

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
CAMPUS DI CESENA
SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**Sintesi e caratterizzazione di nuovi copoliesteri alifatici
multiblocco per applicazioni biomedicali**

Elaborato in:

FONDAMENTI DI CHIMICA

Relatore:
Chiar.ma Prof.ssa Nadia Lotti

Presentata da:
Federico Biordi

Correlatori:
Ing. Matteo Gigli
Dott.ssa Martina Fabbri

Sessione II
Anno Accademico 2012-2013

Indice

Capitolo 1: Introduzione	1
1.1 Biomateriali	1
1.1.1 Definizione	1
1.1.2 Classificazione	2
1.2 Materiali Polimerici e Copolimeri	6
1.2.1 Definizione	6
1.2.2 Struttura	6
1.2.3 Cristallinità	9
1.2.4 Proprietà termiche	10
1.2.5 Massa e peso molecolare	11
1.2.6 Reazioni polimeriche	13
1.2.7 Processi tecnologici dei polimeri	15
1.2.8 Degradazione	16
1.2.9 Classi di polimeri	17
1.2.10 Copolimeri	21
<i>Generalità</i>	21
<i>Classificazione</i>	22
<i>Copolimeri statistici</i>	23
1.3 Poliesteri Alifatici	26
1.3.1 Generalità	26
1.3.2 Sintesi	27
1.3.3 Proprietà	28
1.3.4 Degradazione	28
1.3.5 Poliesteri alifatici per uso biomedico	29
1.4 Ingegneria Tissutale	31
1.4.1 Introduzione all'ingegneria tissutale	31
1.4.2 Scaffold	34
1.4.3 Distribuzione dei segnali in ingegneria tissutale	35
1.4.4 Il ruolo dei materiali polimerici nell'ingegneria tissutale	36

1.5	Sistemi a rilascio controllato di farmaci	37
1.5.1	Introduzione	37
1.5.2	Meccanismi di rilascio controllato	39
1.5.3	Sistemi a rilascio controllato	40
Capitolo 2: Scopo della tesi		42
Capitolo 3: Materiali e metodi		44
3.1	Sintesi di polimeri OH-terminati e copolimeri ad elevato peso molecolare	44
3.1.1	Sintesi di poli (butilene succinato) (PBS) a basso peso molecolare	44
3.1.2	Sintesi di poli (butilene adipato/diglicolato) (P(BAmBDGn)) a basso peso molecolare	45
3.1.3	Purificazione	47
3.1.4	Sintesi dei copolimeri poli (butilene succinato) <i>-block-</i> poli (butilene adipato/diglicolato) $PBS_xP(BAmBDGn)_y$	48
3.2	Caratterizzazione molecolare	49
3.2.1	Titolazione	49
3.2.2	Risonanza magnetica nucleare (NMR)	50
3.2.3	Cromatografia a permeazione su gel (GPC)	54
3.3	Realizzazione di film per pressofusione	56
3.4	Caratterizzazione termica	57
3.4.1	Calorimetria differenziale a scansione (DSC)	57
3.4.2	Analisi Termogravimetrica (TGA)	60
3.5	Analisi Difrattometrica a Raggi X (XRD)	61
3.6	Misura dell'angolo di contatto (WCA)	63
3.7	Caratterizzazione meccanica	64
3.8	Degradazione idrolitica	66
Capitolo 4: Risultati e discussione		67
4.1	Caratterizzazione dei polimeri a basso peso molecolare	67
4.1.1	Caratterizzazione molecolare	67
4.1.2	Caratterizzazione termica	69

4.2	Caratterizzazione dei polimeri ottenuti per estensione di catena	70
4.2.1	Caratterizzazione molecolare	70
4.2.2	Caratterizzazione termica	72
4.2.3	Caratterizzazione meccanica	78
4.3	Misure di bagnabilità	79
4.4	Degradazione idrolitica	80
Capitolo 5: Conclusioni		84
Bibliografia		86
Ringraziamenti		87

INTRODUZIONE

1.1 Biomateriali

La medicina e la chirurgia ricorrono sempre più spesso all'utilizzo di materiali estranei all'organismo al fine di porre rimedio, in via provvisoria o definitiva, al deficit di una funzione anatomica o fisiologica. In quest'ottica, negli ultimi decenni sono stati destinati ingenti investimenti alla ricerca di nuovi biomateriali, caratterizzati da prestazioni specifiche e mirate, tali da soddisfare le singole esigenze legate alle numerose patologie che colpiscono i tessuti naturali.

1.1.1 Definizione

Si definisce materiale una sostanza fisica, generalmente solida, manipolata e/o usata dall'uomo per la realizzazione di specifici manufatti non soggetti a significative trasformazioni durante l'uso. Un "biomateriale" è utilizzato per costruire manufatti in grado di sostituire parti del corpo umano. Per giungere ad un definizione il più possibile corretta della parola "biomateriale" si è tenuta presso l'NIH (*National Institute of Health*, Bethesda, USA) nel novembre 1982 la *Consensus Development Conference on the Clinical Application of Biomaterials* durante la quale è stata elaborata la seguente definizione:

“Ogni sostanza o combinazione di sostanze, diversa da un farmaco, di origine sintetica o naturale, che può essere impiegata per qualsiasi periodo di tempo, da solo o come parte di un sistema che tratta, aumenta o sostituisce un qualsiasi tessuto, organo o funzione del corpo”.

Tale definizione è sicuramente troppo generica, in quanto comprende tessuti e organi trapiantati, ma anche materiali utilizzati per la realizzazione di parti di apparecchiature biomediche che non vengono impiegate in diretto contatto con il corpo umano.

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”.

Per lo studio dei biomateriali è importante garantire la compatibilità dei prodotti con le funzioni e le prestazioni attese dal punto di vista biologico, chimico e meccanico. Devono essere perciò identificati precisi standard di minimo che tengano conto della resistenza alla fatica del materiale, della tossicità propria e degli eventuali prodotti di degradazione in ambiente biologico. La compatibilità può essere suddivisa in tre aspetti principali:

- **Compatibilità morfologica:** riguarda le interfacce dimensionali, di forma e di massa.
- **Compatibilità funzionale:** riguarda il comportamento della protesi o dall'organo artificiale rispetto al ruolo atteso. Infatti, non sempre il dispositivo artificiale si comporta esattamente come l'originale naturale che deve sostituire.
- **Compatibilità biologica o biocompatibilità:** riguarda tutti gli aspetti di natura chimica e biologica che possono indurre alterazioni dannose sia per i tessuti naturali, sia per i materiali impiegati nella costruzione di dispositivi a contatto con tali tessuti.

Affinché un dispositivo sia biocompatibile è necessario, ma non sufficiente, che il materiale con cui è costruito sia esso stesso biocompatibile. La compatibilità è quindi un insieme di proprietà che sono legate all'interazione fra dispositivo e organismo. Quest'ultima è di tipo dinamico, in quanto l'organismo evolve nel tempo.

La compatibilità nel suo complesso conduce al problema dell'affidabilità. E', infatti, indispensabile che un dispositivo biomedico sia affidabile, in quanto molte volte la sua manutenzione o riparazione è pressoché impossibile.

1.1.2 Classificazione

I biomateriali possono essere classificati in base a:

- effetti prodotti sul materiale (biostabili e biodegradabili);
- interazione materiale/organismo (biotossici, bioinerti, bioattivi e bioassorbibili);
- natura chimica (metallici, ceramici, biologici, compositi e polimerici).

Si prende in considerazione quest'ultima classificazione:

- 1) **Materiali Metallici:** impiegati per dispositivi biomedici, trovano applicazione anche nella fabbricazione di strumenti chirurgici, protesi ortopediche, dentali e mezzi di osteosintesi (Figura 1.1). Grazie alle loro proprietà biomeccaniche, quali elevato modulo elastico, resistenza allo snervamento, duttilità ed alta resistenza alla fatica, si adattano bene alla sostituzione di tessuti duri quali ossa e denti, prevenendo la fragilità

e garantendo quelle performance meccaniche che costituiscono un requisito primario di strutturazione. Alcuni esempi di materiali metallici impiegati sono ferro, cromo, cobalto, nichel, titanio, tantalio, tungsteno e molibdeno. Data la tossicità di alcuni, dovuta alla loro corrosione in ambienti fisiologici (acquoso e altamente aggressivo) con conseguente perdita di materiale, sono state progettate diverse leghe in grado di rallentare i processi degradativi.



(immagine concessa da Lima-Lto SpA)

Figura 1.1 Protesi d'anca fatta in ACCIAIO, TITANIO, IDROSSIAPATITE e VHDPE

- 2) **Materiali Ceramici:** sono composti inorganici che contengono elementi sia metallici che non metallici e possono esistere in forma cristallina o vetrosa, con legami di diversa natura che vanno dal covalente allo ionico. Alcuni esempi sono gli ossidi come allumina, silice, ossido di magnesio e di titanio ed i sali ionici come cloruro di sodio, cloruro di cesio e solfuro di zinco. Altri materiali 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 conferisce loro ottime proprietà di resistenza al calore e all'attacco degli agenti chimici, nonché di isolamento elettrico e termico e di buona resistenza ai carichi di compressione, per quanto siano caratterizzati da fragilità. Nonostante l'elevata inerzia chimica, alcuni trattamenti meccanici di superficie possono conferire a questi materiali caratteristiche di bioattività. I principali usi in medicina coinvolgono la realizzazione di dispositivi per la sostituzione funzionale di tessuti duri in ambito ortopedico nella realizzazione di protesi, odontoiatrico per quanto riguarda impianti dentali (Figura 1.2), otorinolaringoiatra per la sostituzione degli ossicini dell'orecchio interno.



Figura1.2 Capsule dentarie in materiale ceramico

- 3) **Materiali Biologici:** sono prodotti da un sistema biologico. Il loro uso per scopi ingegneristici è fortemente limitato ed avviene solo dopo l'eliminazione delle tracce cellulari responsabili della vitalità del materiale.

In campo biomedico, si intende sia il materiale di cui sono fatti i tessuti e gli organi che devono essere sostituiti, sia i materiali con cui si interfacciano. Si distinguono dalle altre classi poiché sono viventi, cioè costituiti da cellule che nel loro ciclo vitale consentono la continua ricostruzione dei tessuti stessi. Di particolare importanza sono i tessuti connettivi, che comprendono ossa, cartilagine, sangue, endoteli e linfa.

Recentemente si è sviluppato un crescente interesse nell'uso del collagene e dei tessuti ricchi di collagene per la fabbricazione di dispositivi medici, quali protesi o strutture impiantabili (Figura 1.3).

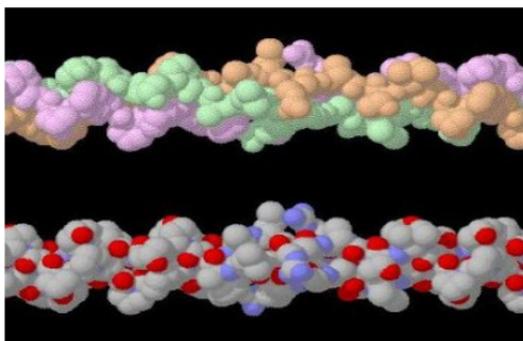


Figura1.3 Fibre di collagene

- 4) **Materiali compositi:** possiedono proprietà modulabili in ragione della destinazione d'uso e nei quali la distinzione di fase è percettibile solo su scala microscopica. I singoli costituenti, a seconda della loro funzione, prendono il

nome di matrice e rinforzo; la prima è costituita da una fase continua e omogenea con il compito di racchiudere il rinforzo garantendone la giusta dispersione all'interno del composito, mentre il secondo, che si presenta in fase dispersa, ha la funzione di assicurare rigidità e resistenza meccanica, assumendo su di sé la maggior parte del carico esterno. La presenza di peculiarità non ottenibili mediante l'uso di materiali omogenei ne determina l'adozione in applicazioni specifiche, quali rivestimenti in carbonio (per aumentare la biocompatibilità di impianti meccanici), rinforzi (per potenziare le proprietà meccaniche dei polimeri), riempimenti di cavità dentali in odontoiatria e rinforzi per il cemento osseo.

Per concludere, in Tabella 1.1 sono riportati i campi di maggiore applicazione.

Tabella 1.1 Classi di materiali impiegati nel settore biomedico

Materiali	Vantaggi	Svantaggi	Campi d'applicazione
Biologici vene, pericardio, valvole cardiache	Ottima biocompatibilità	Scarsa affidabilità, difficoltà di trattamento e conservazione	Protesi vascolari e valvolari, rivestimenti
Ceramici ossidi di alluminio, alluminati di Calcio, ossidi di Titanio, Carbonio	Buona biocompatibilità, inerzia chimica, resistenza alla compressione ed alla corrosione	Bassa affidabilità meccanica, fragilità, difficile lavorabilità	Protesi d'anca e dentali, dispositivi percutanei
Compositi metalli rivestiti con ceramici, matrici rinforzate con fibre	Buona biocompatibilità, inerzia chimica, buone caratteristiche meccaniche, resistenza alla corrosione	Scarsa coesione tra i componenti, difficile lavorabilità	Protesi valvolari cardiache, protesi di ginocchio
Metalli acciai, Titanio e leghe, leghe di Cobalto	Elevate caratteristiche meccaniche e resistenza alla corrosione	Scarsa biocompatibilità, rigidità, alta densità e corrosione in ambiente biologico	Mezzi di osteosintesi, protesi per ortopedia ed odontoiatria
Polimeri siliconi, poliuretani, polietilene, acrilati, fluorurati, poliesteri	Tenaci, bassa densità, facile lavorabilità	Bassa resistenza meccanica, degradazione nel tempo	Suture, cateteri, drenaggi, protesi cardiovascolari, cementi per ossa

1.2 Materiali polimerici e Copolimeri

1.2.1 Definizione

I polimeri sono macromolecole formate dalle ripetizione di unità strutturali dette monomeri, che si uniscono tra di loro a formare lunghe catene. Non c'è un metodo per determinare il valore limite del numero di segmenti in una molecola prima che possa essere classificata come polimero, poiché le unità strutturali 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 le molecole con un massimo di 1500 unità ripetenti, da 1500 a 5000 si parla 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 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 applicativo una scarsa resistenza alle alte temperature e difficoltà nella trasmettere dei carichi.

1.2.2 Struttura

La formazione spaziale dei polimeri varia molto a seconda di come sono legate le molecole, e questo comporta anche una variazione delle loro proprietà. Composti chimici che presentano identica composizione (stessa formula bruta) ma diversa struttura spaziale e quindi diverse proprietà, vengono detti stereoisomeri o isomeri strutturali. L'isomeria è una vasta disciplina della chimica organica e per chiarire il concetto facciamo riferimento alla Figura 1.4.

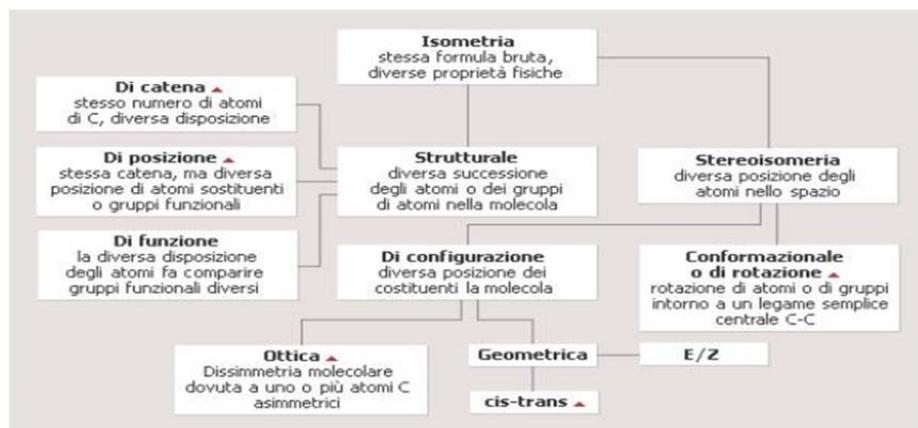


Figura1.4 Vari casi di isomeria

Gli studi fatti sui polimeri portano a definire 4 tipi di strutture:

- **Lineare:** le molecole di monomero si susseguono l'una all'altra formando lunghe catene polimeriche lineari. Ogni monomero risulta unito ad altre due molecole, formando così macromolecole lineari filiformi ciascuna ben distinta dalle altre (Figura 1.5). I legami che intercorrono sono di tipo debole (dipolo-dipolo, Van der Waals, idrogeno).



Figura1.5 Struttura lineare

- **Ramificata:** la struttura del polimero finale manifesta delle ramificazioni, cioè le unità monomeriche si diramano anche in catene lineari dalla catena principale (Figura 1.6).

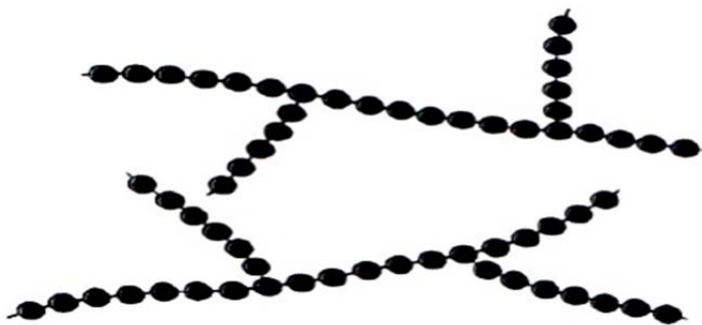


Figura 1.6 Struttura ramificata

- **Struttura a legami trasversali o intermolecolare:** le molecole di polimero risultano tra loro unite da catene trasversali, generando così una struttura tridimensionale. Il polimero può risultare formato da un'unica grande molecola derivata dall'unione delle sue macromolecole grazie a queste catene (Figura 1.7).

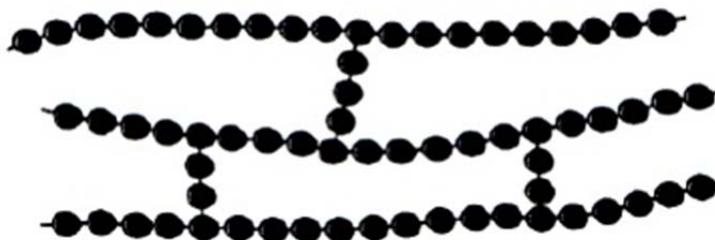


Figura 1.7 Struttura a legami trasversali o intermolecolari

- **Reticolata:** qui le unità monomeriche trifunzionali presentano tre legami covalenti attivi che formano reti tridimensionali (Figura 1.8). Questi materiali hanno proprietà meccaniche e termiche caratteristiche, e tra essi vi sono resine epossidiche e le fenolo-formaldeide.

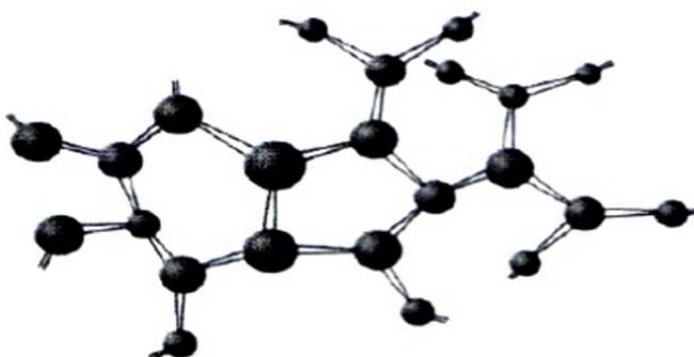


Figura 1.8 Struttura reticolare

1.2.3 Cristallinità

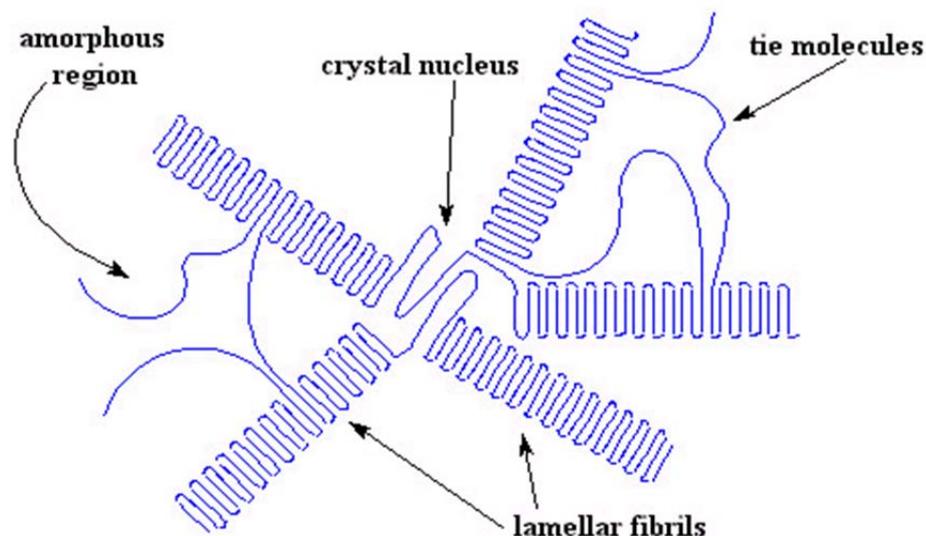
Un materiale si trova allo stato solido in fase cristallina quando le sue unità costituenti sono disposte in maniera ordinata secondo un motivo che si ripete nello spazio. Si può così identificare una porzione di struttura, detta cella elementare, che contiene tutte le operazioni di simmetria del cristallo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

In generale i polimeri presentano una struttura amorfa e non cristallina (Figura 1.9). Se non si verificano le condizioni sopraindicate, il polimero conserva la struttura disordinata caratteristica dello stato fuso, contraddistinta da catene ramificate e reticolari, anche allo stato solido. Si può affermare che aumenta il grado di cristallinità quando si realizzano le seguenti situazioni:

- 1) più è regolare la catena, più è facile che le macromolecole si allineino nello spazio;
- 2) le catene sono lineari;
- 3) la presenza di gruppi funzionali determina la formazione di legami deboli.

L'aumento del grado di cristallinità è strettamente correlato al metodo di lavorazione del polimero.

Per concludere affermiamo che un maggior grado di 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*.



Una sferulite di polimero cristallino e le sue parti

Figura 1.9 Struttura di un polimero

1.2.4 Proprietà termiche

I polimeri sono classificati in due gruppi in base alle loro proprietà termomeccaniche:

- **Polimeri Termoplastici:** aventi struttura lineare o ramificata. Questi tipi di macromolecole sono modellabili plasticamente un numero illimitato di volte, purché ciò avvenga in un certo intervallo di temperatura.
- **Polimeri Termoindurenti:** subiscono trasformazioni chimiche durante il riscaldamento. Presentano una struttura reticolata che però non viene completata durante la loro produzione industriale. Se questi materiali vengono riscaldati presentano un iniziale rammollimento che consente il completamento della loro polimerizzazione, con un conseguente aumento del numero di reticolazione.

I polimeri presentano inoltre alcune temperature caratteristiche, in base alle quali cambia il loro comportamento:

- **T_L :** temperatura limite di stabilità chimica, che rappresenta la massima temperatura oltre la quale il polimero perde la sua struttura ed ogni tipo di caratteristica meccanica;
- **T_m :** è la temperatura di fusione, che rappresenta il limite oltre il quale il polimero si trova allo stato fuso. E' caratteristica dei polimeri cristallini, ma non di quelli amorfi;
- **T_r :** è la temperatura di rammollimento, analoga a quella di fusione, ma tipica dei polimeri amorfi;

- T_g : è la temperatura di transizione vetrosa. Rappresenta la temperatura in corrispondenza alla quale si ha il passaggio dallo stato vetroso a quello gommoso.

L'andamento delle proprietà meccaniche di un polimero in base alla temperatura, è illustrato nella Figura 1.10.

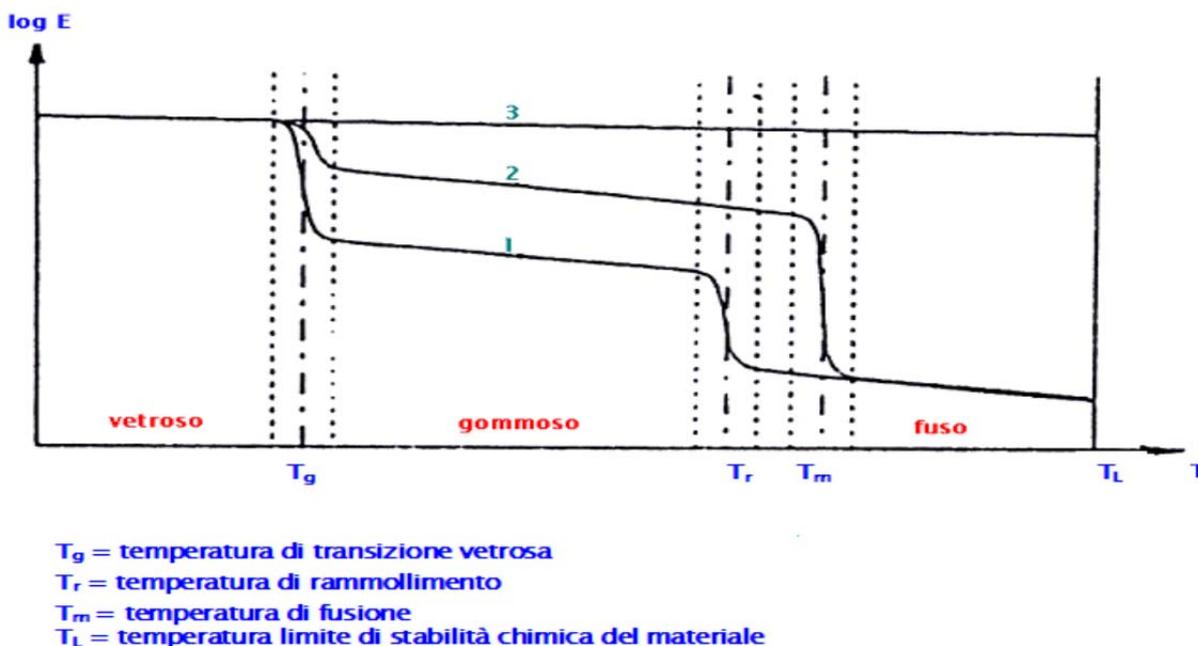


Figura 1.10 Andamento del modulo elastico E al variare della temperatura per diverse strutture polimeriche: amorfa(1), semicristallina(2), reticolata(3).

Come si può notare, 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 all'interno del range di stabilità, oltre al quale E va a zero. Un polimero semicristallino mantiene E costante fino a T_g , oltre la quale subisce una leggera caduta, dovuta alla rottura dei legami della fase amorfa. 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, invece, presenta E costante fino a T_g , oltre la quale si ha un brusco calo 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 fuso.

1.2.5 Massa e peso molecolare

Per le sostanze a basso peso molecolare la massa è una caratteristica specifica, unica per il composto tale da poterne consentire addirittura l'identificazione. Questo non si verifica nel caso delle macromolecole, con la sola eccezione di alcuni biopolimeri. E' infatti inevitabile che nel corso del processo di polimerizzazione, sia esso a stadi che a catena, si formino molecole di diversa lunghezza a causa degli eventi che intercorrono nel corso della reazione. Il prodotto polimerico che ne risulta sarà pertanto costituito da macromolecole contenenti un differente numero di unità strutturali (grado di polimerizzazione) ed aventi quindi differenti dimensioni e pesi molecolari. La massa molecolare dei polimeri deve pertanto essere indicata necessariamente ricorrendo a valori medi per poter tenere in conto tali diversità.

Esistono diverse definizioni di peso molecolare medio. Il peso molecolare medio numerale è definito come il rapporto tra il peso di una certa quantità di polimero ed il numero di macromolecole in esso presenti:

$$\overline{M}_n = \frac{\text{peso polimero}}{\text{numero macromolecole}} = \frac{\sum_i n_i M_i}{\sum_i n_i} = \sum_i N_i M_i$$

dove n_i è il numero delle macromolecole con peso molecolare M_i , N_i indica invece la frazione molare di tali molecole e la sommatoria deve essere estesa a tutte le specie molecolari presenti. Il grado di polimerizzazione medio numerale è dato quindi da:

$$\overline{X}_n = \frac{\overline{M}_n}{M_0}$$

dove M_0 è il peso molecolare dell'unità ripetente caratteristica della macromolecola. In alcuni casi si determina anche il peso molecolare medio ponderale, che è dato dalla sommatoria, estesa a tutte le specie molecolari presenti, del prodotto delle frazioni ponderali per i rispettivi pesi molecolari:

$$\overline{M}_w = \sum_i w_i M_i = \frac{\sum_i w_i M_i}{\sum_i w_i} = \frac{\sum_i n_i M_i^2}{\sum_i n_i M_i}$$

Sia il peso molecolare sia il grado di polimerizzazione sono proprietà discrete, che variano solo per multipli del peso dell'unità strutturale. Generalmente $M_w > M_n$. Il rapporto tra i due

viene chiamato indice del grado di dispersione o indice di polidispersità ed è un indicatore della larghezza della distribuzione dei pesi molecolari.

$$D = \frac{M_w}{M_n}$$

Un valore pari a 1 di indice di polidispersità 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 Reazioni Polimeriche

La polimerizzazione è il processo di preparazione dei polimeri che prevede l'unione di più molecole monomeriche. I monomeri sono a loro volta ottenuti, nella maggior parte dei casi, da sostanze naturali come petrolio, carbone e gas naturale.

Le macromolecole sono ottenute dal ripetersi di semplici unità strutturali legate tra di loro da legami chimici primari (covalente, ionico), e nel suo insieme il polimero risulta formato da macromolecole aventi tra di loro legami chimici secondari (forze di Van der Waals, interazioni dipolo-dipolo).

Vi sono due tipi principali di polimerizzazione:

- 1) **Policondensazione:** l'unione delle molecole di monomero tra di loro a formare la catena polimerica è accompagnata dall'eliminazione di molecole più piccole (Figura 1.12). Questo processo è molto lento e tende ad interrompersi prima che le catene abbiano raggiunto dimensioni molto grandi. Le unità strutturali del polimero finale presentano una formula chimica diversa da quella dei monomeri di partenza.

Quando le molecole di monomero che reagiscono tra loro presentano due soli gruppi funzionali, la reazione prende il nome di policondensazione bifunzionale e le macromolecole si accrescono linearmente. Quando almeno uno dei monomeri presenta più di due gruppi funzionali la reazione prende il nome di policondensazione polifunzionale e si può quindi avere la formazione di polimeri reticolati.

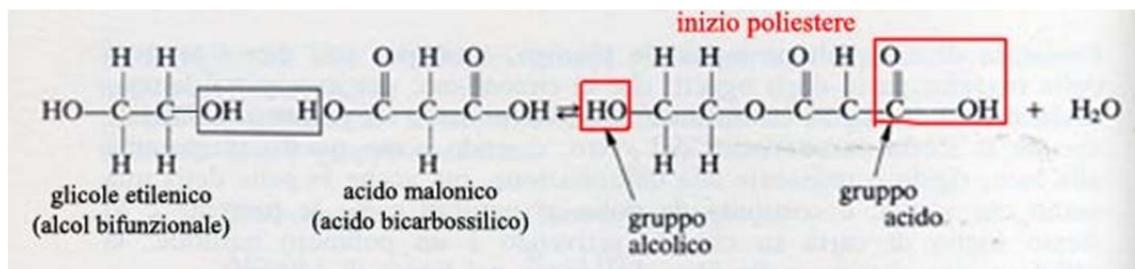


Figura 1.12 Esempio di reazione di policondensazione

1) **Poliaddizione:** le macromolecole si generano per unione diretta dei monomeri di partenza, senza la liberazione di molecole secondarie. In questo caso, quindi, la formula chimica del monomero e quella delle unità strutturali del polimero ottenuto risulta essere la stessa. Nei polimeri di addizione il peso medio molecolare può raggiungere valori anche molto elevati. La poliaddizione (Figura 1.13) è pertanto una reazione a catena ed i monomeri che possono essere impiegati sono caratterizzati dal possedere bifunzionalità interdipendente, tipica dei composti insaturi. I monomeri più comuni che possono dare poliaddizione sono quelli contenenti un doppio legame C=C. Affinché la polimerizzazione avvenga bisogna che il monomero risulti attivato, ovvero uno dei due legami che uniscono gli atomi di carbonio si apra in modo che ogni atomo di carbonio presenti un e^- libero. Questa attivazione iniziale si può ottenere tramite calore, raggi ultravioletti o più comunemente per la presenza di un altro composto attivo. La molecola attivata entra in contatto con un'altra molecola e vi si lega, grazie all'apertura di uno dei due legami, portando alla formazione di un dimero. Il processo si ripete determinando la formazione di macromolecole. La reazione avviene molto rapidamente ed è notevolmente esotermica.

I processi di poliaddizione possono essere suddivisi in radicalici e ionici. Nella polimerizzazione radicalica l'attivazione delle molecole di monomero avviene grazie alla presenza di un altro composto che ad una certa temperatura si decompone dando luogo alla formazione di radicali liberi. Il composto prende il nome di iniziatore (I). Questo gruppo attivo entra in contatto con un'altra molecola di monomero e la polimerizzazione prosegue. La polimerizzazione ionica avviene tra sostanze capaci di dar luogo, reagendo con il monomero, a composti avente carattere ionico.

Per concludere, il processo di poliaddizione può essere suddiviso in quattro periodi:

- 1) periodo iniziale o induzione: durante il quale le molecole di iniziatore diventano attive ed iniziano a loro volta ad attivare le molecole di monomero.
- 2) periodo di propagazione: si manifesta la crescita delle molecole di polimero.
- 3) periodo di chiusura: termina la crescita delle macromolecole e ciò può avvenire in vari modi: per diretto accoppiamento tra le molecole in crescita, per mezzo di un radicale e per scambio di un atomo di idrogeno tra due molecole in crescita.
- 4) trasferimento di catena: una molecola in crescita può disattivare o arrestare il suo accrescimento attivando una molecola di monomero o di una catena che già si era chiusa.

Inizio:**Propagazione:**

.....

.....

**Terminazione:****Trasferimento:**

Figura 1.13 Meccanismo di poliaddizione. I: iniziatore organico; R[·]: radicale primario; M: unità monomerica; P_i[·]: catena polimerica; A-B: trasferitore di catena.

1.2.7 Processi tecnologici dei polimeri

I principali processi con cui vengono prodotti materiali polimerici (Figura 1.14) sono:

- **Stampaggio:** ha una buona tolleranza e finitura superficiale. Lo stampaggio ad iniezione consiste nel forzare un polimero termoplastico fuso all'interno di uno stampo raffreddato ad acqua. Il polimero dev'essere riscaldato ad una temperatura superiore alla T_r , così da ridurre la viscosità. Lo stampaggio a compressione consiste nel pressare in uno stampo l'esatto quantitativo di polvere di un polimero termoplastico o termoindurente. Lo stampo viene poi chiuso e la combinazione di temperatura e pressione permette di ottenere il pezzo con un buon grado di finitura. Lo stampaggio per soffiatura utilizza film o lastre polimeriche già formate. Il polimero termoplastico viene posto in uno stampo caldo e chiuso, e con l'ausilio di un gas soffiato dall'interno che genera pressione, aderisce alle pareti dello stampo assumendone la forma.
- **Estrusione:** consiste in una vite senza fine caricata con il polimero in polvere. La polvere scaldata viene forzata contro una matrice che costituisce il negativo del prodotto che si vuole ottenere. Nel passaggio attraverso la matrice il polimero ne assume la forma.

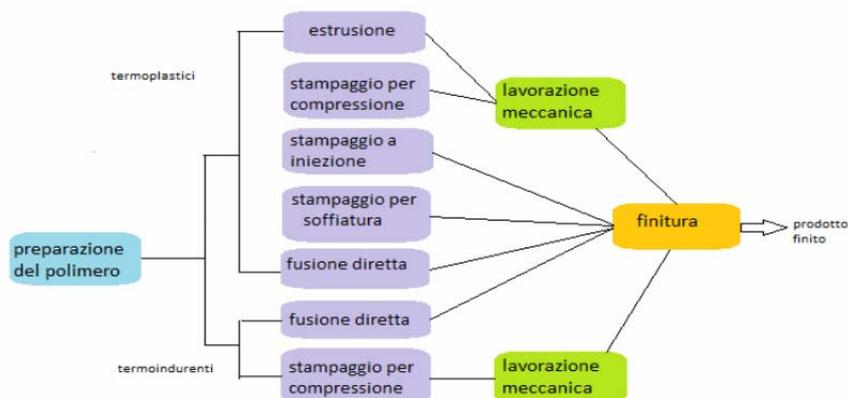


Figura 1.14 Fasi della lavorazione dei materiali polimerici

1.2.8 Degradazione

La degradazione di un materiale polimerico consiste nella rottura dei legami chimici sia della catena principale sia dei gruppi laterali. Uno dei principali effetti è la diminuzione del peso molecolare con conseguente diminuzione delle proprietà meccaniche.

La degradazione può essere determinata da:

- **Effetti chimici:** possono manifestarsi rotture casuali delle catene causando la depolimerizzazione tramite un processo inverso rispetto a quella della fase di accrescimento della poliaddizione.

- **Effetti della sterilizzazione:** la sterilizzazione, che serve per inattivare i microrganismi, è un processo indispensabile per evitare le infezioni in seguito all'impianto di un dispositivo. Nella sterilizzazione a secco le temperature variano tra 160 e 190 °C (superiori a T_r), mentre utilizzando vapore ad alta pressione le temperature risultano più basse, comprese tra 120 e 135 °C. Un altro metodo di sterilizzazione prevede l'uso di agenti chimici quali gas o soluzioni a bassa temperatura. Ha tempi maggiori rispetto ai precedenti metodi ed è più costoso.
- **Effetti meccanici:** si può manifestare degradazione se i polimeri sono sottoposti a carichi sia statici che ciclici.
- **Effetti dell'ambiente biologico:** i polimeri iniziano a deteriorarsi non appena vengono impiantati; la più probabile causa di deterioramento è l'attacco ionico e ossigeno disciolto.

1.2.9 Classi di polimeri

Numerosi polimeri sono utilizzati al giorno d'oggi come biomateriali in medicina e chirurgia. Vengono scelti sia polimeri naturali (collagene), sia polimeri artificiali (ovvero polimeri naturali modificati dall'uomo), sia polimeri sintetici (completamente realizzati in laboratorio). La struttura chimica dei polimeri sintetici è molto simile a quella dei polimeri naturali, di conseguenza è possibile la formazione di legami chimici tra loro.

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

La buona compatibilità dei materiali polimerici viene definita come un'interazione che promuove l'accettazione del materiale da parte dell'organismo. Talvolta, può condurre ad una sorta di metabolizzazione del polimero, che nel tempo viene degradato ed eliminato. Questa caratteristica viene detta bioassorbibilità e i polimeri che presentano tale caratteristica vengono utilizzati nelle applicazioni temporanee.

I polimeri costituiscono circa il 45% dei biomateriali e risultano quindi i più impiegati nei dispositivi medici. I campi in cui trovano maggiore applicazioni lo vediamo attraverso la Figura 1.15.

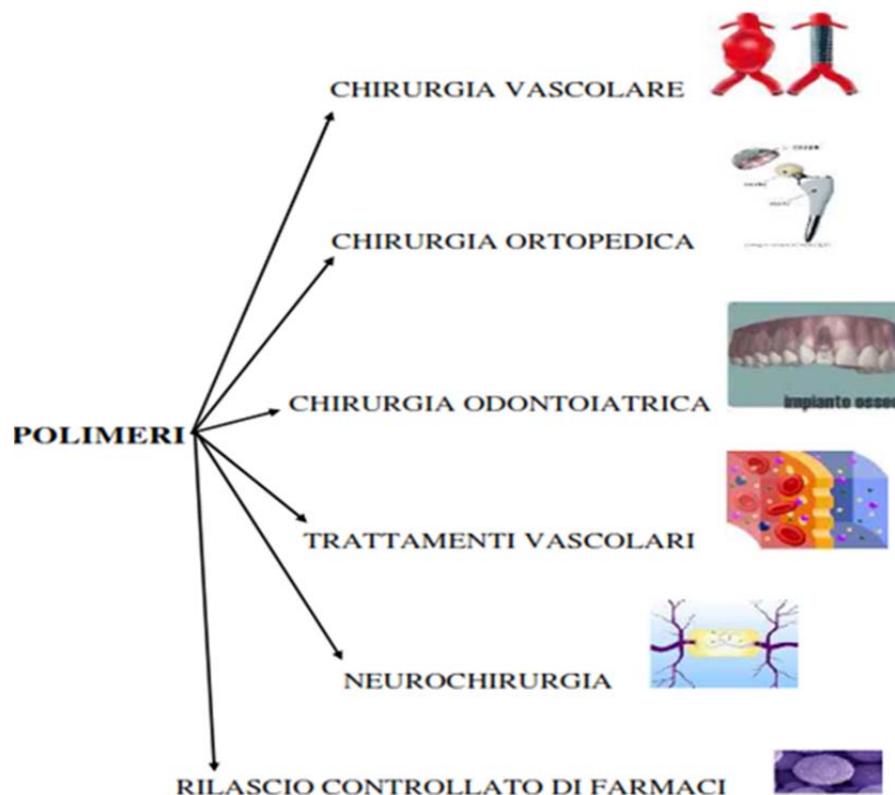


Figura 1.15 Applicazione in campo biomedicale dei polimeri

Di seguito si riportano le principali categorie di polimeri usati in ambito biomedico:

- **Poliesteri e poliammidi:** abbastanza biocompatibili, sono usati quando si desidera una stabile aderenza con i tessuti connettivi. Solitamente vengono applicati nel settore delle suture dove sono previsti due tipi principali di comportamento: suture bioassorbibili che vengono degradate ed eliminate, e suture non bioassorbibili realizzate in Nylon o PET (Figura 1.16). I poliesteri sono polimeri termoplastici lineari, aromatici o alifatici; quelli utilizzati più di frequente sono: polietilentereftalato (PET), acido poliglicolico (PGA), acido polilattico (PLA). Le poliammidi sono in genere Nylon (aromatico o alifatico) e Kevlar (aromatico). In ortopedia vengono utilizzati polimeri biodegradabili, in particolare il PLA e il PGA. Nel settore cardiovascolare, per realizzare protesi vascolari, viene usato il

Dracon (PET). I poliesteri e le poliammidi vengono sterilizzati con radiazioni gamma, in autoclave o con ossido di etilene.

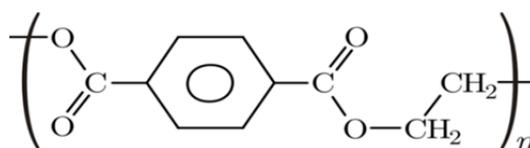


Figura 1.16 Struttura del PET

- **Polietilene:** è formato dal monomero con struttura più semplice (C₂H₄) (Figura 1.17). Viene prodotto in tre diverse sottocategorie: polietilene a bassa densità (LDPE), polietilene a bassa densità lineare (LLDPE), polietilene ad alta densità (HDPE). Negli ultimi tempi è stato sintetizzato anche il polietilene ad ultra-alto peso (UHMWPE), che trova applicazione come piatto tibiale e protesi di rotula. L'LDPE e l'LLDPE vengono utilizzati nella fabbricazione di pellicole, contenitori e tubi. L'HDPE viene considerato antiattrito, ha alta resistenza alle forze impulsive, buona resistenza a fatica e biocompatibilità. Ha un'elevata deformazione al *creep* e una cattiva resistenza all'usura.

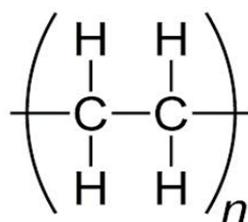


Figura 1.17 Struttura polietilene

- **Polisilossani:** a base di silicio (Figura 1.18), hanno ottime proprietà chimico-fisiche, buona biocompatibilità e affidabilità nel tempo. Sono chimicamente stabili e non reagiscono con altri materiali o sostanze chimiche. Il più comune è il SILASTIC[®] che viene utilizzato nella fabbricazione dei cateteri e dei tubi per il trasporto di fluidi biologici e nella chirurgia plastica.

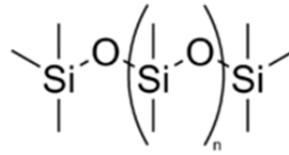


Figura 1.18 Struttura dei polisilossani

- **Politetrafluoretilene (PTFE):** ha buona biocompatibilità, è altamente cristallino, ha buone caratteristiche antiattrito e modeste proprietà meccaniche. Uno dei composti più utilizzati è il Gore-Tex[®] che trova ampio utilizzo nelle protesi vascolari e nei legamenti.

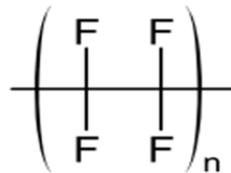


Figura 1.19 Struttura del PTFE

- **Poliuretani:** sono polimeri chimicamente complessi e vengono impiegati quelli con proprietà simili agli elastomeri (Figura 1.20). Il gruppo uretano deriva dalla reazione fra un isocianato e un alcol. Sono dotati di alta emocompatibilità, che viene sfruttata per la realizzazione di protesi cardiovascolari. Alcuni esempi sono il BIOMER[®] e il TECOFLEX[®].

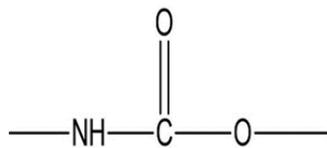


Figura 1.20 Struttura dei poliuretani

- **Polimetilmetacrilato (PMMA):** è noto per le sue eccezionali proprietà di trasparenza alla luce visibile. Dotato di alta biocompatibilità viene impiegato in chirurgia oculistica e come “cemento” per ossa. Viene impiegato anche per il bloccaggio delle protesi articolari in chirurgia ortopedica. (Figura 1.21).

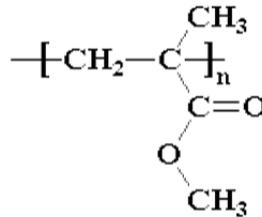


Figura 1.21 Struttura del PMMA

1.2.10 Copolimeri

Generalità

I copolimeri sono macromolecole che contengono nella loro struttura due o più unità monomeriche. Questa definizione risulta valida solo per i copolimeri ottenuti tramite poliaddizione, mentre quelli ottenuti per policondensazione contengono nella loro struttura, necessariamente, solo due unità monomeriche.

L'introduzione della seconda unità monomerica all'interno della struttura permette di modificare e modulare notevolmente le proprietà e le caratteristiche del materiale finale. Infatti, la disposizione del secondo monomero rispetto al primo, la sua relativa concentrazione, l'influenza del secondo monomero sul processo di sintesi e sulla struttura finale della macromolecola, sono tutte caratteristiche aventi 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 come esse sono distribuite.
- 2) La tipologia delle unità ripetitive derivanti da A e da B nella catena, rispetto alle caratteristiche intrinseche del monomero.
- 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 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.

Classificazione

I copolimeri sono classificabili in quattro diverse tipologie, caratterizzate da differenti difficoltà di sintesi, caratterizzazione e rilievo industriale:

- **Copolimeri statistici o random**, nei quali le unità monomeriche assumono collocazione casuali nella catena principale;

...**ABAABABABAABBBAAABB**...

- **Copolimeri alternati**, in cui i monomeri sono regolarmente alternati nella catena;

...**ABABABABABABABABAB**...

- **Copolimeri a segmenti** (o a blocchi), in cui è evidenziabile una distribuzione regolarmente alternata dei comonomeri;

...**AAAABBBBBBAABBA**...

- **Copolimeri ad innesto**, in cui un solo tipo di monomero costituisce la catena principale, dalla quale si dipartono ramificazioni formate dall'altra unità.

·
·
B
B
B
...**AAAAAAAAAA**...
B
B
B
·
·

Copolimeri statistici

La maggior parte dei copolimeri statistici sono ottenibili mediante poliaddizione basata su reazioni a catena che implicano meccanismi radicalici, ionici o di coordinazione. Un problema centrale della teoria della copolimerizzazione è quello di prevedere la composizione di un certo copolimero, fissata la composizione iniziale dei comonomeri della reazione. Poiché la reattività dei due monomeri durante il processo di copolimerizzazione è diversa, ne risulta che la composizione del copolimero finale 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 relazione 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 cristallina, e di conseguenza è possibile individuare più processi di fusione. 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 l'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:

$$\ln T_g = \frac{\ln T_{gA} + \left(k \times \frac{w_B}{w_A} \right) \times \ln T_{gB}}{1 + \left(k \times \frac{w_B}{w_A} \right)}$$

dove k corrisponde al rapporto tra gli incrementi di calore specifico alla T_g degli omopolimeri. Le due equazioni, solidali nel delineare un andamento monotono crescente di T_g al variare della composizione, non sembrano validare regolarmente le evidenze sperimentali: alcuni copolimeri evidenziano infatti un massimo o un minimo di T_g a composizioni intermedie. Supponendo che le diadi AA, BB, AB o BA determinino il valore di T_g del copolimero, l'equazione di Fox può essere posta nella forma:

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

essendo T_{gAB} e la T_g del copolimero ad unità A e B alternate, T_{gAA} e T_{gBB} le T_g degli omopolimeri W_{AA} , W_{AB} e W_{BB} le frazioni in peso delle rispettive diadi. Adottando tale formulazione, estesa in studi successivi anche alla considerazione di triadi, si è giunti ad un buon compromesso tra previsioni ed evidenze sperimentali. Con riferimento alla capacità di cristallizzazione di un copolimero, è prevedibile che essa sia alterata dall'introduzione, nella catena omopolimerica (A), di un'unità strutturalmente e chimicamente differente (B). Il comportamento di cristallizzazione del copolimero si complica qualora entrambe le unità monomeriche possano cristallizzare. In termini generali, le unità B possono: essere completamente escluse dal reticolo cristallino o entrarne a far parte sia in condizioni di equilibrio che in forma di difetto; nel primo caso entrambe le fasi cristalline risultano pure. Per i copolimeri statistici, con riferimento alla teoria di Flory per la fusione all'equilibrio, la temperatura di fusione T_m è fornita da:

$$\frac{1}{T_m} + \frac{1}{T_m^0} = -(R - \Delta H_u) \times \ln X_A$$

dove T_m^0 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. La precedente equazione prevede che la temperatura di fusione del copolimero a distribuzione statistica sia indipendente dalla natura del comonomero B, posto che esso sia effettivamente escluso dal reticolo cristallino. Inoltre, poiché la T_m^0 sperimentale si riferisce alla scomparsa di sequenze di A più brevi di quanto richiesto dalla teoria di fusione all'equilibrio dinamico, i copolimeri, seppure cristallizzati accuratamente, manifestano T_m^0 inferiori al valore teorico previsto e tale scarto è crescente in corrispondenza ad un aumentato

contenuto di co-unità B. L'effetto della lunghezza delle sequenze cristallizzabili è contemplato dalla successiva equazione di Baur:

$$\frac{1}{T_{m\ co}^0} = \frac{1}{T_m^0} - (R - \Delta H_m^0) [\ln X_C - 2X_C(1 - X_C)]$$

Dove $T_{m\ co}^0$ è la temperatura di fusione di equilibrio dell'omopolimero cristallizzabile (C), ΔH_m^0 è l'entalpia di fusione per unità ripetitiva di C nel cristallo perfetto e X_C è la frazione molare di C nel copolimero.

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 tipo di sostituzione isomorfa:

- 1) quando gli omopolimeri dei due comonomeri hanno struttura cristallina molto simile, il copolimero mostrerà una fase cristallina i cui parametri cambieranno gradualmente al variare della composizione, spostandosi 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 in questo caso 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.

E' 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:

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

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

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:

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

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).

1.3 Poliesteri alifatici

1.3.1 Generalità

I poliesteri sono una famiglia di polimeri caratterizzata dalla presenza del 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 sono i più usati nella realizzazione di dispositivi in ambito biomedicale, soprattutto per le loro proprietà biodegradabili.

I poliesteri si dividono in due grandi gruppi: aromatici e alifatici. I primi sono caratterizzati dall'anello aromatico all'interno della struttura, ed i più diffusi sono i derivati dall'acido tereftalico. I poliesteri alifatici (Figura 1.22) si differenziano per l'assenza di strutture aromatiche nella catena.

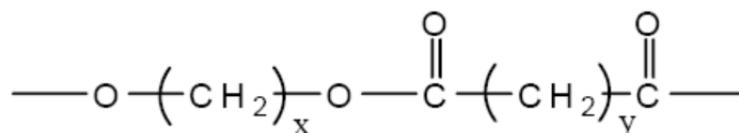


Figura 1.22 Struttura generale di un poliestere alifatico

1.3.2 Sintesi

La principale via di sintesi dei poliesteri alifatici è la policondensazione, che avviene impiegando come reagenti dioli e diacidi oppure un acido idrossilico, e porta all'ottenimento di polimeri ad alto peso molecolare. Questo metodo però presenta diverse problematiche. Infatti la policondensazione necessita di alte temperature, lunghi periodi di reazione, la continua rimozione dei prodotti secondari di reazione e un preciso bilanciamento stechiometrico tra acido e alcol.

Un metodo alternativo di sintesi, che permette anch'esso di garantire polimeri con elevato peso molecolare, è la polimerizzazione ad apertura di anello (ROP: *Ring Opening Polymerization*, Figura 1.23). Essa permette di utilizzare tre diverse molecole di partenza: i lattoni, i diesteri ciclici e gli acetal chetonici ciclici. In tutti i casi il procedimento della reazione consiste nella scissione dei legami delle strutture ad anello per ottenere una molecola lineare con un gruppo estereo all'interno. E' da notare come la costruzione della macromolecola avviene sempre per policondensazione, ma grazie alla ROP viene limitata la possibilità di avere reazioni secondarie, e vi è la capacità di controllare alcune proprietà molecolari, come peso molecolare e sua distribuzione.

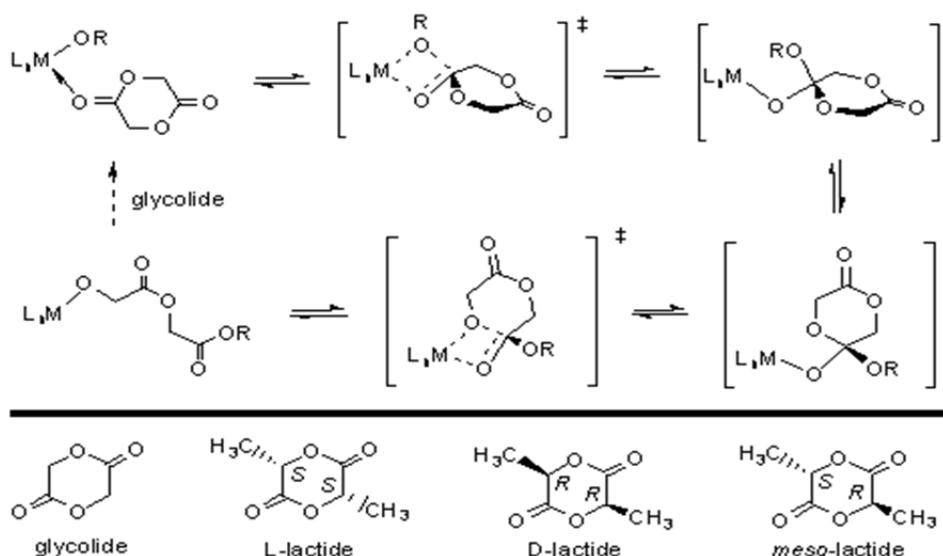


Figura 1.23 ROP del Lattide

1.3.3 Proprietà

Le proprietà dei poliesteri alifatici sono influenzate da vari fattori, come la struttura e la composizione, la presenza di gruppi polari e di ramificazioni, il peso molecolare, il grado di cristallinità. Poliesteri alifatici con $x, y \geq 2$ sono caratterizzati da una consistente fase cristallina, con temperatura di fusione compresa tra 40 e 130 °C, che aumenta sensibilmente all'aumentare del rapporto tra il numero di gruppi metilenici e carbossilato in catena. La temperatura di transizione vetrosa è compresa tra -70 e -30 °C e la densità tra 0.9 – 1.3 g/cm³.

I poliesteri sono facilmente solubili in idrocarburi clorurati, fenoli, solventi chetonici e ammidici, poco solubili in tetraidrofurano, e ancor meno negli alcoli. Questi polimeri presentano un'eccellente stabilità termica fin sopra 200–250 °C, ma a temperature superiori possono intervenire diversi processi degradativi.

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

1.3.4 Degradazione

La biodegradabilità dei poliesteri dipende principalmente dalla struttura della catena macromolecolare. Il requisito necessario è la presenza di collegamenti idrolizzabili e/o ossidabili nella catena.

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

I poliesteri alifatici subiscono degradazione idrolitica, la quale può avvenire entro un intervallo circoscritto da due casi limite: l'erosione di *bulk* e l'erosione superficiale. Da notare, che con il termine di erosione si intende la vera e propria perdita di materiale. L'erosione di *bulk* si verifica quando il polimero perde materiale dall'intero volume, quindi in maniera omogenea. L'erosione superficiale, invece, si ha quando il polimero perde materiale solo dalla superficie, quindi in maniera disomogenea. Entrambe le modalità sono influenzate dall'idrofilicità e dalla cristallinità. L'erosione superficiale risulta anche proporzionale all'area della superficie 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 stesso. Comunque, la degradazione produce inoltre modifiche della

morfologia, cambiamenti topologici, formazione di prodotti di degradazione e variazioni delle proprietà meccaniche del polimero.

1.3.5 Poliesteri alifatici per uso biomedico

I poliesteri più usati in campo biomedico risultano essere:

- **Acido poliglicolico (PGA)**: sintetizzato per la prima volta nel 1893 quando, nonostante la sua elevata instabilità idrolitica, venne riconosciuto come materiale potenziale per la lavorazione in fibre. Rappresenta il più semplice poliesteri lineare alifatico. Il PGA (Figura 1.24) può essere ottenuto con le più comuni tecniche di fabbricazione come estrusione, iniezioni e stampaggio a compressione, le quali ne influenzano anche proprietà e degradabilità. Presenta T_m e T_g poste rispettivamente negli intervalli 220–226°C e 35–40°C e possiede struttura semicristallina. La sua rapida degradazione *in vivo*, la quale comporta una notevole perdita di prestazioni meccaniche dopo 1–2 mesi se sottoposto ad idrolisi, e perdita quasi totale di peso in 6-12 mesi e frammentazione in glicina, determina l'uso di tale polimero, generalmente copolimerizzato, come materiale per suture chirurgiche biorisorbibili. Le strutture realizzate in PGA hanno gradualmente sostituito quelle in collagene precedentemente impiegate per la miglior compatibilità tissutale del polimero, idonee proprietà meccaniche e prevedibile biodegradazione⁽¹⁾. Recenti studi si sono focalizzati sull'utilizzo del PGA come materiale di riempimento nell'ambito dell'ingegneria tissutale o per la fabbricazione di *scaffold* destinati alla rigenerazione di tessuti ossei, intestinali, linfatici, ecc. La solubilità del materiale in pochi e costosi solventi organici, l'elevata temperatura di fusione e la sensibilità all'umidità, la diminuzione delle proprietà meccaniche in seguito a biodegradazione e il rilascio di acido glicolico ne limitano l'applicazione.

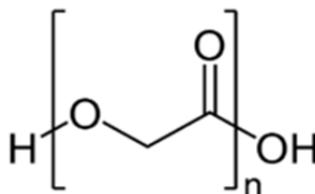


Figura 1.24 Struttura generale del PGA

- **Acido polilattico (PLA):** derivante dalla policondensazione dell'acido lattico o dalla ROP del dimero ciclicolattato, è un polimero che presenta due isomeri ottici, L e D (Figura 1.25). Fermentato, l'acido lattico è per il 99,5% in forma L-isomero e per lo 0,5% in forma D-isomero. La realizzazione di polimeri ricchi di L-isomero porta ad ottenere prodotti cristallini, mentre risultano amorfi quelli contenente più del 15% di D-isomero. Di conseguenza, anche le proprietà variano a seconda dell'isomeria: il PDLLA 50:50, caratterizzato da una distribuzione random di unità L e D, è amorfo, con basso carico di rottura, elevata deformabilità e tempi di degradazione relativamente brevi, mentre il PLLA, semicristallino, è caratterizzato da resistenza a trazione e compressione, bassa deformazione a rottura e modulo elastico tale da renderlo adatto per applicazioni che richiedono resistenza ai carichi. Il PLLA ha struttura lineare e possiede un gruppo metile che lo rende più amorfo e idrofobico del PGA, con conseguente aumento della solubilità in solventi organici come cloroformio, metanolo, etanolo e benzene. Ottenibile tramite stampaggio a iniezione, estrusione, soffiaggio e termoformatura, venne studiato per la prima volta come possibile materiale per il rilascio controllato di farmaci nel 1971, anche grazie alle sue eccellenti proprietà di biodegradabilità e biocompatibilità. Tali proprietà ne hanno sancito l'utilizzo oltre che in sistemi a rilascio controllato di farmaci, anche in ingegneria tissutale, come materiale per suture, fissaggio ortopedico e fabbricazione di *scaffold*.

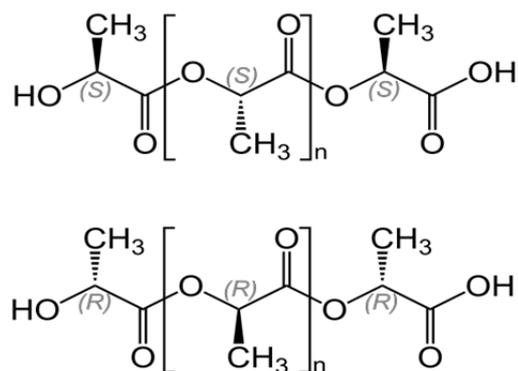


Figura 1.25 Struttura generale del PLA (L e D)

- **Poli (ϵ - caprolattone) (PLC):** originariamente sintetizzato da Carothers mediante ROP dell'estere ciclico, è un polimero idrofobico e semicristallino. Ad elevato peso molecolare è presente a temperatura ambiente nello stato gommoso e

possiede un elevato allungamento (>700%), caratteristiche che ne giustificano l'impiego come additivo, generalmente inserito in quota maggioritaria, in molti sistemi polimerici. Connotato da proprietà uniche di solubilità nei confronti degli altri polimeri, permeabilità a molteplici sostanze, elevato potenziale osteoinduttivo, buone proprietà meccaniche e basso rilascio di prodotti dannosi per l'organismo, il PLC (Figura 1.26) è stato oggetto di studio per lo sviluppo di sistemi a rilascio controllato impiantabili e a lungo termine. La degradazione di tale polimero si attua in due fasi, in maniera simile al PLA, tramite scissione random di gruppi esteri e successiva perdita di peso per diffusione di unità monomeriche dal volume.

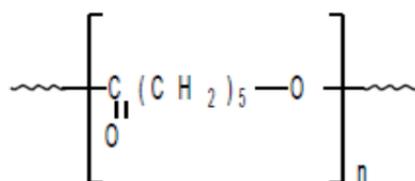


Figura 1.26 Struttura del PLC

1.4 Ingegneria Tissutale

1.4.1 Introduzione all'ingegneria tissutale

Durante il 1st *Tissue Engineering Symposium*, tenutosi nel 1988 in California, si è verificato il primo tentativo ufficiale di definire l'ingegneria tissutale (TE) 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”⁽²⁾. La necessità era quella di inquadrare una nuova tendenza della ricerca medica e coordinare i molti progressi già raggiunti nelle più svariate aree scientifiche, per trasferirne i frutti alla pratica clinica. Questa grande operazione 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, infatti, 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 per forma, proprietà e 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 derivanti dall'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 strutture che determinano le peculiari proprietà chimiche, fisiche e meccaniche del tessuto necessarie allo svolgimento della propria funzione. Al termine della prima decade di studi è risultato chiaro che l'ingegneria tissutale non aveva ancora risposto alle grandi aspettative riguardo il 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⁽³⁾.

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.

Nell'ingegneria tissutale sono impiegati tre diversi supporti (Figura 1.27):

- *scaffold*: 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: fattori di crescita e proteine di adesione che devono trasmettere alle cellule lo stimolo per colonizzare e diffondere all'interno dei materiali.

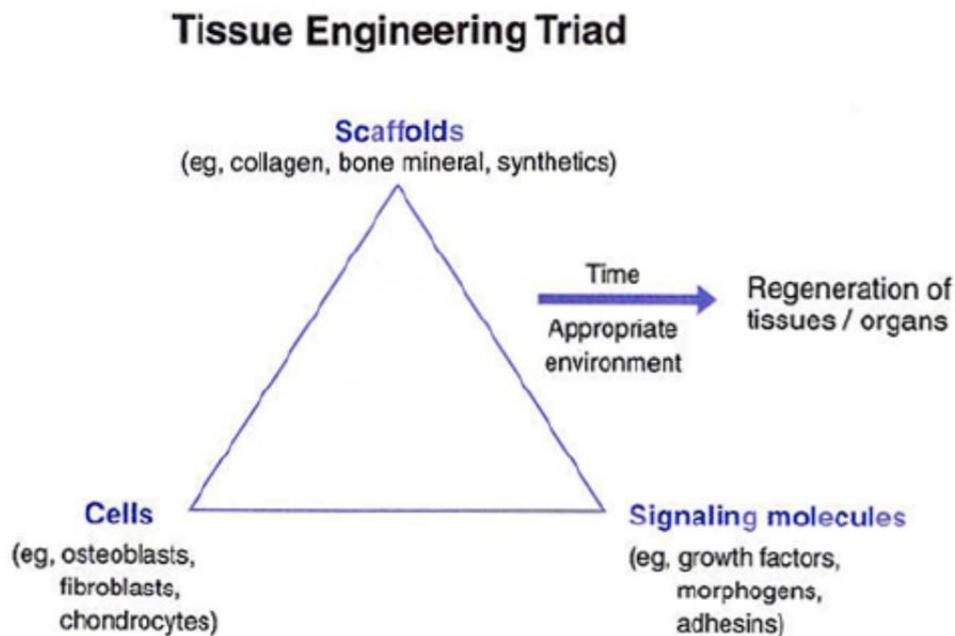


Figura 1.27 La “Triade” della Tissue Engineering

Lo sviluppo dei nuovi biomateriali attraverso tecniche di *Tissue Engineering* (Figura 1.28), studia quali sono le condizioni fondamentali per la rigenerazione quando il corpo umano stesso non possiede il potenziale per ricostituire il tessuto. 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 iattivate attraverso segnali biologici come fattori di crescita o geni, in modo tale da generare nuovi e funzionali tessuti del tipo richiesto. Si possono ingegnerizzare, inoltre, le matrici che circondano i materiali per facilitare la crescita delle cellule ottenendo una rigenerazione in siti ossei o cartilaginei.

Le cellule staminali sono quelle che hanno ricevuto maggiore attenzione come potenziali risorse dell’ingegneria tissutale. La ricerca nel campo della biologia cellulare ha sviluppato metodi che consentono di prelevare cellule staminali embrionali, cellule progenitrici o cellule già specializzate e successivamente utilizzarle nella riparazione di lesioni e nella rigenerazione di tessuti mediante coltura su *scaffolds*. Perciò la creazione di tessuti ad uso medico è già una realtà. Alcuni tessuti ingegnerizzati, come quelli dell’epidermide e della cartilagine vengono attualmente impiegati in clinica, altri, tra cui l’osso, i tendini, i legamenti, le pareti vascolari e gli epitelii, sono ancora in una fase di specializzazione, benché

l'applicazione clinica sia vicina. A titolo di esempio, si può citare la cute artificiale, che permette il trattamento di lesioni cutanee e specialmente delle ustioni profonde.

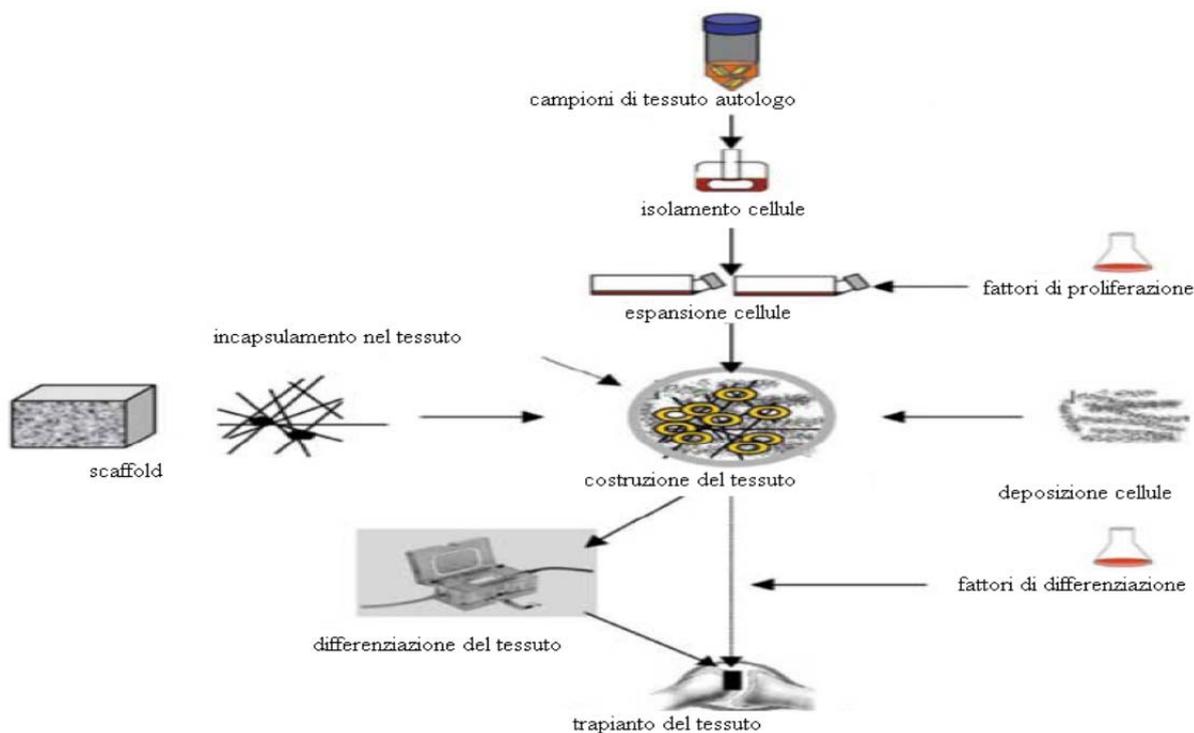


Figura 1.28 Schema dei diversi passaggi che portano alla nascita di un impianto per *Tissue Engineering*

1.4.2 Scaffold

La realizzazione di un tessuto ingegnerizzato comincia dalla progettazione e costruzione di una struttura polimerica, nota con il nome di *scaffold*, che faccia da substrato alla crescita delle cellule che daranno origine al nuovo tessuto. Le caratteristiche peculiari che un biomateriale deve presentare per questa applicazione si possono riassumere come segue:

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

Gli *scaffolds* non sono dunque supporti meccanici passivi, ma partecipano attivamente alla ricostruzione dei tessuti. Provvedono 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 uguale a quella di biosintesi cellulare. I requisiti che gli *scaffolds* devono possedere sono:

- porosità elevata e tridimensionale attraverso una rete di pori interconnessi che permettono la crescita cellulare, il trasporto dei nutrienti e l'eliminazione dei cataboliti, evitando la formazione di zone non vascolarizzate;
- velocità di degradazione e riassorbimento controllabile e proporzionale alla crescita del tessuto;
- superficie chimicamente adatta all'adesione, proliferazione e differenziazione cellulare;
- 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 (compreso tra 200 e 500 μm).

Queste proprietà dipendono da due livelli di organizzazione del materiale che compone lo *scaffold*:

- 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 di area di superficie/volume;
- livello macroscopico: le proprietà strutturali nel complesso determinano le risposte meccaniche, quali elasticità, resistenza alla compressione, capacità di trasmettere carichi.

1.4.3 Distribuzione dei segnali in ingegneria tissutale

Per favorire la rigenerazione del tessuto non è sufficiente la corretta interazione tra cellule e *scaffolds*, ma è necessario fornire alla cellule stesse opportuni segnali che ne regolino la differenziazione, la migrazione e la proliferazione. Questi segnali sono forniti dai fattori di crescita, particolari peptidi che, legandosi con i recettori transmembrana specifici della cellula bersaglio, forniscono l'informazione necessaria al nucleo per indurre un certo tipo di risposta. Tipicamente questi polipeptidi esibiscono un range d'azione limitato, dovuto al difficoltoso processo di diffusione attraverso la matrice cellulare. L'ingegneria tissutale ha sviluppato strategie distinte per trasportarli: l'immobilizzazione chimica all'interno di una matrice polimerica o l'incapsulamento fisico all'interno di una membrana, anch'essa polimerica.

Entrambi i metodi si basano su diffusione e rilascio programmati nel tessuto circostante, a loro volta facilitati dall'impiego di *scaffolds* tridimensionali, che consentono un alto livello di controllo sulla distribuzione del segnale, dato che a questi sono ancorate le cellule bersaglio. Per coniugare i fattori di crescita ai biomateriali (sintetici o naturali) garantendone la disponibilità alle cellule con cui vengono in contatto, si utilizzano due tecniche principali basate:

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

L'adsorbimento dei fattori di crescita sfrutta in genere interazioni secondarie dipolo-dipolo, legami a idrogeno tra questi e le matrici, o interazioni indirette attraverso proteine intermedie o altre molecole biologiche: infatti, proteine come eparina, fibronectina, gelatina e piccoli oligopeptidi possono essere rivestite chimicamente o fisicamente per fornire siti specifici in grado di immobilizzare i fattori di crescita o morfogeni. I materiali usati sono essenzialmente gel biopolimerici contenenti fibronectina, laminina, collagene, elastina, acido ialuronico o una varietà di idrogel sintetici, data la loro capacità 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, e la loro coniugazione ai polimeri tramite gruppi funzionali precedentemente incorporati durante il processo di copolimerizzazione o tramite trattamenti chimici o fisici. Questa strategia presenta però alcune 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* 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*.

1.4.4 Il ruolo dei materiali polimerici nell'ingegneria tissutale

Le ottime caratteristiche di biocompatibilità e la possibilità di immobilizzare cellule e biomolecole all'interno della matrice polimerica, permettono un ampio impiego dei materiali polimerici in ingegneria tissutale.

Numerosi polimeri sintetici (polistirene, l'acido polilattico, l'acido poliglicolico, e l'acido poli(DL-lattico-co-glicolico)) sono stati utilizzati per la produzione di *scaffolds*. Tutti hanno

dimostrato una buona possibilità di controllo della degradazione attraverso la variazione della composizione chimica e la fabbricazione con un'architettura prestabilita, ma presentano contemporaneamente svantaggi per la 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 anche 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 struttura e il manifestarsi di 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, si sono sviluppati materiali copolimerici che permettono, mediante l'inserimento in percentuali variabili di differenti unità monomeriche, di modulare alcune caratteristiche (cristallinità, idrofilicità, velocità di degradazione, proprietà meccaniche). 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.

1.5 Sistemi a rilascio controllato di farmaci

1.5.4 Introduzione

Negli ultimi anni, numerosi farmaci sono stati studiati per innescare e guidare differenti processi cellulari, evidenziando l'esigenza di avere a disposizione sistemi a rilascio controllato del principio attivo, sensibili e capaci di rispondere direttamente agli stimoli patologici. Dispositivi dalle dimensioni micro e nanometriche possono massimizzare l'efficienza dei trattamenti terapeutici, in quanto permettono di individuare all'interno dell'organismo la patologia da trattare e di agire senza intervenire su cellule ed tessuti sani, a vantaggio del paziente. La somministrazione convenzionale dei farmaci avviene in maniera incontrollata, e quindi la quantità desiderata di farmaco non è sempre in grado di raggiungere i siti recettoriali specifici delle cellule bersaglio. 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, è indispensabile l'utilizzo di trattamenti ripetuti, che si traducono in un aumento della concentrazione del farmaco nel plasma di tipo pulsatile, con indesiderate punte di massimo anche oltre i limiti di tossicità, e gole di minimo le quali possono scendere al di sotto del livello ottimale.

La tecnologia del *controlled drug delivery* (Figura 1.29) pone come obiettivo l'eliminazione di questi problemi mediante l'utilizzo di sistemi, generalmente polimerici, che consentono 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 ad iniezioni successive.
- 2) localizzare spazialmente l'azione del farmaco, limitandola alla zona che necessita del trattamento.
- 3) specificare ulteriormente il target d'azione del farmaco mediante l'utilizzo di vettori o derivatizzazioni chimiche.
- 4) creare condizioni per il rilascio riproducibili, prevedibili e controllabili.

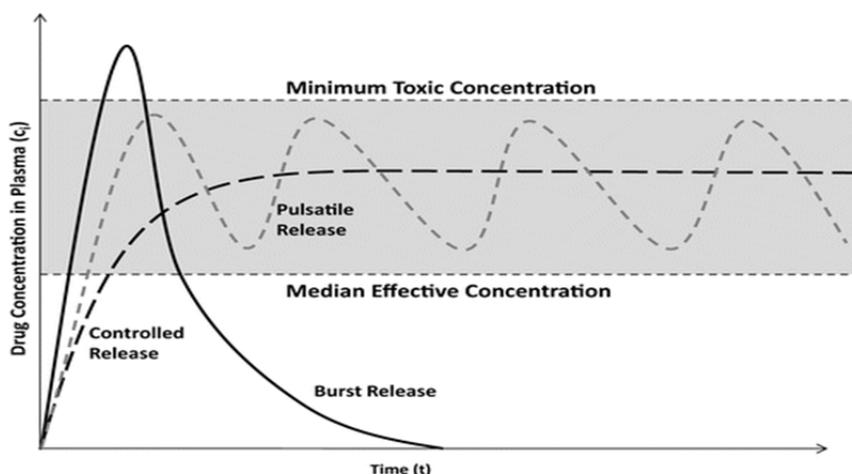


Figura 1.29 Andamento della concentrazione del farmaco nei tessuti dopo l'assunzione secondo la tecnica tradizionale e mediante rilascio controllato

Risulta così evidente come, agendo sulla distribuzione spaziale e temporale del farmaco, si possono risolvere problemi legati alle tradizionali forme di dosaggio, quali scarsa efficacia della terapia, possibili effetti collaterali, elevato numero di assunzioni di farmaco richieste dal trattamento e disagi per il paziente. Una vasta classe di farmaci può usufruire dei benefici dei

sistemi a rilascio controllato, tra cui chemioterapici, immunosoppressori, agenti antiinfiammatori, antibiotici, oppiacei, ormoni steroidei, anestetici e vaccini.

Recentemente, il bisogno di sviluppare nuovi sistemi di rilascio controllato si è intensificato, di pari passo con l'avanzamento della ricerca nel settore dei farmaci peptidici e l'emergere della terapia genica, candidandoli come possibili protagonisti della prossima generazione di farmaci.

1.5.5 Meccanismi di rilascio controllato

Le variabili che entrano in gioco nel rilascio controllato di farmaci sono numerose: tipologia di farmaco, quantità da somministrare, sito d'azione, durata della terapia, stabilità delle molecole attive. E' per cui necessario che i sistemi impiegati forniscano un *range* di utilizzo molto ampio, presentando diverse cinetiche di rilascio che rispettino le necessità di somministrazione in determinate fasi temporali, e varie meccaniche di rilascio, al fine di permettere la distribuzione del farmaco nei tessuti che necessitano del trattamento.

Le possibili tecniche di rilascio sono (Figura 1.30):

- *Profilo I*: rilascio convenzionale, ritardato, non costante;
- *Profilo II*: rilascio di ordine zero in cui la concentrazione è mantenuta al livello ottimale per gli effetti terapeutici.
- *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, o per il rilascio di ormoni, la cui somministrazione deve essere effettuata una singola volta e non gradualmente;
- *Profilo V*: rilascio impulsivo periodico, utilizzato per somministrazioni a distanze temporali costanti.

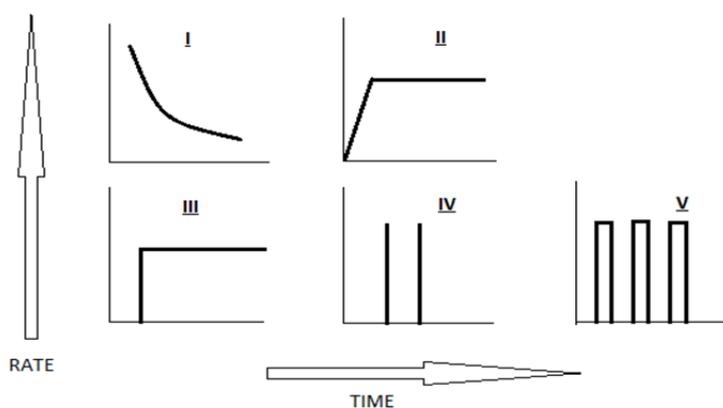


Figura 1.30 Cinetica di rilascio controllato

1.5.6 Sistemi a rilascio controllato

I sistemi di trasporto possono essere classificati a seconda del meccanismo che controlla il rilascio del farmaco (Figura 1.31) come:

- 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.

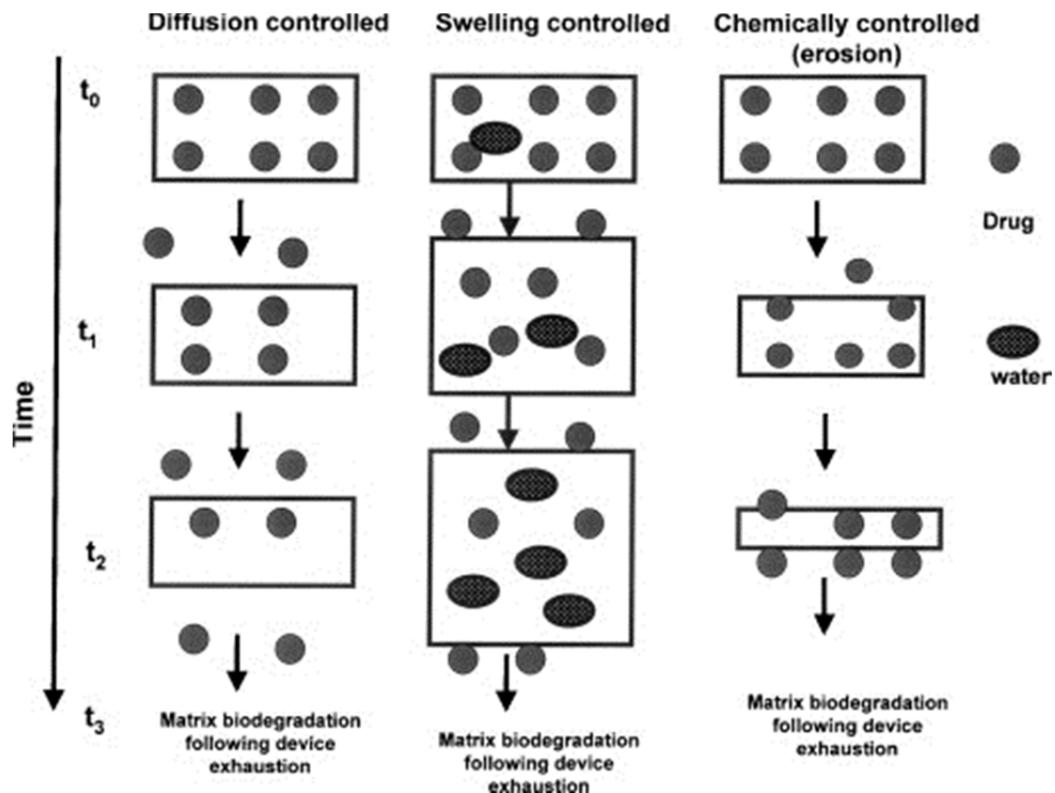


Figura 1.31 Schema di alcuni meccanismi diffusionali

Osservando nel dettaglio i vari sistemi:

- **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 finché il farmaco è in alta concentrazione all'interno della membrana. Nel secondo tipo di sistemi, il farmaco è dissolto uniformemente in una matrice polimerica. Questa modalità presenta una cinetica di primo ordine, in cui si ha un alto tasso di diffusione all'inizio, che 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 successiva rimozione chirurgica, ma i prodotti di degradazione non dovranno provocare reazioni tossiche o cancerogene all'organismo ospite, 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 idrogel sono particolari macromolecole a struttura reticolare create in modo da formare una maglia aggrovigliata che funge da matrice per l'intrappolamento di farmaci. Quando questi idrogel vengono a contatto con un solvente compatibile termodinamicamente, le catene polimeriche si rilassano, 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.

SCOPO DELLA TESI

La ricerca nell'ambito dell'ingegneria tissutale e del rilascio controllato di farmaci ha compiuto notevoli progressi negli ultimi anni, ed i numerosi studi condotti *in vivo* e *in vitro* permettono di attestarne le notevoli potenzialità terapeutiche.

Tuttavia, la scelta del materiale più adatto per la realizzazione di dispositivi per uso biomedicale costituisce un punto di partenza fondamentale e non sempre rappresenta quella ottimale. In questo contesto, i materiali polimerici rappresentano senza dubbio la tipologia più adatta: è infatti possibile modularne piuttosto facilmente le proprietà finali per ottenere materiali con caratteristiche *ad hoc* per il tipo di applicazione scelta, garantendo al contempo il mantenimento di biodegradabilità e biocompatibilità, essenziali in campo biomedicale.

All'interno della classe dei polimeri, i poliesteri alifatici risultano particolarmente interessanti e promettenti grazie alle buone proprietà meccaniche, al costo relativamente contenuto delle materie prime e alla semplicità del processo di sintesi. Tra questi ultimi, il poli(butilene succinato) (PBS) è già presente in commercio e utilizzato soprattutto nel campo degli imballaggi biodegradabili grazie alla buona stabilità termica e alla elevata temperatura di fusione (115°C), una delle più alte tra i poliesteri alifatici ottenuti per policondensazione. Di contro, tale polimero è caratterizzato da tempi di biodegradazione lunghi, dovuti all'elevato grado di cristallinità (circa 45-50%), nonché da proprietà meccaniche non ottimali per alcune applicazioni in campo biomedicale, in cui si richiede un modulo elastico più basso ed un maggiore allungamento a rottura.

In tale contesto si inserisce il presente lavoro di Tesi che ha come scopo la realizzazione di nuovi poli(esteri uretani) multiblocco a base di PBS, caratterizzati da proprietà migliorate rispetto all'omopolimero di partenza. Al fine di ottenere nuovi materiali che presentino una maggiore velocità di degradazione, combinata con un comportamento meccanico sia elastomerico che termoplastico, sono state prese in considerazione due diverse unità copolimeriche: una cosiddetta "hard" e l'altra "soft". L'alternanza di queste due porzioni permette infatti di realizzare un polimero tenace, con una elevata temperatura di fusione (dovuta all'elevato grado di cristallinità del segmento *hard*), e con un basso modulo elastico ed un elevato allungamento a rottura (tipici invece del segmento *soft*).

Nello specifico, sono stati utilizzati due diversi oligomeri idrossil-terminati: il poli(butilene succinato) (PBS) come porzione *hard* e due copolimeri statistici poli(butilene adipato/diglicolato) (P(BAmBDGn)) a diversa composizione molare come segmento *soft*.

La scelta di impiegare i copolimeri P(BAmBDGn) risponde alla necessità di disporre di un segmento “*soft*” caratterizzato da un basso grado di cristallinità, modulabile con la composizione. La unità comonomerica BDG presente in questi copolimeri riduce infatti significativamente la simmetria di catena data la presenza di atomi di ossigeno etero.

Studi precedenti effettuati dal gruppo di ricerca presso il quale è stata svolta la presente Tesi hanno messo in evidenza come il grado di cristallinità giochi un ruolo fondamentale sia nel migliorare le proprietà meccaniche che nell’accelerare la velocità di degradazione di un polimero. È infatti noto che materiali meno cristallini presentano un modulo elastico inferiore e sono caratterizzati da una più alta velocità di degradazione. E’ opportuno infatti ricordare che l’acqua attacca di preferenza le porzioni amorfe di un polimero. Inoltre, le ricerche condotte dal gruppo di ricerca presso il quale è stata svolta la presente Tesi hanno evidenziato che le sequenze contenenti eteroatomi, data la loro maggiore affinità con l’acqua, subiscono una più veloce solubilizzazione, causando un’ulteriore accelerazione del processo di biodegradazione.

L’attività di ricerca qui illustrata si è articolata nelle seguenti fasi:

- preliminare analisi bibliografica per conoscere gli sviluppi più recenti sull’argomento trattato;
- sintesi tramite policondensazione in massa degli oligomeri PBS e P(BAmBDGn) OH-terminati;
- verifica della struttura chimica e della quantità di gruppi terminali ossidrilici tramite risonanza magnetica nucleare (NMR) e titolazione;
- sintesi dei copolimeri multiblocco tramite estensione di catena in presenza di esametilene diisocianato (HDI);
- caratterizzazione molecolare dei campioni mediante NMR e cromatografia a permeazione su gel (GPC);
- stampaggio in film sottili dei polimeri sintetizzati mediante pressofusione;
- caratterizzazione termica mediante calorimetria differenziale a scansione (DSC) e analisi termogravimetrica (TGA);
- analisi diffrattometrica a raggi X;
- caratterizzazione meccanica dei campioni mediante prove a trazione;
- misure dell’angolo di contatto;
- studi di biodegradabilità idrolitica in condizioni fisiologiche;
- analisi dei risultati ottenuti ed estrapolazione di correlazioni proprietà-struttura.

MATERIALI E METODI

3.1 Sintesi di polimeri OH-terminati e copolimeri ad elevato peso molecolare

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

3.1.1 Sintesi di poli (butilene succinato) (PBS) a basso peso molecolare

La sintesi è stata eseguita tramite policondensazione in massa a due stadi, utilizzando come monomeri di partenza acido succinico (SA) e 1,4-butandiolo (BD) (eccesso 40%).

Il primo stadio è stato condotto alla temperatura di 180°C, sotto flusso controllato di azoto. In questo stadio hanno luogo le reazioni di esterificazione diretta con eliminazione di specie a basso peso molecolare, nel caso in esame molecole di acqua, che vengono rimosse dall'ambiente di reazione al fine di spostare l'equilibrio della reazione verso i prodotti. Nel secondo stadio, invece, avvengono le reazioni di transesterificazione, che, per tempi di reazione non molto lunghi, portano alla formazione di polimeri a basso peso molecolare. Durante questo stadio la temperatura viene aumentata di 10°C ogni 30 minuti, fino a raggiungere i 230 °C. Contemporaneamente, la pressione all'interno del reattore viene ridotta fino a 0,4 mbar grazie all'impiego di una pompa da vuoto. L'obiettivo è quello di rimuovere l'eccesso di diolo tramite distillazione. Una volta raggiunti i valori desiderati di temperatura e pressione, questi vengono mantenuti costanti fino al termine della reazione (circa 2 ore). Il catalizzatore impiegato nella sintesi è il tetrabutossido di titanio ($\text{Ti}(\text{OBu})_4$, TBT), caricato nel sistema di reazione simultaneamente ai reagenti in quantità pari a 150 ppm per grammo di polimero teoricamente ottenibile.

La strumentazione utilizzata si compone di un reattore in vetro a tre colli, immerso in un bagno di sali inorganici (nitrati e nitriti di potassio e sodio) che garantiscono il mantenimento di una temperatura uniforme e costante (Figura 3.1). Il sistema di agitazione dei reagenti è di tipo meccanico, 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, infatti, a causa dell'aumento della viscosità del fluido dovuta all'incremento del peso molecolare, incontrano maggiore resistenza al procedere della polimerizzazione. Temperatura e torque vengono costantemente monitorati durante la reazione.

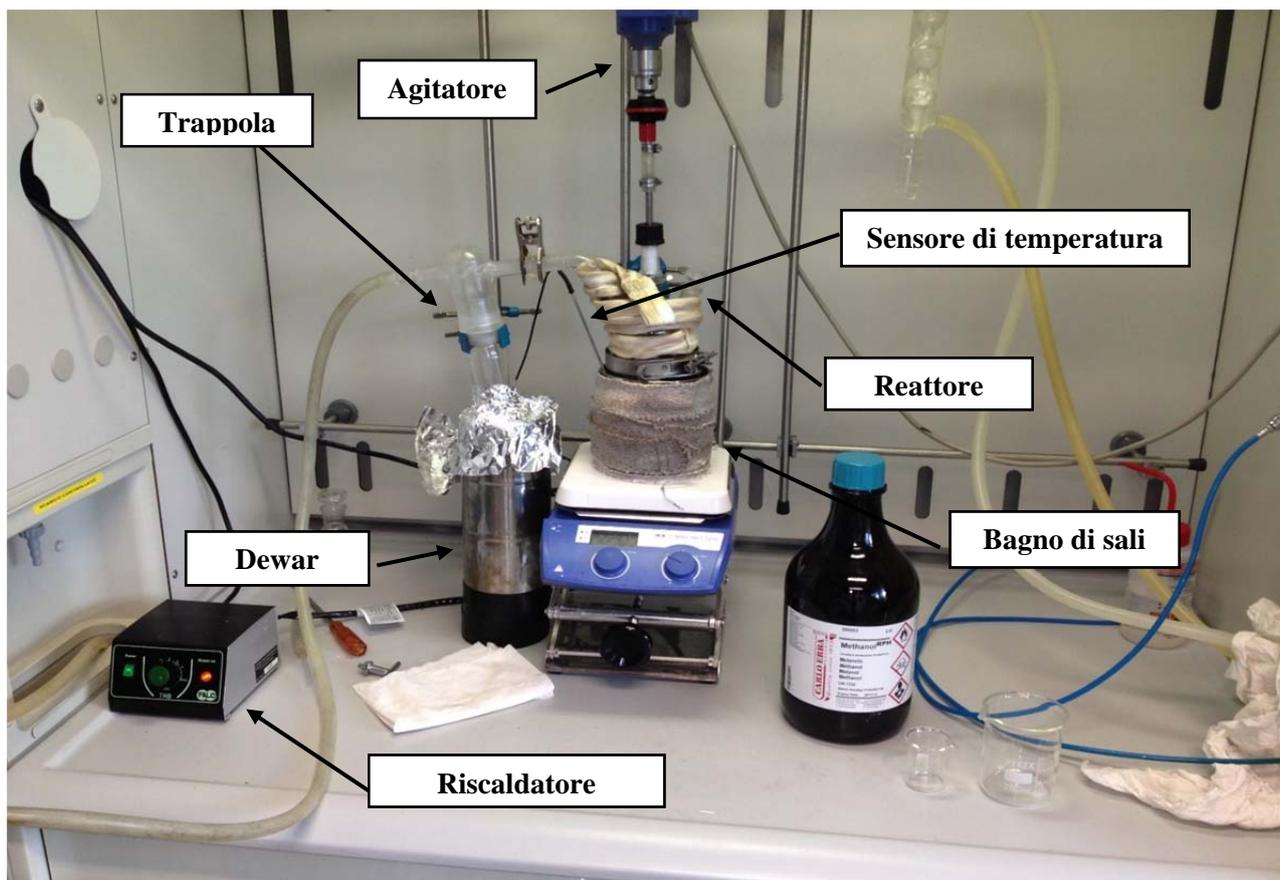
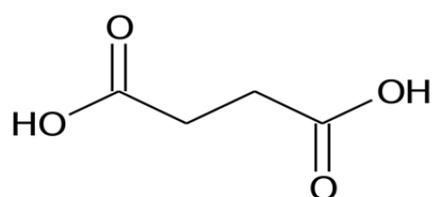
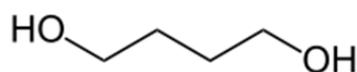


Figura 3.1 Schema dell'apparecchiatura per la polimerizzazione

Le strutture chimiche dei reagenti utilizzati sono riportate di seguito:



Acido succinico



1,4-butandiolo

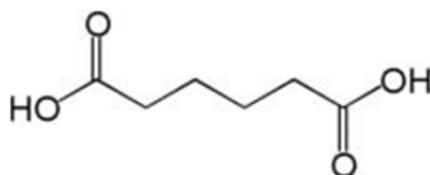
3.1.2 Sintesi di poli (butilene adipato/diglicolato) (P(BAmBDGn)) a basso peso molecolare

La sintesi è stata eseguita, come nel caso precedente, attraverso una copolicondensazione in massa a due stadi a partire da acido adipico (AA), acido diglicolico (DGA) e BD (eccesso 40%) nelle stesse condizioni di temperatura e pressione impiegate per il PBS ed in presenza della stessa

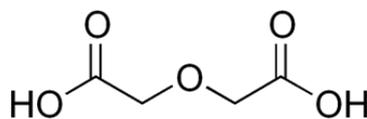
concentrazione di TBT. Tutti i reagenti e il catalizzatore sono stati caricati nel reattore di polimerizzazione simultaneamente all'inizio del processo di sintesi.

Sono stati così sintetizzati due copolimeri statistici a diversa composizione molare: in un primo caso è stato impiegato un rapporto molare tra l'AA ed il DGA pari a 70:30 (P(BA70BDG30)), nel secondo invece pari a 50:50 (P(BA50BDG50)).

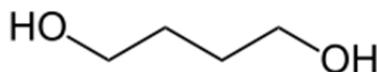
Le strutture chimiche dei reagenti utilizzati sono riportate di seguito:



Acido adipico



Acido diglicolico



1,4-butandiolo

3.1.3 Purificazione

Dopo la sintesi, i polimeri ottenuti sono stati purificati per rimuovere residui monomerici, oligomeri ed eventuali sottoprodotti indesiderati.

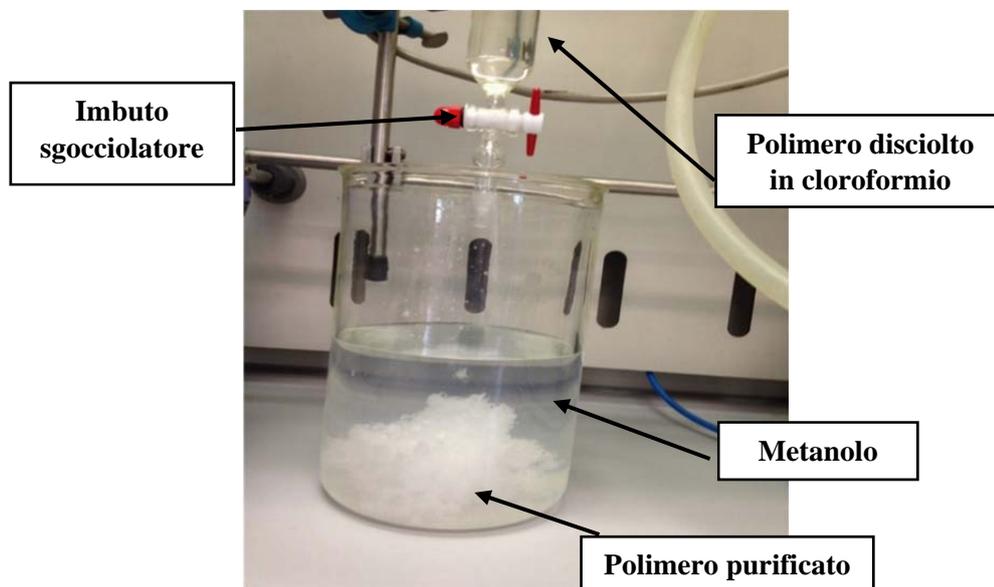


Figura 3.2 Purificazione dei polimeri sintetizzati

Il processo di purificazione è avvenuto in tre stadi:

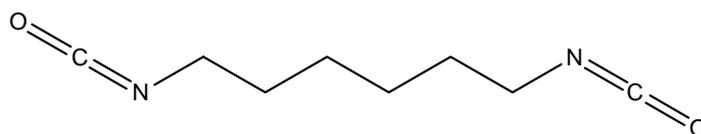
- 1) il polimero in forma solida è stato disciolto nella minima quantità necessaria di solvente (cloroformio);
- 2) la soluzione, posta in un imbuto, è stata fatta sgocciolare all'interno di un bechero contenente un largo eccesso di non-solvente (metanolo). Il polimero, precipitato sul fondo del bechero di raccolta, è stato successivamente recuperato tramite filtrazione (Figura 3.2);
- 3) il polimero purificato è stato posto in stufa sottovuoto a temperatura pari a 30°C, per il tempo necessario a garantire la completa evaporazione del metanolo residuo (Figura 3.3).



Figura 3.3 Stufa a vuoto

3.1.4 Sintesi dei copolimeri poli (butilene succinato) *-block-* poli (butilene adipato/diglicolato) $PBS_xP(BAmBDGn)_y$

Per la sintesi dei copolimeri ad elevato peso molecolare è stato impiegato l'esametilenediisocianato (HDI).



Esametilene diisocianato

Tale composto contiene due gruppi isocianato all'estremità della catena carboniosa che, reagendo con i gruppi ossidrilici terminali di PBS e P(BAmBDGn) secondo lo schema sotto riportato, funge da estensore di catena formando dei poli (esteri uretani).

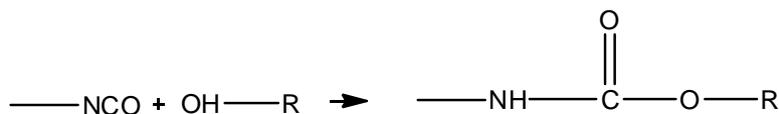


Figura 3.4 Schema di reazione tra un gruppo isocianato ed un gruppo alcolico

La reazione viene condotta ad elevata temperatura (160°C) in assenza di solvente in un pallone a tre colli da 50 ml, dotato di agitatore meccanico e flusso di azoto. Dopo aver portato a fusione il/i polimero di partenza, si aggiunge, con l'ausilio di una micropipetta, la quantità di HDI (nel caso in esame pari al 4%) necessaria affinché reagiscano tutti gli OH terminali (determinati tramite titolazione, vedi paragrafo 3.2.1) presenti nei polimeri di partenza. Da un'analisi NMR (vedi paragrafo 3.2.2) non sono state rilevate tracce di HDI non reagito per tempi di reazione pari a 45 min.

Ogni copolimero P(BAmBDGn) è stato mescolato con due quantità differenti di PBS: 30% e 50% in massa, al fine di ottenere quattro copolimeri ad alto peso: $PBS_{30}P(BA70BDG30)_{70}$, $PBS_{50}P(BA70BDG30)_{50}$, $PBS_{30}P(BA50BDG50)_{70}$, e $PBS_{50}P(BA50BDG50)_{50}$.

3.2 Caratterizzazione molecolare

3.2.1 Titolazione

Il processo di titolazione ha consentito di determinare le quantità di OH terminali presenti nel PBS e nei copolimeri statistici P(BAmPBDGn) a basso peso molecolare. Ciò, come riportato sopra, ha permesso a sua volta di definire l'HDI necessario nella sintesi dei copolimeri ad alto peso molecolare.

Il processo di titolazione è stato eseguito adottando il seguente protocollo:

- 1) 0,6 g di polimero sono stati disciolti in 10 ml di soluzione 1:9 di anidride acetica in piridina e lasciati a riflusso per sessanta minuti. Per spegnere la reazione di acetilazione, la soluzione è stata lavata con 20 ml di acetone e 20 ml di acqua distillata;
- 2) la soluzione ottenuta viene titolata colorimetricamente (indicatore fenilfenoftaleina) con una base (NaOH 1M), permettendo di determinare gli ml di NaOH necessari per il viraggio;
- 3) è stata eseguita la titolazione del bianco su una soluzione 1:9 di anidride acetica e piridina.

Sottraendo il volume del bianco, si ottengono il quantitativo di NaOH necessario per titolare gli OH terminali del polimero, a cui sono correlati i grammi di HDI secondo la formula:

$$g \text{ di HDI} = \frac{ml \text{ di NaOH}_{titolante} - ml \text{ di NaOH}_{bianco}}{2 \times 0,6} \times g_{polimero} \times PM_{HDI}$$

dove $g_{polimero}$ sono i grammi di polimero che si vogliono ottenere, PM_{HDI} è il peso molecolare dell'esametilene diisocianato, ml di $NaOH_{titolante}$ è il quantitativo di NaOH usato per titolare il campione, ml di $NaOH_{bianco}$ il quantitativo di NaOH per titolare il bianco, 0,6 i grammi di polimero usati per la prova.

3.2.2 Risonanza magnetica nucleare (NMR)

La spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) è una tecnica analitica strumentale che permette di ottenere dettagliate informazioni sulla struttura molecolare dei composti in esame. Misura l'assorbimento di radiazione elettromagnetica di frequenza radio in molecole immerse in un forte campo magnetico. Queste radiazioni provocano transizioni di spin nucleare in particolari atomi (tipicamente ^1H o ^{13}C). Le informazioni sulla struttura molecolare vengono dedotte osservando il comportamento dei nuclei atomici in presenza di un campo magnetico applicato.

Il momento di spin μ è dato dalla relazione:

$$\mu = \gamma I \frac{h}{2\pi}$$

dove γ è il rapporto giromagnetico, I è il numero quantico di spin nucleare, h è la costante di Planck. Lo spin viene prodotto dalle particelle che costituiscono il nucleo, protoni e neutroni. Queste si comportano come se fossero in rotazione (spin) attorno al loro asse e hanno spin $1/2$. In molti atomi (come nel ^{12}C) gli spin sono tutti appaiati, uno in opposizione all'altro e quindi si annullano reciprocamente e il nucleo atomico ha uno spin risultante I uguale a zero, e non risulta visibile. In alcuni atomi, però (come in ^1H e in ^{13}C), il nucleo possiede I diverso da zero. Quando è immerso in un campo magnetico esterno, come l'ago di una bussola, è sottoposto ad una coppia di forze che lo fanno ruotare per allinearli col campo magnetico stesso. Le possibili orientazioni che il nucleo può assumere in un campo magnetico sono governate dal numero quantico m , il quale può assumere i valori da $-I$ a $+I$ (con incrementi di una unità) e quindi può assumere $2I + 1$ valori diversi. Nel caso di un nucleo con spin $1/2$ (come ^1H) ci sono 2 possibili orientazioni: una con $m = -1/2$ e una con $m = +1/2$. Il momento magnetico nucleare m non rimane fermo, ma continua ad oscillare attorno alla direzione del campo magnetico applicato B_0 compiendo un moto di precessione simile a quello di una trottola (Figura 3.5). I due stati possibili del nucleo non hanno la stessa energia, ma lo stato con $m = +1/2$ (allineato con il campo) si trova ad energia leggermente più bassa di quello con $m = -1/2$ (opposto al campo) (Figura 3.6).

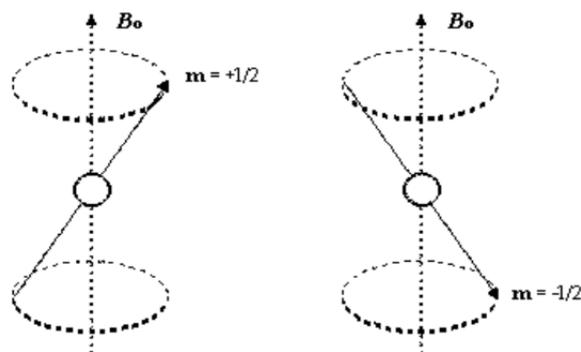


Figura 3.5 Possibili orientamenti dei nuclei in presenza di campo magnetico esterno

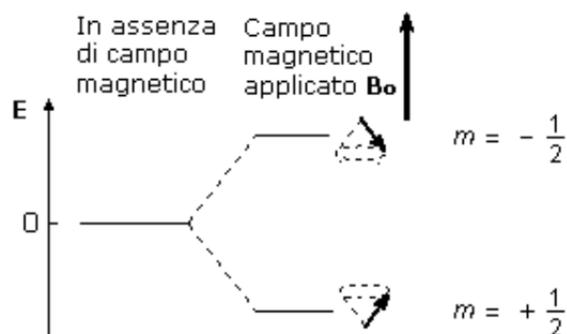


Figura 3.6 Energia e orientamento dei nuclei con o senza campo magnetico esterno

Il moto di precessione dei momenti magnetici nucleari avviene con una frequenza proporzionale alla differenza di energia tra i due livelli detta frequenza di Larmor data dalla formula:

$$\nu = \gamma \frac{B_0}{2\pi}$$

dove γ è il rapporto giromagnetico che dipende dal nucleo in esame. All'aumentare del campo applicato B_0 , aumenta la frequenza di Larmor e quindi aumenta la differenza di energia tra i due livelli. Se il campione viene irradiato con una radiazione elettromagnetica di frequenza uguale alla frequenza di Larmor, si ha un'interazione della componente magnetica della radiazione con i momenti magnetici nucleari (anche questi oscillanti alla frequenza di Larmor). L'energia della radiazione può così essere trasferita ai nuclei. Ogni assorbimento di radiazione comporta un cambiamento di orientazione dello spin nucleare, che ruota da allineato con il campo ad opposto al campo. Quando si verifica questa transizione di spin, si dice che i nuclei sono in risonanza con la radiazione applicata, da qui il nome di Risonanza Magnetica Nucleare, NMR.

Anche nello stato di massima eccitazione, la popolazione dei nuclei nei due livelli permessi è circa uguale, data la piccolissima differenza di energia tra i livelli. Nei moderni strumenti FT-NMR il

segnale NMR viene generato con il metodo ad impulso e acquisito sfruttando la trasformata di Fourier. Con questa tecnica tutti i nuclei di una specie vengono eccitati contemporaneamente da un impulso a radiofrequenza che contiene tutto l'intervallo di frequenze necessario; i dati vengono poi elaborati al computer con la tecnica della trasformata di Fourier. Quando si interrompe l'impulso della radiazione elettromagnetica i nuclei eccitati continuano ad emettere per qualche istante un debole segnale di radiofrequenza che si spegne nel tempo, come una sorta di eco del segnale assorbito. Per registrare questo segnale entra in funzione un circuito ricevente. Il segnale raccolto è un segnale oscillante con frequenza ν , la frequenza di Larmor del nucleo in esame, che si smorza nel tempo e che viene detto FID (free induction decay), libero decadimento dell'induzione. Nel grafico FID la frequenza d'oscillazione è facilmente individuabile misurando la lunghezza d'onda (cioè la distanza tra due creste successive, che rappresenta il periodo dell'onda) e applicando la formula:

$$\nu = \frac{1}{\lambda}$$

dove λ è la lunghezza d'onda. A partire da questo grafico in funzione del tempo, il FID, si ottiene così un nuovo grafico in funzione delle frequenze, chiamato spettro NMR, che mostra la frequenza assorbita dagli atomi in esame, ad esempio quelli di idrogeno (Figura 3.7).

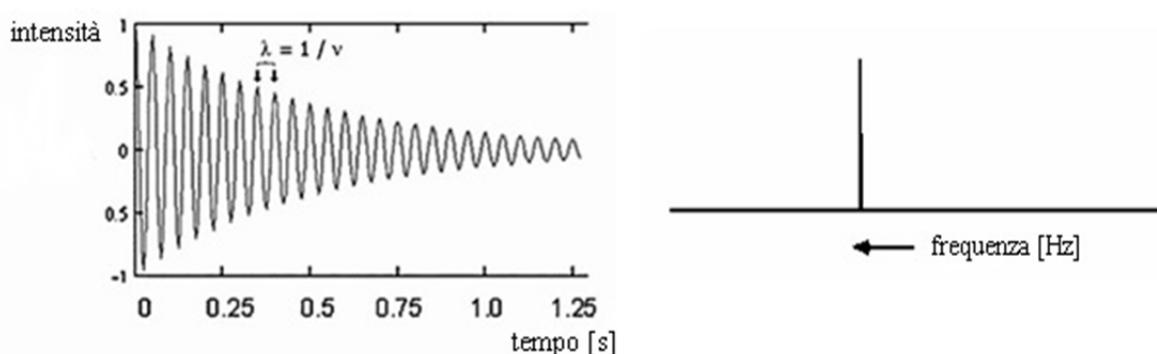


Figura 3.7 Semplice esempio di grafico FID e corrispondente spettro NMR.

Il segnale NMR di un certo nucleo risulta spostato nello spettro, a frequenze più alte o più basse, a seconda del suo intorno chimico. Ciò accade perché gli elettroni sono particelle cariche e, in quanto tali, se immerse in un campo magnetico, si muovono generando un campo magnetico secondario, opposto ad esso. Questo campo magnetico secondario scherma il nucleo dalla piena forza del campo applicato e tanto più grande è la densità elettronica, tanto maggiore sarà l'effetto di

schermatura; di conseguenza, i nuclei che si trovano in un intorno ricco di elettroni percepiranno un campo magnetico meno intenso e saranno quindi caratterizzati da una minore frequenza di Larmor, cioè subiranno la transizione ad una frequenza applicata più bassa rispetto ai nuclei situati in intorni poveri di elettroni. In particolare, questo effetto dipende dal fatto che gli elettroni di legame possono trovarsi più vicini o più lontani dall'atomo in esame a seconda dell'elettronegatività dell'altro atomo legato; in generale, protoni o carboni adiacenti ad atomi più elettronegativi risultano deschermati e di conseguenza avvertono un campo magnetico applicato più intenso, subiscono pertanto la transizione a frequenze maggiori e, nello spettro NMR, si trovano ad uno spostamento chimico più alto.

Lo spostamento chimico è la differenza tra la frequenza ν (in Hz) del segnale NMR del nucleo in esame e quella del TMS (tetrametilsilano), che viene preso come riferimento. Nel caso di ^1H -NMR:

$$\text{Spostamento chimico (assoluto)} = \nu_{(H_{\text{misurato}})} - \nu_{(HTMS)}$$

Per convenzione, infatti, sia per ^1H -NMR che per ^{13}C -NMR, lo zero della scala degli spostamenti chimici è attribuito all'assorbimento all'NMR del tetrametilsilano TMS $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ nel quale gli idrogeni e i carboni sono più fortemente schermati di quanto si osserva nella maggior parte delle altre molecole organiche che quindi hanno tutte spostamenti chimici positivi.

Lo spostamento chimico assoluto, però, è proporzionale al campo applicato, quindi strumenti che usano campi magnetici più intensi producono spostamenti chimici assoluti maggiori. Per questo si utilizza lo spostamento chimico relativo δ definito dalla seguente equazione:

$$\delta = \frac{\nu_{(H_{\text{misurato}})} - \nu_{(HTMS)}}{\nu_{(HTMS)}} \times 10^6 \text{ ppm}$$

In questo modo lo spostamento chimico δ , misurato in ppm (Hz/MHz), è indipendente dal campo applicato, quindi è uguale su tutti gli strumenti indipendentemente dall'intensità del loro campo magnetico.

Per ^1H -NMR, la scala δ generalmente si estende da 0 a 12 ppm; mentre per ^{13}C -NMR è molto più grande e copre l'intervallo 0-220 ppm. In generale, idrogeni o carboni legati ad atomi più elettronegativi risultano deschermati e, nello spettro, si trovano più a sinistra, ad uno spostamento chimico più alto.

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%).

Gli spettri $^1\text{H-NMR}$ sono stati acquisiti a temperatura ambiente (25°C) con concentrazione dei polimeri pari al 0.5 wt% (con tempo di rilassamento pari a 0 secondi, tempo di acquisizione di 2 secondi per 100 ripetizioni). Gli spettri $^{13}\text{C-NMR}$ 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).

3.2.3 Cromatografia a permeazione su gel (GPC)

La cromatografia a permeazione su gel (GPC) è una tecnica di separazione fisica che consente di determinare la distribuzione del peso molecolare in un polimero. Il metodo di analisi dei campioni si basa sull'acquisizione dei segnali del campione e suo confronto con curve di taratura realizzate attraverso standard di polimeri a peso noto. Lo strumento è costituito da una pompa volumetrica, una colonna riempita di particelle porose ed un rivelatore, come illustrato in Figura 3.8.

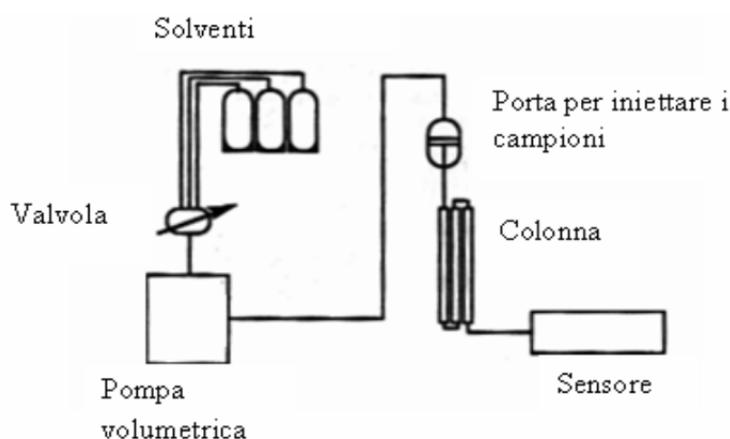


Figura 3.8 Schematizzazione del cromatografo

Il sistema di funzionamento della GPC prevede di solubilizzare del campione in cloroformio, ed iniezione, dopo filtrazione, all'interno dello strumento.

La colonna cromatografica per analisi in GPC è generalmente costituita di particelle di polistirene a granulometria differente impaccate in modo tale da generare una porosità controllata. Gli analiti una volta iniettati permeano le porosità della colonna a seconda del loro volume idrodinamico (generalmente correlato al peso molecolare). In funzione della frazione di porosità permeata varierà il tempo di ritenzione. Molecole di piccole peso molecolare permeano tutta la porosità con un tempo di ritenzione lungo. Molecole di grandi dimensioni sono escluse dalla porosità e vengono eluite a bassi tempi di ritenzione (limite di esclusione). Molecole intermedie possono permeare parte della porosità con tempi di ritenzione intermedi (Figura 3.9). La colonna può separare gli analiti in funzione del peso molecolare e il cromatogramma assume la forma di distribuzione dei pesi

molecolari. Il detector è generalmente a indice di rifrazione, mentre per campioni che presentano assorbimento nel visibile si può utilizzare un detector UV-Vis. L'utilizzo di polimeri a peso molecolare noto come standard permette la stima del peso molecolare del campione.

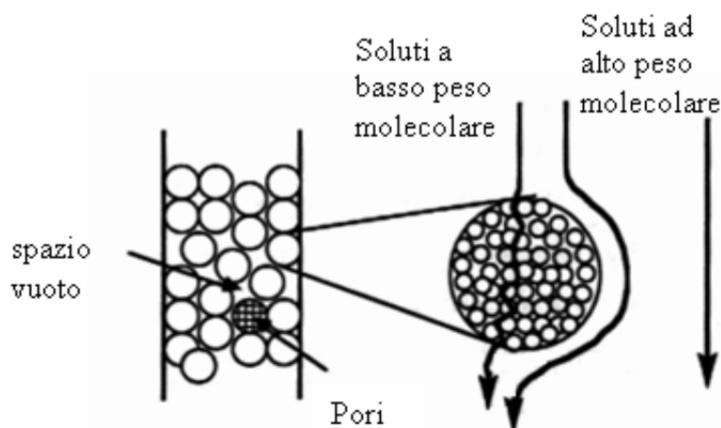


Figura 3.9 Schematizzazione della separazione molecolare

In uscita dalla colonna il sensore permette di fornire, istante per istante, un segmento 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. La conversione dei tempi di ritenzione in pesi molecolari è possibile tramite alle curve di taratura.

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 (Figura 3.10). Come eluente è stato usato cloroformio (flusso in colonna 0.3 mL/min). Le soluzioni utilizzate sono preparate con 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.



Figura 3.10 Strumentazione GPC

3.3 Realizzazione di film per pressofusione

La preparazione di film polimerici è eseguita mediante pressofusione. Tale processo, di semplice realizzazione, prevede l'interposizione del polimero tra due piastre di teflon, successivamente inserite tra le piastre di compressione della pressa Carver Laboratory Press (Figura 3.11).



Figura 3.11 Macchina stampaggio film

Le due superfici metalliche sono riscaldate elettricamente alla temperatura desiderata (160°C) e permettono la fusione del polimero. Successivamente, l'applicazione di una forza costante pari a circa $20 \cdot 10^3$ N per due minuti permette lo stampaggio del film. Le piastre vengono infine

raffreddate tramite con acqua corrente, per garantire una repentina solidificazione del campione nella nuova forma. E' così possibile ottenere film sottili.

3.4 Caratterizzazione termica

3.4.1 Calorimetria differenziale a scansione (DSC)

La calorimetria differenziale a scansione è una tecnica utilizzata 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 consiste nel ricavare informazioni sul materiale attraverso un riscaldamento o raffreddamento controllato. In particolare, si basa sul riscaldamento simultaneo secondo un definito programma di temperatura del campione in esame e del riferimento. E' misurata la differenza di flusso termico tra i due.

Le misure sono state condotte con un DSC6 Perkin-Elmer. La strumentazione (Figura 3.13), schematizzata in Figura 3.12, consiste di due piatti dedicati all'alloggiamento di altrettante capsule, in cui vengono poste il campione (circa 10 mg) e il riferimento (capsula vuota).

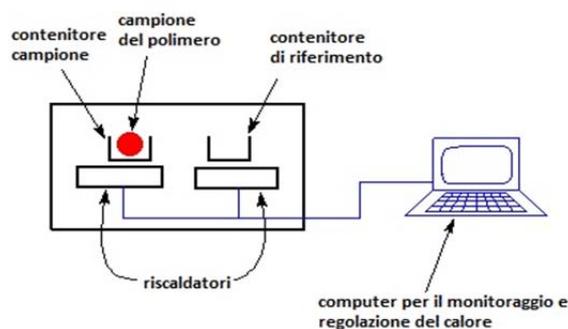


Figura 3.12 Schematizzazione DSC

Le celle calorimetriche costituiscono microcalorimetri, sono mantenute in atmosfera inerte di azoto durante le misurazioni. Sono sottoposte allo stesso programma termico: in assenza di transizioni di fase sono alla stessa temperatura; al contrario, in caso di variazioni di fase, si crea uno squilibrio termico, che viene letto da termoresistenze. Queste permettono 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 3.13 Strumentazione DSC

La temperatura di transizione vetrosa (T_g) è un parametro caratteristico dei solidi polimerici rappresentante la soglia termica oltre la quale si verifica il passaggio dallo stato solido vetroso a quello gommoso, in cui sono permessi i movimenti di contorsione e rotazione all'interno della catena polimerica. Si manifesta come una variazione endoterma della linea di base ed il valore di T_g è determinato in corrispondenza della metà della variazione di calore specifico associata alla transizione (Figura 3.14).

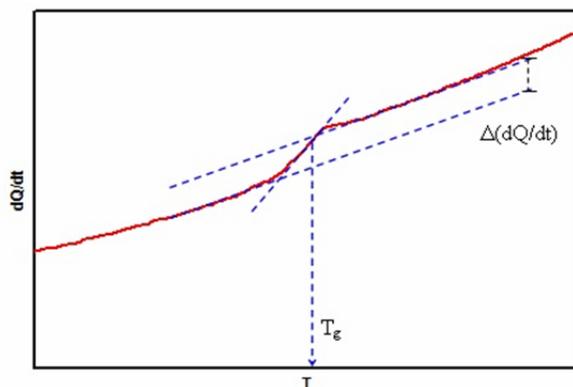


Figura 3.14 Calcolo T_g

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

$$\Delta c_p = \Delta \left(\frac{dQ}{dT} \right) = \Delta \left(\frac{dQ}{dt} \right) \cdot \left(\frac{dt}{dT} \right)$$

dove $(dt/dT)^{-1}$ è la velocità di scansione.

La temperatura di fusione (T_m) è una transizione termodinamica di primo ordine, che si presenta come un picco endotermico e costituisce la soglia termica alla quale si verifica il passaggio da polimero solido a polimero fuso (Figura 3.15).

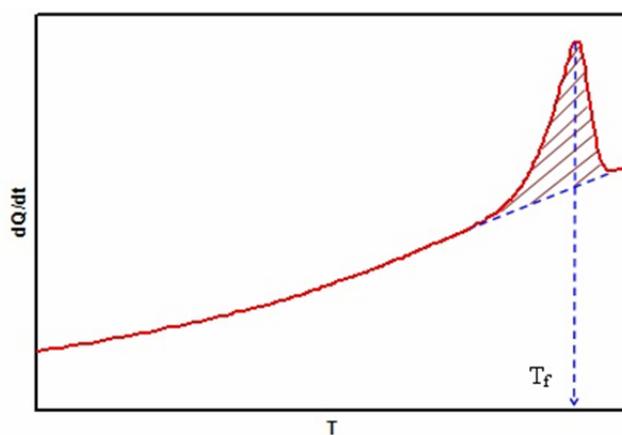


Figura 3.15 Calcolo T_m

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

Se il polimero tende a formare delle strutture ordinate (cristalliti) si ha una cessione di calore da parte del materiale (λ cristallizzazione) che si evidenzia con una diminuzione del flusso di calore, come mostrato in figura 3.16.

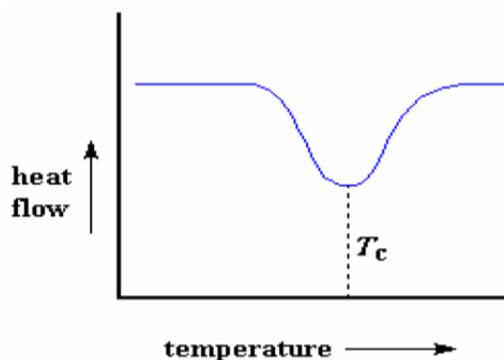


Figura 3.16 Calcolo T_c

Le misure sono state condotte seguendo scansioni successive:

- **I scansione:** si porta il polimero a -70°C nella sua forma cristallina e lo si riscalda a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ per ottenere il passaggio alla forma gommosa e successivamente a fusione. La temperatura finale (160°C) è tale da evitare la persistenza di nuclei di cristallinità.
- **II scansione:** il polimero fuso, e mantenuto ad una temperatura di 160°C per 5 minuti, viene raffreddato molto velocemente ($100^{\circ}\text{C}/\text{min}$) al di sotto della T_g nel tentativo di limitare al massimo il processo di cristallizzazione. Viene eseguito poi un secondo riscaldamento a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ fino a 160°C .
- **III scansione:** analogo riscaldamento, seguito da un'isoterma, della durata di 3 min, e da raffreddamento, a $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$, fino a temperatura di circa -5°C .

3.4.2 Analisi Termogravimetrica (TGA)

Attraverso l'analisi termogravimetrica si ottengono 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 si avvale 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 sono CO_2 e acqua.

La curva termogravimetrica per un polimero ha l'andamento tipico illustrato in Figura 3.17. Nel presente lavoro di tesi sono state considerate la temperatura a cui corrisponde la perdita di peso pari al 5% ($T_{5\% \text{loss}}$) e la temperatura corrispondente alla massima velocità di perdita di peso (T_{max}).

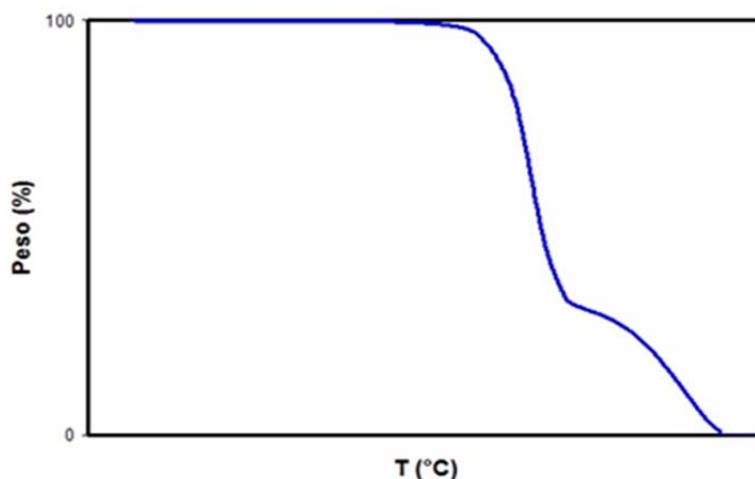


Figura 3.17 Curva Termogravimetrica

Le prove sono state condotte in atmosfera di azoto su campioni di 5 mg, riscaldati alla velocità di 10°C/min, in un intervallo di temperature tra 60 e 850°C, utilizzando la bilancia termogravimetrica PerkinElmer TGA4000.

3.5 Analisi diffrattometrica a Raggi X (XRD)

La determinazione della struttura di sistemi molecolari viene effettuata attraverso l'uso di metodologie notevolmente diversificate, quali l'assorbimento UV, il dicroismo circolare e la spettroscopia vibrazionale IR. Attualmente le metodologie più utilizzate per definire i parametri molecolari e strutturali sono la risonanza magnetica nucleare NMR e la diffrazione a Raggi X (XRD). Quest'ultima tecnica è utilizzata generalmente per la determinazione delle tensioni residue nei materiali metallici, e per la comprensione delle funzioni e dei meccanismi molecolari. Infatti, l'analisi XRD studia e misura gli effetti d'interazione tra un fascio di Raggi X e la materia cristallina o policristallina. Questo permette, tramite un'analisi non distruttiva, la determinazione della struttura del materiale in esame, attraverso l'osservazione sia degli aspetti costituzionali, cioè il modo in cui gli atomi sono interconnessi tra loro facendo distinzione tra legami semplici e multipli, che configurazionali, indicando i diversi possibili arrangiamenti spaziali degli atomi. Attraverso la diffrazione si riesce a determinare in modo non ambiguo la struttura completa corrispondente alla conformazione in un minimo energetico.

L'analisi è condotta attraverso l'impiego di un diffrattometro, che tramite direzionamento della radiazione su un cristallo, permette di diffonderla elasticamente dagli elettroni in tutte le direzioni (Figura 3.18). Il principio di funzionamento di tale tecnica si basa sulla Legge di Bragg:

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

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 .

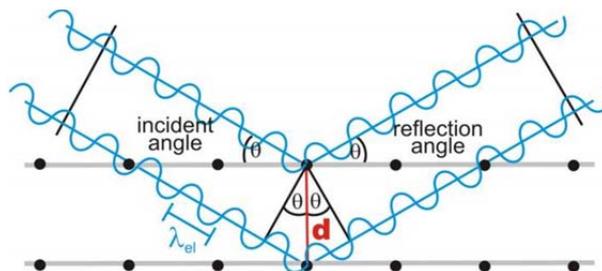


Figura 3.18 Legge di Bragg

Attraverso tale analisi, si riescono ad ottenere quindi le seguenti informazioni:

- Determinazione di strutture molecolari
- Studio della dinamica in stato solido
- Analisi del legame chimico
- Studi di transizione di fase e polimorfismo.

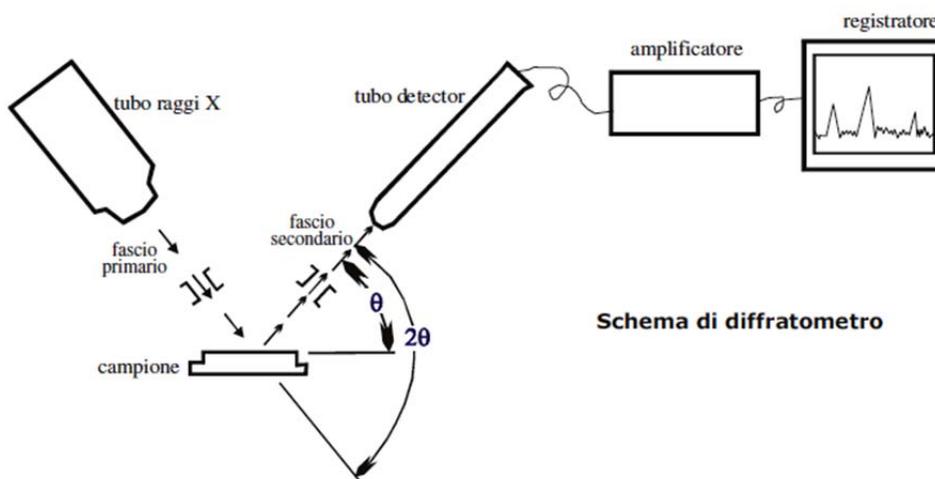


Figura 3.19 Schema di funzionamento di un diffrattometro

L'analisi XRD è stata condotta mediante diffrattometro X'PertPro PANalytical (Figura 3.19) che utilizza la lunghezza d'onda della radiazione $K\alpha$ del rame ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$), ed è dotato di detector veloce a stato solido X'Celerator. È stato esplorato l'intervallo 2θ da 5 a 60° con un passo di 0.1° e tempo di conteggio di 100 secondi per punto. L'indice di cristallinità (χ_c) è stato calcolato dai diagrammi di diffrazione facendo il rapporto tra l'area dovuta alla frazione di materiale cristallino (A_c) e l'area totale sottostante il profilo (A_t), $\chi_c = A_c/A_t$, tenendo conto della radiazione diffusa. A_c è stata ottenuta sottraendo al profilo osservato la curva dovuta alla diffusione del materiale amorfo.

3.6 Misura dell'angolo di contatto (WCA)

Per angolo di contatto si intende 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 3.20). Le misure WCA permettono di determinare la bagnabilità di una superficie.

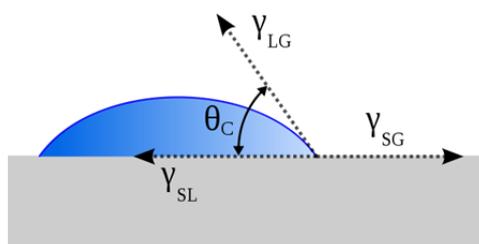


Figura 3.20 Angolo di contatto

L'angolo di contatto corrisponde alla minima energia libera di superficiale del sistema, ed è fisicamente descritto dalla Legge di Young, la quale risulta dal bilancio delle forze orizzontali agenti su una goccia di volume trascurabile deposta su una superficie ideale:

$$\gamma_S = \gamma_L \cos \theta + \gamma_{SL}$$

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

Le analisi WCA sono state effettuate mediante lo strumento Krüss DSA30S – Drop Shape Analysis, formato da un banco ottico avente una sorgente di luce ad intensità regolabile, una telecamera digitale dotata di zoom ottico che costituisce il rivelatore 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 e, tramite un calcolo ad approssimazioni successive, permette di ottenere il profilo della goccia che meglio si adatta al contorno reale ottenuto dall'immagine.

Per ogni campione sono state depositate 10 gocce di 4 μL ciascuna, ad una velocità di 100 $\mu\text{L}/\text{min}$, in punti diversi del film per evitare il contatto con superfici già bagnate. I dati di angolo di contatto per ogni provino sono espressi come valori medi con relativa deviazione standard. Le prove sono state condotte alla temperatura di 25 °C in condizioni di umidità relativa pari al 38%.

3.7 Caratterizzazione meccanica

Le misure di resistenza a trazione vengono impiegate per studiare il comportamento dei materiali polimerici in presenza di sollecitazioni meccaniche.

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

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

e *strain* (deformazione) 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 riportati in 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 3.21.

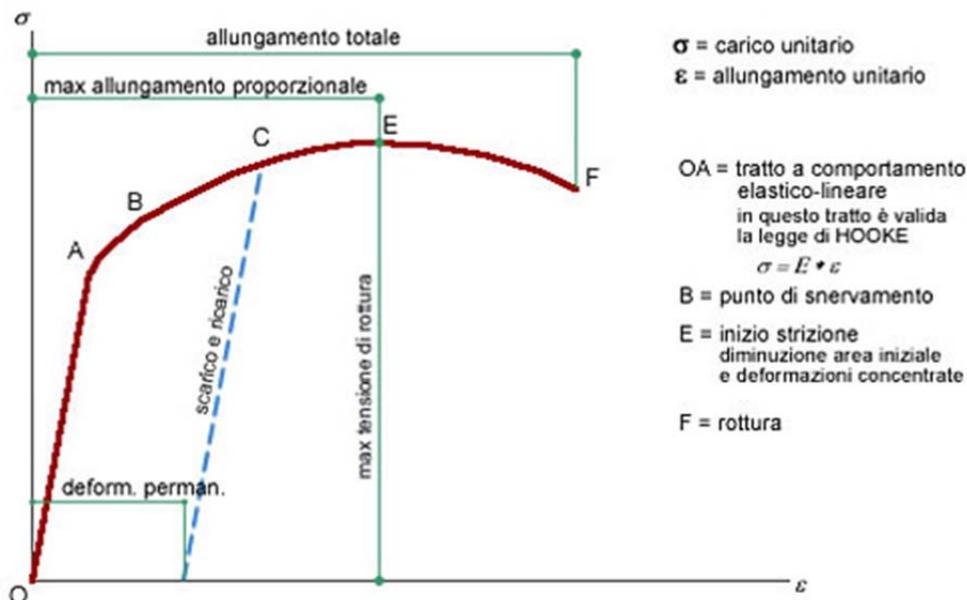


Figura 3.21 Tipica curva sforzo-deformazione

La prima parte di questa curva è sempre lineare: il materiale segue dunque, fino ad un certo punto chiamato limite elastico, la legge di Hooke:

$$\sigma = E \cdot \varepsilon$$

in cui la costante di proporzionalità E è il modulo di Young, che corrisponde alla pendenza del tratto iniziale rettilineo della curva. All'aumentare della deformazione si arriva ad un punto, detto di snervamento, in cui la deformazione permane anche quando il carico viene rimosso, a causa dello scorrimento dei piani reticolari. Il materiale subisce perciò una deformazione permanente. 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 provini.

Le prove meccaniche sono state condotte utilizzando un dinamometro Instron 4465 con cella di carico 100 N. Lo strumento è costituito da una struttura rigida di base e una traversa mobile posta nella parte superiore. I polimeri, di dimensioni 10x35mm vengono fissati e l'applicazione del carico è effettuata tramite il movimento verso l'alto della struttura superiore (Figura 3.22). 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 6 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.



Figura 3.22 Prova di trazione

3.8 Degradazione idrolitica

Le prove di degradazione idrolitica permettono di testare il comportamento dei vari polimeri sintetizzati e la loro eventuale velocità di degradazione in ambienti che simulano quello biologico.

Gli esperimenti sono stati condotti, in condizioni di temperatura e pH fisiologici (37°C, pH 7.4), su film 10x35mm dei diversi polimeri in esame. I campioni sono stati inizialmente essiccati e pesati, successivamente sono stati inseriti in provette contenenti circa 8 ml di soluzione acquosa tamponata a pH 7.4 con tampone fosfato e sono stati mantenuti in agitazione all'interno di un bagno termostatico ad una temperatura costante pari a 37 °C per periodi di tempo variabili. La soluzione tampone, cambiata periodicamente per mantenere costante il pH, è stata preparata seguendo la procedura di seguito riportata: in 800ml di acqua distillata, vengono disciolti 8g di NaCl, 0.2g di KCl, 1.44g di Na₂HPO₄ e 0.24g di KH₂PO₄; il pH della soluzione è aggiustato al valore di 7.4 per aggiunta di HCl e il volume finale portato ad 1 litro. Da ultimo la soluzione è sterilizzata in autoclave per evitare la crescita di microorganismi al suo interno.

Per analizzare i cambiamenti provocati dal processo degradativo nel tempo si è stabilito un calendario dei prelievi. Nei giorni fissati è stato prelevato un campione in triplicato. Il trattamento dopo il prelievo ha previsto:

- lavaggio con acqua distillata per eliminare i sali della soluzione tampone;
- asciugatura del campione con carta assorbente;
- essiccamento sotto vuoto per eliminare l'H₂O residua per 24 h a temperatura ambiente;
- misura del peso finale di ciascun campione;
- misura del peso molecolare medio numerico e ponderale tramite GPC.

Risultati e discussione

In questo capitolo verranno presentati e discussi i risultati delle prove di caratterizzazione effettuate sui polimeri OH-terminati (PBS e P(BAmBDGn) e sui copolimeri multiblocco $PBS_xP(BAmBDGn)_y$, sintetizzati secondo le metodologie descritte nel Capitolo 3; m ed n indicano rispettivamente la percentuale molare di sequenze BA e BDG nei copolimeri P(BAmBDGn), mentre x e y rappresentano rispettivamente la percentuale in massa di PBS e P(BAmBDGn) nei polimeri finali ad elevato peso molecolare.

4.1 Caratterizzazione dei polimeri a basso peso molecolare

4.1.1 Caratterizzazione molecolare

Per tutti i polimeri sintetizzati, la struttura chimica, la composizione effettiva e la lunghezza dei blocchi sono state determinate tramite spettroscopia 1H -NMR, mentre il peso molecolare e la distribuzione dei pesi molecolari sono stati misurati tramite cromatografia su permeazione di gel (GPC) (si veda Tabella 4.1).

Il PBS a basso peso molecolare, dopo purificazione, si presenta a temperatura ambiente sotto forma di fiocchi di colore bianco opaco. Anche il (P(BA70BDG30)) purificato risulta un solido fioccoso di colore giallo chiaro; il P(BA50BDG50), invece, è un solido gommoso completamente amorfo di colore giallognolo.

La Tabella 4.1 mostra come i tre polimeri di partenza siano caratterizzati, come atteso, da un peso molecolare non elevato, a garanzia della presenza della necessaria quantità di gruppi OH terminali per il successivo processo di estensione di catena.

Tabella 4.1. Dati di caratterizzazione molecolare di PBS e dei copolimeri P(BAmBDGn).

Polimeri	Mn* (g/mol)	BDG* (mol %)	b**	L_{BDG}**	L_{BA}**
PBS diolo	5950	-	-	-	-
P(BA70BDG30)	10950	28	0.99	1.4	3.6
P(BA50BDG50)	12300	49	0.99	2.0	2.1

* da 1H -NMR

** da ^{13}C -NMR

La struttura chimica e la composizione effettiva di tutti i polimeri sintetizzati sono state determinate tramite analisi $^1\text{H-NMR}$. Gli spettri ottenuti sono risultati coerenti con la struttura prevista, permettendo di escludere la presenza di reazioni secondarie durante la polimerizzazione.

Gli spettri $^1\text{H-NMR}$ evidenziano inoltre come la composizione dei copolimeri non si sia discostata eccessivamente da quella di alimentazione (Tabella 4.1).

Lo spettro in figura 4.1 mostra i segnali caratteristici del PBS. A δ 1.71 ppm e a δ 4.12 ppm sono registrati i segnali dei protoni metilenici della subunità butandiolica, (c) e (b) rispettivamente. Gli stessi protoni relativi però al butandiolo terminale (c', b') sono coperti dai picchi b e c. Inoltre, a δ 2.64 ppm è presente il segnale del tripletto dei protoni metilenici dell'acido succinico (a). Infine, si può notare un tripletto (d), dovuto ai protoni metilenici posizionati in α agli OH terminali del butandiolo (δ 3.31 ppm).

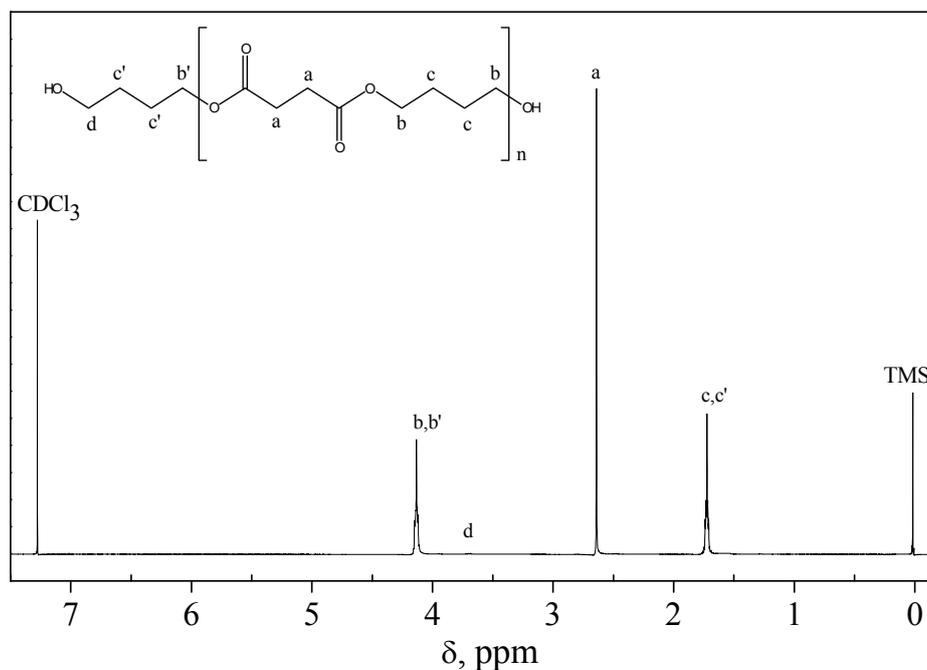


Figura 4.1. Spettro $^1\text{H-NMR}$ del PBS con attribuzione dei picchi.

Per quanto riguarda i copolimeri a basso peso molecolare, i picchi caratteristici del P(BA70BDG30) e del P(BA50BDG50) (di cui è riportato l'esempio di P(BA50BDG50) in figura 4.2) sono un singoletto a δ 4.24 ppm dovuto ai protoni metilenici dell'acido diglicolico (e), due tripletti in posizione δ 4.20 ppm e δ 4.09 ppm dovuti ai protoni metilenici in α all'ossigeno della subunità butandiolica (f, g). Anche in questo caso agli stessi ppm sono presenti i segnali dei protoni metilenici del butandiolo terminale di catena (f', g'). E' anche presente un segnale a δ 2.33 ppm dovuto ai protoni metilenici in α al carbonile dell'acido adipico (k), e una sovrapposizione di

segnali a bassi ppm (δ 1.63-1.75) attribuita ai protoni metilenici interni alla subunità butandiolica (h, i, j, h', i'). Sono presenti infine due segnali di piccola entità a δ 3.68 ppm (l, m), attribuibili ai protoni metilenici posizionati in α agli OH terminali del butandiolo. La composizione dei copolimeri è stata calcolata considerando l'area del picco di risonanza dei protoni dei gruppi metilenici della subunità diglicolica (g, δ 4.24 ppm) rapportata all'area totale dei segnali dei protoni metilenici delle subunità diglicolica e adipica (k, g, δ 2.33 ppm, δ 4.24 ppm).

I copolimeri sono caratterizzati da una distribuzione statistica delle unità comonomeriche: infatti, l'elevata temperatura del processo di policondensazione e il catalizzatore impiegato [Ti(OBu)₄] favoriscono le reazioni di transesterificazione con conseguente distribuzione statistica delle sequenze.

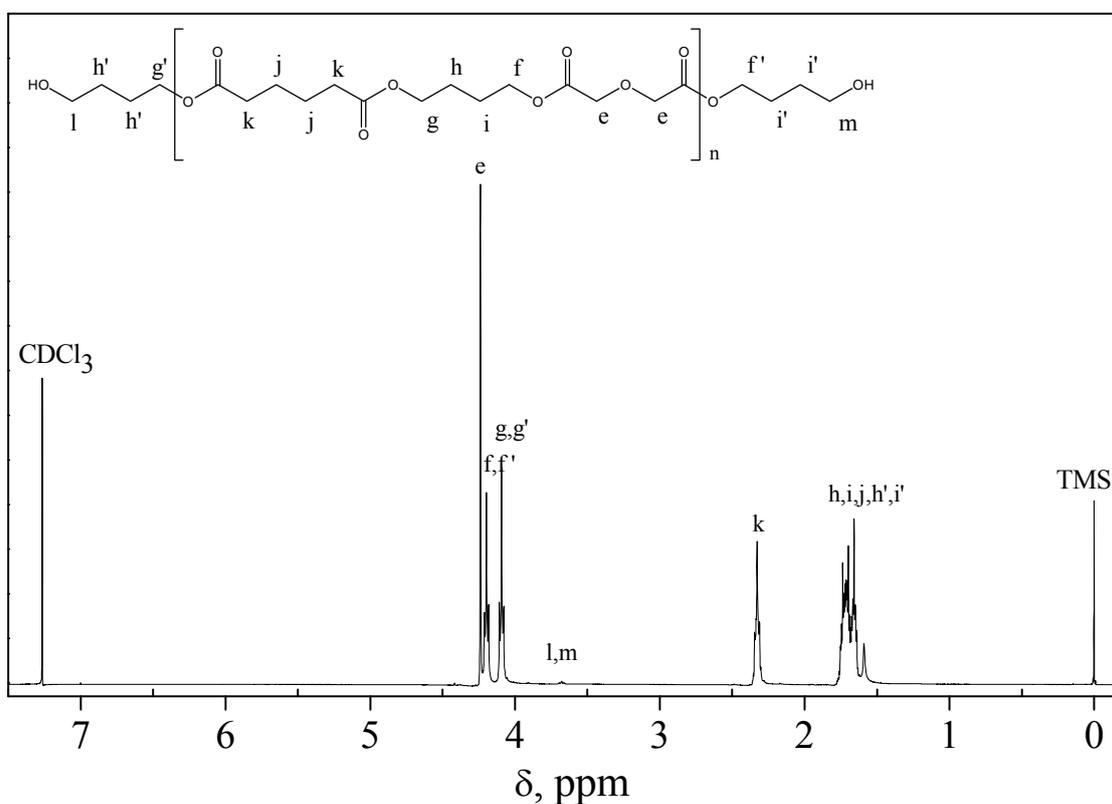


Figura 4.2. Spettro ¹H-NMR del P(BA50BSG50) con attribuzione dei picchi.

4.1.2 Caratterizzazione termica

Poiché il processo di fusione di un polimero è influenzato dalla storia termica del materiale, prima dell'analisi i campioni sono stati mantenuti per due settimane a temperatura ambiente, per consentirne la completa cristallizzazione e uniformarne la storia termica.

Mediante calorimetria differenziale a scansione (DSC) sono state determinate la temperatura di transizione vetrosa (T_g), la temperatura di fusione (T_m) e i calori in gioco in entrambe le transizioni

termiche. In tutti i polimeri si registra una variazione endotermica della linea di base, associata alla transizione vetrosa (figura 4.3): per il PBS è pari a -32°C , mentre la T_g dei due copolimeri è più bassa (data la presenza della subunità adipica) e risulta pari a -51°C per il P(BA70BDG30) e -48°C per il P(BA50BDG50). Il picco di fusione, presente solo in due polimeri semicristallini, si manifesta a 112°C per il PBS, mentre risulta essere nettamente inferiore (39°C) per il P(BA70BDG30). I dati ottenuti sono riportati in tabella 4.2.

Tabella 4.2. Caratterizzazione termica dei polimeri a basso peso molecolare

Polimeri	T_g ($^{\circ}\text{C}$)	ΔC_p ($\text{J}/^{\circ}\text{C g}$)	T_m ($^{\circ}\text{C}$)	ΔH_m (J/g)
PBS diolo	-32	0.087	112	79
P(BA70BDG30)	-51	0.28	39	25
P(BA50BDG50)	-48	0.54	-	-

4.2 Caratterizzazione dei polimeri ottenuti per estensione di catena

I polimeri a basso peso molecolare sono stati successivamente sottoposti a reazione di estensione di catena: sono stati preparati cinque polimeri con percentuali diverse di segmenti *soft* ed *hard*. La subunità *hard* del PBS è presente in tutti i polimeri sintetizzati.

4.2.1 Caratterizzazione molecolare

Dopo la reazione di estensione di catena, il PBS ottenuto si presenta ancora come solido cristallino, di colore bianco. I quattro copolimeri sono anch'essi tutti semicristallini e di colore giallo.

L'analisi $^1\text{H-MNR}$ ha permesso di verificarne la struttura chimica; uno spettro è riportato in figura 4.3 a titolo di esempio.

Tabella 4.3. Dati di caratterizzazione molecolare dei polimeri ad alto peso molecolare

Polimeri	Mn* (g/mol)	D*	%PBS**	%BDG**	% HDI**
PBS	81200	2.4	100	-	4.0
PBS₅₀P(BA70BDG30)₅₀	76100	2.3	53	14	3.7
PBS₃₀P(BA70BDG30)₇₀	77000	2.3	33	20	3.3
PBS₅₀P(BA50BDG50)₅₀	70400	2.3	55	25	4.5
PBS₃₀P(BA50BDG50)₇₀	69500	2.4	26	34	2.9

* da GPC

** da ¹H-NMR

Lo spettro evidenzia la presenza dei picchi caratteristici di entrambi i polimeri a basso peso molecolare di partenza; in aggiunta sono presenti tre picchi relativi all'estensore di catena (esametilene diisocianato) introdotto in catena: a δ 3.30 ppm il segnale dei protoni metilenici in α all'azoto (p); a δ 1.34 ppm e δ 1.25 ppm il segnale dei protoni metilenici interni alla catena carbonilica (q, r). Il calcolo della composizione reale è stato effettuato in base al rapporto tra le aree dei picchi di risonanza dei protoni alifatici della subunità succinica (δ 2.64 ppm) e dei protoni dei gruppi metilenici della subunità diglicolica (δ 4.24 ppm). I dati riportati in tabella 4.3 dimostrano come la composizione effettiva sia risultata, in tutti i casi, molto vicina a quella di alimentazione.

Prima della caratterizzazione, i campioni ottenuti per estensione di catena sono stati sottoposti a pressofusione per ottenere film sottili di spessore uniforme, secondo la procedura indicata nel capitolo 3. Per gli studi di caratterizzazione sono stati utilizzati i campioni privi di difetti e con spessore circa costante tra 0,20 e 0,30 mm, i quali sono stati mantenuti a temperatura ambiente sotto vuoto in essiccatore per 15 giorni, per consentire il pieno sviluppo della fase cristallina e permettere di uniformare la storia termica dei vari campioni.

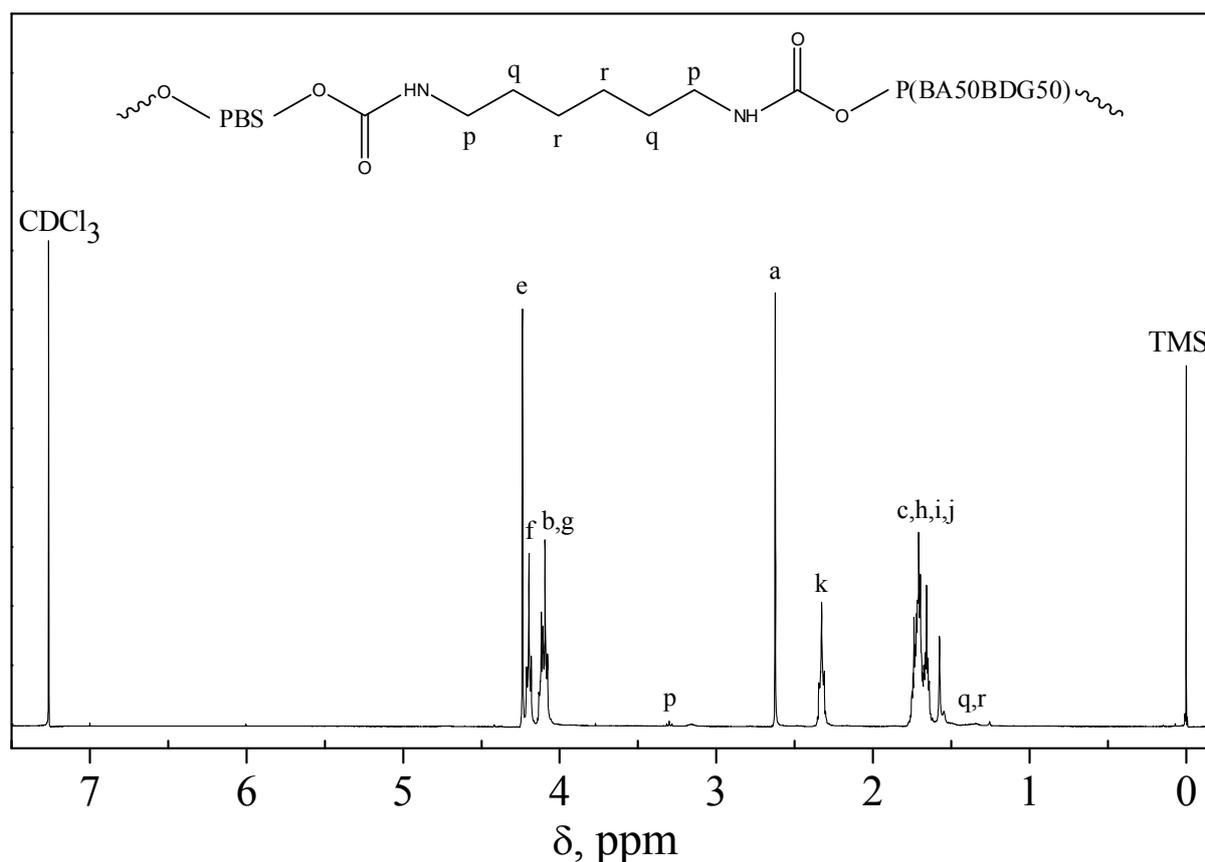


Figura 4.3. Spettro $^1\text{H-NMR}$ del $\text{PBS}_{30}\text{P}(\text{BA50BSG50})_{70}$ con attribuzione dei picchi.

Il peso molecolare dei copolimeri ottenuti tramite estensione di catena è stato determinato attraverso cromatografia a permeazione su gel, che ha permesso di verificare un aumento dell' M_n di circa 7 volte rispetto a quello iniziale nel caso dei copolimeri e di circa 20 volte nel caso del PBS (Tabella 4.3). Inoltre la polidispersità risulta buona, non superando il valore di 2,4. Si ricorda che i poliesteri ottenuti per policondensazione tipicamente presentano un indice di polidispersità di circa 2.

4.2.2 Caratterizzazione termica

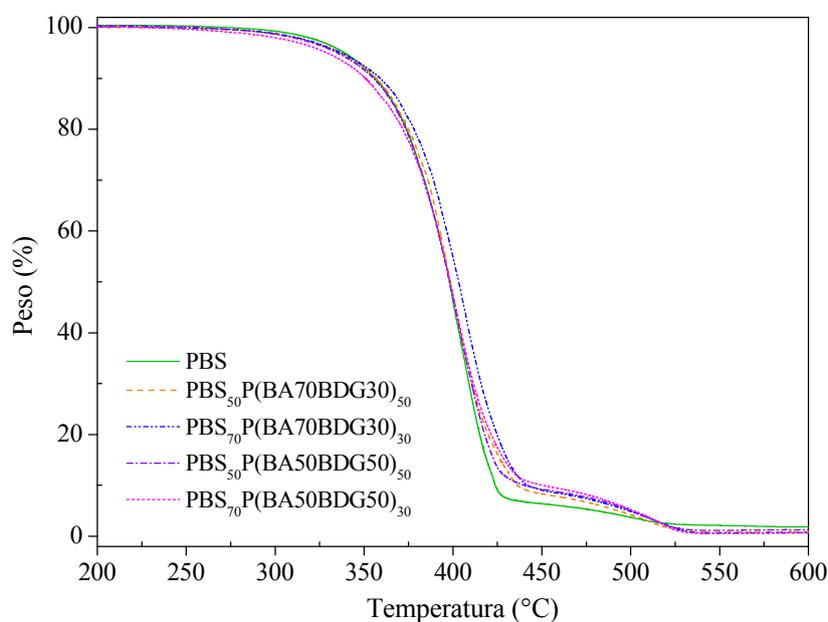
Tramite analisi termogravimetrica (TGA), condotta in atmosfera inerte di azoto, è stata determinata la temperatura alla quale corrisponde una perdita di peso del 5% ($T_{5\%loss}$) e la temperatura corrispondente alla massima velocità di perdita di peso (T_{max}). La perdita di peso è in tutti i casi pari al 100% ed avviene praticamente in un unico stadio. Inoltre, tutti i polimeri analizzati (PBS incluso) hanno mostrato simile e buona stabilità termica (Tabella 4.4). Si è notato un leggero calo della stabilità termica all'aumentare del quantitativo di sequenze BDG, legato alla presenza di atomi di ossigeno etero che favoriscono il processo termossidativo.

Tabella 4.4. Dati di caratterizzazione termica ottenuti tramite TGA e DSC (I scan) dei polimeri $PBS_xP(BAmBDGn)_y$.

Polimeri	$T_{5\%}$ (°C)	T_{max} (°C)	I scan			
			T_{mBS} (°C)	ΔH_{mBS} (J/g)	T_{mBA} (°C)	ΔH_{mBA} (J/g)
PBS	339	402	112	54	-	-
$PBS_{50}P(BA70BDG30)_{50}$	337	400	106	28	10	5
$PBS_{30}P(BA70BDG30)_{70}$	337	402	104	19	18	10
$PBS_{50}P(BA50BDG50)_{50}$	335	401	105	29	-	-
$PBS_{30}P(BA50BDG50)_{70}$	329	402	101	15	-	-

Tabella 4.5. Dati di caratterizzazione termica ottenuti tramite DSC (II scan) dei polimeri $PBS_xP(BAmBDGn)_y$.

Polimeri	II scan								
	T_g (°C)	ΔC_p (J/°C g)	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_{mBS} (°C)	ΔH_{mBS} (J/g)	T_{mBABDG} (°C)	ΔH_{mBABDG} (J/g)	T_{cc} (°C)
PBS	-30	0.21	-	-	112	51	-	-	77
$PBS_{50}P(BA70BDG30)_{50}$	-45	0.20	-	-	105	26	9	3	59
$PBS_{30}P(BA70BDG30)_{70}$	-46	0.29	-	-	104	18	17	11	48
$PBS_{50}P(BA50BDG50)_{50}$	-41	0.32	-	-	105	27	-	-	59
$PBS_{30}P(BA50BDG50)_{70}$	-42	0.52	15	-14	101	15	-	-	31

**Figura 4.4.** Curve termogravimetriche di PBS e dei polimeri $PBS_xP(BAmBDGn)_y$.

Successivamente, il PBS e i copolimeri sono stati sottoposti a misure calorimetriche: il peso molecolare, elevato e comparabile, dei campioni in esame permette di escludere una sua influenza sulle proprietà termiche.

Dalle curve calorimetriche, riportate in Figura 4.5a, è possibile notare come tutti i campioni presentino una variazione endotermica della linea di base, associata alla transizione vetrosa. Inoltre, tutti i poliesteri risultano semicristallini, mostrando un'endoterma di fusione.

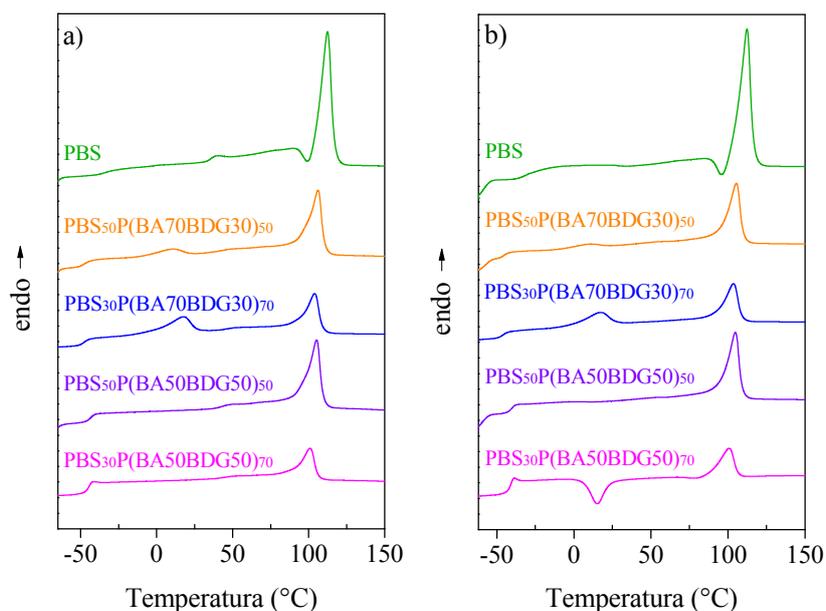


Figura 4.5. Curve calorimetriche di PBS e dei polimeri $PBS_xP(BA_mBDG_n)_y$; a) Iscan; b) Il scan dopo rapido raffreddamento dallo stato fuso.

Nel caso del PBS, il picco di fusione si manifesta ad alta temperatura (112 °C); il calore di fusione associato è consistente. Tutti i copolimeri in oggetto presentano invece una temperatura di fusione leggermente più bassa e un calore di fusione significativamente inferiore rispetto al PBS.

Tra i diversi copolimeri è possibile notare un leggero spostamento del picco di fusione principale, al variare del quantitativo di segmenti *soft* e alla natura dello stesso. In particolare, la temperatura di fusione diminuisce all'aumentare del quantitativo di sequenze BDG, a causa della formazione di una fase cristallina caratterizzata da un minor grado di perfezione. Allo stesso tempo, la diminuzione del quantitativo di fase *hard* (PBS) comporta anche una riduzione del calore di fusione, indice, come atteso, di un abbassamento del valore di cristallinità.

Nel caso dei copolimeri $PBS_{50}P(BA_{70}BDG_{30})_{50}$ e $PBS_{30}P(BA_{70}BDG_{30})_{70}$ è evidente la presenza di un secondo picco endotermico di fusione, di minore entità e a temperature più basse, dovuto alla cristallizzazione della subunità BA.

Al fine di verificare la natura della fase cristallina presente nel PBS e nei copolimeri $\text{PBS}_x\text{P}(\text{BAmBDGn})_y$ è stata eseguita l'analisi a raggi X. I diagrammi di diffrazione dei copolimeri sono riportati in Figura 4.6, insieme ai quello del PBS.

I profili sono tipici dei materiali semicristallini avendo alcuni riflessi ben evidenti, caratteristici della porzione ordinata del materiale, sovrapposti ad una linea di base a campana, dovuta alla presenza di materiale amorfo.

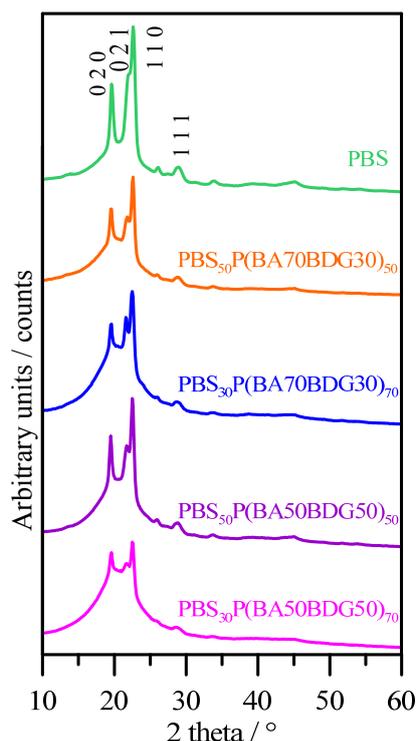


Figura 4.6. Spettri di diffrazione RX di PBS e $\text{PBS}_x\text{P}(\text{BAmBDGn})_y$.

Si può osservare come tutti i campioni presentino uno spettro simile a quello del PBS, caratterizzato da due picchi intensi a 19.6° e 22.8° . Ciò consente di affermare che in ogni polimero è presente la fase cristallina tipica del PBS.

Gli spettri dei copolimeri mostrano inoltre anche un allargamento dei riflessi ed un aumento della distanze interplanari, conseguente alla difficoltà di accogliere all'interno della fase cristallina diversi tipi di unità monomeriche. Inoltre, i polimeri che contengono una maggiore percentuale di segmento *soft*, ($\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA50BDG50})_{50}$ e $\text{PBS}_{30}\text{P}(\text{BA50BDG50})_{70}$), risultano meno cristallini. Il grado di cristallinità calcolato tramite analisi XRD per i polimeri in oggetto è riportato in Tabella 4.6; i dati risultano in accordo con quelli ottenuti tramite calorimetria.

Tabella 4.6. Indice di cristallinità X_c (%) dei campioni in esame determinate tramite analisi XRD

Polimeri	X_c (%)
PBS	44 ± 4
PBS₅₀P(BA70BDG30)₅₀	37 ± 3
PBS₃₀P(BA70BDG30)₇₀	26 ± 3
PBS₅₀P(BA50BDG50)₅₀	39 ± 3
PBS₃₀P(BA50BDG50)₇₀	24 ± 3

Per confermare la minore tendenza a cristallizzare dei copolimeri rispetto al PBS, sono stati condotti esperimenti di cristallizzazione in condizioni non isoterme, sottoponendo i campioni a un raffreddamento del fuso a velocità controllata (Tabella 4.5). Tali analisi hanno permesso la determinazione della temperatura corrispondente al massimo del picco di cristallizzazione (T_{cc}), che risulta correlabile alla velocità di cristallizzazione del materiale in condizioni isoterme (Figura 4.6). Il valore di questa temperatura varia al variare del quantitativo e della natura del segmento *soft*; nello specifico, all'aumentare della percentuale molare di sequenze BDG, si può osservare un abbassamento della velocità di cristallizzazione del PBS. Ciò indica una maggiore difficoltà a cristallizzare, data la presenza di queste co-unità che ostacolano il regolare processo di impaccamento delle catene polimeriche del PBS.

E' interessante notare che i copolimeri caratterizzati dal segmento *soft* PBA70BDG30 presentano un secondo picco di cristallizzazione, dovuto al processo di cristallizzazione delle sequenze BA. Ciò è un'ulteriore conferma della presenza nei copolimeri PBS₅₀P(BA70BDG30)₅₀ e PBS₃₀P(BA70BDG30)₇₀ di una certa percentuale di una seconda fase cristallina (legata al ripiegamento delle sequenze BA) in accordo con i risultati calorimetrici di prima scansione.

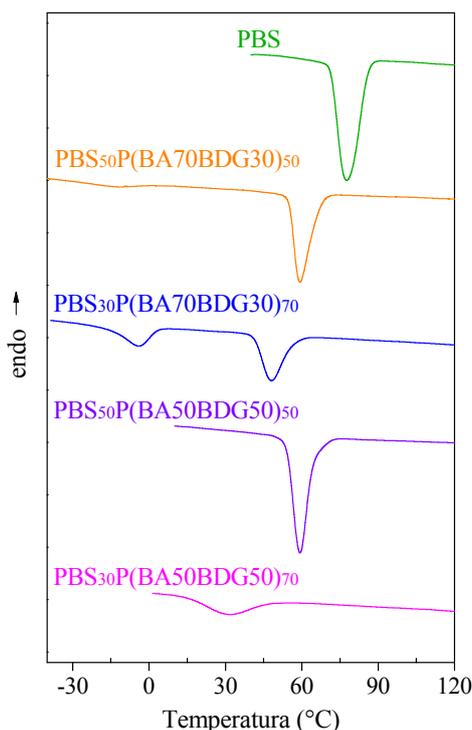


Figura 4.6. Spettro DSC di cristallizzazione per raffreddamento a velocità controllata di PBS e dei polimeri $PBS_xP(BAmBSGn)_y$.

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 amorfè e quindi alzando 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 studiato 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 4.5b: sia il PBS che i copolimeri $PBS_xP(BAmBDGn)_y$ presentano una variazione endoderma 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 campione $PBS_{30}P(BA50BDG50)_{70}$ mostra invece una transizione vetrosa seguita da un picco esotermico e, a temperature più alte, da un picco endotermico: poiché l'entalpia di cristallizzazione è pari a quella del picco di fusione, questo copolimero può essere ottenuto, attraverso raffreddamento veloce, in uno stato completamente amorfo.

Come si può vedere dalla figura 4.5b e dai dati raccolti nella Tabella 4.5, anche la temperatura di transizione vetrosa è influenzata dalla quantità e dalla natura del segmento *soft* presente in catena. Il PBS omopolimero presenta una T_g pari a circa $-30\text{ }^\circ\text{C}$. Nei copolimeri si può riscontrare un duplice effetto: a parità di composizione del segmento *soft*, i copolimeri costituiti da una percentuale di blocco *soft* più alta presentano una T_g leggermente inferiore; se invece manteniamo fissa la quantità di blocchi *soft*, la T_g si abbassa all'aumentare della percentuale di co-unità BA (come già osservato nel caso dei prepolimeri).

4.2.3 Caratterizzazione meccanica

Le proprietà meccaniche sono state studiate su film di forma $30 \times 5 \times 0.3\text{ mm}$, mediante misure di trazione, allungando un provino di forma rettangolare a velocità costante, e misurando la variazione dello sforzo in funzione della deformazione. Sono stati sottoposti a trazione solo i polimeri ottenuti dopo reazione di estensione di catena, e per ogni campione le misure sono state effettuate su cinque provini diversi, riportando il risultato come valore medio delle 5 prove \pm deviazione standard. In tabella 4.7 sono raccolti i valori del modulo elastico (E), dello sforzo a rottura (σ_b), e della deformazione a rottura (ε_b).

Tabella 4.7. Dati di caratterizzazione meccanica dei polimeri PBS e $\text{PBS}_x\text{P}(\text{BAmBDGn})_y$.

Polimeri	E (MPa)	σ_b (MPa)	ε_b (%)
PBS	366 ± 5	27 ± 2	303 ± 21
$\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA70BDG30})_{50}$	111 ± 4	30 ± 2	1085 ± 75
$\text{PBS}_{30}\text{P}(\text{BA70BDG30})_{70}$	41 ± 5	12 ± 2	942 ± 11
$\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA50BDG50})_{50}$	102 ± 2	21 ± 3	939 ± 30
$\text{PBS}_{30}\text{P}(\text{BA50BDG50})_{70}$	23 ± 3	8 ± 1	1410 ± 107

Le prove di trazione hanno evidenziato chiaramente come l'introduzione della frazione *soft* P(BAmBDGn) all'interno della catena polimerica del PBS comporti una consistente variazione delle proprietà meccaniche del materiale.

Come atteso, il PBS possiede il maggiore modulo elastico e il minore allungamento a rottura tra i polimeri studiati (Figura 4.7), a causa dell'elevata cristallinità del polimero.

I copolimeri, invece, dimostrano il comportamento tipico degli elastomeri termoplastici (Figura 4.7). Infatti tutti presentano un modulo elastico piuttosto basso, accompagnato da un'elevata tenacità e da un notevole allungamento a rottura. Non è presente, inoltre, in alcuno dei quattro campioni il fenomeno dello snervamento. L'andamento osservato del modulo elastico e dello sforzo

a rottura si può spiegare sulla base del grado di cristallinità e quindi della quantità di porzione *hard*: al diminuire di χ_c si assiste ad una progressiva diminuzione di E e di σ_b . L'allungamento a rottura si mantiene invece circa costante per tutti i campioni ad eccezione del $\text{PBS}_{30}\text{P}(\text{BA}50\text{BDG}50)_{70}$ che presenta un ε_b superiore di circa il 40% rispetto agli altri copolimeri.

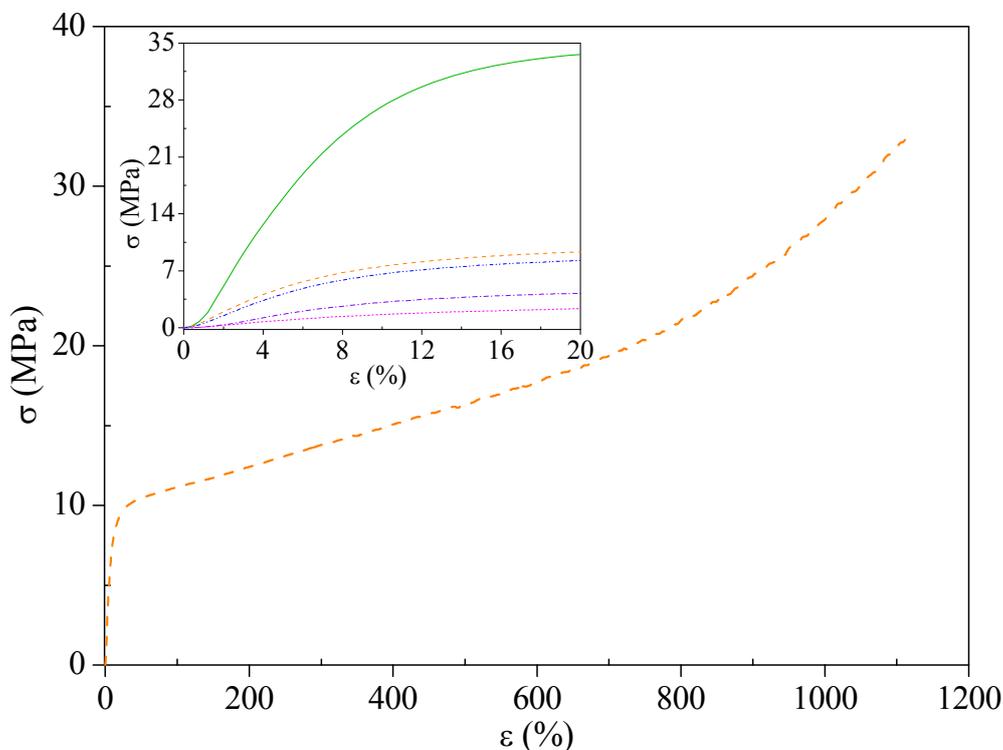


Figura 4.7. Grafico sforzo-deformazione del copolimero $\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA}70\text{BSG}30)_{50}$. Nell'inserto il tratto lineare delle curve da cui è stato calcolato il modulo elastico per tutti i polimeri in esame.

4.3 Misure di bagnabilità

Per poter determinare l'idrofilicità superficiale dei polimeri sintetizzati, i film sono stati sottoposti a misure di angolo di contatto con acqua. I risultati ottenuti sono stati riportati in Tabella 4.8.

Tabella 4.8. Dati di bagnabilità dei polimeri PBS e $\text{PBS}_x\text{P}(\text{BA}m\text{BDG}n)_y$.

Polimeri	WCA (%)
PBS	92 ± 2
$\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA}70\text{BDG}30)_{50}$	96 ± 1
$\text{PBS}_{30}\text{P}(\text{BA}70\text{BDG}30)_{70}$	92 ± 2
$\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA}50\text{BDG}50)_{50}$	90 ± 2
$\text{PBS}_{30}\text{P}(\text{BA}50\text{BDG}50)_{70}$	86 ± 2

I dati misurati mostrano come, anche in questo caso, la bagnabilità, e quindi l'idrofilicità superficiale, variano tra i diversi materiali seguendo un andamento dettato dalla percentuale di unità BDG. All'aumentare della percentuale molare di sequenze BDG (Tabella 4.3) si assiste infatti ad una progressiva diminuzione dell'angolo di contatto. Ciò è dovuto alla maggiore affinità di tali sequenze con l'acqua, legata alla presenza di atomi di ossigeno etero in catena. E' interessante notare come il copolimero $\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA}70\text{BDG}30)_{50}$ presenti una minore idrofilicità rispetto al PBS nonostante la presenza di una certa quantità di sequenze BDG. Ciò è dovuto al fatto che in questo polimero sono contenute anche sequenze BA che risultano addirittura più idrofobe delle sequenze BS presenti nel PBS.

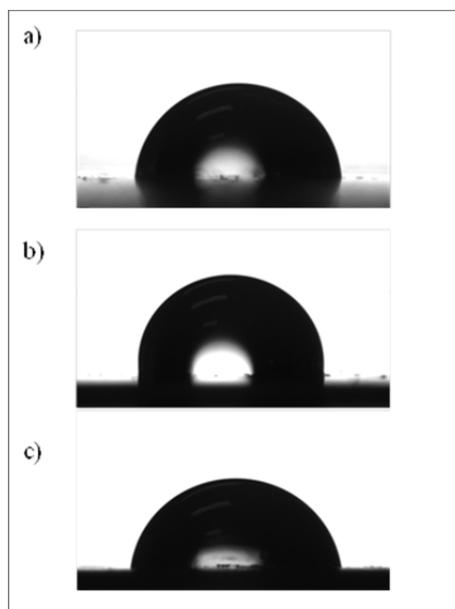


Figura 4.8. Immagini delle gocce depositate su film di PBS (a), $\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA}70\text{BDG}30)_{50}$ (b) e $\text{PBS}_{30}(\text{PBA}70\text{BDG}30)_{70}$ (c).

4.4 Degradazione idrolitica

Tutti i polimeri oggetto della presente Tesi sono stati sottoposti a esperimenti di degradazione idrolitica *in vitro* in condizioni fisiologiche di temperatura (37°C) e di pH (7.4) in presenza di tampone fosfato, per poterne valutare la tempistica di degradazione. I test sono stati condotti in duplicato su film polimerici di dimensioni pari a 30 x 3 x 0.3 mm. Sono stati eseguiti prelievi a tempi di incubazione successivi: 21, 50, 90 e 120 giorni.

I risultati ottenuti hanno fornito informazioni relative al decorso del processo di degradazione, attraverso la caratterizzazione di ciascun campione parzialmente degradato mediante misure di perdita di peso. E' stato calcolato il peso residuo percentuale (Peso residuo %) attraverso la seguente equazione:

$$\text{Peso residuo \%} = \left(1 - \frac{m_{in} - m_{fin}}{m_{in}}\right) \cdot 100$$

dove m_{in} è la massa iniziale del film polimerico e m_{fin} è la massa del campione misurata dopo il processo degradativo.

Come si osserva in figura 4.9, dopo 90 giorni di incubazione si misura una iniziale perdita di peso per i polimeri con maggiore frazione *soft* (e dunque maggiore percentuale di co-unità BDG e minore grado di cristallinità), $\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA}50\text{BDG}50)_{50}$ e $\text{PBS}_{30}\text{P}(\text{BA}50\text{BDG}50)_{70}$ (94,8% e 87,3%, rispettivamente). Dopo 120 giorni si misura un calo più marcato (90,8% e 80,1%, rispettivamente) per questi due polimeri, mentre si inizia ad osservare un calo di peso anche nei copolimeri $\text{PBS}_{50}\text{P}(\text{BA}70\text{BDG}30)_{50}$ e $\text{PBS}_{30}\text{P}(\text{BA}70\text{BDG}30)_{70}$ (97,7% in entrambi i casi).

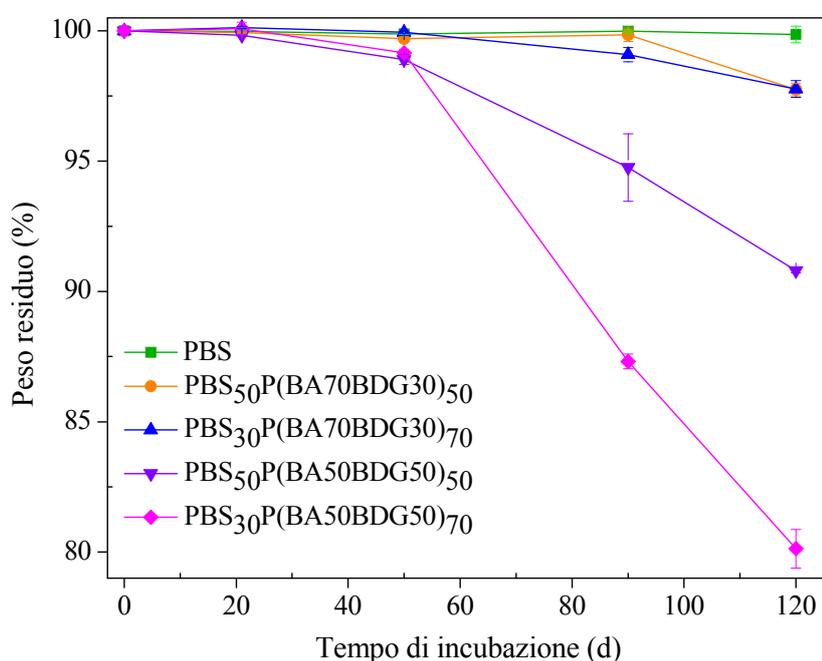


Figura 4.9. Perdite di peso nel tempo dei polimeri sintetizzati.

Il PBS, invece, anche dopo 120 giorni di incubazione non mostra alcuna significativa perdita di peso.

I risultati ottenuti non sono sorprendenti se si tiene conto che il processo di degradazione idrolitica avviene in bulk: tale processo prevede la scissione statistica da parte dell'acqua dei legami esterei delle macromolecole, con formazione di spezzoni di catena via via più corti. Perciò, nelle prime fasi del processo, le perdite di peso non sono apprezzabili in quanto le sequenze formatesi non sono sufficientemente corte da diffondere attraverso la matrice polimerica e passare in soluzione; il processo può essere dunque osservato solo attraverso misure di peso molecolare. Con l'avanzare del processo di idrolisi, si generano sequenze solubili in acqua e anche le variazioni di peso diventano significative.

Per confermare dunque che il processo di degradazione idrolitica è presente anche nel campione di PBS, i film prelevati dalla soluzione tampone sono stati sottoposti ad analisi GPC. I rispettivi valori di peso molecolare medio numerico residuo percentuale ($M_{(n-R)}\%$), riportati in Figura 4.10, sono stati calcolati con la seguente equazione:

$$M_{n-R}\% = \left(1 - \frac{M_{n-in} - M_{n-fin}}{M_{n-in}}\right) * 100$$

dove $M_{(n-fin)}$ è il peso molecolare medio numerico del campione dopo il processo di degradazione e $M_{(n-in)}$ è il peso molecolare medio numerico iniziale del campione.

Come atteso, si è osservato un decremento del peso molecolare del campione, indice dell'inizio del processo degradativo.

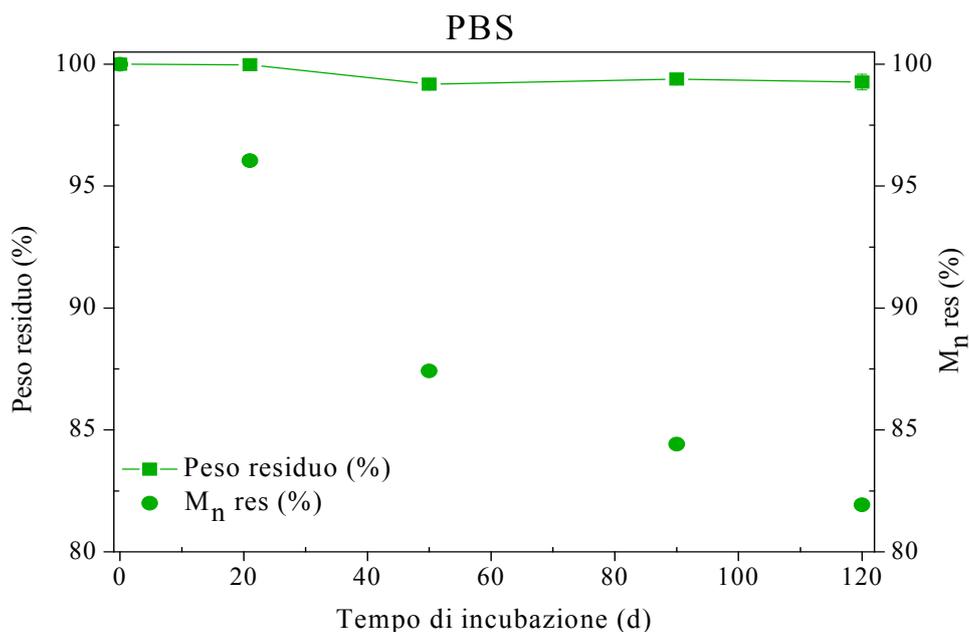


Figura 4.10. Confronto tra peso residuo e perdite di peso molecolare di PBS.

Complessivamente, dunque, l'andamento osservato può essere spiegato sulla base di due fattori che, come noto, influiscono sulla velocità di idrolisi di un materiale polimerico: il grado di cristallinità e l'idrofilicità superficiale.

Le prove di degradazione idrolitica sono tuttora in corso; sui campioni parzialmente degradati sono previste ulteriori analisi che consentano di comprendere più in dettaglio la cinetica ed il meccanismo del processo.

Conclusioni

I biomateriali rivestono un ruolo di grande importanza nel settore biomedicale, in particolare in campi emergenti quali l'ingegneria tissutale ed il rilascio controllato di farmaci. I polimeri, ed in particolare i poliesteri alifatici, sono la classe di materiali che si è rivelata più interessante per le applicazioni sopracitate. Ad oggi però, solo pochi poliesteri sono stati approvati dalla *Food and Drug Administration* (FDA) per la realizzazione di dispositivi medici impiantabili nel corpo umano; tra questi si possono ricordare l'acido polilattico, l'acido poliglicolico ed il policaprolattone. Purtroppo, tali polimeri non riescono a soddisfare gli stringenti requisiti fisico/meccanici per ogni diversa applicazione, per cui la sintesi di nuovi polimeri, che offrano garanzie di biocompatibilità e biodegradabilità, può aprire nuove prospettive in tali ambiti.

In questo contesto si inserisce il presente lavoro di Tesi finalizzato alla sintesi e caratterizzazione di una nuova classe di copoliesteri alifatici a base di poli (butilene succinato) con promettenti proprietà meccaniche.

Grazie al lavoro di ricerca qui descritto è stato infatti possibile realizzare dei materiali con spiccate caratteristiche elastomeriche (basso modulo elastico ed elevato allungamento a rottura) e al contempo tenaci, con elevata temperatura di fusione e buona stabilità termica.

Tali nuovi materiali si sono rivelati biodegradabili, in condizioni fisiologiche; la cinetica del processo è risultata modulabile con la quantità di sequenze BDG (ovvero quelle in cui è presente un atomo di ossigeno etero). Vale infatti la pena ricordare che l'inserimento di eteroatomi lungo la catena macromolecolare di un polimero in genere accelera il processo di idrolisi, sia perché comporta una diminuzione della cristallinità presente nel materiale, sia perché tali sequenze risultano più idrofiliche e dunque idrolizzate di preferenza.

Gli obiettivi della ricerca siano stati dunque raggiunti: sia le proprietà meccaniche che la velocità di biodegradazione sono state significativamente migliorate rispetto a quelle dell'omopolimero di riferimento (PBS); inoltre tali proprietà sono risultate modulabili, agendo semplicemente sulla composizione chimica del segmento *soft* e/o sul rapporto mutuo tra segmento *hard* e *soft*.

La strategia di sintesi impiegata ha permesso di superare alcune delle limitazioni imposte da una normale copolimerizzazione. Infatti, tramite tale approccio si riescono generalmente a migliorare alcune caratteristiche a scapito però di altre: ad esempio, l'inserimento di una o più unità comonomeriche lungo la catena macromolecolare di un polimero comporta un consistente abbassamento del punto di fusione. Nel caso in esame, invece, sono state migliorate le proprietà non

soddisfacenti dell'omopolimero di riferimento, il PBS, senza andare a detrimento di quelle già buone.

Occorre poi sottolineare che il processo di sintesi è molto semplice e non prevede l'uso di solventi o di condizioni operative spinte; le enormi potenzialità di tale strategia sono comprovate dall'utilizzo su scala industriale. Non di secondaria importanza la sua fattibilità economica che è già stata testata. In conclusione, le proprietà dei copoliesteri in oggetto risultano estremamente interessanti in vista di possibili applicazioni nel campo dell'ingegneria biomedicale. Ciononostante, tali risultati rappresentano solo un punto di partenza verso una loro reale applicazione; rimane ancora da testarne la biocompatibilità dapprima *in vitro*, attraverso studi di citotossicità diretta ed indiretta, e successivamente attraverso test più approfonditi *in vivo* fino a giungere a veri e propri trials clinici.

Bibliografia

- Bajpai A.K., Shukla S.K., Bhany S., Kankane S.. *Responsive polymers in controlled drug delivery*, Progress in Polymer Science, 2008, Vol. 33, 1088-1118.
- Ciardelli F., Farina M., Giusti G., Cesca S.. *Macromolecole. Scienza e tecnologia*, Vol. 1, 2007, AIM, Pacini Editore.
- Morawetz H.. *Polymers. The origins and growth of a science*, 1985, Dover Phoenix Editions.
- Nair L.S., Laurencin C.T.. *Biodegradable polymers as biomaterials*, Progress in Polymer Science, 2007, Vol. 32, Issue 8, 762-798.
- O'Brien F. J. *Biomaterials & scaffold for tissue engineering*, Materials Today, 2011, Vol. 14, Issue 3, 88–95.
- Odian G., *Principles of polymerization*, 1970, McGraw-Hill Edition.
- Pietrabissa R.. *Biomateriali per protesi e organi artificiali. Introduzione alla biocompatibilità, alla scienza e alla applicazione dei materiali per dispositivi medici*, 1996, Patron Editore.
- Rodriguez F., *Principle of polymer systems*, 1983, McGraw-Hill Editors.
- Uhrich K.E., Cannizzaro S.M., Langer R.S., Shakesheff K.M.. *Polymeric System for Controlled Drug Release*, Chemical Review, 1999, Vol. 99, 3181-3198.
- Wunderlich B., *Macromolecular physics*, Vol.3, 1980, Academic Press Editors.
- R. Y. Young, *Introduction to polymers*, 1986, Chapman and Hall Editors.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare la mia relatrice, Prof.ssa Nadia Lotti, per la sua gentilezza, la disponibilità e per avermi dato la possibilità di partecipare ad un'esperienza di laboratorio entusiasmante. Un grazie al mio correlatore Ing. Matteo Gigli, per avermi seguito con dedizione, pazienza, passo dopo passo in questi mesi.

Grazie a tutti quelli del dipartimento DICAM che mi hanno fatto sentire a mio agio in un mondo completamente nuovo ma pieno di quel fascino che solo la chimica può dare. E' stato un vero piacere lavorare con tutti voi.

Un pensiero particolare va alla Dott.ssa Martina Fabbri che mi ha seguito fin da subito impartendomi lezioni sul lavoro che si svolge nei laboratori di chimica e non solo. E' a lei, a Matteo Gigli e alla Prof.ssa Nadia lotti che devo tutta la mia esperienza accumulata in questi mesi. Lavorare con voi è stata una esperienza che non cambierei per nulla al mondo.

Un grazie a i miei genitori, che mi hanno sempre sostenuto e aiuto nelle mie scelte, nelle mie difficoltà e nel bene o nel male, ai miei parenti che si sono sempre interessati. Infine un grazie speciale ai miei amici che mi sopportano e che ci sono sempre stati per aiutarmi. Poter condividere con voi questa giornata è sicuramente la migliore ricompensa per tutti i miei sforzi.