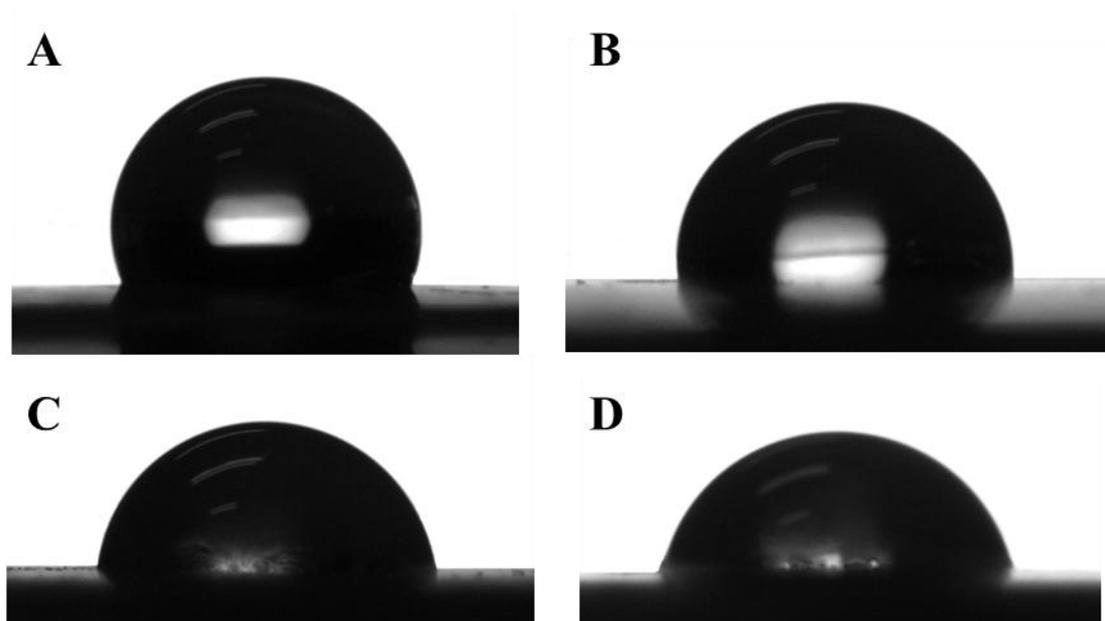


Figura 4.8: foto delle gocce depositate sui campioni A) PBCE, B) P(BCE70BDG30), C) P(BCE25BDG75), D) PBDG

4.4: Prove Meccaniche

Le proprietà meccaniche dei campioni in forma di film sono state studiate mediante misure sforzo-deformazione, applicando al provino una forza di trazione per deformare il provino stesso ad una velocità costante di 5 mm/min. La tabella 4.3 riporta i valori di modulo elastico (E), di sforzo a rottura σ_b e di deformazione a rottura ε_b dei campioni analizzati. Il valore di questi parametri è riportato come valore medio ricavato dall'analisi di 5 provini con relativa deviazione standard. L'istogramma in figura 4.9 riporta graficamente l'andamento di E e σ_b per i campioni oggetto della presente Tesi.

Tabella 4.3: Valori di modulo elastico, allungamento e sforzo a rottura per PBCE, PBDG e P(BCE \times BDG $_y$).

Polimero	E (MPa)	σ_b (MPa)	ε_b (%)
<i>PBCE</i>	459 \pm 11	33 \pm 1	31 \pm 11
<i>P(BCE91BDG9)</i>	358 \pm 22	28 \pm 2	40 \pm 5
<i>P(BCE82BDG18)</i>	286 \pm 21	19 \pm 4	375 \pm 45
<i>P(BCE71BDG29)</i>	192 \pm 10	15 \pm 3	458 \pm 8
<i>P(BCE55BDG45)</i>	81 \pm 5	7 \pm 1	536 \pm 32
<i>P(BCE39BDG61)</i>	13 \pm 1	2,6 \pm 0,5	635 \pm 23
<i>P(BCE26BDG74)</i>	15 \pm 4	2,1 \pm 0,7	649 \pm 15
<i>P(BCE6BDG94)</i>	123 \pm 13	21 \pm 3	538 \pm 43
<i>PBDG</i>	147 \pm 21	23 \pm 2	427 \pm 33

Dall'esame delle curve e dai dati riportati in tabella si evidenzia come l'omopolimero PBCE sia il più rigido tra i polimeri presi in esame in questa

tesi, con un modulo elastico di 459 MPa. L'omopolimero PBDG mostra invece un comportamento molto più elastico con un valore di E di 147 MPa, benché il grado di cristallinità sia molto simile a quello del PBCE. Per i copolimeri il valore di E diminuisce regolarmente al diminuire dell'unità BCE, fino ad un minimo relativo al campione P(BCE40BDG60) per poi risalire verso i valori del PBDG. La deformazione a rottura assume un comportamento opposto, con allungamenti che vanno dal 31% del PBCE ad un massimo di 649% per il P(BCE25BDG75). I provini più rigidi si sono dimostrati anche i più fragili, quelli più elastici più duttili.

Le prove meccaniche di trazione hanno dimostrato come l'introduzione di unità BDG all'interno della catena di PBCE cambi in maniera significativa le proprietà meccaniche del copolimero risultante. Il comportamento meccanico dei materiali in esame è certamente da mettere in relazione con: *i*) la quantità di fase cristallina presente (è noto infatti che le proprietà meccaniche dipendono fortemente dalla morfologia del materiale, intesa come quantità relativa di fase cristallina e di fase amorfa), *ii*) flessibilità della catena.

Tutti i materiali analizzati presentano una fase amorfa mobile ($T_g <$ temperatura ambiente), che conferisce elasticità alla catena e la capacità di deformarsi facilmente, ed una fase cristallina che invece conferisce rigidità alla catena. Tuttavia, anche la flessibilità della catena gioca un ruolo importante: infatti il PBDG, benché caratterizzato da una cristallinità di poco inferiore a quella del PBCE, presenta un modulo elastico che un 1/3 di quello del PBCE. Il diverso comportamento meccanico riscontrato per i vari copolimeri può essere spiegato anch'esso sulla base dei due fattori sopracitati: flessibilità di catena e cristallinità. La diminuzione del modulo elastico riscontrata nei copolimeri contenenti sino al 70% in moli di unità BCE, è ascrivibile ad un aumento di flessibilità delle catene

macromolecolari dovuta alla presenza di quantità crescenti di co-unità BDG molto flessibili; negli altri casi il comportamento meccanico può essere invece facilmente spiegato sulla base della minore cristallinità presente nei copolimeri. Inoltre, è da sottolineare che i copolimeri con un contenuto di unità BDG che vanno dal 30% al 60% in moli, sono caratterizzati da un comportamento elastomerico, che è particolarmente importante nel contesto delle applicazioni di ingegneria dei tessuti molli. Come evidenziato per un sistema precedentemente studiato dal gruppo di ricerca presso cui è stata condotta la presente Tesi, la realizzazione di una matrice tridimensionale mediante tecnica di elettrofilatura (scaffold) consentirà di abbassare ulteriormente e significativamente il modulo elastico dei campioni.

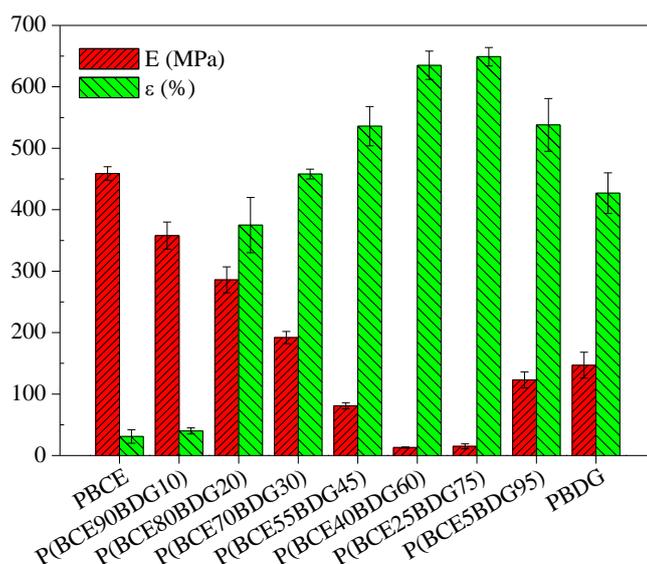


Figura 4.9 : andamento di modulo elastico e deformazione a rottura al variare della composizione dei copolimeri.

Capitolo 5: Conclusioni e prospettive future

Come già più volte sottolineato nella presente tesi, i materiali polimerici hanno un ruolo di grande importanza nel settore dei biomateriali per applicazioni mediche, in particolare nei campi dell'ingegneria tissutale e *controlled drug delivery*. La classe di polimeri che si è rivelata più interessante per queste applicazioni è quella dei poliesteri alifatici, ma fino ad oggi la *Food and Drug Administration* (FDA) ha consentito l'uso dei soli PLA e PGA per la creazione di dispositivi medici impiantabili nel corpo umano. La sintesi di sistemi a base di nuovi poliesteri alifatici, i cui prodotti di degradazione non risultino tossici per l'organismo, può aprire nuove prospettive negli ambiti sopracitati.

L'obiettivo del presente lavoro di ricerca è stato lo sviluppo di materiali polimerici innovativi in grado di replicare le già ottime proprietà dei poliesteri aromatici, eliminando al contempo la componente tossica costituita dall'anello benzenico: in quest'ambito il PBCE si è rivelato un'ottimo punto di partenza; la sua successiva modifica, tramite copolimerizzazione con l'acido diglicolico (DGA), scelto per la presenza di un atomo di ossigeno etero, ha consentito di modularne e migliorarne le caratteristiche chimico/fisiche e meccaniche, ottenendo:

- 1) abbassamento della temperatura di fusione causato dalla presenza dell'unità comonomerica;
- 2) variazione controllata del rapporto cristallino/amorfo legato al rigetto nella fase amorfa dell'unità comonomerica;
- 3) diminuzione controllata del modulo elastico e incremento dell'allungamento a rottura, fino ad ottenere un comportamento elastomerico, a seconda del contenuto di atomi di ossigeno etero;

- 4) modulazione della bagnabilità dei campioni grazie alla quantità variabile di ossigeno etero che conferisce maggiore polarità alla molecola.

Tutto ciò ha consentito di superare i limiti di fragilità e idrofobicità dell'omopolimero, rendendolo adatto per applicazioni biomedicali.

Sono tutt'ora in corso test di biodegradazione sia idrolitici sia enzimatici, che stanno evidenziando come, mediante l'introduzione di quantità variabili di DGA, si riesca facilmente ad accelerare modulandolo a piacere il processo di degradazione del PBCE.

La strategia adottata si è rivelata dunque vincente; sono però necessari studi più approfonditi per confermare i risultati ottenuti e acquisire informazioni su altri aspetti fondamentali prima di poter procedere con applicazioni in vivo.

Occorre dunque effettuare:

- test di resistenza a fatica per verificare l'affidabilità meccanica attraverso sollecitazioni cicliche e durature;
- valutazione della biocompatibilità attraverso test classici di citotossicità diretta ed indiretta;
- test di rilascio di una molecola modello (*fluorescein isothiocyanate*, FITC) per lo studio dei profili di diffusione e rilascio di principi attivi;
- realizzazione di micro/nano capsule per impieghi nel rilascio controllato di farmaci e loro caratterizzazione;
- fabbricazione di nuovi *scaffold* biomimetici nanofibrosi a morfologia controllata (intesa come dimensione e orientazione delle fibre) mediante la tecnica dell'elettrofilatura e caratterizzazione delle loro proprietà, con particolare attenzione verso quelle meccaniche;
- studio dell'effetto di sollecitazioni meccaniche applicate agli scaffold sul differenziamento di cellule staminali pluripotenti indotte (iPSs).