

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITA' DI BOLOGNA

CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

**Nuovi elastomeri termoplastici “*soft – hard*”
a base di PBS per applicazioni biomedicali**

Tesi in

FONDAMENTI DI CHIMICA

Relatore

Prof.ssa Nadia Lotti

Presentata da

Giulia Guidotti

Correlatore

Dott.ssa Martina Fabbri

Sessione terza

Anno Accademico 2013 - 2014

INDICE

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE 1

1.1 Materiali	1
1.1.1 Biomateriali	1
1.1.2 Classificazione dei biomateriali	2
1.1.3 Biomateriali polimerici e copolimerici	5
1.1.3.1 Struttura dei polimeri	6
1.1.3.2 Cristallinità	8
1.1.3.3 Proprietà termiche	9
1.1.3.4 Peso molecolare	11
1.1.3.5 Sintesi dei polimeri	12
1.1.3.6 Processi tecnologici	15
1.1.3.7 Degradazione	16
1.1.3.8 Classi di polimeri	18
1.1.3.9 Copolimeri	25
1.1.4 Poliesteri alifatici	31
1.1.4.1 Strategie sintetiche	32
1.1.4.2 Proprietà	34
1.1.4.3 Degradazione	35
1.1.4.4 Poliesteri alifatici per uso biomedicale	35
1.1.4.5 Polimeri elastomerici	39

CAPITOLO 2: SCOPO 43

CAPITOLO 3: MATERIALI E METODI 47

3.1 Sintesi degli OH-terminati	47
3.1.1 Sintesi del PBS-OH	47
3.1.2 Sintesi del PNGA-OH	49
3.1.3 Sintesi del PCCE-OH	49

3.1.4 Purificazione	49
3.2 Sintesi di copolimeri ad alto peso	50
3.3 Caratterizzazione molecolare	51
3.3.1 Risonanza magnetica nucleare (NMR)	51
3.3.2 Cromatografia a permeazione su gel (GPC)	56
3.4 Realizzazione di film	58
3.5 Caratterizzazione termica	59
3.5.1 Calorimetria differenziale a scansione (DSC)	59
3.5.2 Termogravimetria (TGA)	62
3.6 Analisi diffrattometrica a Raggi X	63
3.7 Caratterizzazione meccanica	64
3.8 Studi di degradazione idrolitica	66
CAPITOLO 4: RISULTATI E DISCUSSIONE	69
4.1 Caratterizzazione dei polimeri a basso peso molecolare	69
4.1.1 Caratterizzazione molecolare	69
4.1.2 Caratterizzazione termica	72
4.2 Caratterizzazione dei polimeri ottenuti per estensione di catena	73
4.2.1 Caratterizzazione molecolare	74
4.2.2 Caratterizzazione termica	75
4.2.3 Caratterizzazione meccanica	82
4.3 Degradazione idrolitica	84
CAPITOLO 5: CONCLUSIONI.	89
BIBLIOGRAFIA	91
RINGRAZIAMENTI	95

CAPITOLO 1:

INTRODUZIONE

1.1 Materiali

1.1.1 Biomateriali

I biomateriali vengono impiegati in diversi contesti, alcuni dei quali molto recenti. Infatti, nonostante i dispositivi medici impiantabili rivestano tuttora un ruolo di primaria importanza, si stanno sempre più affermando nuove tecnologie, quali sistemi a rilascio controllato di farmaci, terapie cellulari, sistemi diagnostici e di *imaging* basati su nanotecnologie, dispositivi microelettronici e, non da ultimo, tutte le tecnologie legate al campo dell'ingegneria tissutale.

Tra i materiali più utilizzati per le applicazioni sopracitate figurano i materiali polimerici, sistemi auto-assemblati, nanoparticelle e nanotubi, che vanno ad aggiungersi ai materiali tradizionali quali metalli, ceramiche e polimeri sintetici.

Alla luce di questi nuovi sviluppi risulta necessario fare alcune considerazioni sul concetto stesso del termine biomateriale. La prima dibattuta definizione venne stilata nel 1976, ad opera dell' *European Society for Biomaterials* (ESB), all'interno della *Consensus Conference on Definitions in Biomaterials Science*. Venne identificato come biomateriale quel “materiale non vivente utilizzato in un dispositivo medico e finalizzato all'interazione con sistemi biologici”⁽¹⁾. Tuttavia, attualmente si indica come biomateriale quel “materiale finalizzato all'interazione con un sistema biologico allo scopo di valutare, trattare, aumentare o sostituire qualsiasi tessuto, organo o funzione corporea”⁽²⁾.

La diversità nelle due definizioni è significativa: inizialmente il biomateriale non necessariamente doveva interagire in modo significativo con il corpo umano; oggi ai biomateriali è richiesto di influenzare i processi biologici finalizzati alla ricostruzione tissutale.

Le due principali questioni legate al significato di tale parola riguardano da una parte il concetto del prefisso “bio”, dall'altra il concetto di “materiale”. La scienza dei materiali afferma che un materiale rappresenta la sostanza di cui è fatto un oggetto; per cui, secondo questa definizione, vi sono tre classi principali di

materiali: metallici (ferro, cromo, cobalto titanio, nichel), caratterizzati dalla presenza di legami metallici, ceramici (allumina, idrossiapatite, grafite, carbonio pirolitico), in cui compaiono legami ionici, ed infine i polimeri, contenenti nelle loro catene legami covalenti.

Grazie agli imponenti sviluppi della scienza nel campo dei biomateriali, sono oggi disponibili sistemi caratterizzati da una certa complessità strutturale, ottenibili mediante le nanotecnologie e i processi di auto-assemblaggio. Occorre dunque superare il tradizionale concetto del termine “materiale” affinché esso possa comprendere non solo oggetti solidi, tangibili, realizzati con approccio *top-down*, ma anche nanoparticelle attive, idrogel, agenti solubili, sistemi biologici auto-assemblati, cellule e virus. Una definizione più esaustiva del termine biomateriale, potrebbe dunque essere quella di “sostanza ingegnerizzata in modo tale da assumere una forma che, da sola o come parte di un sistema più complesso, viene utilizzata per dirigere, tramite il controllo delle interazioni con i componenti di un sistema vivente, il corso di qualsiasi procedura diagnostica o terapeutica, sia in ambito di medicina umana sia di quella veterinaria”.

1.1.2 Classificazione dei biomateriali

I biomateriali possono essere suddivisi in cinque categorie a seconda delle caratteristiche che ne rendono possibile l'uso in applicazioni mediche specifiche: materiali metallici, ceramici, biologici, compositi e polimerici (Tabella 1.1) ⁽³⁾. Di questi ultimi si tratterà ampiamente in seguito.

- Materiali metallici: vengono impiegati per realizzare dispositivi impiantabili, protesi (Figura 1.1) ortopediche e dentali, strumenti chirurgici e mezzi di osteosintesi. Le loro proprietà meccaniche, quali l'elevato modulo elastico, la resistenza alla fatica e la duttilità li rendono materiali ideali per la sostituzione di tessuti duri ed in generale per tutte le applicazioni in cui sono previsti numerosi cicli di carico. Di contro, il fatto che siano soggetti a corrosione in ambienti fisiologici, potrebbe dare origine a fenomeni di tossicità.



Figura 1.1. Protesi d'anca realizzata in materiale metallico.

- Materiali ceramici: trovano impiego in ambito ortopedico, otorinolaringoiatrico, odontoiatrico (Figura 1.2) e cardiocircolatorio, sia come sostituti di tessuti duri, ai quali risultano affini dal punto di vista delle proprietà fisiche, sia nell'ambito della ingegneria tissutale. Il modulo elastico e la fragilità, entrambi molto elevati, unitamente all'eccellente biocompatibilità data dalla somiglianza chimica e strutturale col tessuto osseo, fanno dei materiali ceramici dei buoni candidati per la realizzazione di supporti tridimensionali (denominati *scaffold*) per la crescita e la proliferazione degli osteoblasti. Occorre tenere però presente che questi materiali non sempre risultano in grado di supportare i carichi necessari per il rimodellamento cellulare, ed è inoltre difficile prevedere il loro rateo di degradazione.



Figura 1.2. Capsule dentarie in materiale ceramico.

- Materiali biologici: sono materiali di origine umana o animale, il cui impiego avviene previa devitalizzazione cellulare, al fine di non innescare risposte immunitarie nell'organismo ospite. I più interessanti sono i tessuti connettivi, alla cui categoria appartengono, tra gli altri, tessuti ossei, cartilagini, sangue ed endoteli. I materiali provenienti da tessuti molli trovano generalmente impiego come protesi valvolari e vascolari (Figura 1.3), mentre per quanto riguarda i tessuti duri, essi vengono utilizzati in ambito ortopedico come riempitivi, a supporto di tessuti ossei contenenti cavità provocate da malformazioni, patologie o asportazioni.

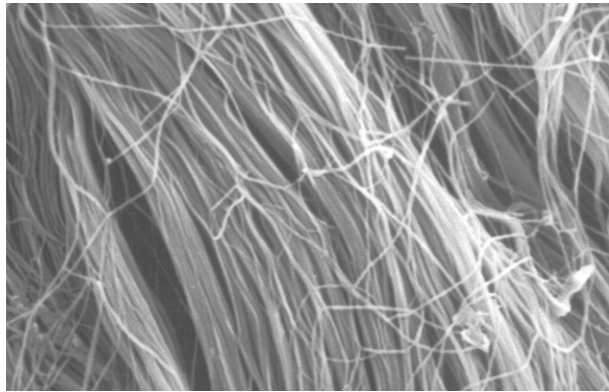


Figura 1.3. Lembo di valvola aortica decellularizzata
vista al microscopio elettronico a scansione.

- Materiali compositi: sono materiali con proprietà modulabili in funzione della loro destinazione d'uso. La distinzione tra le diverse fasi dei materiali costituenti, che a seconda della funzione prendono il nome di matrice e rinforzo, è visibile soltanto a livello microscopico. Il compito della matrice è quello di contenere il rinforzo, il quale si trova in fase dispersa ed ha il ruolo di assorbire la maggior parte del carico esterno, essendo anche il materiale caratterizzato da maggior rigidità e resistenza meccanica. Grazie alle loro specifiche proprietà, difficilmente ottenibili mediante singoli materiali omogenei, i compositi vengono ampiamente utilizzati come rivestimento in carbonio al fine di aumentare la biocompatibilità dei dispositivi impiantabili, riempitivi in ambito odontoiatrico, rinforzi per i materiali polimerici, allo scopo di migliorarne le proprietà meccaniche.

Tabella 1.1 Classi di materiali impiegati in ambito biomedicale.

Materiali	Vantaggi	Svantaggi	Campi d'applicazione
<u>Biologici</u> (vene, pericardio, valvole cardiache)	Ottima biocompatibilità	Scarsa affidabilità, difficili trattamento e conservazione	Protesi vascolari e valvolari, rivestimenti
<u>Ceramici</u> (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, dentali, dispositivi percutanei
<u>Compositi</u> (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
<u>Metalli</u> (acciai, Titanio e leghe, leghe di Cobalto)	Buone proprietà meccaniche e resistenza alla corrosione	Scarsa biocompatibilità, rigidità, alta densità e corrosione in ambiente biologico	Mezzi di osteosintesi, protesi per ortopedia ed odontoiatria
<u>Polimeri</u> (siliconi, poliuretani, polietilene, acrilati, fluorurati, poliesteri)	Tenacità, bassa densità, facile lavorabilità	Bassa resistenza meccanica, degradazione nel tempo	Suture, cateteri, drenaggi, protesi cardiovascolari, cementi per ossa

1.1.3 Biomateriali polimerici e copolimerici

Con il termine polimeri si indicano tutti i composti organici derivati dall'unione, per mezzo di legami chimici omopolari, di due o più unità strutturali a basso peso molecolare, detti monomeri (⁴).

Si definiscono oligomeri le molecole costituite da un massimo di 1500 unità, da 1500 a 5000 unità si tratta di polimeri a basso peso molecolare, mentre se vengono superate le 10000 unità i polimeri vengono definiti ad alto peso molecolare.

Per mezzo di processi di polimerizzazione si giunge alla formazione di nuove molecole, i cui nomi rispecchiano il grado di polimerizzazione raggiunto: si parlerà dunque di dimeri, trimeri, tetrameri, ecc., a seconda che il polimero risulti costituito da due, tre, quattro o più monomeri.

Una classificazione alternativa prevede di distinguere i polimeri sulla base della natura dei costituenti. In tal caso essi prendono il nome di omopolimeri quando le catene sono formate da un solo tipo di monomero, copolimeri se le unità

monomeriche sono più di una, distribuite in genere in maniera irregolare (terpolimero, ecc.)

Indipendentemente dalla nomenclatura, tutti i polimeri sono caratterizzati da una composizione variabile (Figura 1.4), che consente di ottenere proprietà fisico-meccaniche idonee per le specifiche destinazioni d'uso, bassi coefficienti d'attrito e di conseguenza resistenza all'usura, facile processabilità e lavorabilità che permettono la realizzazione di forme anche complesse, tra cui vettori di cellule e biomolecole. Nonostante presentino un limite applicativo dovuto alla loro scarsa resistenza alle alte temperature ed alla difficoltà di trasmettere carichi, i polimeri risultano una classe di materiali molto vantaggiosa rispetto alle altre: con opportune procedure è possibile infatti ottenere polimeri sintetici dalla struttura molto simile a quelli naturali presenti nei tessuti biologici, garantendo in questo modo un'ottima biocompatibilità.

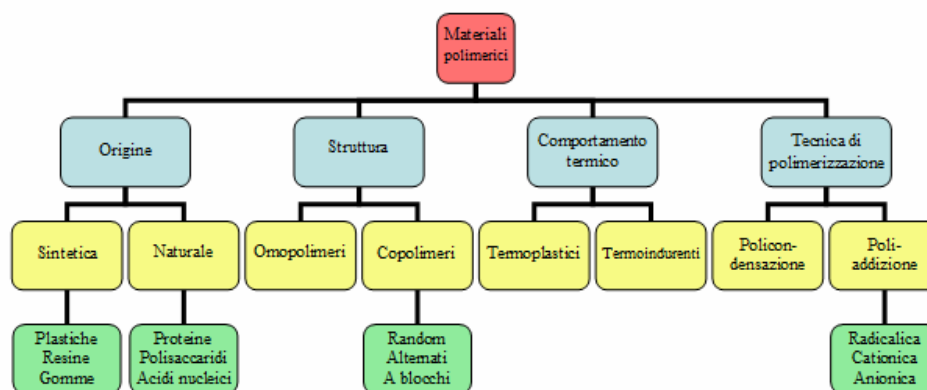


Figura 1.4. Classificazione dei materiali polimerici.

1.1.3.1 Struttura dei polimeri

La conformazione spaziale e l'organizzazione delle catene influenzano le proprietà di un polimero. Tenendo presente che i polimeri nel loro complesso sono formati da macromolecole, articolate in monomeri legati covalentemente ed unite tra loro per mezzo di legami deboli (interazioni dipolo-dipolo e forze di Van der Waals), rafforzati a volte da catene trasversali, si possono distinguere quattro tipi di struttura, mostrati in figura 1.5.

- **Struttura lineare:** caratterizzata dalla presenza di lunghe macromolecole filiformi poste in successione e indipendenti tra loro. Tali catene lineari sono tenute insieme per mezzo di legami di Van der Waals, legami a idrogeno ed interazioni dipolo-dipolo.

- **Struttura ramificata:** nonostante l'andamento lineare, in questa configurazione sono ben visibili delle ramificazioni laterali legate per mezzo di legami deboli alla struttura filiforme di riferimento. Le singole macromolecole risultano comunque distinguibili tra loro.
- **Struttura a legami trasversali o intermolecolari:** è caratterizzata dalla presenza di catene laterali con la funzione di legare tra loro le varie molecole polimeriche, creando una struttura tridimensionale. Il polimero può risultare formato da un'unica grande macromolecola derivata dall'unione, per mezzo di tali catene, delle sue macromolecole di partenza.
- **Struttura reticolata:** il polimero è tipicamente un'unica macromolecola reticolata. Partendo da unità monomeriche trifunzionali, si generano tre legami covalenti, che permettono di spiegare la struttura 3D.

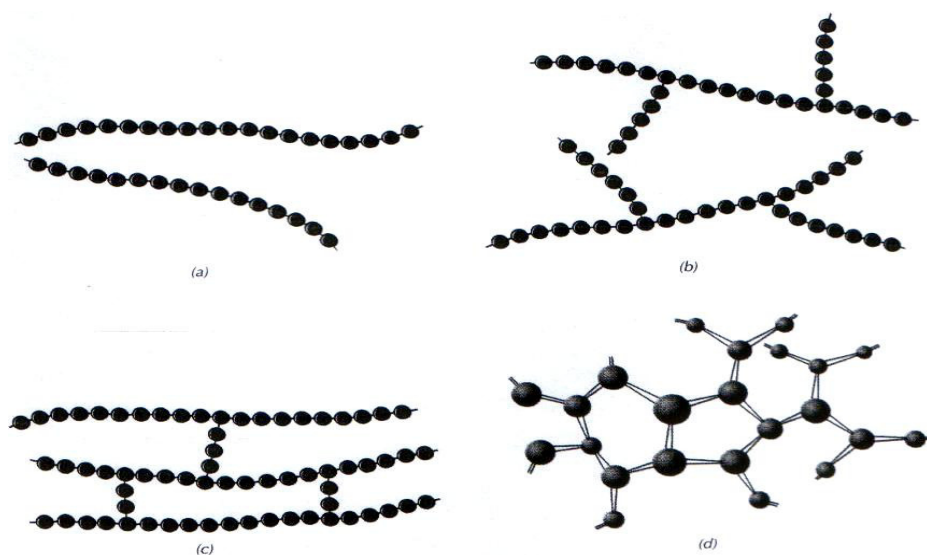


Figura 1.5. Strutture macromolecolari dei polimeri: a) lineare, b) ramificata, c) struttura a legami trasversali o intermolecolari, d) reticolata.

Generalmente, i polimeri a catena lineare e ramificata hanno proprietà meccaniche inferiori rispetto ai polimeri reticolati: nel primo caso, infatti, sono consentiti scorrimenti viscosi tra le catene, grazie ai legami deboli con cui esse sono legate e che conferiscono un comportamento viscoelastico al materiale. Ciò non risulta possibile per i polimeri a struttura reticolata, a causa della natura stessa dei legami covalenti presenti tra le catene.

1.1.3.2 Cristallinità

I polimeri possono essere descritti come strutture a due fasi, una amorfa ed una cristallina. Un materiale si trova allo stato solido in fase cristallina quando le sue unità costituenti sono disposte ordinatamente secondo un motivo che si ripete nello spazio. La cella elementare è la porzione più piccola di tale struttura che contenga tutte le operazioni di simmetria del cristallo e che, traslata nelle tre direzioni dello spazio, riproduca il reticolo cristallino stesso.

Si definisce grado di cristallinità il rapporto percentuale del peso di sostanza in forma cristallina rispetto al peso totale (Figura 1.6). Nei materiali polimerici esso è compreso tra il 5% e il 95%, risultando in genere superiore per polimeri a catena regolare e a struttura lineare, le cui macromolecole possono allinearsi più facilmente nello spazio. Anche la presenza di gruppi funzionali può aumentare la cristallinità, grazie ai legami deboli che essi formano con la catena polimerica.

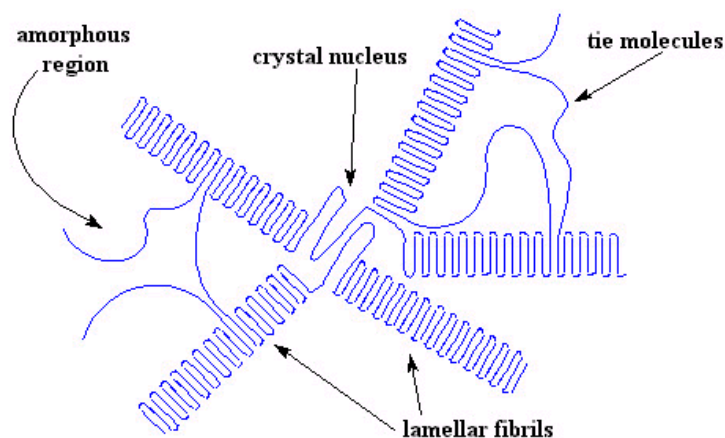


Figura 1.6. Struttura di un polimero.

Per quanto riguarda la fase amorfa, essa risulta sempre presente, in percentuali maggiori quando si tratta di polimeri a struttura reticolata, e rappresenta un indice di quanto il polimero riesca a mantenere, una volta solidificato, una struttura disordinata tipica dello stato fuso. Dal punto di vista delle proprietà, una più elevata cristallinità risulta vantaggiosa, in quanto rende i polimeri più densi, rigidi e duri grazie al maggior impacchettamento, più resistenti all'usura e agli agenti ambientali, e meno soggetti a fenomeni viscoelastici quali rilassamento e *creep* (deformazione viscosa).

1.1.3.3 Proprietà termiche

I materiali polimerici possono essere suddivisi in due categorie in base alle loro proprietà termomeccaniche (Tabella 1.2). Si definiscono:

- Termoplastici: polimeri a struttura lineare o ramificata, modellabili plasticamente un numero pressoché illimitato di volte mantenendosi in un intervallo di temperature ben definito ($^{\circ}$). Ciò risulta possibile poiché all'interno delle loro catene sono presenti soltanto legami secondari a bassa resistenza termica, che, a fronte di un progressivo aumento di temperatura, rammolliscono senza andare incontro a trasformazioni chimiche.
- Termoindurenti: polimeri a catena reticolata che presentano un iniziale rammollimento a fronte di una somministrazione di calore, ma che oltre un certo stadio non sono ulteriormente lavorabili o modellabili proprio a causa del calore, diretto responsabile della reticolazione del materiale.

Tabella 1.2. Esempi di polimeri termoplastici e termoindurenti.

Termoplastici	Termoindurenti
Poliammidi	Poliesteri insaturi
Policarbonati	Poliuretani
Polivinilcloruro	Polivinildenfluoruri
Polietilentereftalato (PET)	Resine alchidiche
Polipropilene	Resine epossidiche
Polistirene	Resine alliliche

A seconda delle proprietà meccaniche richieste, è necessario conoscere lo stato del materiale alla temperatura d'esercizio. Analizzando l'andamento del modulo elastico di un polimero in funzione della temperatura, è possibile individuare alcune temperature caratteristiche, in funzione delle quali il materiale assume comportamenti diversi:

- Temperatura di transizione vetrosa (T_g): in corrispondenza di tale valore il materiale passa da uno stato vetroso a uno gommoso. È anche il parametro che decreta le proprietà meccaniche di un polimero: con una T_g molto inferiore rispetto alla temperatura ambiente si è in presenza di materiali gommosi, caratterizzati da bassa rigidità ma altamente tenaci e

deformabili. Se invece la T_g risulta superiore alla temperatura ambiente il materiale avrà caratteristiche vetrose, ossia fragile e scarsamente deformabile. Il valore di questa temperatura risulta inferiore per le materie termoplastiche rispetto a quelle termoindurenti.

- Temperatura di rammollimento (T_r): per i polimeri amorfi, privi di struttura cristallina, segna il confine tra lo stato gommoso, comunque solido, e lo stato liquido.
- Temperatura di fusione (T_m): identifica il punto di fusione termodinamico della fase cristallina. Dal momento che a tale temperatura si verifica il cedimento del reticolo, il suo superamento implica una variazione significativa delle proprietà meccaniche.
- Temperatura limite di stabilità chimica (T_i): temperatura oltre la quale il materiale si degrada a causa della rottura dei suoi legami chimici. Oltre questo valore il polimero è a tutti gli effetti un materiale diverso, privo della sua struttura e delle sue caratteristiche meccaniche di partenza.

La figura 1.7 rappresenta l'andamento del modulo elastico E in funzione della temperatura. In base a quanto è possibile notare dall'immagine, per i polimeri a struttura reticolata risulta impossibile stabilire esattamente i valori di T_g e T_m , dal momento che le proprietà meccaniche rimangono costanti all'interno dell'intervallo di stabilità. Il modulo elastico di un polimero semicristallino, invece, rimane costante fino alla T_g , per poi calare leggermente a causa della rottura dei legami della fase amorfa; in questa regione il materiale risulta gommoso, duttile ed elastico. Oltre la temperatura di fusione si nota una brusca caduta di E , causata dalla rottura dei legami della fase cristallina. Un polimero amorfo, invece, presenta modulo elastico costante fino a T_g , che cala bruscamente non appena si raggiunge lo stato gommoso. Al superamento della temperatura di rammollimento, ovvero nella regione in cui il polimero può considerarsi a tutti gli effetti fuso, si può osservare come il modulo elastico decada ancora una volta bruscamente.

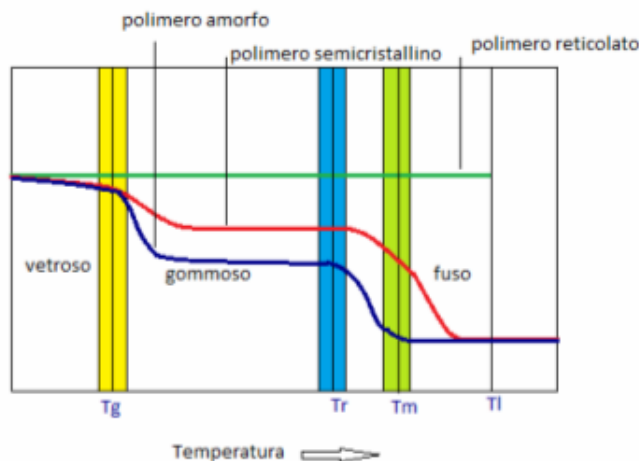


Figura 1.7. Andamento del modulo elastico, in funzione della temperatura, per polimeri a diverse strutture.

1.1.3.4 Peso molecolare

Il peso molecolare costituisce un parametro importante nella caratterizzazione di un polimero, in grado di influire sulle sue proprietà fisiche e meccaniche. Per le sostanze a basso peso molecolare la massa è una caratteristica specifica ed unica per il composto, contrariamente a quanto avviene per le macromolecole, con la sola eccezione di alcuni biopolimeri. E' infatti inevitabile che nel corso del processo di polimerizzazione, sia esso a stadi o a catena, si formino molecole di diversa lunghezza a causa degli eventi che intercorrono nel corso della reazione. Il prodotto finale risulta pertanto costituito da macromolecole contenenti un differente numero di unità strutturali (grado di polimerizzazione) ed aventi quindi diverse dimensioni e pesi molecolari. Al fine di stimare il peso molecolare complessivo di un polimero si stabilisce un grado di polimerizzazione medio, che si ottiene dividendo il numero totale di molecole di monomero per il numero totale delle macromolecole. Il peso molecolare di una singola macromolecola è dato dalla massa dell'unità ripetitiva moltiplicata per il grado di polimerizzazione. Per calcolare il peso molecolare medio delle macromolecole si può far riferimento a due diversi valori:

- Peso molecolare medio numerale (M_n): è definito come il rapporto tra il peso di una certa quantità di polimero ed il numero di macromolecole in esso presenti, ed esprime la media numerica dei pesi molecolari.

$$M_n = \frac{\sum_i N_i M_i}{\sum_i N_i}$$

dove N_i indica il numero di molecole di peso molecolare M_i .

- Peso molecolare medio ponderale (M_w): esprime la media pesata sulla massa delle macromolecole presenti.

$$M_w = \frac{\sum_i N_i M_i^2}{\sum_i N_i M_i}$$

Risulta che M_w è sempre maggiore di M_n ; il primo infatti viene influenzato soprattutto dalle molecole di grandi dimensioni, mentre il secondo da quelle più piccole. Il rapporto

$$D = M_w / M_n$$

definisce l'indice di polidispersività, ed è rappresentativo della larghezza della distribuzione dei pesi molecolari. Quindi, se un polimero è costituito interamente da molecole con lo stesso peso molecolare, si parla di polimero monodisperso ($D=1$). In commercio si trovano polimeri con un D variabile, compreso fra 1 e 3, anche se in alcuni casi può arrivare fino a 10. Nella pratica, per i polimeri sintetici il limite inferiore della polidispersività difficilmente arriva ad 1, ma solitamente è compreso tra 1.5 e 2.5.

In campo biomedicale si richiedono polimeri ad alto peso molecolare e con un indice D relativamente basso, fattori che assicurano buone proprietà meccaniche e una bassa distribuzione dei pesi molecolari.

1.1.3.5 Sintesi dei polimeri

I materiali polimerici vengono ottenuti mediante polimerizzazione, un processo che prevede l'unione di più molecole monomeriche. Generalmente i monomeri sono ottenuti da petrolio, carbone e gas naturale. Di recente, tuttavia, è cresciuto sempre più l'interesse per la valorizzazione della biomassa non alimentare e degli scarti industriali. La ricerca accademica ed industriale mira dunque sempre più alla preparazione di polimeri *bio-based*, cioè ottenuti da fonti rinnovabili, in sostituzione ai tradizionali polimeri sintetici derivati da petrolio.

Le macromolecole sono costituite dalla ripetizione di semplici unità strutturali tenute insieme da legami chimici primari (covalente, ionico), e nel suo complesso

il polimero risulta formato da macromolecole unite da legami chimici secondari (forze di Van der Waals, interazioni dipolo-dipolo).

Due sono i principali metodi di polimerizzazione:

- **Policondensazione:** prevede l'unione tra loro delle molecole di monomero a formare la catena polimerica, con successiva eliminazione di molecole più piccole come acqua, cloruro di sodio, metanolo ed acido cloridrico (Figura 1.8). Le unità strutturali del polimero finale presentano una formula chimica diversa da quella dei monomeri di partenza. Gli aspetti negativi di tale processo, attraverso cui vengono generalmente prodotti poliesteri, poliammidi, poliuretani e polisilossani, sono legati alle tempistiche molto lunghe ed al basso grado di polimerizzazione raggiunto, che porta all'ottenimento di polimeri a basso peso e con catene piuttosto corte. Se le molecole di monomero reagenti presentano due soli gruppi funzionali, si parla di policondensazione bifunzionale; in questo caso le macromolecole si accrescono sviluppandosi linearmente. Quando almeno uno dei monomeri presenta più di due gruppi funzionali la reazione prende il nome di policondensazione polifunzionale e si possono così ottenere polimeri reticolati ⁽⁶⁾.

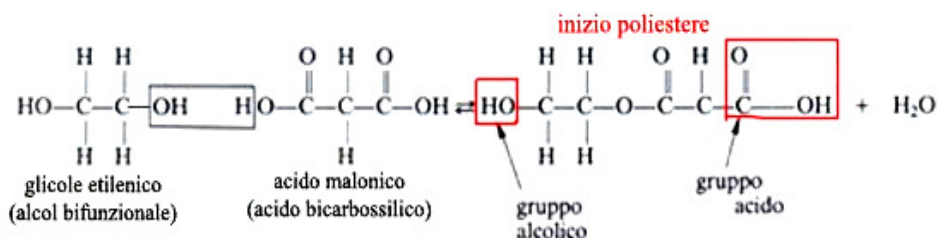


Figura 1.8. Esempio di reazione di policondensazione per la produzione di polietilentereftalato.

- **Poliaddizione:** è una reazione a catena (Figura 1.9) in cui 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 risultano essere uguali, ed i pesi medi molecolari al termine della reazione raggiungono valori anche molto elevati. I monomeri impiegati posseggono una bifunzionalità interdipendente, tipica dei composti insaturi; tra i più comuni vi sono quelli contenenti un doppio legame C=C. Affinché la polimerizzazione avvenga è necessario che il monomero risulti

attivato, ovvero uno dei due legami che uniscono gli atomi di carbonio si apra in maniera tale che ciascuno di questi atomi presenti un elettrone libero. Questa attivazione si può ottenere tramite l'ausilio di calore, raggi ultravioletti o più comunemente grazie alla presenza di un 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. I processi di poliaddizione, caratterizzati da notevoli rapidità ed esotermicità, possono essere suddivisi in radicalici e ionici. Nella polimerizzazione radicalica l'attivazione delle molecole di monomero avviene grazie alla presenza di un altro composto, detto iniziatore (I), che ad una certa temperatura si decompone dando luogo alla formazione di radicali liberi. Tale composto attivo entra in contatto con un'altra molecola di monomero e la polimerizzazione prosegue. La polimerizzazione ionica, invece, avviene tra sostanze capaci di dar luogo, reagendo con il monomero, a composti di carattere ionico. Il processo di poliaddizione, attraverso cui vengono ottenuti materiali quali ad esempio polietilene, polimetilmetacrilato e polivinilcloruro, può essere dunque suddiviso in quattro fasi:

1. fase iniziale o induzione: durante la quale le molecole di iniziatore diventano attive ed iniziano a loro volta ad attivare le molecole di monomero.
2. fase di propagazione: essa prevede la crescita delle molecole di polimero.
3. fase di chiusura: è il periodo in cui si conclude la crescita delle macromolecole. Può avvenire in diversi modi: per diretto accoppiamento tra le molecole in crescita, per mezzo di un radicale, oppure per scambio di un atomo di idrogeno tra due molecole in crescita.
4. trasferimento di catena: a questo punto una molecola in crescita può disattivare o arrestare il suo accrescimento attivando una molecola di monomero o di una catena che si era precedentemente chiusa.

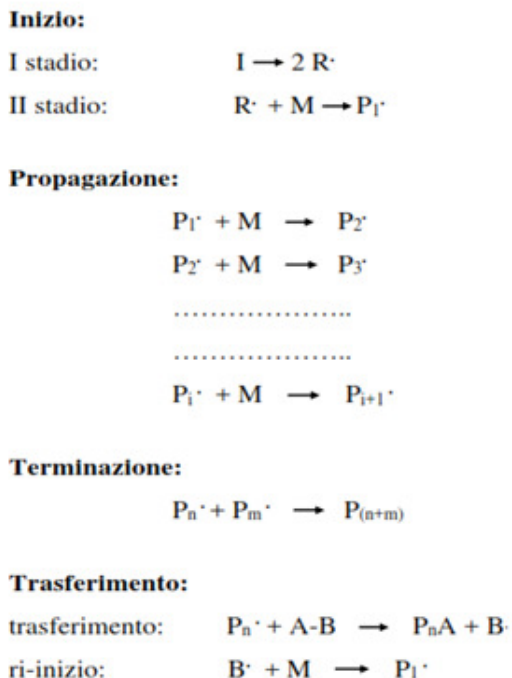


Figura 1.9. Meccanismo di poliaddizione. I: iniziatore organico; R.: radicale primario; M: unità monomerica; Pi: catena polimerica; A-B: trasferitore di catena.

1.1.3.6 Processi tecnologici

I materiali polimerici vengono generalmente forniti in soluzione o sotto forma di polveri o grani. I principali processi con cui vengono prodotti manufatti polimerici sono schematizzati in figura 1.10. Tra i più importanti figurano lo stampaggio e l'estrusione.

- Stampaggio: è un processo che garantisce una buona tolleranza e un'adeguata finitura superficiale. È presente in tre varianti: stampaggio ad iniezione, a compressione e per soffiatura. Per quanto riguarda il primo, esso prevede che granuli di materiale termoplastico vengano caricati sulla superficie di una vite rotante che li spinge in direzione di uno stampo; i grani, forzati dalla vite contro le pareti dello stampo, fondono a causa del calore di compressione e di attrito. Il processo termina quando una quantità sufficiente di materiale raggiunge lo stampo, il quale viene poi sottoposto a raffreddamento ad acqua. Nello stampaggio a compressione si utilizza invece una lastra preformata, contro cui viene spinta una quantità esatta di resina preriscaldata che viene così fatta fluire all'interno di uno stampo. La giusta combinazione di pressione e temperatura permette di

ottenere pezzi con un buon grado di finitura superficiale. Infine, lo stampaggio per soffiatura consente di ottenere una forma complessa a partire da una preforma più semplice: il procedimento prevede di inserire un materiale termoplastico preriscaldato all'interno di uno stampo caldo e facendolo aderire contro le pareti insufflando aria compressa.

- Estrusione: è un metodo impiegato solitamente per materiali termoplastici, e prevede l'utilizzo di 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. L'estrusione viene anche impiegata per mescolare alla massa del polimero eventuali additivi o un secondo componente di un *blend*, ed eventualmente per far avvenire reazioni chimiche (estrusione reattiva).

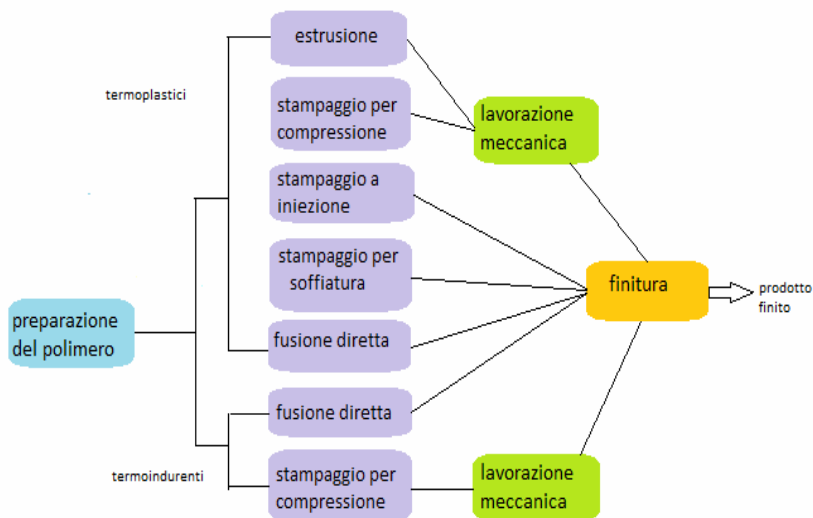


Figura 1.10. Fasi della lavorazione dei materiali polimerici.

1.1.3.7 Degradazione

Una delle caratteristiche più interessanti dei materiali polimerici, siano essi di origine naturale o sintetica, è sicuramente la capacità di degradarsi, anche totalmente, in ambienti biologici, possibilmente senza rilasciare sostanze tossiche per l'organismo ospite.

Dal punto di vista del materiale, la degradazione consiste nella rottura chimica dei legami all'interno della catena principale o appartenenti ai gruppi laterali, con

conseguente alterazione delle caratteristiche fisiche del materiale stesso. Uno dei principali effetti è la diminuzione di peso molecolare con conseguente peggioramento delle proprietà meccaniche (⁷).

In base alla modalità di degradazione, i polimeri possono essere divisi in due categorie: sostanze che degradano per via idrolitica; sostanze che degradano per via enzimatica.

Inoltre, il processo di degradazione può innescarsi fin dal momento dell'inserimento dell'impianto, oppure può essere indotto artificialmente, in tempi e modalità opportune a seconda del ciclo di vita previsto per l'impianto stesso.

La degradazione può essere causata da:

- Effetti chimici: possono manifestarsi rotture casuali dei legami chimici e delle catene (con eventuali formazioni di prodotti secondari), le quali causano la depolimerizzazione tramite un processo inverso rispetto a quanto si verifica nella fase di accrescimento della poliaddizione.
- Effetti della sterilizzazione: al fine di evitare infezioni in seguito ad un impianto, si rende necessario un processo di sterilizzazione del materiale, finalizzato all'inattivazione dei microrganismi potenzialmente patogeni presenti sulla superficie ed attuato con modalità diverse in funzione del polimero coinvolto. La tecnica più dispendiosa dal punto di vista economico, ma che minimizza i rischi di degradazione, prevede l'impiego di agenti chimici, quali gas o soluzioni a basse temperature. Vengono però utilizzate anche tecniche alternative quali la sterilizzazione a secco, in cui le temperature variano tra 160°C e 190°C (superiori a T_r), oppure vapore ad alta pressione, metodologia che prevede temperature più basse, comprese tra 120°C e 135°C.
- Effetti meccanici: sollecitazioni statiche o cicliche possono indurre la frammentazione di un polimero, con il conseguente rilascio di residui e particelle, il quale favorisce il processo di biodegradazione.
- Effetti dell'ambiente biologico: la più probabile causa di deterioramento dei polimeri impiantati in ambiente biologico, altamente aggressivo, è imputabile all'attacco ionico (in particolare dello ione OH^-) e all'ossigeno disciolto. In genere, degradano più rapidamente i polimeri idrofili rispetto a quelli idrofobi.

1.1.3.8 Classi di polimeri

I polimeri impiegati in ambito biomedicale possono essere classificati in base alla loro origine. Si parlerà dunque di polimeri naturali, artificiali (materiali naturali parzialmente modificati in laboratorio) e sintetici (ottenuti interamente in laboratorio). I campi nei quali trovano maggiore applicazione vengono mostrati in figura 1.11 e sono: controllo del flusso sanguigno e di altri fluidi corporei (cateteri, cannule, drenaggi), superfici articolari nelle protesi ortopediche, lenti a contatto e intraoculari, membrane per la somministrazione di farmaci, rivestimenti per sensori e dispositivi elettronici impiantabili, rigenerazione tissutale, riempimento di cavità, valvole cardiache, protesi vascolari, organi bioartificiali (dispositivi in cui vengono combinati materiali sintetici e cellule o tessuti viventi).

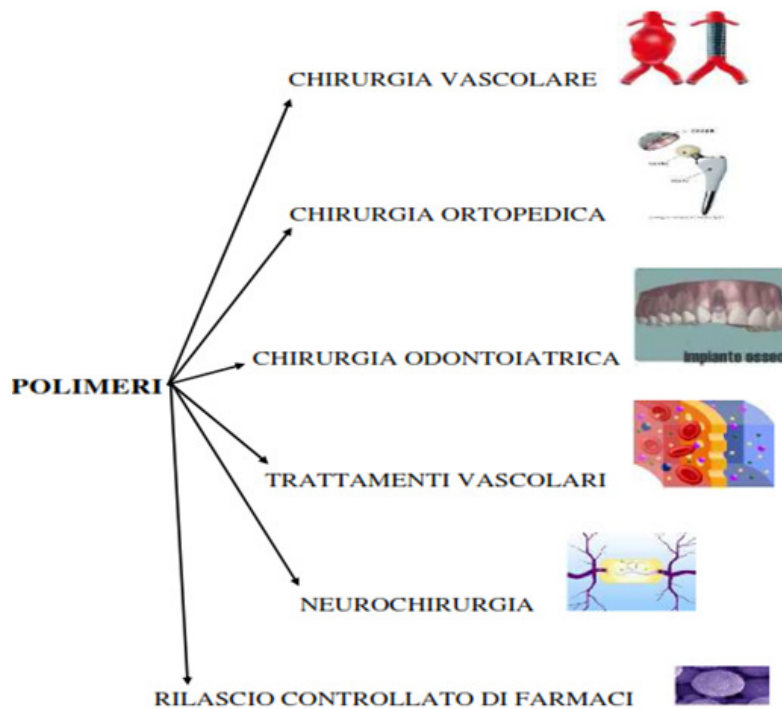


Figura 1.11. Applicazioni dei polimeri in campo biomedicale.

Tra i polimeri di origine naturale, i più importanti risultano essere:

- **Collagene**: è la proteina più abbondante all'interno del corpo umano, ed è la maggior costituente di legamenti, cartilagini, tendini, ossa e pelle, e forma la struttura di tessuti come i vasi sanguigni. È costituito da catene polipeptidiche contenenti principalmente glicina e prolina, le quali sono raggruppate in microfibrille, triple eliche avvolte in senso antiorario

(Figura 1.12). Le microfibrille si dispongono in diverse configurazioni per creare la fibra di collagene, con proprietà meccaniche adeguate alla funzione corporea svolta. Il collagene è stato ampiamente studiato per la sua biocompatibilità, resistenza meccanica e degradabilità in ambiente enzimatico; inoltre risulta facilmente solubile e lavorabile in soluzioni acquose. Per secoli è stato impiegato come materiale per suture, applicazione oggi in disuso a causa dell'insorgenza di risposte infiammatorie e di infezioni nell'organismo ospite. Inoltre, veniva impiegato per realizzare dispositivi a rilascio locale di antibiotici, DNA, siRNA e proteine. Recenti applicazioni come sigillante emostatico sfruttano l'elevata trombogenicità del collagene, il quale gioca un ruolo fondamentale nella trasformazione del fibrinogeno in fibrina, permettendo di bloccare velocemente la fuoriuscita di sangue. L'integrità strutturale di questo materiale, data dalla sua natura fibrosa, lo ha reso un potenziale candidato per le applicazioni in ingegneria tissutale che richiedono elevata resistenza ai carichi, come ad esempio la ricostruzione di ossa, tendini, legamenti e cartilagini, ma anche della pelle. Al fine di ampliare il numero di applicazioni possibili, spesso il collagene viene combinato con altri polimeri degradabili (acido polilattico, acido polilattico-co-glicolico, policaprolattone) o con molecole bioattive. Tuttavia, gli aspetti negativi sono legati alle risposte immunologiche che insorgono in vivo, di natura e intensità variabili a seconda del tipo di collagene impiegato; il collagene puro inoltre, oltre ad essere molto costoso, presenta proprietà fisico-chimiche differenti in funzione del tessuto da cui viene prelevato ed il rischio di trasmettere infezioni, data la sua provenienza da cadaveri o da animali (⁸).

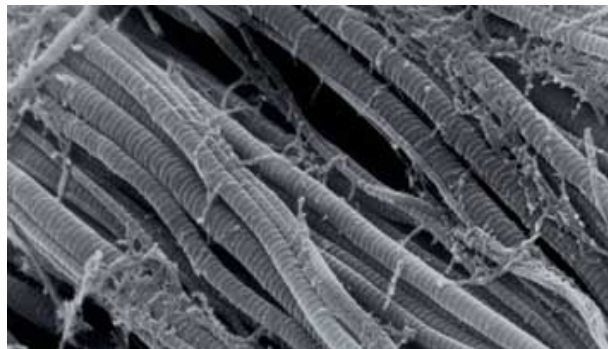


Figura 1.12. Fibre di collagene.

- Elastina: è un polimero insolubile ed altamente elastico composto da molecole di tropoelastina, il principale costituente del tessuto vascolare e polmonare, ed anche il responsabile della loro contrazione (Figura 1.13). Molecole di tropoelastina vengono prodotte all'interno delle cellule muscolari lisce e nei fibroblasti, e si uniscono al di fuori della cellula formando una rete elastica. Dal momento che l'elastina non attiva le piastrine, essa potrebbe essere un ottimo materiale per graft vascolari. Tuttavia, la sua insolubilità e la capacità di innescare una risposta immunitaria, ne limitano fortemente l'uso. Al fine di superare queste limitazioni è stata introdotta l'elastina sintetica, ed i materiali maggiormente studiati in questo contesto sono polipeptidi con caratteristiche simili all'elastina (ELPs); essi sono polipeptidi artificiali, che come l'elastina risultano essere molto elastici, ma, contrariamente ad essa, non innescano risposta immunologica risultando così biocompatibili. Gli ELPs sono stati presi in considerazione per la realizzazione di dispositivi per il trasporto di farmaci chemioterapici, antibiotici e proteine, mentre la loro elasticità li rende ideali per l'ingegneria tissutale dei tessuti molli.



Figura 1.13. Fibre di elastina.

- Polisaccaridi: sono polimeri composti da subunità di monosaccaridi unite da legami glucosidici (Figura 1.14) e caratterizzati da buona biodegradabilità, processabilità e biattività, fattori che li rendono materiali naturali molto promettenti in ambito biomedicale. Per quanto riguarda i polisaccaridi di origine umana, tra i più importanti figura l'acido ialuronico (HA), un polisaccaride lineare della famiglia dei glicosaminoglicani che si trova nel fluido sinoviale, nell'umor vitreo, nella pelle e nelle cartilagini

articolari, alle quali conferisce viscoelasticità. Esso è idrosolubile, formando in acqua soluzioni molto viscose, ed è stato dimostrato come giochi un ruolo fondamentale nella riparazione dei tessuti. Tuttavia, l'omopolimero che si trova allo stato fluido è troppo debole per essere efficace come supporto. Per superare questo limite, l'HA viene complessato con esteri per formare idrogel, versatili e facilmente lavorabili, con cui vengono fabbricati *scaffold* per la ricostruzione di cartilagini articolari, di tessuto tracheale, vascolare e nervoso. In forma liquida inoltre l'HA può essere iniettato nell'articolazione del ginocchio al fine di alleviare il dolore dovuto alle artriti e migliorare la mobilità dell'articolazione stessa. Infine, in forma di nanoparticelle, l'acido ialuronico viene impiegato come veicolo per il rilascio controllato di farmaci chemioterapici, antibiotici, analgesici, siRNA e proteine.

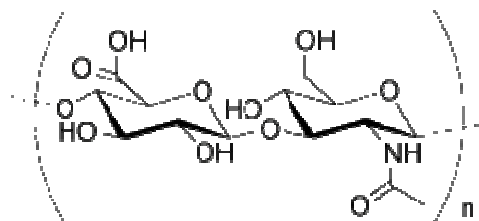


Figura 1.14. Struttura dell'unità disaccaridica dell'acido ialuronico.

Per quanto riguarda i polimeri sintetici, quelli che presentano maggiore importanza sono:

- **Polianidridi:** a questa classe appartengono polimeri caratterizzati da due gruppi carbonilici legati attraverso un legame etereo (Figura 1.15). Essi sono stati impiegati in ambito biomedicale a partire dagli anni '80, fino a ricevere l'approvazione dell'FDA nel 1996. Una loro proprietà peculiare consiste nella velocità di degradazione superficiale, variabile fino a sei ordini di grandezza attraverso l'azione sulla chimica dei monomeri costituenti. Il controllo della velocità di degradazione ha permesso un loro ampio utilizzo nell'ambito del rilascio controllato di antibiotici, farmaci chemioterapici, vaccini e proteine. Il loro basso peso molecolare però influenza negativamente le proprietà meccaniche, le quali risultano insufficienti per impieghi in ingegneria tissutale. Per limitare questo problema e aumentare la loro resistenza sono state studiate polianidridi

metacrilate per potenziali applicazioni nella rigenerazione del tessuto osseo.

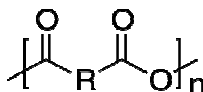


Figura 1.15. Struttura delle polianidridi.

- Poliacetali: sono polimeri degradabili contenenti legami eterei tra la medesima molecola di carbonio (geminale). La vicinanza delle molecole che compongono il legame etere è causa di instabilità idrolitica nella struttura, che favorisce la degradazione superficiale del materiale (Figura 1.16). Si sono rivelati interessanti in ambito biomedicale, in quanto non rilasciano in seguito a degradazione prodotti contenenti acidi carbossilici, e di conseguenza non vi è un'alterazione del pH del sito. Per questa ragione vengono utilizzati come mezzi per il trasporto di molecole che degradano rapidamente in ambiente acido (pH 4-5), quali DNA, siRNA, vaccini e proteine per il trattamento di infiammazioni acute, ischemie cardiache e cancro. La principale limitazione, però, consiste nel loro basso peso molecolare, che implica proprietà meccaniche scarse. L'unica eccezione è data dal Delrin®, l'omopolimero della formaldeide, il quale può raggiungere alti pesi molecolari, che però durante la degradazione rilascia formaldeide, altamente tossica.

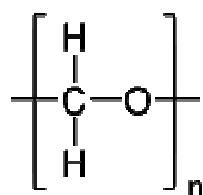


Figura 1.16. Struttura del Delrin®.

- Poli(ortoesteri): sono polimeri idrofobici caratterizzati da tre legami etere (Figura 1.17); come per i poliacetali, lavorando sulla chimica di questi materiali si possono ottenere polimeri con proprietà, tra cui la velocità di degradazione, variabili. Già dai primi anni '70 sono stati impiegati nel trasporto controllato di farmaci e ad oggi ne sono state sviluppate quattro classi. L'ultima, quella dei poli(ortoesteri) di quarta generazione (POE IV), contiene all'interno della sua catena brevi segmenti di acido lattico o

glicolico, al fine di aumentarne la velocità di degradazione rispetto alle classi precedenti, le quali si sono rivelate inadatte per l'applicazione. Polimeri a base di POE IV sono stati utilizzati per il rilascio di analgesici e molecole di DNA. La possibilità di impiegarli in ingegneria tissutale risulta limitata a causa delle scarse proprietà meccaniche e della moderata risposta infiammatoria indotta nei tessuti a contatto con questo materiale.

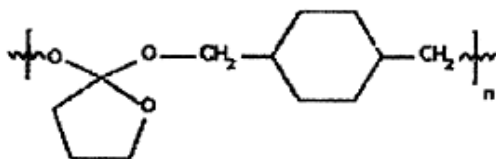


Figura 1.17. Struttura di un poliortoestere.

- **Policarbonati:** sono polimeri lineari contenenti due legami etere e un legame carbonile, idroliticamente stabile (Figura 1.18). Dal momento che in vivo presentano una veloce degradazione superficiale, si presume che in questo caso sia predominante una degradazione di tipo enzimatico. Il poli(trimetilene carbonato) figura tra i policarbonati maggiormente studiati, in quanto flessibile e lentamente degradabile, anche se caratterizzato da scarsa resistenza meccanica. Viene prodotto in microparticelle e gel per il rilascio di agenti angiogenici e antibiotici. Spesso viene copolimerizzato con acido polilattico o policaprolattone, al fine di aumentare la velocità di degradazione, per la produzione di suture, micelle e dispositivi per il rilascio controllato di antibiotici e chemioterapici. Nel campo dell'ingegneria tissutale sono stati studiati policarbonati più resistenti, modificati attraverso l'introduzione di cicloesano o propilene nello scheletro del monomero. Inoltre, policarbonati derivati dalla tirosina vengono impiegati come fissatori e per la costruzione di *scaffold*; i più studiati risultano i poli(desamintirosil-tirosin alchil esteri carbonati), o PDTEs, che grazie alla presenza di gruppi aromatici nelle loro catene posseggono un'elevata resistenza meccanica, inoltre presentano proprietà termiche e meccaniche modulabili grazie alla presenza di una catena alchilica variabile. La loro processabilità ne ha permesso la realizzazione di film, fibre, gel e *scaffold* per la rigenerazione del tessuto osseo, vascolare e muscolare, mentre la lenta degradazione

permette di mantenerne la struttura tridimensionale e di conseguenza le proprietà meccaniche per lungo tempo, rendendoli candidati ideali per processi di rigenerazione lenta.

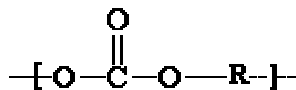


Figura 1.18. Struttura dei policarbonati alifatici.

- Poliuretani:** sono polimeri resistenti, biocompatibili e biostabili, caratterizzati da legami ammidici geminali (Figura 1.19), e con un rateo di degradazione simile ai poliesteri e ai policarbonati. Vengono tipicamente sintetizzati per condensazione del diisocianato con alcoli e ammine; essi sono composti da segmenti a diversa rigidità, denominati *hard* e *soft*, che li rendono in grado di sopportare elevati stress meccanici. I poliuretani sono stati ampiamente utilizzati per la realizzazione di dispositivi di assistenza cardiaca, piccoli shunt vascolari e tubi tracheali. Un poliuretano presente in commercio, il NovoSorb (PolyNovo®) è un sistema a due componenti costituito da un liquido iniettabile che polimerizza a temperature fisiologiche, creando un biomateriale simile al cemento osseo dal punto di vista meccanico, ma che nello stesso tempo favorisce anche la proliferazione e l'adesione cellulare. Nella maggior parte dei casi i poliuretani omopolimerici tendono ad essere resistenti alla degradazione, rendendoli non idonei in ambiti della ingegneria tissutale e del rilascio controllato di farmaci.

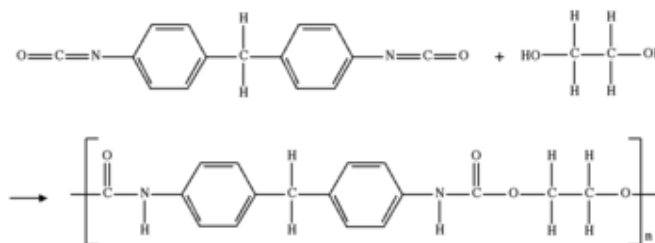


Figura 1.19. Struttura dei poliuretani.

- Polifosfoesteri:** sono polimeri contenenti atomi di fosforo e due gruppi R, uno nello scheletro della catena e uno in catena laterale (Figura 1.20). Si ottengono mediante differenti vie sintetiche, tra cui la *ring opening*

polymerization (ROP), la policondensazione e la poliaddizione. Sintetizzati per la prima volta negli anni '70, risultano biocompatibili e simili a macromolecole come DNA e RNA. I polifosfoesteri si dividono in due classi: i polifosfonati e i polifosfati, con proprietà fisiche e ratei di degradazione modulabili in funzione del gruppo R utilizzato in fase di sintesi. Al fine di migliorarne le proprietà fisiche, essi vengono solitamente copolimerizzati con polieteri e poliesteri. I polifosfoesteri e i relativi composti copolimerici, si sono rivelati molto promettenti come dispositivi per il trasporto di DNA e farmaci chemioterapici, oltre ad essere impiegati in forma di film, micelle e gel nella realizzazione di *scaffold* per la rigenerazione del tessuto osseo.

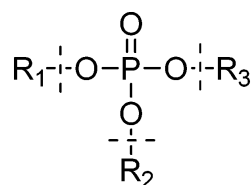


Figura 1.20. Struttura di un polifosfoestere.

1.1.3.9 Copolimeri

Generalità

A differenza dei polimeri, le cui macromolecole sono costituite da catene dello stesso monomero, i copolimeri risultano dall'unione di due o più monomeri di diverso tipo. L'introduzione di una seconda unità monomerica all'interno della struttura, e di conseguenza la sua disposizione rispetto al primo monomero, la sua relativa concentrazione, la sua influenza sul processo di sintesi e sull'assetto finale della macromolecola, sono variabili che permettono di modificare e modulare notevolmente le proprietà e le caratteristiche del materiale finale. Un ruolo decisivo in questo processo viene ricoperto dal centro attivo di polimerizzazione e dalle condizioni operative, prima fra tutte la temperatura.

Al fine di determinare la struttura di un copolimero è necessario identificare e stimare alcuni parametri, con riferimento a modelli cinetici o statistici che consentano di descrivere le unità monomeriche e la loro distribuzione nelle catene.

Risulta quindi indispensabile conoscere:

1. La composizione, vale a dire la quantità relativa dei monomeri A e B, e la loro distribuzione.
2. La tipologia delle unità ripetitive derivanti da A e da B nella catena, valutate rispetto alle caratteristiche intrinseche del monomero.
3. L'ordine di inserimento del monomero A rispetto a B; tale organizzazione comporta la formazione di sequenze monomeriche di diversa lunghezza, di cui è necessario conoscere la disposizione.
4. La dimensione delle catene, in termini di peso molecolare, e la loro distribuzione.
5. La misura diretta delle costanti di velocità di accrescimento, propagazione e di terminazione, da cui sono derivabili le grandezze citate nel punto precedente.
6. La presenza di ramificazioni, ciclizzazioni o reticolazioni indesiderate, come risultato di processi non controllati.

Classificazione

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

- Copolimeri casuali (o random), in cui unità monomeriche sono disposte in maniera casuale all'interno della catena principale.

...AAABBABBBAAABAABBBAAAABAABBBAAA...

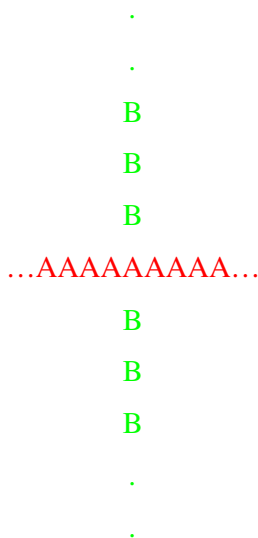
- Copolimeri alternati, in cui le unità monomeriche sono alternate con regolarità lungo la catena.

...ABABABABABABABABABABABABABABABABAB...

- Copolimeri a segmenti (o a blocchi), in cui i comonomeri assumono una disposizione regolarmente alternata.

...AAAAABBBBAAAAAABBBBBBBBAAABBBBBB...

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



Copolimeri statistici

I copolimeri statistici vengono ottenuti perlopiù mediante processi di poliaddizione radicalica, ionica o di coordinazione. Una problematica centrale della teoria della copolimerizzazione consiste nel prevedere la composizione di un certo copolimero, nota quella iniziale dei comonomeri. Poiché la reattività di questi ultimi varia durante la reazione, ne consegue che la composizione del copolimero evolve continuamente nel tempo rispetto a quella del mezzo di reazione. Si può dunque affermare che la composizione di un copolimero, in relazione ad una certa miscela di alimentazione, è istantanea e definibile come l'esito di conversioni infinitesime di monomeri.

Come per gli omopolimeri, anche per i copolimeri la fusione della fase cristallina e la transizione vetrosa della componente amorfa, che si manifestano rispettivamente alle temperature T_m e T_g , sono transizioni termiche cruciali. Questi possono inoltre mostrare più di una fase cristallina, indice di vari processi di fusione. Di norma, la transizione vetrosa dei copolimeri statistici varia in maniera monotona con la composizione; inoltre, se una o entrambe le unità monomeriche sono in grado di cristallizzare, la transizione vetrosa caratteristica della fase amorfa si manifesta ad una temperatura T_g intermedia rispetto a quelle proprie dei due omopolimeri, T_{gA} e T_{gB} . Al fine di descrivere l'andamento di T_g al

variare della composizione polimerica, sono state formulate diverse equazioni, tra le quali figura quella di Fox:

$$1/T_g = w_A / T_{gA} + w_B / T_{gB}$$

in cui w_A e w_B rappresentano le frazioni in peso dei rispettivi monomeri.

Si può anche fare riferimento alla più recente equazione di Couchman, adottata anche nel caso di andamenti regolari di T_g :

$$\ln T_g = \frac{\ln T_{gA} + (k \cdot w_B / w_A) \cdot \ln T_{gB}}{1 + (k \cdot w_B / w_A)}$$

in cui k rappresenta il rapporto tra gli incrementi di calore specifico alla transizione vetrosa degli omopolimeri.

Entrambe le equazioni delineano un andamento monotono crescente di T_g al variare della composizione, ma non sembrano però validare le evidenze sperimentali, dal momento che alcuni copolimeri mostrano 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:

$$1 / T_g = w_{AA} / T_{gAA} + w_{BB} / T_{gBB} + w_{AB} / T_{gAB}$$

essendo T_{gAB} 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 si è potuto raggiungere un valido compromesso tra previsioni ed evidenze sperimentali.

Per quanto riguarda la capacità di cristallizzazione di un copolimero, essa risulta alterata dall'introduzione, nella catena omopolimerica (A), di un'unità strutturalmente e chimicamente diversa (B); se poi entrambe le unità monomeriche possono cristallizzare, la situazione si complica ulteriormente.

In genere, le unità B possono venire completamente escluse dal reticolo cristallino o, viceversa, entrarne a far parte sia in forma di difetto, sia in condizioni di equilibrio; in questo ultimo caso entrambe le fasi si considerano pure.

Per i copolimeri statistici, con riferimento alla teoria di Flory per la fusione all'equilibrio, la temperatura di fusione T_m è calcolabile nel modo seguente:

$$1/T_m - 1/T_m^\circ = -(R/\Delta H_u) \cdot \ln X_A$$

dove T_m° è la temperatura di fusione di equilibrio dell'omopolimero cristallizzabile (A), ΔH_u è l'entalpia di fusione per unità ripetitiva di A nel cristallo perfetto, e X_A è la frazione molare di A nel copolimero. L'equazione sopra riportata assume che la temperatura di fusione del copolimero a distribuzione statistica sia indipendente dalla natura del comonomero B, a condizione che esso risulti effettivamente escluso dal reticolo cristallino. Inoltre, poiché la T_m° 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° inferiori al valore teorico previsto, con uno scarto direttamente proporzionale al crescere del numero di unità B.

Al fine di quantificare l'effetto della lunghezza delle sequenze cristallizzabili si ricorre all'equazione di Baur:

$$1/T_{m,co}^\circ = 1/T_m^\circ - (R/\Delta H_m^\circ) (\ln x_C - 2x_C (1 - x_C))$$

dove con $T_{m,co}^\circ$ si intende la temperatura di fusione di equilibrio dell'omopolimero cristallizzabile (C), con ΔH_m° l'entalpia di fusione per unità ripetitiva di C nel cristallo perfetto, e con x_C la frazione molare di C nel copolimero.

In alcune situazioni i copolimeri a distribuzione statistica possono anche mostrare co-cristallizzazione, definita come la sostituzione isomorfa delle unità comonomeriche: in tal caso, essi raggiungono un elevato grado di cristallinità in corrispondenza di tutto il campo di composizione.

Si distinguono due tipi di sostituzione isomorfa:

- nel caso in cui gli omopolimeri dei due comonomeri presentino una struttura cristallina molto simile, la fase cristallina del copolimero risulta caratterizzata da parametri che cambiano gradualmente in corrispondenza di variazioni della composizione, partendo da quelli caratteristici di un omopolimero per arrivare a quelli tipici dell'altro.
- Se invece i due omopolimeri mostrano struttura cristallina differente, una delle unità monomeriche entra a far parte di un reticolo diverso da quello

del proprio omopolimero (isodimorfismo), e la composizione alla quale il copolimero passa da una struttura cristallina all'altra risulta ben precisa. A causa delle unità estranee ospitate, i parametri del reticolo cristallino appaiono differenti da quelli dell'omopolimero corrispondente.

In entrambi i casi, l'andamento della temperatura di fusione al variare della composizione si discosta da quello previsto per copolimeri la cui fase cristallina rimane pura, ovvero inaccessibile alle unità dell'altro monomero.

Il modello di Wendling e Suter combina quello di Baur e quello di inclusione di Sanchez-Eby, ed è descritto dalla seguente equazione:

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

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 indica 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. A partire da questa formulazione, per $X_{cb} = X_B$ si ricade nel modello di inclusione, mentre per $X_{cb} = 0$ ($\epsilon \rightarrow 0$) è possibile ricondursi a quello di Baur.

Copolimeri a blocchi

In ambito di chimica macromolecolare, negli ultimi decenni sono state ottenute numerose strutture copolimeriche a blocchi. Tra queste, le più importanti risultano:

- Di-blocchi: Am-Bn. I blocchi possono contenere gruppi terminali (-OH), gruppi di giunzione (-COO-), oppure, in alternativa, il secondo blocco può includere un terzo monomero C (Am-B-C), distribuito in maniera casuale, alternato, o in sequenze decrescenti, ecc.
- Tri-blocchi: Am-Bn-Am, Am-Bn-Aq, Am-Bn-Cq, sequenze che rappresentano, in maniera semplificata, copolimeri contenenti tre blocchi così distribuiti.
- Multi-blocchi: copolimeri segmentati del tipo Am-Bn-Am-Bq-Am-Bq.
- Copolimeri a di-blocchi ripetuti: (Am-Bn)_x.

- Copolimeri a stella, che presentano multi-braccia collegate da un'unità di giunzione. Tali polimeri rappresentano un caso particolare di copolimeri ad innesto.

Se le sequenze costituenti i copolimeri a blocchi amorfi risultano compatibili, allora il copolimero consiste di un'unica fase con un'unica temperatura di transizione vetrosa. Viceversa, copolimeri costituiti da blocchi di sequenze A e B incompatibili e non cristallizzabili formano microdomini amorfi, provocati da una separazione di fase. Se uno o entrambi i blocchi sono cristallizzabili, si ha segregazione di fase con formazione di domini cristallini. Le transizioni termiche in tali sistemi multifasici microsegregati risultano fortemente influenzate dalla morfologia, che dipende a sua volta dal metodo di preparazione del campione (effetto della storia termica, meccanica, del solvente, ecc.), oltre che dalle caratteristiche molecolari del copolimero.

Si distinguono quindi due tipologie di copolimeri a blocchi:

- Blocchi non cristallizzabili: ad ogni fase amorfa presente corrisponde una transizione vetrosa che, nell'ipotesi di una separazione di fase, porta a microdomini nettamente distinti, facilmente correlabili alla T_g dell'omopolimero corrispondente. La situazione reale si avvicina a quella descritta solo quando il peso molecolare dei blocchi è elevato e l'incompatibilità tra i blocchi molto marcata.
- Blocchi cristallizzabili: se nel copolimero uno o entrambi i blocchi risultano cristallizzabili, la segregazione di fase comporta anche la formazione di domini cristallini. Questi possono dare luogo a strutture organizzate con un arrangiamento periodico, come avviene nel caso di copolimeri a due o tre blocchi, oppure a strutture prive di organizzazione, come nel caso di polimeri multi-blocchi. Quando entrambi i blocchi sono cristallizzabili, la morfologia è dettata dal blocco che cristallizza per primo; il secondo componente cristallizza in presenza delle restrizioni steriche imposte dai domini cristallini già formati.

1.1.4 Poliesteri alifatici

I poliesteri alifatici costituiscono una classe di polimeri caratterizzati dal ricorrere dell'unità funzionale esterea nella catena carboniosa (Figura 1.21), e ottenuti principalmente mediante policondensazione di uno o più acidi carbossilici

polifunzionali con uno o più alcoli polifunzionali. Essi si differenziano in aromatici e alifatici in relazione alla presenza o meno di anelli aromatici all'interno della struttura. Grazie alle loro eccellenti biocompatibilità, biodegradabilità e resistenza meccanica, risultano la classe di maggior successo, importanza e diffusione commerciale tra tutti i polimeri biodegradabili.

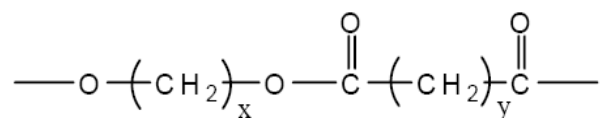


Figura 1.21. Struttura generale di un poliestere alifatico.

La sfida legata allo sviluppo di questi materiali ha come obiettivo quello di ottenere polimeri processabili con la strumentazione già esistente, stabili sia durante la lavorazione sia al momento dell'utilizzo, e che degradino in tempi prestabiliti, al termine del loro ciclo di vita, rilasciando soltanto particelle a basso peso molecolare e atossiche per l'organismo ospite. Dal momento che la maggior parte dei polimeri ottenuti a partire da monomeri biologici risulta essere lineare ed alifatica, questi materiali tendono a presentare moduli elastici non elevati e basse temperature di fusione, proprietà che potrebbero limitare le loro applicazioni. D'altro canto, la bassa temperatura di lavorazione, li rende particolarmente idonei nell'ambito del rilascio controllato di farmaci, vaccini, peptidi, proteine e altri composti di natura biologica, i quali risentono negativamente delle alte temperature.

Poliesteri alifatici come il poli(propilene succinato) (PPS) ed il poli(butilene succinato) (PBS), biodegradabili e biocompatibili, si sono rivelati ottimi candidati in ambito biomedicale, nonostante il ristretto range all'interno del quale si collocano le loro proprietà fisiche e meccaniche costituisca il principale ostacolo ad un loro più ampio utilizzo. Una tecnica vincente per superare questo problema consiste nell'inserire nella catena di PPS e PBS alcune subunità aromatiche o alifatiche differenti, in modo tale da ottenere nuovi materiali biocompatibili e dalle proprietà migliorate.

1.1.4.1 Strategie sintetiche

Le strategie sintetiche impiegate per ottenere poliesteri alifatici sono principalmente due: la policondensazione e la *ring opening polymerization* (ROP). Per quanto riguarda la prima, si tratta di un meccanismo a stadi in cui vengono

impiegati come reagenti dioli e diacidi oppure un acido idrossilico, al fine di ottenere polimeri ad alto peso molecolare; la formazione del legame chimico tra i monomeri comporta l'eliminazione di piccole molecole come ad esempio acqua, ammoniaca e acidi inorganici, identificate come prodotti secondari. Condizione necessaria affinché tale meccanismo abbia luogo è la presenza, tra i due monomeri coinvolti nella formazione del legame, di altrettanti gruppi funzionali che possano interagire tra loro. Le problematiche principali relative alla policondensazione sono legate alle alte temperature e ai lunghi tempi di reazione, alla necessità di rimuovere costantemente i prodotti secondari di reazione e di avere sempre un preciso bilanciamento stechiometrico tra gruppi acidi e gruppi ossidrilici. Risulta inoltre necessario ottenere strutture con elevato peso molecolare per garantire buone proprietà meccaniche, condizione spesso difficile da raggiungere data l'elevata volatilità dei monomeri e la presenza di reazioni collaterali. Un approccio sintetico relativamente nuovo prevede la realizzazione mediante policondensazione di poliesteri a basso peso molecolare (5000-10000 Da) che presentano un'alta percentuale di gruppi terminali ossidrilici, i quali vengono fatti reagire successivamente con un estensore di catena, generalmente un isocianato a doppia funzionalità, che per formazione di un legame uretanico con gli idrossili terminali del poliestere permette un veloce accrescimento della lunghezza delle catene e quindi del peso molecolare. I polimeri così ottenuti vengono chiamati poli(esteri uretani) (PEU), proprio per la presenza del legame uretanico tra due catene di poliestere, e presentano proprietà intermedie tra queste due categorie di polimeri.

In alternativa, la ROP (Figura 1.22) è una reazione che prevede l'impiego di tre diverse molecole di partenza: lattoni, diesteri ciclici e acetali chetonici ciclici. Questa tecnica prevede la scissione dei legami delle strutture ad anello allo scopo di ottenere una molecola lineare con un gruppo estereo all'interno. La costruzione della macromolecola avviene sempre per policondensazione, ma grazie alla ROP è possibile limitare il numero di reazioni secondarie e si ha la capacità di controllare maggiormente proprietà come il peso molecolare e la sua distribuzione, ma anche la presenza di opportuni gruppi funzionali terminali.

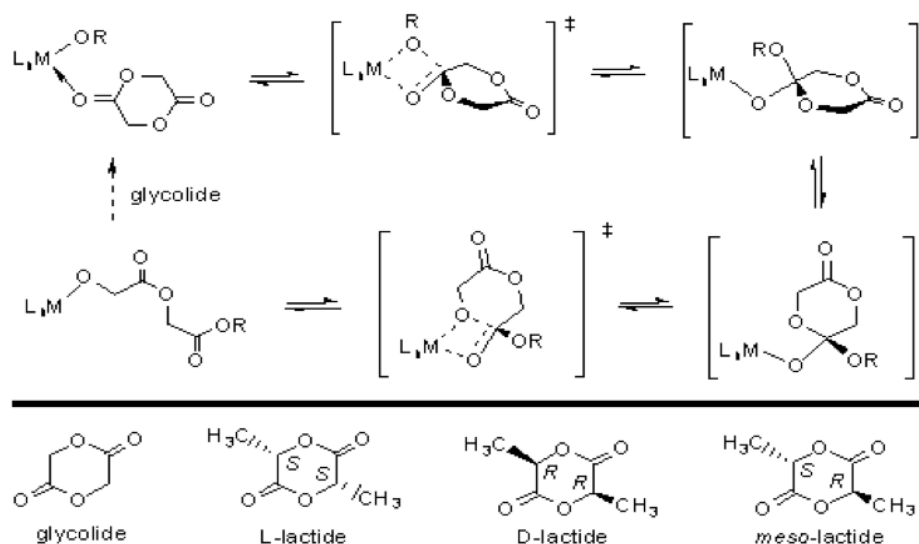


Figura 1.22. ROP del lattide.

1.1.4.2 Proprietà

La struttura e la composizione delle unità ripetitive, la presenza di gruppi polari e di ramificazioni, il peso molecolare, il grado di cristallinità sono i fattori che influenzano maggiormente le proprietà fisiche dei poliesteri alifatici. Poliesteri alifatici (Figura 1.21) con $x, y \geq 2$ presentano una consistente fase cristallina, con temperatura di fusione compresa tra 40°C e 130°C , superiore alla temperatura corporea, variabile in maniera direttamente proporzionale al rapporto tra il numero di gruppi metilenici e carbossilato in catena. La temperatura di transizione vetrosa è compresa tra -70°C e -30°C e la densità tra $0.9\text{g}/\text{cm}^3 - 1.3\text{g}/\text{cm}^3$.

I poliesteri risultano facilmente solubili in idrocarburi clorurati, fenoli, solventi chetonici e ammidici, scarsamente solubili in tetraidrofurano, e ancor meno negli alcoli. Tali polimeri presentano inoltre un'eccellente stabilità termica fin sopra i $200-250^\circ\text{C}$, al superamento dei quali, però, può esserci la comparsa di diversi processi degradativi.

Al fine di modulare le proprietà dei poliesteri alifatici si può intervenire mediante miscelazione (o *blending*), alterazioni dell'architettura macromolecolare, ad esempio sostituendo un idrogeno con un gruppo alchilico nella catena alifatica, oppure attraverso reazioni di copolimerizzazione. In questo senso la copolimerizzazione a blocchi rappresenta un'efficace alternativa per la produzione di polimeri innovativi, biodegradabili e altamente flessibili.

1.1.4.3 Degradazione

La degradabilità di un poliestere è funzione soprattutto della struttura della catena, in particolare della presenza, in essa, di legami idrolizzabili o ossidabili.

La degradazione chimica dei poliesteri alifatici implica modifiche della morfologia, cambiamenti topologici, formazione di prodotti di degradazione e variazioni delle proprietà meccaniche del polimero; essa può avvenire secondo due modalità: erosione superficiale oppure erosione di *bulk*, a seconda del volume di campione coinvolto in tale fenomeno. Nel primo caso la perdita di massa coinvolge solamente la superficie più esterna, dal momento che penetrazione di acqua e processo erosivo evolvono praticamente di pari passo, mentre l'erosione di bulk interessa l'intero volume polimerico in maniera omogenea, poiché in questo caso la penetrazione dell'acqua risulta più veloce del processo erosivo.

Entrambe le modalità sono influenzate dall'idrofilicità e dalla cristallinità; l'erosione superficiale risulta inoltre proporzionale all'area della superficie esposta.

È possibile monitorare la degradazione attraverso misure della variazione di peso molecolare, imputabile alla scissione dei legami, oppure mediante misure di perdita di peso, la cui variazione è indice del passaggio in soluzione di molecole a basso peso.

1.1.4.4 Poliesteri alifatici per uso biomedicale

Tra i poliesteri alifatici maggiormente utilizzati in ambito biomedicale figurano:

- Acido poliglicolico (PGA): uno dei primi polimeri ad essere studiato per applicazioni in ambito biomedicale, è il più semplice dal punto di vista della struttura chimica (Figura 1.23). Esso risulta semicristallino e può essere ottenuto mediante policondensazione dell'acido glicolico o attraverso ROP. Presenta una temperatura di fusione intorno ai 224-226°C, una temperatura di transizione vetrosa (T_g) compresa tra i 36°C e i 40°C, ed un modulo elastico elevato, intorno ai 12.5 GPa, tutte caratteristiche che lo hanno reso idoneo per la realizzazione di suture degradabili (DEXON®), già a partire dagli anni '70. A causa della rapida degradazione (4-12 mesi) ed insolubilità nella maggior parte dei solventi, la ricerca di dispositivi a base di PGA per il rilascio controllato di farmaci ha subito forti rallentamenti. Invece, è stato ampiamente studiato come

materiale per *scaffold* per la rigenerazione di ossa, cartilagine, tendini, denti, intestino, tessuto spinale e linfatico e, in accoppiamento ad altri materiali biodegradabili, come riempitivo. Le maggiori limitazioni dell'utilizzo dell'acido poliglicolico sono legate alla sua rapida degradazione, che comporta una veloce perdita delle proprietà meccaniche e nello stesso tempo il rilascio locale di acido glicolico dovuto alla degradazione. Questa sostanza, nonostante venga assorbita dalle cellule attraverso il ciclo dell'acido citrico ed escreta per via urinaria, a lungo termine provoca gravi risposte infiammatorie nell'organismo ospite. Infine il PGA non risulta idoneo per tutte le applicazioni che prevedano l'uso del materiale a contatto con il sangue.

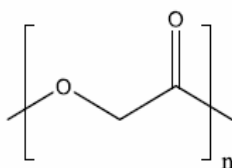


Figura 1.23. Struttura dell'acido poliglicolico.

- Acido polilattico (PLA): è un poliestere alifatico ottenuto sia mediante condensazione dell'acido lattico sia mediante ROP del dimero dell'acido lattico (Figura 1.24). Dal momento che il PLA possiede molecole chirali, di questo materiale sono presenti quattro forme: l'acido poli(L-lattico) (PLLA), l'acido poli(D-lattico) (PDLA), l'acido poli(D-L-lattico), (PDLLA), e l'acido meso-polilattico. Dal punto di vista delle applicazioni biomedicali, solo il PLLA e il PDLLA si sono rivelati promettenti, e di conseguenza sono stati anche quelli maggiormente studiati. Il PLLA è un materiale semicristallino, con una T_g di 60-65°C, una temperatura di fusione intorno ai 175°C e un modulo elastico di 4.8 GPa. Il gruppo metile in catena laterale rende il polimero molto più idrofobico e idroliticamente stabile rispetto al PGA. Per esempio, il PLLA ad alto peso molecolare impiega più di 5 anni per essere completamente assorbito in vivo. Proprio a causa della sua lenta velocità di degradazione, sistemi unicamente a base di PLLA non possono essere impiegati in ambito del rilascio controllato di farmaci. Una possibile soluzione consiste nel copolimerizzare il PLLA con altri polimeri maggiormente degradabili o nell'utilizzare tecniche di sintesi diverse che, ad esempio, prevedano l'impiego di radiazioni. In questo

modo si possono accorciare le catene carboniose rimuovendo parzialmente legami esteri e diminuendo di conseguenza la cristallinità del materiale, rendendolo solubile in tempi dell'ordine dei 30 giorni. Il PLLA è stato inoltre impiegato in ingegneria tissutale nella costruzione di *scaffold* per la rigenerazione di tessuto osseo, vascolare, neurale e tendineo. Il PDLLA è un polimero che si trova allo stato amorfo a causa della disposizione casuale dei suoi due monomeri isomerici; presenta una T_g intorno ai 55-60°C e modulo elastico inferiore a 1.9 GPa. Nonostante risulti migliore del PLLA dal punto di vista della degradabilità, esso impiega comunque più di un anno prima di degradarsi completamente. A causa di questa sua caratteristica, esso viene comunemente utilizzato come film in ambito del rilascio controllato di impianti inorganici, e come *scaffold*. Così come avviene per il PLLA, anche il PDLLA spesso viene combinato con altri polimeri degradabili al fine di ottenere composti dalle proprietà desiderate⁽⁹⁾.

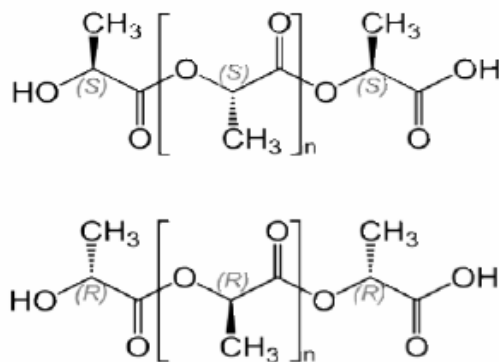


Figura 1.24. Struttura dell'acido polilattico (L e D).

- Acido polilattico-co-glicolico (PLGA): è il polimero biodegradabile maggiormente studiato in ambito biomedicale, ottenuto mediante copolimerizzazione random di PLA (nelle forme L-lattico e D,L-lattico) e PGA (Figura 1.25). Viene impiegato in suture, dispositivi per il rilascio di farmaci e *scaffold*. Dal momento che PLA e PGA presentano proprietà significativamente diverse, un'accurata scelta delle loro percentuali permette di ottenere copolimeri con caratteristiche ottimali in funzione delle applicazioni desiderate. Il PLGA è stato impiegato come materiale per suture a partire dagli anni '70 e nell'ambito del rilascio controllato di proteine, vaccini, farmaci chemioterapici, antibiotici, analgesici,

antinfiammatori e siRNA, per merito dei suoi tempi di degradazione, molto più rapidi rispetto a quelli di PLA e PGA. Il profilo di degradazione risulta variabile a seconda della sua composizione, ma è scarsamente modulabile in quanto il materiale degrada in *bulk*. Inoltre, l'idratazione dell'intera matrice polimerica potrebbe danneggiare o deattivare i materiali incapsulati, qualora fossero sensibili alla costante esposizione all'acqua o all'elevata acidità data dai residui prodotti dalla degradazione del PLGA. Infine, favorisce l'adesione e la proliferazione cellulare, rendendolo un materiale ideale in ambito della rigenerazione di tessuto osseo, cartilagineo, tendineo, pelle, fegato e tessuto nervoso. Gli *scaffold* sono realizzati mediante diverse tecniche, tra cui *gas foaming*, sinterizzazione a partire da microsfeere, *elettrospinning* e stampa 3D.

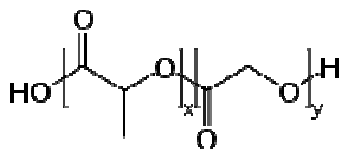


Figura 1.25. Struttura dell'acido polilattico-co-glicolico.

- **Policaprolattone (PCL):** è un polimero semicristallino ottenuto tramite ROP del monomero ciclico ϵ -caprolattone (Figura 1.26). Presenta elevata solubilità in solventi organici, temperatura di fusione compresa tra i 55°C e i 69°C e temperatura di transizione vetrosa di circa -60°C. A causa della sua lenta degradazione in vivo, superiore ai due anni, e l'elevata permeabilità ai farmaci, viene impiegato per realizzare dispositivi a rilascio controllato nel lungo termine. Attualmente si stanno sviluppando micro e nano-dispositivi per il rilascio di farmaci, anche se i lunghi tempi di degradazione rappresentano un problema ancora irrisolto. Un'applicazione per la quale il PCL presenta caratteristiche idonee è l'ingegneria tissutale: infatti modulo elastico di circa 23 MPa e allungamento a rottura del 4700%, fanno del PCL un biomateriale altamente elastico. La buona processabilità ne permette la realizzazione di *scaffold* per la rigenerazione di ossa, legamenti, cartilagine, pelle, tessuto nervoso e vascolare (¹⁰).

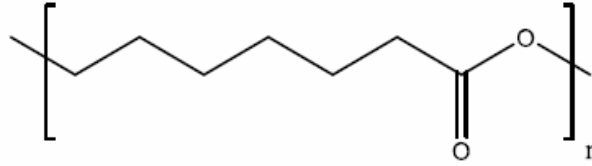


Figura 1.26. Struttura del policaprolattone.

1.1.4.5 Polimeri elastomerici

Con il termine elastomero si intende un polimero caratterizzato da una temperatura di transizione vetrosa (T_g) inferiore alla temperatura ambiente e che, in seguito a sollecitazione meccanica, presenta un comportamento di tipo elastico, ritornando in maniera del tutto reversibile al suo stato iniziale. Tale comportamento meccanico, unitamente al requisito di una buona biocompatibilità, risultano indispensabili per poter interfacciare questi materiali con tessuti dinamici dal punto di vista meccanico, quali ad esempio i muscoli (¹¹).

L'impiego di elastomeri in ambito biomedicale risale alla fine dell'800, e negli ultimi anni l'interesse verso questo tipo di materiali è notevolmente aumentato grazie alla loro adattabilità di forma, a proprietà meccaniche conformi alle destinazioni d'uso e bassi costi di produzione, nonché alla biocompatibilità. Ad oggi sono impiegati per la realizzazione di un ampio numero di dispositivi impiantabili in ambito cardiovascolare, protesico e ortodontico.

Le più recenti ricerche in campo di *soft tissue engineering* si sono focalizzate sulla realizzazione di *scaffold* in biomateriali elastomerici sintetici, con il corretto profilo di degradazione: i risultati sperimentali hanno messo in evidenza come il condizionamento meccanico di tali costrutti abbia permesso da una parte una buona crescita tissutale, dall'altra un trasferimento graduale dei carichi dalla matrice in stato di degradazione al tessuto formatosi su di esso.

Gli elastomeri per uso biomedico possono essere suddivisi in due categorie, in base ai polimeri impiegati per la loro sintesi:

- Elastomeri naturali: la matrice extracellulare dei tessuti molli è composta da vari tipi di collagene; di conseguenza esso viene ampiamente utilizzato in *soft tissue engineering* come substrato naturale per l'adesione, la proliferazione e il differenziamento cellulare. Oltre al collagene, anche elastina, fibrina e alginato vengono impiegati per la ricostruzione di osso, cartilagine, pelle, legamenti, vasi sanguigni, cuore, fegato e fibre nervose.

Nonostante le eccellente biocompatibilità e biodegradabilità, unitamente alle ottime proprietà fisiche, chimiche e meccaniche, permangono problemi connessi alla lunga e complicata procedura di purificazione, unitamente alla variabilità di processabilità. Inoltre, variazioni sia delle proprietà fisiche che di quelle meccaniche sono state riscontrate variando il tipo di matrice proteica.

- Elastomeri sintetici: da un punto di vista chimico e biologico gli elastomeri sintetici dovrebbero presentare sia biocompatibilità sia compatibilità meccanica con le proteine naturali della matrice extracellulare; inoltre, dovrebbe essere possibile modularne le proprietà meccaniche, variando le tipologie di sintesi e le condizioni di processabilità. Al fine di soddisfare tali criteri, la realizzazione di elastomeri sintetici prevede di incorporare, in sede di sintesi, legami esterei nelle catene del polimero, per facilitarne la degradazione idrolitica ed enzimatica. Risulta anche essenziale l'impiego di monomeri non tossici, che possano essere metabolizzati od escreti dall'organismo ospite. Fra gli elastomeri sintetici, i più interessanti risultano i termoplastici, contraddistinti da un'alternanza di segmenti rigidi e segmenti flessibili, all'interno della loro catena. A temperatura ambiente, i segmenti flessibili conferiscono un comportamento elastico e gommoso al materiale, mentre al di sotto della T_g o della T_m i segmenti più rigidi formano numerosi legami tra catene adiacenti, dando origine a domini cristallini. Tali domini sono legati fisicamente e costituiscono un limite per il movimento delle catene più flessibili. Gli elastomeri termoplastici presentano una buona processabilità, ma la loro cristallinità è spesso causa di degradazione eterogenea e di una perdita locale e non lineare delle proprietà meccaniche nel tempo, il cui andamento risulta di conseguenza difficile da prevedere. Il problema si amplifica nei casi di strutture 3D, che solitamente perdono la loro geometria durante il periodo di idrolisi.

Gli elastomeri termoplastici presentano una buona processabilità, infatti, al contrario dei termoindurenti, è possibile realizzare manufatti, per esempio, attraverso lo stampaggio ad iniezione. Gli elastomeri termoplastici maggiormente impiegati in applicazioni di tipo biomedicale sono poli(esteri uretani), realizzati tramite reazione tra i gruppi terminali

ossidrilici di poliesteri a basso peso molecolare (5000-10000 Da) ed i gruppi ciano terminali del cosiddetto estensore di catena, generalmente un diisocianato lineare. Questa reazione porta alla formazione di un legame uretanico tra gli idrossili terminali del poliesteri ed i gruppi isocianato permettendo un veloce accrescimento della lunghezza delle catene e quindi del peso molecolare. I materiali ottenuti presentano proprietà chimico-fisiche e meccaniche intermedie tra i poliesteri e i poliuretani. La reazione di sintesi dei poli(esteri uretani) è schematizzata nella figura 1.27.

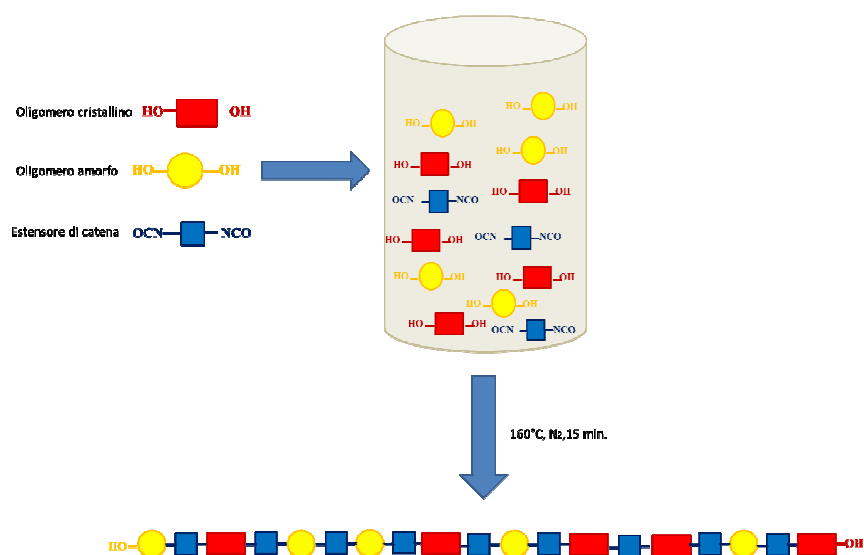


Figura 1.27. Sintesi di poli(esteri uretani).

CAPITOLO 2:

SCOPO DELLA TESI

Negli ultimi anni la ricerca nel campo dell'ingegneria dei tessuti molli si è focalizzata sulla preparazione e lo studio di nuovi materiali bioerodibili e biodegradabili per la realizzazione di strutture porose tridimensionali in grado di supportare la crescita e l'adesione cellulare. Tra i vari materiali impiegati in campo biomedicale il 50% risulta essere di natura polimerica. I principali vantaggi che i polimeri di sintesi presentano rispetto alle altre classi di materiali (metalli, ceramiche, compositi, etc.) sono una maggiore biocompatibilità, la possibilità di modificarne ampiamente composizione e proprietà fisico-meccaniche, bassi coefficienti di attrito, facile processabilità e lavorabilità anche in forme e strutture complesse, possibilità di modificarne chimicamente e/o fisicamente la superficie, possibilità di immobilizzare cellule o biomolecole al loro interno o sulla superficie. 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, quale l'ingegneria dei tessuti molli.

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 tre diversi oligomeri idrossil-terminati: il poli(butilene succinato) (PBS-OH), come segmento *hard*, il poli(cicloesanil glicole cicloesanato) (PCCE-OH), come segmento amorfo caratterizzato da una certa rigidità (*soft-hard*) (la corrispondente temperatura di transizione vetrosa T_g risulta infatti superiore a temperatura ambiente), e il poli(neopentil glicole adipato) (PNA-OH), segmento con ridotta cristallinità e con T_g inferiore alla temperatura ambiente, caratterizzato dunque da una maggiore flessibilità (*soft-soft*).

La scelta di impiegare il PCCE e il PNA, risponde alla necessità di disporre di un segmento “*soft*” caratterizzato da un basso grado di cristallinità.

Gli oligomeri sintetizzati sono stati successivamente copolimerizzati in diversi rapporti tra loro, mediante l’ausilio dell’estensore di catena, per ottenere quattro polimeri con differenti composizione. Più specificamente: due copolimeri contengono uguale rapporto tra PBS-OH e subunità *soft-soft* (PBS₅₀PNA₅₀) o *hard-soft* (PBS₅₀PCCE₅₀), e due copolimeri contengono le tre diverse subunità copolimeriche in diverso rapporto in peso (PBS₅₀PCCE₃₀PNA₂₀ e PBS₅₀PCCE₁₀PNA₄₀). Si è inoltre proceduto alla sintesi dell’omopolimero PBS chain-esteso come termine di riferimento.

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.

La ricerca si è articolata nelle seguenti fasi:

- preliminare analisi bibliografica per focalizzare gli sviluppi recenti sull’argomento trattato;
- sintesi tramite policondensazione in massa degli oligomeri PBS-OH, PCCE-OH, PNA-OH e loro purificazione;
- verifica della struttura chimica e della quantità di gruppi terminali ossidrilici tramite risonanza magnetica nucleare (NMR);

- 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;
- studi di biodegradabilità idrolitica in condizioni fisiologiche;
- analisi dei risultati ottenuti ed estrapolazione di correlazioni proprietà-struttura.

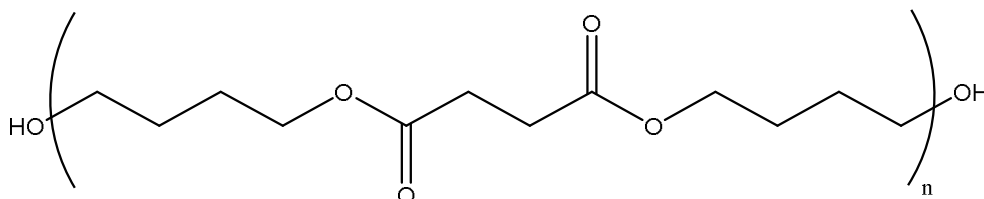
CAPITOLO 3:

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 Civile, Chimica, Ambientale e dei Materiali dell'Università di Bologna.

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



L'omopolimero a basso peso molecolare è stato sintetizzato tramite policondensazione in massa a due stadi, utilizzando come monomeri di partenza acido succinico (SA) e 1,4-butandiolo (BD), quest'ultimo impiegato in eccesso del 40% per assicurare la formazione preferenziale dei terminali idrossilici. La reazione è catalizzata dal titanio(IV)tetrabutossido ($\text{Ti}(\text{OBu})_4$, TBT), caricato nel sistema di reazione in quantità pari a 150 ppm/grammo di polimero teoricamente ottenibile.

Il primo stadio della reazione è stato condotto alla temperatura di 180°C, sotto flusso controllato di azoto e con un'agitazione di 100 giri al minuto. In questa prima fase hanno luogo le reazioni di esterificazione diretta con successiva eliminazione di specie a basso peso molecolare, nel caso in esame molecole di acqua, allo scopo di spostare l'equilibrio della reazione verso i prodotti. Il secondo stadio ha inizio quando almeno il 90% dell'acqua teorica è raccolta nella trappola di condensazione mediante distillazione. Qui avvengono le reazioni di transesterificazione che, mantenendo i tempi di reazione non molto lunghi, portano alla formazione di polimeri a basso peso molecolare. Durante questa fase la temperatura viene aumentata di 10°C ogni 30 minuti, fino al raggiungimento di

230°C. Contemporaneamente, la pressione all'interno del reattore viene ridotta fino a 0,09 mbar grazie all'impiego di una pompa da vuoto, al fine di rimuovere, tramite distillazione, l'eccesso di diolo. Una volta raggiunti i valori desiderati di temperatura e pressione, questi vengono mantenuti costanti fino al termine della reazione.

La strumentazione per la sintesi 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 che permette l'agitazione dei reagenti è di tipo meccanico, formato da un albero motore su cui sono posti degli estensimetri per la misura del momento torcente, necessario a mantenere costante la rotazione delle pale. Esse, infatti, a causa dell'aumento della viscosità del fluido, legato all'incremento del peso molecolare, incontrano maggiore resistenza al procedere della polimerizzazione. Temperatura e torque vengono costantemente monitorati durante la reazione.

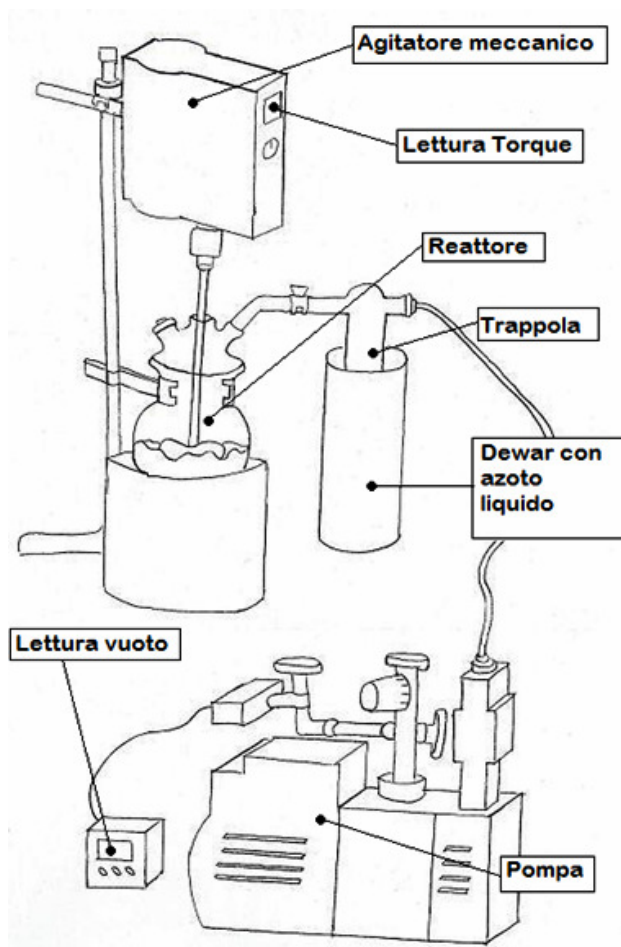
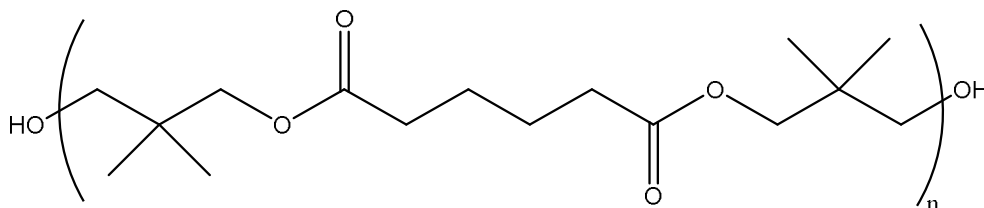


Figura 3.1. Schema dell'apparecchiatura per la polimerizzazione.

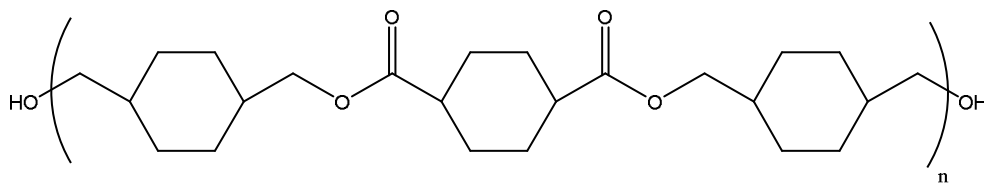
3.1.2 Sintesi di poli(neopentil glicole adipato) a basso peso molecolare (PNA-OH)



Questo polimero rappresenta il segmento denominato *soft-soft*, e risulta essere un materiale con una cristallinità limitata ma non del tutto amorfo e T_g inferiore alla temperatura ambiente che ne garantisce maggiore flessibilità.

La sintesi è eseguita, come nel caso precedente, tramite copolicondensazione in massa a due stadi a partire da acido adipico e neopentil glicole, nelle stesse condizioni di temperatura e pressione impiegate per il PBS-OH. Tutti i reagenti e il catalizzatore TBT sono stati caricati nel reattore di polimerizzazione simultaneamente all'inizio del processo di sintesi.

3.1.3 Sintesi di poli(cicloesanil cicloesanoato) a basso peso molecolare (PCCE-OH)



Questo omopolimero rappresenta il segmento denominato *soft-hard*, e risulta essere un materiale amorfo con T_g superiore alla temperatura ambiente e quindi caratterizzato da una certa rigidità.

Anche in questo caso la sintesi è stata eseguita tramite copolicondensazione in massa a due stadi a partire da cicloesan dialcool e cicloesan diacido, nelle medesime condizioni di temperatura e pressione. Reagenti e catalizzatore TBT sono stati caricati all'interno del reattore di polimerizzazione simultaneamente all'inizio del processo di sintesi.

3.1.4 Purificazione dei polimeri a basso peso molecolare

Tutti i tre omopolimeri idrossil terminati hanno subito un processo di purificazione finalizzato all'eliminazione di eventuali residui monomerici, oligomerici e prodotti indesiderati.

Il processo di purificazione è suddiviso in tre fasi:

1. il polimero allo stato solido è disciolto nella minima quantità di solvente necessaria per il completo scioglimento del materiale. Nel caso in questione, come solvente è stato impiegato cloroformio;
2. la soluzione è stata posta all'interno di uno sgocciolatore e fatta cadere, goccia a goccia, in un becher contenente un eccesso di non-solvente, in questo caso metanolo (Figura 3.2). Il polimero in questo modo precipita sul fondo del recipiente di raccolta e può essere recuperato tramite filtrazione;

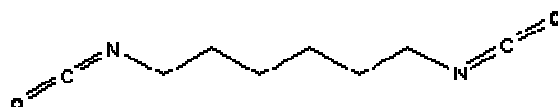


Figura 3.2. Processo di purificazione dei polimeri sintetizzati.

3. il polimero purificato è stato collocato in una stufa a vuoto, ad una temperatura di 30°C, per il tempo necessario a garantire la completa evaporazione del metanolo residuo.

3.2 Sintesi di copolimeri ad alto peso molecolare

Per la sintesi dei copolimeri ad elevato peso molecolare è stato impiegato un estensore di catena: esametilenediisocianato (HDI).



Esametilene diisocianato

Tale composto contiene due gruppi isocianato alle estremità della catena carboniosa che, reagendo con i gruppi ossidrilici terminali di PBS-OH, PCCE-OH e PNA-OH, secondo quanto illustrato in figura 3.3, rendono possibile l'estensione della catena attraverso formazione del legame uretanico.

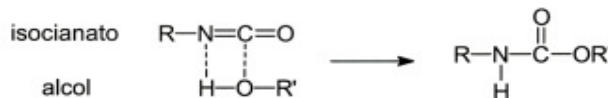


Figura 3.3. Schema di reazione tra un gruppo isocianato ed un gruppo alcolico.

La reazione è stata condotta a 160°C ed 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 i polimeri di partenza, è stata aggiunta, con l'ausilio di una micropipetta, la quantità di HDI (determinata tramite analisi ¹H-NMR) necessaria affinché gli -OH terminali dei polimeri di partenza reagiscano in rapporto 1:1.

In questo modo si sono ottenuti cinque copolimeri differenti, con diversa composizione, ovvero caratterizzati da quantità differenti dei tre diversi blocchi, *hard*, *soft-soft*, *soft-hard*: PBS, PBS₅₀PCCE₅₀, PBS₅₀PNGA₅₀, PBS₅₀PCCE₃₀PNGA₂₀ e PBS₅₀PCCE₁₀PNGA₄₀.

3.3 Caratterizzazione molecolare

3.3.1 Risonanza magnetica nucleare (NMR)

La spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare è una tecnica analitica strumentale utilizzata per determinare la struttura molecolare dei materiali. Viene sfruttato il principio secondo cui i nuclei di alcuni elementi, caratterizzati da spin non intero, quando sottoposti ad un campo magnetico esterno B_0 , intenso e stazionario, si orientano nella stessa direzione di tale campo, a causa dell'azione di una coppia di forze; in tal caso i nuclei, ruotando, danno origine ad un campo magnetico elementare μ che li rende simili a piccoli magneti.

Le possibili orientazioni che il nucleo può presentare in un campo magnetico sono governate dal numero quantico m , il quale può assumere i valori da $-I$ a $+I$ (dove I è il numero quantico di spin nucleare), con incrementi di una unità: sono ammessi quindi $2I + 1$ valori diversi. Per quanto riguarda i nuclei maggiormente utilizzati, come ¹H e ¹³C, che presentano spin pari a $1/2$, gli orientamenti permessi risultano

soltanto due, uno parallelo al campo (bassa energia), con $m = +1/2$, e uno antiparallelo (alta energia), con $m = -1/2$. Inoltre, il momento magnetico nucleare μ , in seguito all'allineamento del nucleo, non rimane fermo, ma continua ad oscillare attorno alla direzione di B_0 , compiendo un moto di precessione simile a quello di una trottola, rappresentato in figura 3.4.

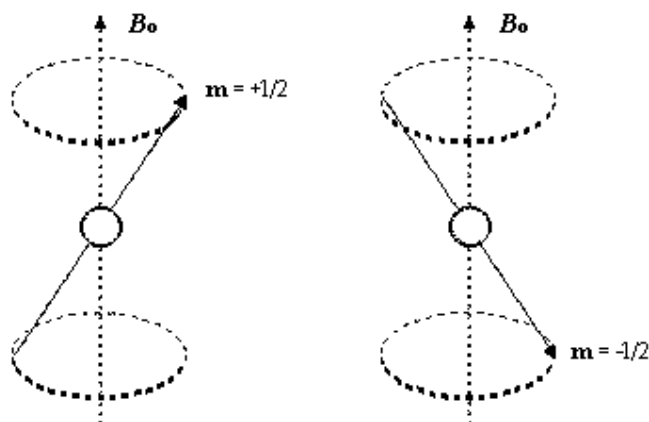


Figura 3.4. Possibili orientamenti dei nuclei in presenza di campo magnetico esterno.

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:

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

dove con γ si intende il rapporto giromagnetico, il cui valore dipende dal tipo di nucleo in esame.

All'aumentare dell'intensità del campo magnetico applicato B_0 , aumenta quindi la differenza di energia tra i due livelli (Figura 3.5). Tale differenza risulta però essere molto piccola, dell'ordine di qualche kcal/mol, e di conseguenza la popolazione di nuclei nei due stati è praticamente identica, con una leggerissima prevalenza per lo stato a bassa energia. Grazie però a questo esiguo numero di nuclei in eccesso allineati con il campo magnetico B_0 è possibile estrarre il segnale NMR, dal momento che a ragione di tale piccola discrepanza la risultante di tutti i momenti magnetici nucleari risulta diversa da zero, ed esprimibile mediante un vettore di debole intensità, allineato con il campo magnetico primario B_0 .

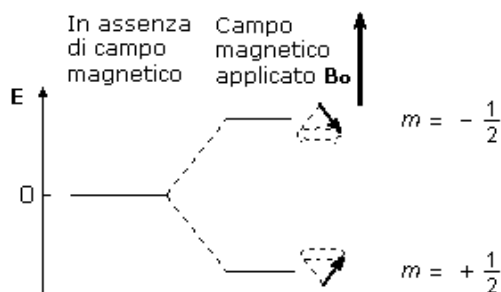


Figura 3.5. Energia ed orientamento dei nuclei con o senza campo magnetico esterno.

Se il campione viene irradiato con una radiazione elettromagnetica di frequenza uguale alla frequenza di Larmor dei nuclei in esame, l'energia della radiazione può essere trasferita a tali nuclei. Di conseguenza, ogni assorbimento di radiazione comporta un cambiamento di orientazione dello spin nucleare, in rotazione, 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.

Il passaggio, da parte di un nucleo, da un'orientazione all'altra, è possibile tramite l'assorbimento di una quantità di energia pari a:

$$E = h\nu = 2\mu B$$

dove h è la costante di Planck e ν è la frequenza della radiazione elettromagnetica assorbita.

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 a radiofrequenza che nel tempo tende a spegnersi, come una sorta di eco del segnale assorbito. Per registrare questo segnale entra in funzione un circuito ricevente. Il segnale raccolto oscilla dunque con una frequenza pari alla frequenza di Larmor del nucleo in esame, e prende il nome di FID (*free induction decay*), ovvero libero decadimento dell'induzione. Nel grafico FID la frequenza d'oscillazione è

facilmente individuabile misurando la lunghezza d'onda λ e tenendo presente che essa risulta l'inverso della frequenza ($\nu = 1/\lambda$).

A partire da questo grafico in funzione del tempo, il FID, è perciò possibile ottenere un nuovo grafico in funzione delle frequenze, chiamato spettro NMR, che mostra la frequenza assorbita dagli atomi in esame. Nella figura sotto riportata è mostrato un esempio relativo ai nuclei di idrogeno (Figura 3.6).

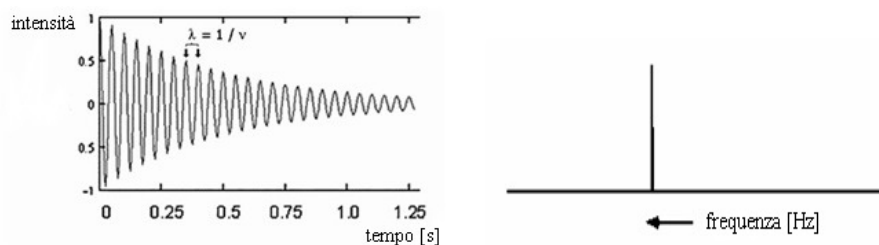


Figura 3.6. Esempio di grafico FID e relativo spettro NMR per nuclei di idrogeno.

È possibile rilevare alcune lievi variazioni del segnale NMR di un certo nucleo, il quale risulta spostato nello spettro a frequenze più o meno alte a seconda del suo intorno chimico. Ciò accade perché gli elettroni, in quanto particelle cariche, se immersi in un campo magnetico B_0 si muovono generando, in opposizione ad esso, un piccolo campo magnetico opposto e secondario (Figura 3.7). Tale campo scherma il nucleo dalla piena forza di B_0 , e tanto più grande è la densità elettronica, tanto maggiore sarà la schermatura, in modo che i nuclei che si trovano in un intorno ricco di elettroni sentiranno un campo magnetico più basso, e quindi subiranno la transizione ad una frequenza applicata più bassa, rispetto ai nuclei situati in intorni poveri di elettroni.

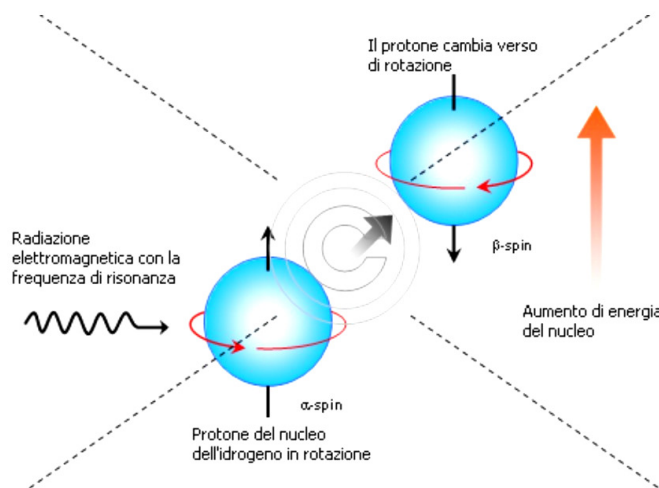


Figura 3.7. Principio di funzionamento dell'NMR.

Lo spostamento risultante nel segnale NMR per un dato nucleo viene detto spostamento chimico; in generale, protoni o carboni adiacenti ad atomi elettronegativi risultano deschermati, e di conseguenza avvertono un campo magnetico applicato più intenso, subiscono transizione a frequenze maggiori e, nello spettro, vengono individuati in corrispondenza di uno spostamento chimico più alto.

Dal momento che lo spostamento chimico assoluto risulta direttamente proporzionale al campo applicato, strumenti diversi fornirebbero spostamenti chimici assoluti diversi, relativamente all'intensità del loro campo magnetico; al fine di superare tale limitazione, si preferisce utilizzare lo spostamento chimico relativo δ , misurato in ppm [Hz/MHz], e definito dall'equazione:

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

dove ν_r è la frequenza di risonanza del tetrametilesano (TMS), un particolare nucleo di riferimento, e ν è la frequenza di risonanza del campione considerato. Tipicamente, per il nucleo dell'atomo ^1H e per gran parte delle molecole organiche, δ è compreso nell'intervallo tra 0 e 10 ppm, mentre per ^{13}C -NMR risulta molto maggiore, estendendosi all'interno dell'intervallo 0-220 ppm.

In uno spettro ^1H -NMR, ad atomi di idrogeno con intorni chimici (reticoli) diversi corrispondono picchi diversi; considerando l'area sottesa da ogni picco, valutata in termini relativi (poichè le misure in termini assoluti risultano prive di valore, in quanto variabili a seconda della concentrazione della soluzione), è possibile determinare il rapporto tra i vari tipi di atomi di idrogeno presenti. L'area di un picco è infatti indipendente dalla struttura a cui è legato l'atomo di idrogeno, in quanto fa unicamente riferimento alla frequenza con cui tale atomo è ripetuto all'interno della molecola. Dividendo poi l'area di ogni picco per il numero di idrogeni a cui corrisponde, si ottengono valori perfettamente confrontabili con quelli dati dalla formula chimica del polimero analizzato.

Nel presente lavoro di tesi, la spettroscopia ^1H -NMR è stata impiegata per appurare la struttura chimica dei materiali sintetizzati e la composizione effettiva del copolimero.

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 ^1H -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, e tempo di acquisizione di 2 secondi per 100 ripetizioni).

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

3.3.2 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 di peso molecolare in un polimero. Il metodo di analisi è basato sulla creazione di curve di taratura attraverso standard polimerici a peso noto, e su un successivo confronto tra queste ed i segnali provenienti dai campioni.

Lo strumento è costituito da una pompa volumetrica, una colonna riempita di particelle porose (polistirene reticolato con divinilbenzene a granulometria differente, impaccato in modo tale da generare una porosità controllata) ed un rilevatore, come illustrato in figura 3.8.

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

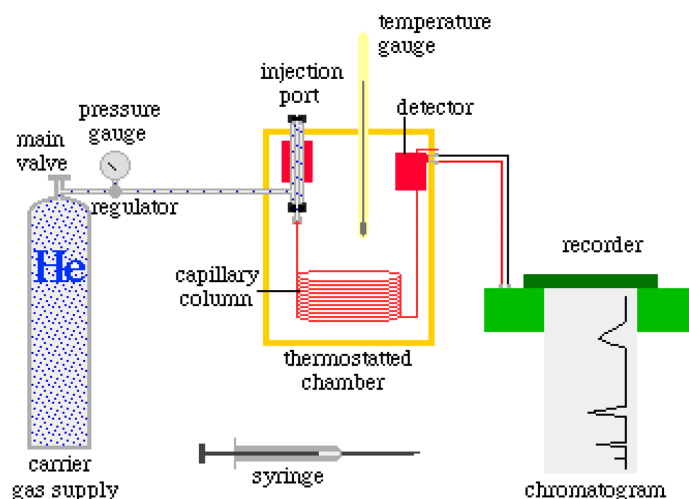


Figura 3.8. Schematizzazione del cromatografo.

Gli analiti, una volta iniettati, permeano le porosità della colonna a seconda del loro volume idrodinamico (generalmente correlato al peso molecolare). Il tempo di ritenzione varia a seconda della frazione di porosità permeata, secondo il cosiddetto principio del “setaccio molecolare”: molecole di piccolo peso molecolare riescono a permeare tutta la porosità con tempi di ritenzione più lunghi, molecole di grandi dimensioni sono invece escluse dalla porosità, limitandosi ad aggirare i corpi di riempimento, e di conseguenza vengono eluite a bassi tempi di ritenzione (limite di esclusione), mentre molecole intermedie possono permeare solo parte della porosità con tempi di ritenzione intermedi (Figura 3.9). Il detector è generalmente a indice di rifrazione, mentre per campioni che presentano assorbimento nel visibile se ne può utilizzare uno UV-Vis.

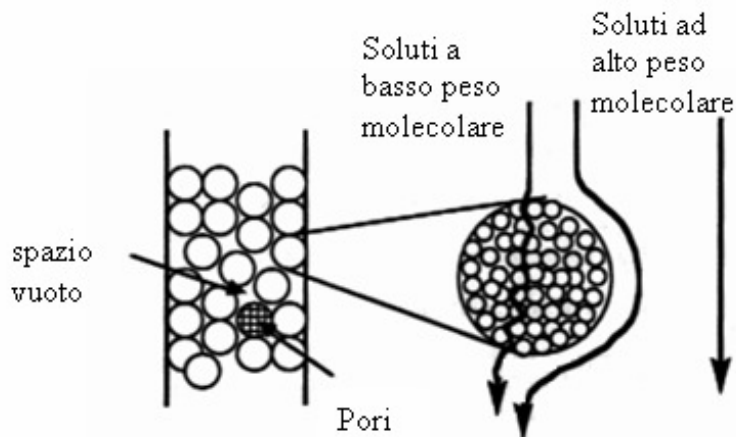


Figura 3.9. Schematizzazione della separazione molecolare.

La soluzione in uscita dalla colonna viene analizzata da un sensore che fornisce, istante per istante, un segnale di intensità proporzionale alla concentrazione del soluto. Il risultato dell'analisi è un grafico relativo all'andamento dell'intensità del segnale in funzione del tempo; per convertire i tempi in pesi molecolari è necessario fare riferimento alle curve di taratura, ottenute analizzando i campioni standard di peso molecolare noto.

Le misure di GPC sono state ottenute a 30 °C con un cromatografo HP Series 1100 HPLC per mezzo di una colonna PL gel 5µm MiniMIX-C (rapporto lunghezza/diametro in mm interno 250/4.6). I cromatogrammi sono stati registrati con HP Chemstation versione A.05.04 ed elaborati con GPC Calculator 7.6 software sviluppato dalla General Electric Company. Come eluente è stato utilizzato cloroformio, con flusso in colonna pari a 0.3 mL/min, precedentemente filtrato e fatto fluire attraverso un degasatore, al fine di rimuovere le particelle gassose che, analogamente a quelle non solubili, potrebbero ostruire i pori del gel. Tutte le soluzioni utilizzate contenevano 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, per mezzo di una curva del terzo ordine. Il software associato al cromatografo calcola automaticamente, in base alla distribuzione ottenuta, il peso molecolare medio numerico e l'indice di polidispersività del campione.

3.4 Realizzazione di film

La preparazione dei campioni sotto forma di film sottili è stata effettuata tramite pressofusione, utilizzando una pressa con piastre in alluminio raffreddate ad acqua (Carver Laboratory Press).

Il polimero è stato inserito tra due strati di teflon con interposta una maschera di alluminio teflonato, per garantire film dallo spessore uniforme (circa 0,2 mm).

Per ciascuna prova è stata utilizzata una temperatura superiore di 40 °C rispetto alla T_m del polimero in esame, al fine di permetterne la completa fusione. Una volta fuso, il materiale è stato sottoposto all'effetto di una pressione costante del valore di $20 \cdot 10^3$ N, applicata per due minuti; successivamente le piastre, mantenute in pressione, sono state raffreddate con acqua corrente per circa 20 minuti, in modo da garantire una veloce solidificazione del campione nella nuova forma.

3.5 Caratterizzazione termica

3.5.1 Calorimetria differenziale a scansione (DSC)

La calorimetria differenziale a scansione (DSC) è una tecnica che consente di 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 su cui si basa tale tecnica prevede di ricavare informazioni sul materiale riscaldandolo o raffreddandolo in modo controllato, in particolare misurando la differenza di flusso termico tra il campione in esame e uno di riferimento, mentre ai due viene imposto lo stesso gradiente, dal valore predefinito.

Le misure sono state condotte con un calorimetro a flusso di calore DSC-6 Perkin-Elmer e la strumentazione, schematizzata in figura 3.10, consiste di due piatti dedicati all'alloggiamento di altrettante capsule in alluminio, contenenti una il campione, in quantità di circa 10 mg, una il riferimento, nel caso in esame una capsula vuota. Le celle calorimetriche in cui sono contenute le capsule costituiscono microcalorimetri, mantenuti in atmosfera inerte di azoto per tutta la durata delle misure. Le due celle vengono dunque sottoposte allo stesso programma termico: in assenza di transizioni di fase, campione e riferimento si mantengono alla stessa temperatura; al contrario, in caso di variazioni di fase, si crea uno squilibrio termico, che viene letto dalle termoresistenze. Queste consentono di controllare la potenza elettrica fornita ai microcalorimetri: tale flusso di energia è predisposto al fine di riportare campione e riferimento alla stessa temperatura. Il computer interfacciato allo strumento permette sia di impostare il programma, sia di rilevare ed elaborare i dati.

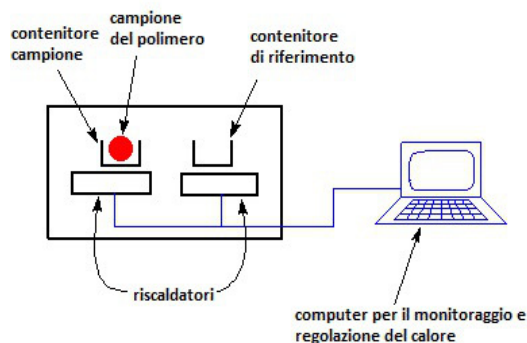


Figura 3.10. Schematizzazione dell'apparecchiatura DSC.

La temperatura di transizione vetrosa (T_g) è un parametro, caratteristico dei solidi polimerici, che individua la soglia termica alla quale si verifica il passaggio dallo stato rigido-vetroso ad uno viscoso o gommoso, in corrispondenza del quale risultano possibili movimenti di rotazione della catena polimerica. Tale passaggio di stato non avviene in maniera netta, bensì si manifesta come una variazione endoterma della linea di base; il valore di T_g è determinato in corrispondenza della metà della variazione di calore specifico associata alla transizione (Figura 3.11).

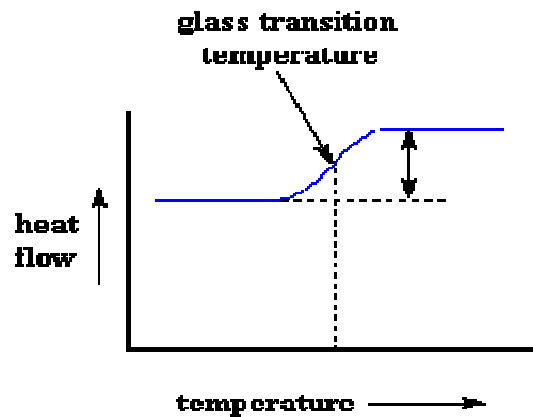


Figura 3.11. Calcolo della T_g .

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

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

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

La temperatura di fusione (T_m) costituisce una transizione termodinamica di primo ordine, alla quale si verifica il passaggio da stato solido a stato fuso; nel tracciato DSC essa si presenta come un picco endotermico.

Il valore della T_m si riferisce all'ascissa del picco, mentre l'area sottesa ad esso corrisponde al calore di fusione ΔH_m [J/g], proporzionale alla cristallinità del polimero; il rapporto tra quest'ultima grandezza ed il calore di fusione del polimero completamente cristallino costituisce il grado di cristallinità del materiale (Figura 3.12).

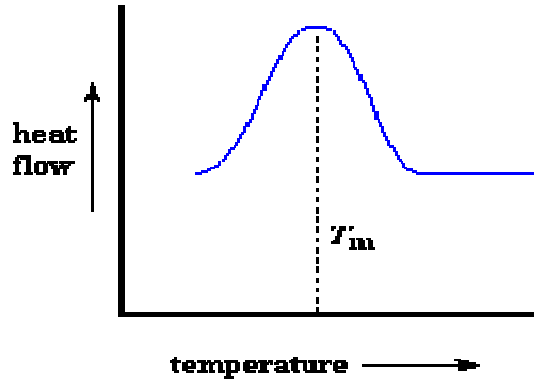


Figura 3.12. Calcolo della T_m .

Inoltre, se il polimero tende a formare strutture ordinate, dette cristalliti, si verifica una cessione di calore da parte del materiale (λ cristallizzazione), che si presenta come una diminuzione del flusso di calore (Figura 3.13).

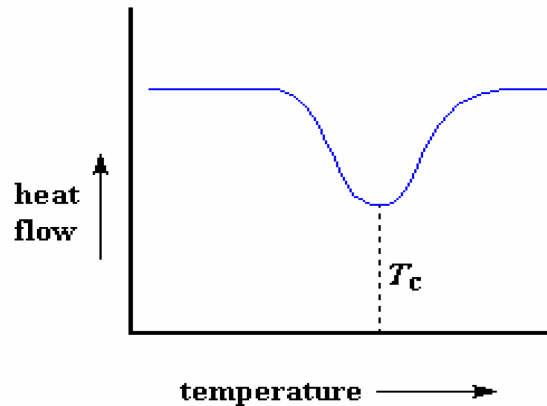


Figura 3.13. Calcolo della T_c .

Le misure sono state effettuate procedendo con scansioni successive:

- I scansione: il polimero è stato portato a -70°C nella sua forma cristallina ed in seguito sottoposto a riscaldamento ad una velocità di $20^\circ\text{C}/\text{min}$, fino al raggiungimento dei 160° (che corrispondono circa alla $T_m+40^\circ\text{C}$), al fine di ottenere il passaggio allo stato gommoso e successivamente la completa fusione.
- II scansione: il polimero fuso è stato mantenuto ad una temperatura costante di 160°C per 4 minuti, per poi essere raffreddato fino a -70°C , ovvero al di sotto della T_g , in maniera molto veloce ($100^\circ\text{C}/\text{min}$), nel tentativo di limitare al massimo il processo di cristallizzazione. È stato poi eseguito un secondo riscaldamento in analoghe condizioni di temperatura e velocità.

- III scansione: analogo riscaldamento, seguito da un'isoterma della durata di 4 minuti, e da raffreddamento, a 5°C/min, fino al raggiungimento di una temperatura di 5°C.

3.5.2 Termogravimetria (TGA)

Con il termine termogravimetria si intende un'analisi che permette di ottenere informazioni sia sulla cinetica del processo di decomposizione sia sulla stabilità termica del materiale oggetto di studio. Queste informazioni risultano di fondamentale importanza per definire il valore di temperatura che non deve essere oltrepassato durante il trattamento del polimero, per non incorrere nella sua degradazione. La tecnica consiste nella determinazione delle variazioni di peso del campione quando sottoposto ad un graduale aumento di temperatura, in atmosfera controllata (N₂, O₂, aria); i cambiamenti di peso sono dovuti alla perdita di sostanze volatili in seguito a processi fisici o chimici che modificano la natura del materiale. Per quanto riguarda i polimeri, i prodotti di decomposizione risultano essere anidride carbonica e acqua.

Le prove sono state condotte in atmosfera di azoto su campioni dal peso di 5 mg, riscaldati alla velocità di 10°C/min in un intervallo di temperature compreso tra 60 e 850 °C, utilizzando la bilancia termogravimetrica PerkinElmer TGA 4000.

Il termogramma in uscita, detto anche curva termogravimetrica o curva di decomposizione termica, riporta la variazione percentuale di peso all'aumentare della temperatura; la curva di un materiale polimerico presenta un andamento tipico illustrato in figura 3.14.

Nel presente lavoro di tesi sono state prese in considerazione la temperatura di inizio decomposizione (T_{id}) e la temperatura corrispondente alla massima velocità di perdita di peso (T_{max}).

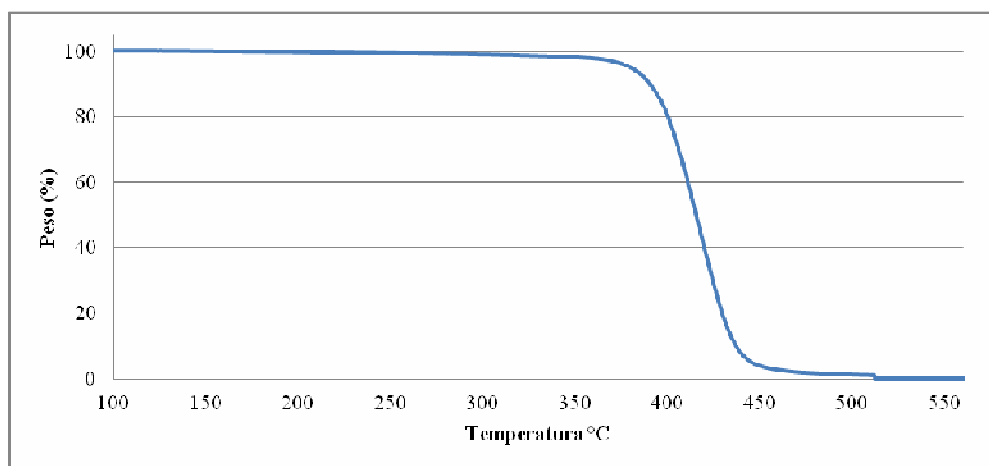


Figura 3.14. Curva termogravimetrica per materiali polimerici.

3.6 Analisi diffrattometrica a Raggi X

La diffrazione a Raggi X costituisce, insieme alla Risonanza Magnetica Nucleare NMR, una tra le principali tecniche utilizzate per determinare i parametri strutturali e molecolari dei materiali. Si tratta di un'analisi non distruttiva che consente di determinare in maniera non ambigua la struttura del materiale in esame, corrispondente alla conformazione di minima energia; essa permette anche di comprendere funzioni e meccanismi molecolari, quali dinamica in stato solido, tipo di legame chimico (semplice o multiplo) e distanza di legame, transizioni di fase, polimorfismo e possibili arrangiamenti spaziali, studiando gli effetti dell'interazione tra un fascio di raggi X e la materia cristallina.

L'analisi viene condotta con l'ausilio di un diffrattometro, che emette una radiazione indirizzata verso il cristallo, dove si diffonde in tutte le direzioni grazie al contributo degli elettroni. 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 ed il cristallo permettendo, sotto le ipotesi di raggi paralleli e in fase, di ricavare la distanza di legame d imponendo la lunghezza d'onda λ e misurando l'angolo di incidenza θ (Figura 3.15).

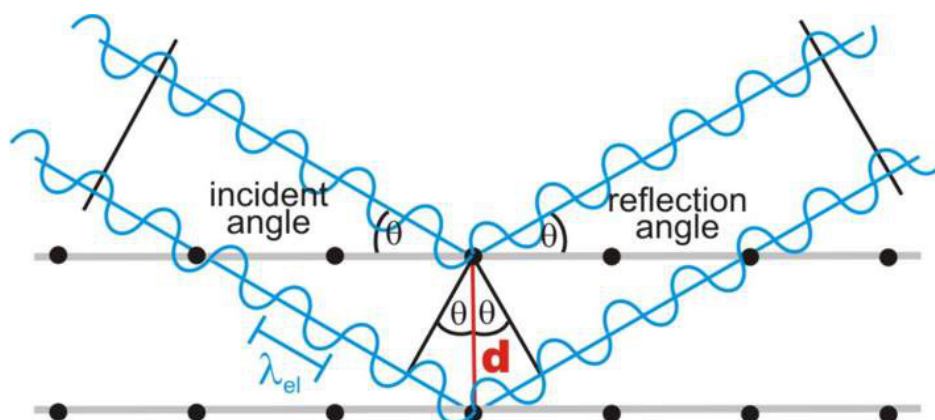


Figura 3.15. Legge di Bragg.

I pattern di diffrazione a Raggi X dei film polimerici sono stati ottenuti per mezzo di un diffrattometro X'PertPro PANalytical che utilizza la lunghezza d'onda del rame ($\lambda = 0.15418$ nm), equipaggiato con un detettore allo stato solido X'Celerator. I dati sono stati acquisiti nell'intervallo 2θ da 5 a 60° con passo di 0.1° , e tempo di conteggio pari a 100 secondi per punto. Gli indici di cristallinità χ_c sono stati calcolati in base ai diagrammi di diffrazione, effettuando il rapporto tra l'area di diffrazione cristallina, ovvero l'area data dalla frazione di materiale cristallino (A_C), e l'area totale del profilo di diffrazione (A_T), tenendo conto della radiazione diffusa:

$$\chi_c = A_C / A_T$$

L'area di diffrazione cristallina è stata ottenuta sottraendo all'area totale la curva dovuta alla diffusione del materiale amorfo, modellata come picco a campana sulla linea di base.

3.7 Caratterizzazione meccanica

Le misure di resistenza a trazione permettono di studiare il comportamento dei materiali polimerici in presenza di sollecitazioni meccaniche di diverso tipo.

Per quanto riguarda le prove tensili, quelle cioè in cui il provino viene sottoposto a sollecitazione, si definisce *stress* (o tensione, σ) il rapporto tra il carico applicato in direzione normale N e l'area della sezione del provino resistente a riposo, A :

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

mentre con il termine *strain* (deformazione, ϵ) si indica l'allungamento del provino, indicato con Δl , rapportato alla lunghezza iniziale l :

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

Durante la prova viene misurato il valore dell'allungamento in funzione del carico applicato. I risultati vengono poi importati su un diagramma che presenta in ascissa ϵ ed in ordinata σ , al fine di tracciare la curva sforzo-deformazione, caratteristica del materiale. Un tipico andamento nel caso di materiali polimerici è mostrato in figura 3.16.

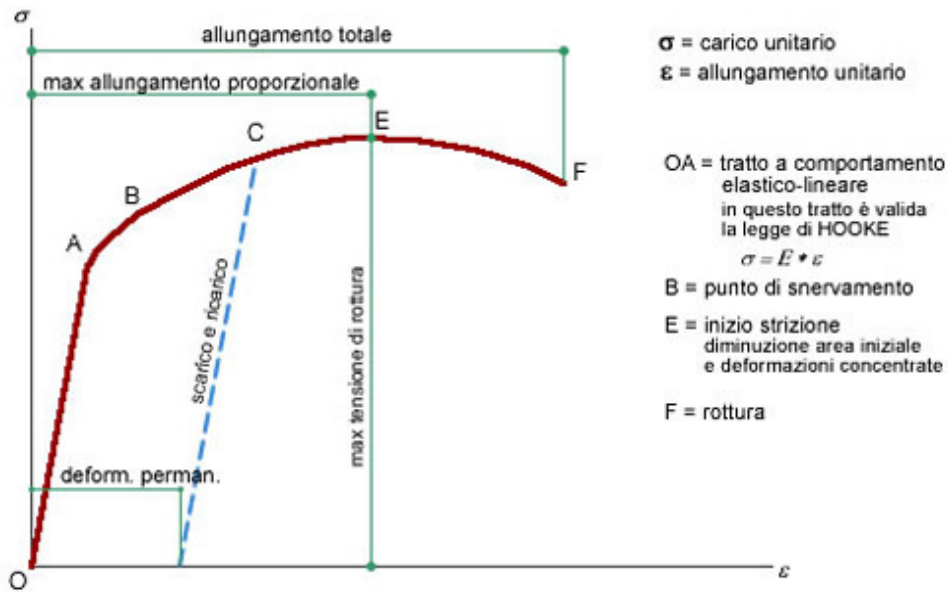


Figura 3.16. Esempio di curva sforzo-deformazione.

La prima parte di questa curva risulta sempre lineare: il materiale infatti segue, fino al raggiungimento di un punto detto limite elastico, la legge di Hooke:

$$\sigma = E * \epsilon$$

La costante di proporzionalità E indica il modulo elastico di Young, il cui valore corrisponde, per definizione, alla pendenza del tratto iniziale rettilineo della curva sforzo-deformazione. Tale tratto prende il nome di campo elastico del materiale in quanto, in corrispondenza di carichi contenuti all'interno di tale intervallo, il

materiale presenta allungamenti elastici, cioè reversibili una volta che il carico viene riportato a zero.

All'aumentare della deformazione si arriva ad un valore, detto limite di snervamento, al cui superamento la deformazione permane in maniera irreversibile anche a seguito della rimozione del carico; tale comportamento si spiega con lo scorrimento dei piani reticolari. Il superamento del limite di snervamento segna il passaggio dal campo elastico a quello plastico.

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

Occorre tenere presente che i dati ottenuti, oltre ad essere funzione del materiale utilizzato nel test, risentono anche delle condizioni ambientali, quali temperatura e umidità, e delle condizioni sperimentali, come velocità di scorrimento, forma e dimensioni dei provini.

Le prove meccaniche sono state condotte utilizzando un dinamometro Instron 4465 con cella di carico di 100 N. Lo strumento è costituito da una struttura rigida di base e una traversa mobile posta nella parte superiore. A partire dai film polimerici, sono state ottenute striscioline rettangolari dalle dimensioni di 5x41 mm, il cui spessore è stato misurato in tre punti diversi per mezzo di un micrometro (mitutoyo): lo spessore utilizzato ai fini dell'analisi è stato ottenuto operando una media sulle tre misure. I provini sono stati dunque fissati per mezzo di agganci, in maniera tale da presentare un tratto utile di 20mm, e l'applicazione del carico è avvenuta tramite il movimento verso l'alto della struttura superiore; il valore della forza impressa è stato misurato dalla cella di carico, mentre l'allungamento è stato determinato sulla base della distanza percorsa dalla traversa mobile.

Le prove sono state condotte a temperatura ambiente, su 5 provini diversi per ogni campione, con velocità pari a 5 mm/min. Il modulo elastico, calcolato dalla pendenza del tratto iniziale della curva sforzo-deformazione ottenuta, è stato riportato come valore medio \pm deviazione standard delle 5 prove.

3.8 Studi di degradazione idrolitica

Le prove di degradazione idrolitica permettono di testare il comportamento dei polimeri, in particolare la loro velocità di degradazione, in condizioni che

simulano l'ambiente corporeo. Gli esperimenti di degradazione idrolitica sono stati condotti, in condizioni di temperatura e pH fisiologici (37°C e pH 7.4), su film dalle dimensioni di 5x41mm, realizzati a partire dai diversi copolimeri. Inizialmente i campioni sono stati essiccati e pesati, ed in un secondo momento inseriti in provette contenenti circa 8 ml di soluzione acquosa tamponata a pH 7.4 con tampone fosfato. Essi sono stati dunque mantenuti in agitazione ad una temperatura costante di 37 °C per periodi di tempo variabili, all'interno di un bagno termostatico con scuotitore azionato alla frequenza di 50 giri/minuto. La soluzione tampone, cambiata periodicamente per mantenere costante il pH, è stata preparata seguendo la procedura di seguito riportata: in 800ml di acqua distillata, sono stati disciolti 8g di NaCl, 0.2g di KCl, 1.44g di Na₂HPO₄ e 0.24g di KH₂PO₄; il pH della soluzione è stato aggiustato al valore di 7.4 per aggiunta di HCl e il volume finale portato ad 1 litro. Da ultimo la soluzione è stata sottoposta a sterilizzazione in autoclave, a 121°C per circa 20 minuti, al fine di evitare la crescita di microorganismi al suo interno.

Nel presente lavoro di Tesi sono state preparate e mantenute in incubazione 20 provette per ciascun copolimero.

Al fine di analizzare le conseguenze legate al processo degradativo, periodicamente sono stati effettuati prelievi, in duplicato, dei diversi campioni: essi sono stati rimossi dalla soluzione, lavati con acqua distillata per eliminare i sali della soluzione tampone, asciugati con carta assorbente ed essiccati sotto vuoto a temperatura ambiente, fino alla completa eliminazione dell'acqua residua e al raggiungimento di un peso costante. Al termine di questa procedura, i campioni parzialmente degradati sono stati pesati e analizzati mediante cromatografia a permeazione su gel (GPC), per poter valutare, oltre alla perdita di peso gravimetrica, anche variazioni relative al peso molecolare.

CAPITOLO 4:

RISULTATI E DISCUSSIONE

In questo capitolo verranno presentati e discussi i risultati delle prove di caratterizzazione effettuate sui polimeri OH-terminati (PBS, PNA-OH e PCCE-OH) e sui copolimeri multiblocco PBS₅₀PNA₅₀, PBS₅₀PCCE₅₀, PBS₅₀PCCE₃₀PNA₂₀, e PBS₅₀PCCE₁₀PNA₄₀ sintetizzati secondo le metodologie descritte nel Capitolo 3; i numeri a pedice rappresentano rispettivamente la percentuale in massa dei vari blocchi 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 e la composizione effettiva sono state determinate tramite spettroscopia ¹H-NMR, mentre il peso molecolare e la distribuzione dei pesi molecolari sono stati misurati tramite cromatografia a permeazione su gel (GPC) (Tabella 4.1).

Il PBS-OH a basso peso molecolare, dopo purificazione, si presenta a temperatura ambiente sotto forma di fiocchi di colore bianco opaco. Il PNA-OH purificato risulta un solido gommoso completamente amorfo di colore giallognolo, mentre il PCCE-OH si presenta solido, vetroso e di colore bianco.

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 e termica di PBS-OH, PNA-OH e PCCE-OH.

Polimeri	Mn* (g/mol)	I scan**				II scan**				Xc (%)
		Tg (°C)	Δcp (J/°C g)	Tm (°C)	ΔHm (J/g)	Tg (°C)	Δcp (J/°C g)	Tm (°C)	ΔHm (J/g)	
PBS-OH	5000	n.d.	n.d.	114	65	n.d.	n.d.	114	61	46±4
PNA-OH	15800	-45	0.237	40	40	-45	0.317	-	-	30±5
PCCE-OH	4400	45	0.117	-	-	36	0.160	-	-	-

* da ¹H-NMR

** da DSC

n.d.: non determinato

La struttura chimica e la composizione effettiva di tutti i polimeri sintetizzati sono state determinate tramite analisi ¹H-NMR.

Gli spettri ottenuti sono risultati coerenti con la struttura prevista, permettendo di escludere la presenza di reazioni secondarie durante la polimerizzazione.

Lo spettro in figura 4.1 mostra i segnali caratteristici del PBS-OH. 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. I protoni relativi al carbonio in α agli idrossili terminali del butandiolo (b') sono registrati a δ 3.68 ppm. Inoltre, a δ 2.63 ppm è presente il segnale del tripletto dei protoni metilenici dell'acido succinico (a).

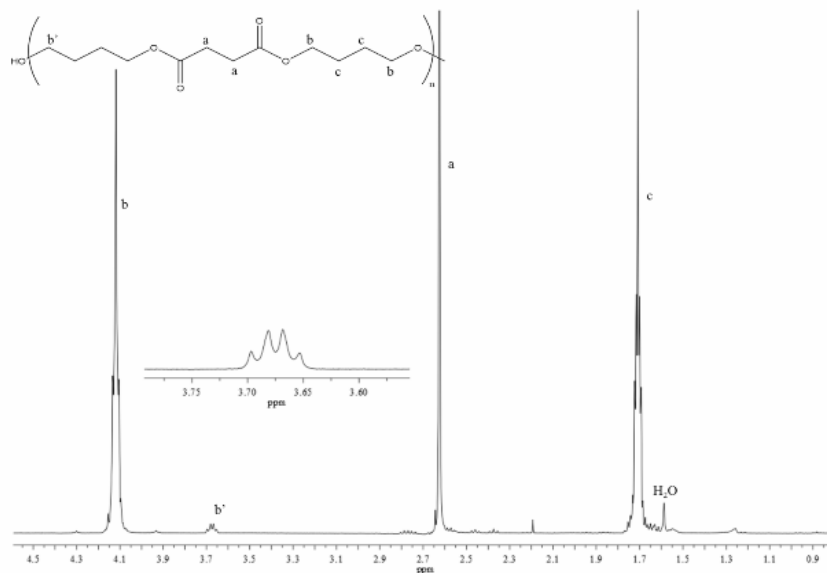


Figura 4.1. Spettro ¹H-NMR del PBS-OH con attribuzione dei picchi.

Per quanto riguarda il polimero PNA-OH a basso peso molecolare, i picchi caratteristici risultano essere un singoletto a δ 3.87 ppm dovuto ai protoni metilenici in α all'ossigeno del neopentil glicole (d), due multipletti in posizione δ 2.37 ppm e δ 1.68 ppm dovuti ai protoni metilenici in α al carbonile dell'acido adipico i primi (g), ed i secondi ai protoni metilenici dell'acido adipico (f). E' presente inoltre un singoletto a δ 0.98 ppm relativo ai protoni metilenici della catena laterale del neopentil glicole (e). Infine, anche in questo caso, è presente il segnale a δ 3.31 ppm attribuibile ai protoni metilenici posizionati in α agli idrossili terminali del neopentil glicole (d')

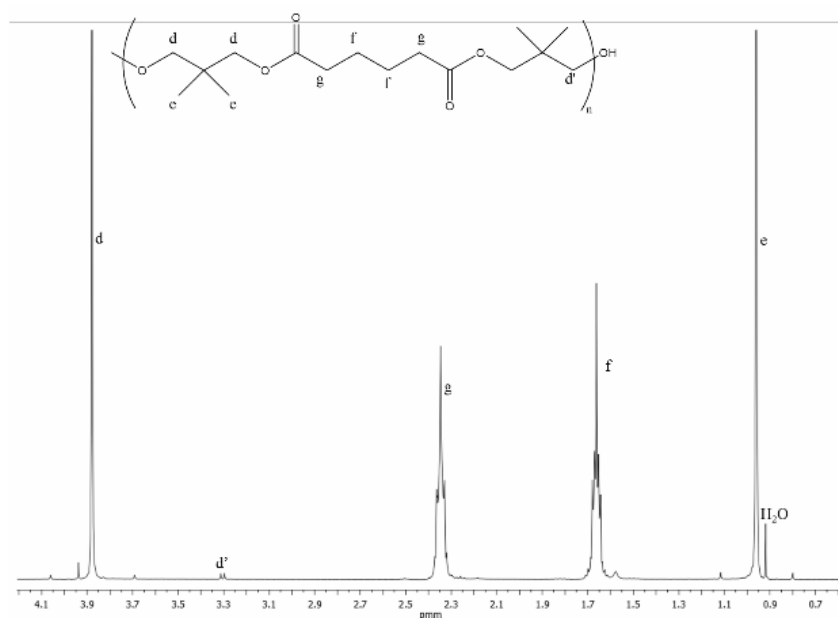


Figura 4.2. Spettro ¹H-NMR del PNA-OH con attribuzione dei picchi.

Per il polimero PCCE-OH a basso peso molecolare, i picchi caratteristici risultano essere due doppietti a δ 3.98 ppm e a δ 3.87 ppm relativi, rispettivamente, alla forma *cis* ed a quella *trans* del protone del carbonio terziario della subunità cicloesandioica (h), a cui corrispondono i relativi protoni in α all'idrossile terminale del cicloesan dialcol (δ 3.54 ppm e δ 3.46 ppm, h'). Sono presenti due tripletti in posizione δ 2.48 ppm e δ 2.29 ppm dovuti alla forma *cis* e *trans* dei protoni metilenici in α al carbonile dell'acido cicloesanoico (m), e nella zona compresa tra δ 2.00 ppm e δ 0.90 ppm si trovano i segnali relativi ai protoni metilenici degli anelli alifatici (i, l, o) nelle forme *cis* e *trans* (Figura 4.3).

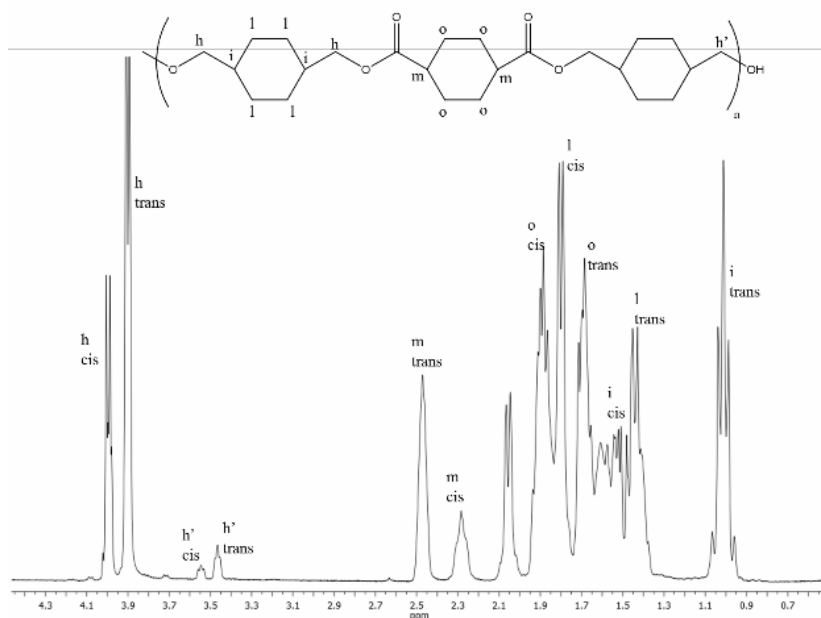


Figura 4.3. Spettro $^1\text{H-NMR}$ del PCCE-OH con attribuzione dei picchi.

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) ed i calori in gioco in entrambe le transizioni termiche. I dati ottenuti sono raccolti in tabella 4.1: per quanto concerne la I scansione calorimetrica, è opportuno segnalare il diverso comportamento di fase del PBS-OH e del PNA-OH rispetto al PCCE-OH. Quest'ultimo risulta amorfo, mentre i primi due polimeri sono semicristallini, benchè caratterizzati sia da un punto di fusione che da un grado di cristallinità significativamente diversi. Più specificamente, il PBS-OH ha sia una temperatura di fusione che un tenore di fase cristallina molto più alti. Tale risultato non sorprende se si considera che la catena macromolecolare del PBS-OH è caratterizzata da una significativamente maggiore simmetria di catena rispetto al PNA-OH, a causa della presenza in posizione β al gruppo estere di due metili. Il PCCE-OH è amorfo, essendo il ripiegamento delle catene macromolecolari avente luogo durante la cristallizzazione del polimero fortemente ostacolato dagli anelli

alifatici presenti sia nella sub-unità acida che in quella glicolica. Tali anelli giustificano anche l'elevato valore di T_g osservato per questo polimero, ben al di sopra di temperatura ambiente. Il PCCE-OH risulta dunque un polimero amorfo vetroso a temperatura ambiente. Per poter relazionare la T_g dei nostri tre polimeri alla struttura chimica, si sono considerati i risultati di seconda scansione ottenuti dopo rapido raffreddamento dallo stato fuso. Il comportamento di fase del PBS-OH non cambia: l'elevata velocità di cristallizzazione del polimero, decisamente superiore alla massima velocità di raffreddamento dello strumento, impedisce una tempra efficace del polimero e pertanto, anche in seconda scansione, il fenomeno di transizione vetrosa non è rilevabile. Il comportamento di fase del PNA-OH invece cambia dopo tempra: in seconda scansione il polimero risulta infatti totalmente amorfo, come evidenziato dalla corrispondente curva calorimetrica caratterizzata esclusivamente da una variazione endoterma della linea di base associata alla transizione vetrosa. La T_g risulta ben al di sotto di temperatura ambiente, benchè più alta di quella del poli(propilene adipato) (PPA) ($T_{g,PPA} = -52^\circ\text{C}$), polimero ad alto peso molecolare sintetizzato e studiato dal gruppo di ricerca presso cui è stata condotta la presente Tesi. Tale differenza può essere imputata all'effetto sterico dei due gruppi metilenici laterali, che impediscono la rotazione attorno ai legami C-C, rendendo la mobilizzazione delle catene macromolecolari più difficile.

4.2 Caratterizzazione dei polimeri ottenuti per estensione di catena

I polimeri a basso peso molecolare sono stati, dopo purificazione, sottoposti a reazione di estensione di catena: sono stati preparati cinque polimeri, due con uguale rapporto tra PBS-OH (blocco *hard*) e subunità *soft-soft* (PBS₅₀PNGA₅₀) o *hard-soft* (PBS₅₀PCCE₅₀), e due copolimeri contenenti le tre diverse subunità polimeriche in diverso rapporto in peso (PBS₅₀PCCE₃₀PNGA₂₀ e PBS₅₀PCCE₁₀PNGA₄₀). La subunità *hard* del PBS è presente in tutti i polimeri sintetizzati. Si è inoltre proceduto alla sintesi dell'omopolimero PBS chain-esteso come termine di riferimento.

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 chiaro.

L'analisi $^1\text{H-NMR}$ ha permesso di verificarne la struttura chimica e di determinare la composizione effettiva dei copolimeri oggetto della presente Tesi; lo spettro del copolimero $\text{PBS}_{50}\text{PCCE}_{30}\text{PNA}_{20}$ è riportato in figura 4.4 a titolo di esempio.

Lo spettro evidenzia la presenza dei picchi caratteristici dei 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 (z); a δ 1.34 ppm e δ 1.26 ppm il segnale dei protoni metilenici interni alla catena carbonilica (w, y).

Il calcolo della composizione effettiva è stato effettuato in base al rapporto tra le aree dei picchi di risonanza dei protoni metilenici in α all'O del butandiolo della subunità BS (δ 4.11 ppm, b), dei protoni metilenici in α all'O del neopentil glicole della subunità NA (δ 3,91 ppm, d) e del protone del carbonio terziario della subunità CCE (δ 3.88 ppm, h). I dati riportati in tabella 4.2 dimostrano come la composizione effettiva sia risultata differente da quella di alimentazione, probabilmente a causa della diversa reattività dei tre diversi tipi di blocchi.

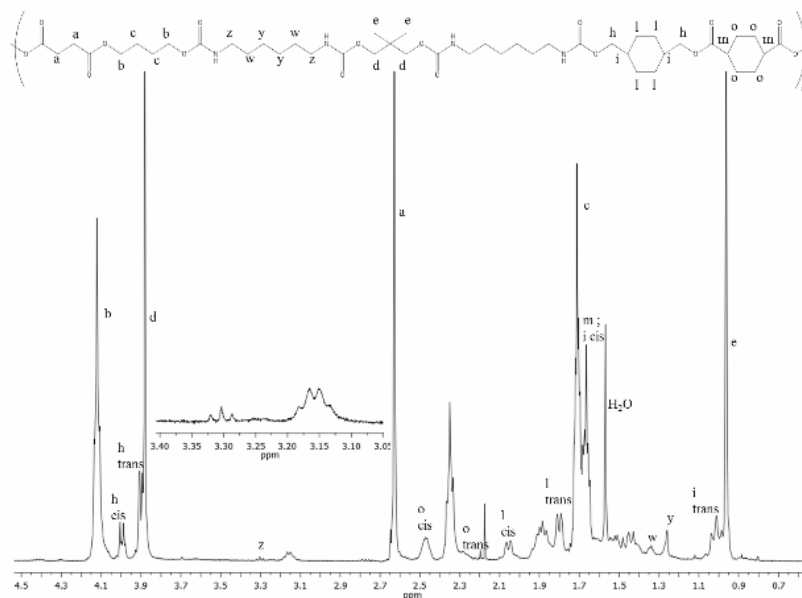


Figura 4.4. Spettro $^1\text{H-NMR}$ del $\text{PBS}_{50}\text{PCCE}_{30}\text{PNA}_{20}$ con attribuzione dei picchi.

Dallo spettro NMR si evince che non vi è HDI non reagito e la quantità nel polimero risulta inferiore al 6%.

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 13 volte rispetto a quello iniziale nel caso del PBS, di circa 6 volte nel caso dei copolimeri a due blocchi e di 2 volte nel caso dei polimeri a tre blocchi (Tabella 4.2). Inoltre la polidispersità risulta buona, non superando il valore di 2,7 per il PBS ed i copolimeri a due blocchi, e di 3,3 per i triblocchi. Si ricorda che i poliesteri ottenuti per policondensazione tipicamente presentano un indice di polidispersità di circa 2.

Tabella 4.2. Dati di caratterizzazione molecolare dei polimeri ad alto peso molecolare

Polimeri	M_n^* (g/mol)	D*	BS** (mol%)	NGA** (mol%)	CCE** (mol%)	%HDI** (mol%)
PBS	65300	2.5	100	-	-	3.6
PBS ₅₀ PNA ₅₀	40300	2.6	55	45	-	5.7
PBS ₅₀ PCCE ₅₀	40030	2.7	48	-	52	4.2
PBS ₅₀ PCCE ₃₀ PNA ₂₀	27000	3.6	54	20	26	6.0
PBS ₅₀ PCCE ₁₀ PNA ₄₀	33000	3.0	48	42	10	4.3

* da GPC

** da ¹H-NMR

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 consentirne il pieno sviluppo della fase cristallina e permettere di uniformarne la storia termica.

4.2.2 Caratterizzazione termica

Tramite analisi termogravimetrica (TGA), condotta in atmosfera inerte di azoto, è stata determinata la temperatura di inizio decomposizione (T_{id}) 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. Dai dati

riportati in tabella 4.3 e dalle curve termogravimetriche riportate in figura 4.5 si osserva che la stabilità termica risulta dipendente dalla composizione, ed aumenta con il contenuto di unità CCE presenti in catena. Il copolimero PBS₅₀PCCE₅₀ risulta infatti il più stabile tra tutti i polimeri analizzati. Ciò non sorprende se si tiene conto che i poliesteri caratterizzati dalla presenza di anelli alifatici si sono rivelati addirittura più stabili del poliestere aromatico corrispondente.

E' comunque da segnalare il fatto che tutti i campioni esaminati sono caratterizzati da una buona stabilità termica, come evidenziato dalle temperature di inizio decomposizione, T_{id}, che variano tra 360 e 390°C.

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.

Tabella 4.3. Dati di caratterizzazione termica ottenuti tramite TGA e DSC (I scan) dei polimeri sintetizzati.

Polimeri	I scan										
	T _{id} (°C)	T _{max} (°C)	T _g (°C)	Δ _{cp} (J/°C g)	T _{mBS} (°C)	ΔH _{mBS} (J/g)	T _{mNA} (°C)	ΔH _{mNA} (J/g)	T _{mCCE} (°C)	ΔH _{mCCE} (J/g)	X _c (%)
PBS	366	400	-35	0.0762	114	54	-	-	-	-	46±4
PBS ₅₀ PNA ₅₀	360	394	-42	0.322	102	24	41	2	-	-	29±3
PBS ₅₀ PCCE ₅₀	390	432	-29	0.0971	111	19	-	-	45	4	16±2
PBS ₅₀ PCCE ₃₀ PNA ₂₀	375	410	-31	0.111	86	15	42	3	-	-	17±2
PBS ₅₀ PCCE ₁₀ PNA ₄₀	370	405	-38	0.337	98	22	42	2	-	-	25±3

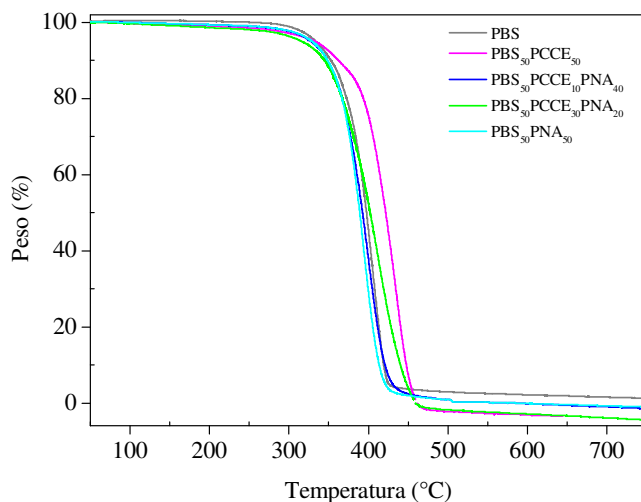


Figura 4.5. Curve termogravimetriche in N_2 di PBS e dei copolimeri multiblocco.

Dalle curve calorimetriche, riportate in figura 4.6a, 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 una, nel caso del PBS, o due endoterme di fusione nel caso dei copolimeri.

Nel caso del PBS, il picco di fusione si manifesta ad alta temperatura (114 °C); il calore di fusione associato è consistente. Tutti i copolimeri in oggetto presentano invece due fusioni, entrambe a più bassa temperatura rispetto quella del PBS, e un calore di fusione complessivo significativamente inferiore rispetto a quello dell'omopolimero.

Nel caso del copolimero $PBS_{50}PCCE_{50}$, il picco endotermo a bassa temperatura non può che essere relativo alla fusione di cristalli di PBS con un bassissimo grado di perfezione, dato che il blocco CCE è completamente amorfo (si vedano i risultati XRD mostrati di seguito).

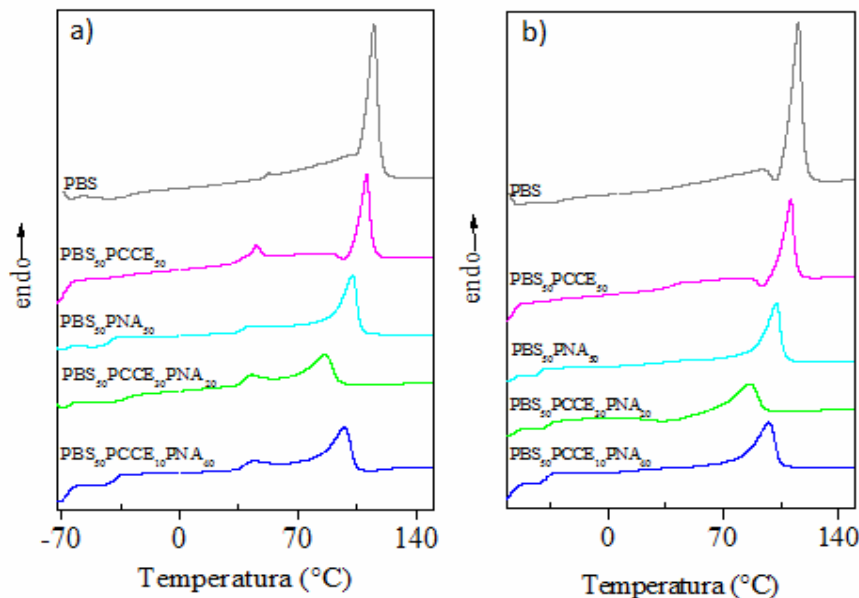


Figura 4.6. Curve calorimetriche di PBS e dei polimeri multiblocco: a) Iscan; b) II scan dopo rapido raffreddamento dallo stato fuso.

In tutti i restanti copolimeri, l'endoterma a bassa temperatura, di piccola entità, è associabile alla fusione della fase cristallina delle sequenze NA, come peraltro confermato dai risultati XRD discussi sotto. Mentre la T_m della fase cristallina di NA si mantiene costante nei vari copolimeri, il picco di fusione principale, relativo alla fase cristallina di PBS, si manifesta ad una temperatura che dipende dal quantitativo di segmenti *soft* e dalla loro natura (*soft-soft* o *soft-hard*). In particolare, la temperatura di fusione risente molto poco delle sequenze CCE, mentre diminuisce più consistentemente all'aumentare del quantitativo di sequenze NA, indice della formazione di una fase cristallina caratterizzata da un minor grado di perfezione. Allo stesso tempo, la diminuzione del quantitativo di fase amorfa *soft-hard* (CCE) comporta anche una riduzione del calore di fusione, a riprova, come atteso, di un abbassamento del valore di cristallinità.

Al fine di verificare la natura della fase cristallina presente nel PBS e nei copolimeri sintetizzati è stata eseguita l'analisi a raggi X. I diagrammi di diffrazione dei copolimeri sono riportati in figura 4.7, insieme a quello del PBS e dei due polimeri a basso peso molecolare PNA e PCCE.

Tutti 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. Fa eccezione il PCCE, che risulta totalmente amorfo (in accordo con i risultati calorimetrici), essendo il corrispondente profilo diffrattometrico privo di qualsiasi riflesso e costituito dalla tipica linea di base a campana.

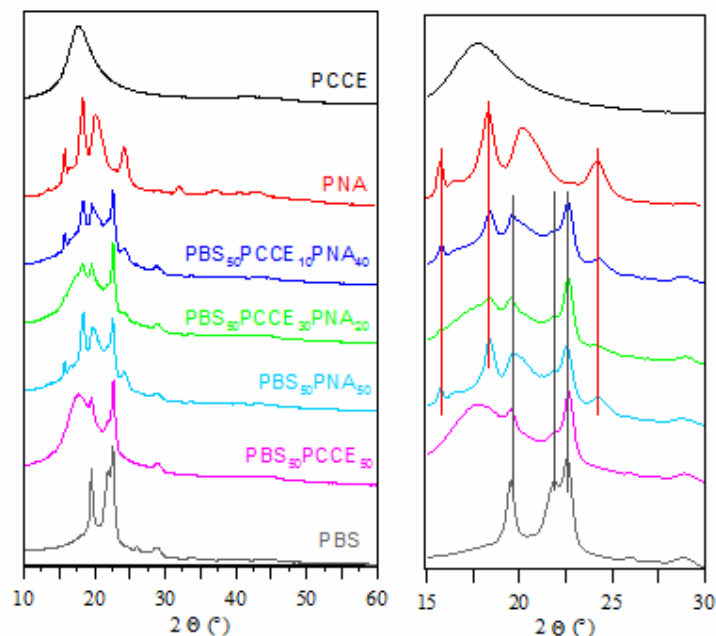


Figura 4.7. a) Spettri di diffrazione RX di PBS e dei copolimeri multiblocco; b) zona allargata dello spettro $15 < 2\theta < 30^\circ$.

Si può osservare come tutti i campioni presentino uno spettro caratterizzato dalla coesistenza delle due fasi cristalline, quella del PBS e quella del PNA. Fa eccezione il copolimero $PBS_{50}PCCE_{50}$ in cui è presente esclusivamente la fase cristallina del PBS. Più specificamente tutti gli spettri presentano i riflessi caratteristici della fase α del PBS, caratterizzata dai riflessi a $2\theta = 19.6^\circ$ (piano 020) e a 22.6° (piano 211) e una spalla a 21.9° (piano 021). Per quanto concerne lo spettro di diffrazione del PNA, questo mostra tre riflessi molto stretti a $2\theta = 15.9^\circ$, 18.4° , 24.1° e un riflesso allargato e intenso a 20.3° , unitamente ad altri riflessi meno intensi.

Nei copolimeri le posizioni dei riflessi non cambiano, ad indicare la formazione di fasi cristalline pure.

Il grado di cristallinità calcolato tramite analisi XRD per i polimeri in oggetto è riportato in tabella 4.4: tutti i copolimeri risultano meno cristallini del PBS. L'abbassamento del grado di cristallinità risulta più consistente all'aumentare del contenuto dei segmenti CCE, in accordo con i dati calorimetrici.

Tabella 4.4. Indice di cristallinità X_c (%) dei campioni in esame determinato tramite analisi XRD e larghezza dei riflessi.

Polimeri	X_c %	L_{020}^* (nm)	$L_{2\theta=15.9}^{**}$ (nm)
PBS	46 (4)	21	29
PNA	30 (3)		
PBS ₅₀ PNA ₅₀	29 (3)		38
PBS ₅₀ PCCE ₅₀	16 (2)	23	
PBS ₅₀ PCCE ₃₀ PNA ₂₀	17 (2)		
PBS ₅₀ PCCE ₁₀ PNA ₄₀	27 (3)		37

* fase di tipo α -PBS.

** fase PNA.

Come si evince dai dati riportati in tabella 4.4, gli spettri dei copolimeri mostrano un allargamento dei riflessi ed un aumento della distanze interplanari, conseguente alla difficoltà di rigetto dalla fase cristallina dei diversi tipi di unità monomeriche.

Tabella 4.5. Dati di caratterizzazione termica ottenuti tramite DSC (II scan) del PBS e dei copolimeri multiblocco.

II scan					
Polimeri	T_g (°C)	Δc_p (J/°C g)	T_{mBS} (°C)	ΔH_{mBS} (J/g)	T_{cc}^* (°C)
PBS	-35	0.0832	114	51	79
PBS ₅₀ PNA ₅₀	-42	0.262	102	24	58
PBS ₅₀ PCCE ₅₀	-29	0.0517	111	17	76
PBS ₅₀ PCCE ₃₀ PNA ₂₀	-31	0.127	86	11	43
PBS ₅₀ PCCE ₁₀ PNA ₄₀	-37	0.377	98	20	50

* nel caso di PBS₅₀PCCE₃₀PNA₂₀ e PBS₅₀PCCE₁₀PNA₄₀ sono presenti picchi multipli: il valore in tabella è relativo al picco più intenso.

Come noto, il fenomeno della transizione vetrosa di un materiale parzialmente cristallino risulta diverso rispetto a quello del materiale analogo completamente amorfo. Sebbene sull'argomento in letteratura siano riportati risultati contrastanti, è comunemente accettato che la cristallinità agisca come punto di reticolazione in una struttura polimerica, riducendo perciò la mobilità delle catene amorphe e quindi alzando il valore di T_g . Pertanto, nel caso dei copolimeri, 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 4.6b: sia il PBS che i copolimeri presentano una variazione endotermica 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.

Come si può vedere dalla figura 4.6b 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 -35°C . Le sequenze NA, molto flessibili, provocano un significativo abbassamento della T_g , mentre le sequenze CCE, decisamente più rigide per la presenza dell'anello alifatico sia nella subunità glicolica che in quella acida, causano un aumento della T_g del sistema.

Ciononostante, tutti i copolimeri sintetizzati presentano una transizione vetrosa ben al di sotto di temperatura ambiente e quindi sono caratterizzati da una fase amorfa miscibile e mobile, che ha tuttavia un diverso grado di mobilità.

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 4.8).

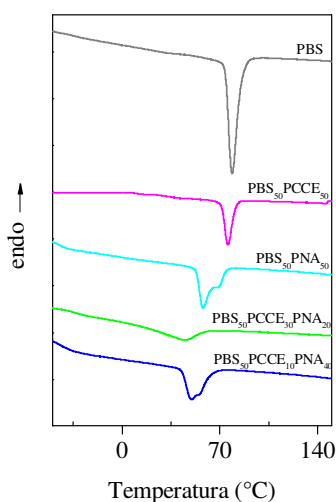


Figura 4.8. Curve DSC esoterme di cristallizzazione per raffreddamento a velocità controllata di PBS e dei copolimeri multiblocco.

Come evidenziato dalle curve riportate in figura 4.8 e dai valori raccolti in tabella 4.5, i copolimeri cristallizzano più lentamente dell'omopolimero di riferimento PBS. Inoltre, sia il copolimero PBS₅₀PNA₅₀ che i due copolimeri contenenti i tre diversi tipi di sequenza sono caratterizzati da una curva esoterma doppia, ad indicare la cristallizzazione sia delle sequenze BS che di quelle NA.

Il valore della temperatura del picco principale varia al variare del quantitativo e della natura del segmento *soft*; nello specifico, le sequenze CCE riducono in maniera sensibile la velocità di cristallizzazione del PBS. Le sequenze NA, al contrario, cristallizzando esse stesse, ostacolano maggiormente il regolare processo di impaccamento delle catene polimeriche del PBS.

Nei copolimeri contenenti le tre sequenze l'andamento è regolato dalla quantità di segmenti *soft-soft* (NA) e *soft-hard* (CCE) presenti in catena.

4.2.3 Caratterizzazione meccanica

Le proprietà meccaniche sono state studiate su film di forma 41 x 5 x 0.3 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 4.6 sono raccolti i valori del modulo elastico (E), dello sforzo a rottura (σ_b), e della deformazione a rottura (ϵ_b).

Tabella 4.6. Dati di caratterizzazione meccanica dei polimeri PBS e copolimeri multiblocco.

Polimeri	E (MPa)	σ_b (MPa)	ϵ_b (%)
PBS	348 \pm 26	34 \pm 6	373 \pm 32
PBS ₅₀ PNA ₅₀	57 \pm 4	23 \pm 2	982 \pm 51
PBS ₅₀ PCCE ₅₀	676 \pm 27	20 \pm 11	487 \pm 58
PBS ₅₀ PCCE ₃₀ PNA ₂₀	46 \pm 2	14 \pm 3	616 \pm 26
PBS ₅₀ PCCE ₁₀ PNA ₄₀	41 \pm 2	20 \pm 2	841 \pm 48

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

Come atteso, il PBS possiede il minore allungamento a rottura tra i polimeri studiati (Figura 4.9), a causa dell'elevata cristallinità del polimero. Tuttavia, il suo modulo elastico è inferiore a quello del copolimero PBS₅₀PCCE₅₀, che è caratterizzato dalle sequenze *soft-hard*, che riducono la cristallinità ma conferiscono alle catene macromolecolari una certa rigidità, impartita dagli anelli alifatici presenti nell'unità ripetitiva. Tale copolimero presenta un allungamento a rottura superiore di circa il 23% rispetto al PBS a causa della sua ridotta cristallinità.

I restanti copolimeri, invece, mostrano il comportamento tipico degli elastomeri termoplastici. Infatti, tutti presentano un modulo elastico decisamente basso, accompagnato da un'elevata tenacità e da un notevole allungamento a rottura. L'andamento osservato relativamente all'allungamento a rottura può essere spiegato sulla base della quantità di sequenze *soft-soft* presenti: ϵ_b (%) cresce all'aumentare del contenuto di sequenze *soft-soft* NA. L'andamento del modulo elastico è complesso ed è dettato sia dal grado di cristallinità sia dalla quantità e dal tipo di blocco *soft*.

Il fenomeno dello snervamento è presente solo nel copolimero PBS₅₀PCCE₅₀.

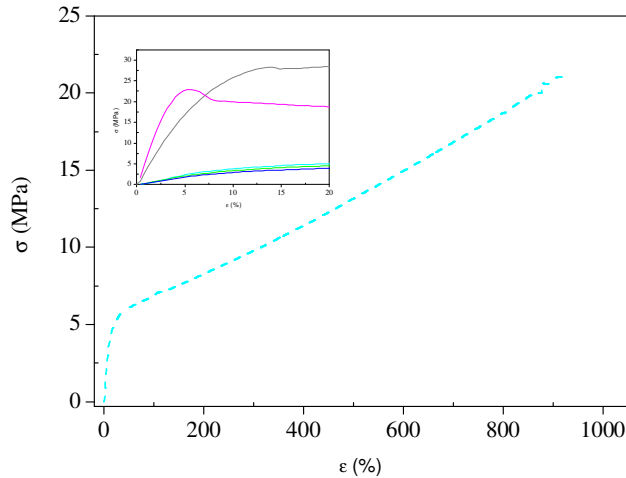


Figura 4.9. Grafico sforzo-deformazione del copolimero PBS₅₀PNA₅₀. Nell'inserto il tratto lineare delle curve da cui è stato calcolato il modulo elastico per tutti i polimeri in esame: tratto nero PBS; tratto rosa PBS₅₀PCCE₅₀; tratto azzurro PBS₅₀PNA₅₀; tratto verde PBS₅₀PCCE₃₀PNA₂₀; tratto blu PBS₅₀PCCE₁₀PNA₄₀.

I copolimeri PBS₅₀PNA₅₀ e PBS₅₀PCCE₁₀PNA₄₀, benchè più cristallini dei restanti copolimeri, sono caratterizzati da un modulo elastico molto basso e da un significativo allungamento a rottura, che possono essere spiegati sulla base della natura altamente flessibile delle sequenza NA (blocco *soft-soft*).

4.3 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 triplicato su film polimerici di dimensioni pari a 41 x 5 x 0.3 mm. Sono stati eseguiti prelievi a tempi di incubazione successivi.

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 (m_R %) attraverso la seguente equazione:

$$m_R (\%) = 100 - \left(\frac{m_{in} - m_{fin}}{m_{in}} \cdot 100 \right)$$

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

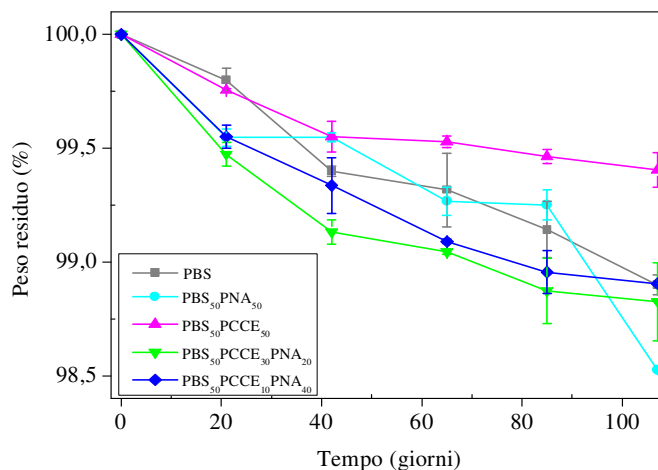


Figura 4.10. Perdita di peso percentuale in funzione del tempo di incubazione in tampone fosfato.

Nella figura 4.10 sono riportate i pesi percentuali residui dei campioni in funzione dei giorni di permanenza in soluzione tampone. Come si può osservare dal grafico, le perdite di peso sono molto modeste in tutti i casi, anche dopo 120 giorni di incubazione. Gli esperimenti sono ancora in corso e la finestra temporale studiata sarà di 10 mesi.

Tuttavia, come si osserva dagli andamenti riportati nella figura 4.10, la perdita di peso subita dai campioni nel corso della degradazione dipende dalla composizione del copolimero: in particolare, dopo 120 giorni di incubazione, si nota che maggiore è la quantità di sequenze *soft-soft* NA, maggiore è il calo di peso subito dal campione. E' interessante notare che il PBS perde più peso del copolimero PBS₅₀PCCE₅₀, a dispetto del suo maggiore grado di cristallinità e peso molecolare. Il grado di cristallinità, la perfezione della fase cristallina, il peso molecolare, noti fattori che influenzano la velocità di degradazione di un polimero, in questo caso non determinano il comportamento verso la degradazione dei materiali oggetto della presente Tesi.

E' opportuno ricordare che durante la degradazione idrolitica le molecole di acqua entrano preferenzialmente nella fase amorfa, la quale è quindi soggetta ad una velocità di degradazione maggiore, rispetto alla fase cristallina, nella quale le molecole sono maggiormente impaccate. E' altresì noto anche che l'acqua attacca più facilmente zone amorphe caratterizzate da elevata mobilità. L'andamento

osservato può dunque essere spiegato sulla base della diverso grado di mobilità della fase amorfa di questi materiali, nonché sulla base della diversa mobilità e solubilità in acqua degli spezzoni che si formano a seguito della degradazione idrolitica: come confermato dai risultati calorimetrici, le sequenze CCE, essendo caratterizzate dalla presenza dei rigidi anelli alifatici, conferiscono una certa rigidità alle catene macromolecolari amorphe rendendole meno mobili, sebbene 37°C sia una temperatura superiore alla T_g di questi materiali, e tutti si trovino dunque nello stato gommoso. Le sequenze CCE sono inoltre caratterizzate da minore mobilità e minore solubilità in acqua.

Le piccole perdite di peso 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.

In quest'ottica, i film prelevati dalla soluzione tampone sono stati sottoposti anche ad analisi GPC. I rispettivi valori di peso molecolare medio numerico residuo percentuale ($m_R\%$), riportati in figura 4.11, sono stati calcolati con la seguente equazione:

$$m_R(\%) = 100 - \left(\frac{m_{in} - m_{fin}}{m_{in}} \cdot 100 \right)$$

dove m_{fin} è il peso molecolare medio numerico del campione dopo il processo di degradazione e m_{in} è il peso molecolare medio numerico iniziale del campione.

Come atteso, si è osservato un significativo decremento del peso molecolare in tutti i campioni, indice di un processo degradativo in corso.

Dopo 120 giorni di incubazioni i risultati ottenuti delineano un andamento diverso rispetto a quello trovato attraverso le misure di perdite di peso gravimetrico: fermo restando che il copolimero $PBS_{50}PNA_{50}$ è il polimero che degrada più velocemente, il PBS omopolimero si presenta come il materiale che degrada più lentamente, mentre gli altri tre copolimeri, $PBS_{50}PCCE_{50}$, $PBS_{50}PCCE_{30}PNA_{20}$ e il $PBS_{50}PCCE_{10}PNA_{40}$ mostrano un comportamento pressochè analogo. Il più

elevato grado di cristallinità e il più alto peso molecolare del PBS ne spiegano la più bassa velocità di degradazione; tuttavia l'andamento generale osservato è ancora una volta spiegabile sulla base della diversa mobilità e solubilità degli spezzoni di PCCE rispetto agli spezzoni di PNA, per campioni con grado di cristallinità non troppo diverso, come i tre copolimeri che presentano comportamento simile.

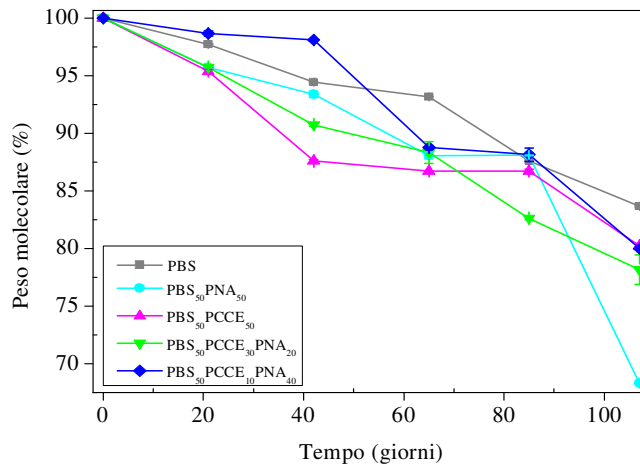


Figura 4.11. Perdite di peso molecolare % in funzione del tempo di incubazione in tampone fosfato.

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

CAPITOLO 5:

CONCLUSIONI

I biomateriali rivestono un ruolo di grande importanza nel settore biomedicale, in particolare in campi emergenti, quali l'ingegneria tissutale. I polimeri, ed in particolare i poliesteri alifatici, sono la classe di materiali che si è rivelata più interessante per l'applicazione sopracitata. 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 per applicazioni nell'ambito dell'ingegneria dei tessuti molli.

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, in alcuni casi addirittura più alta dell'omopolimero di riferimento.

Tali nuovi materiali si sono rivelati biodegradabili in condizioni fisiologiche; la cinetica del processo è risultata modulabile, cambiando la quantità e il tipo di segmento *soft*.

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 natura chimica del segmento *soft*: a tal scopo, sono stati impiegati segmenti *soft-soft* altamente flessibili e segmenti *soft-hard* più rigidi, ed è stato variato il loro rapporto ponderale in catena, mantenendo costante la quantità di segmento *hard*.

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, la quale è già stata testata.

In conclusione, le proprietà dei copoliesteri in oggetto risultano estremamente interessanti in vista di possibili applicazioni nel campo dell'ingegneria tissutale.

Ciononostante, tali risultati rappresentano solo un punto di partenza verso una loro reale applicazione; rimane ancora da testare 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

1. Williams D. F., *On the nature of biomaterials*, Biomaterials, 2009, 5897-5909.
2. O' Brien F. J., *Biomaterials & Scaffolds for Tissue Engineering*, Materials Today, 2011, Volume 14.
3. Benson R., He W., *Polymeric Biomaterials*, Applied Plastics Engineering Handbook, 2011.
4. Pietrabissa R., *Biomateriali per protesi e organi artificiali*, 1996, Patron Editore.
5. Ghassemi H., Schiraldi D.A., *Thermoplastic Elastomers Derived from Bio-Based Monomers*, Journal of Applied Polymer Science, 2014, 39815, 1-8.
6. Seyednejad H., Ghassemi A. H., Van Nostrum C. F., Vermonden T., Hennink W. E., *Functional aliphatic polyesters for biomedical and pharmaceutical applications*, Journal of Controlled Release, 2011, 152, 168-176.
7. Luckachan G. E., Pillai C. K. S., *Biodegradable Polymers- A Review on Recent Trends and Emerging Perspectives*, J Polym Environ, 2011, 19:637-676.

8. Ulery B. D., Nair L. S., Laurencin C. T., *Biomedical Applications of Biodegradable Polymers*, J Polym Sci B Polym Phys, 2011, 832-864.
9. Kramschuster A., Turng L. S., *Fabrication of Tissue Engineering Scaffolds*, Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics, 2013.
10. Nair L. S., Laurencin C. T., *Biodegradable Polymers as Biomaterials*, Progress in Polymer Science, 2007, 762-798.
11. Li Y., Thouas G.A., Chen Q.Z., *Biodegradable soft elastomers: synthesis/properties of materials and fabrication of scaffolds*, RSC Advances, 2012, 2, 8229-8242.
12. Zhao J. B., Li K. Y., Yang W. T., *Chain Extension of Polybutylene Adipate and Polybutylene Succinate with Adipoyl- and Terephthaloyl-Biscaprolactamate*, Journal of Applied Polymer Science, 2007, 106, 590-598.
13. Zhang Y. H., Wang X. L., Wang Y. Z., Yang K. K., Li J., *A novel biodegradable polyester from chain-extension of poly(p-dioxanone) with poly(butylene succinate)*, Polymer Degradation and Stability, 2005, 88, 294-299.
14. Tserki V., Matzinos P., Pavlidou E., Panayiotou C., *Biodegradable aliphatic polyesters. Part II. Synthesis and characterization of chain extended poly(butylene succinate-co-butylene adipate)*, Polymer Degradation and Stability, 2006, 91, 377-384.

15. Gigli M., Lotti N., Gazzano M., Finelli L., Munari A., *Synthesis and Characterization of Novel Poly(butylene succinate)-Based Copolyesters Designed as Potential Candidates for Soft Tissue Engineering*, Polymer Engineering and Science, 2013.

16. Fabbri M., Gigli M., Gamberini R., Lotti N., Gazzano M., Rimini B., Munari A., *Hydrolysable PBS-based poly(ester urethane)s thermoplastic elastomers*, Polymer Degradation and Stability, 2014.

17. Zheng L., Wang Z., Wu S., Li C., Zhang D., Xiao Y., *Novel Poly(butylene fumarate) and Poly(butylene succinate) Multiblock Copolymers Bearing Reactive Carbon-Carbon Double Bonds: Synthesis, Characterization, Cocrystallization and Properties*, Industrial & Engineering Chemistry Research, 2012.