

ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET TECHNOLOGICZNY

Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej

Instytut Polimerów

Zakład Biomateriałów i Technologii Mikrobiologicznych

mgr inż. Paulina Ścisłowska

**„POLIMEROWE UKŁADY HYDROFILOWE DO REKONSTRUKCJI
TKANEK MIĘKKICH”**

Rozprawa doktorska

przygotowywana

pod kierunkiem

dr hab. inż. Mirosławy El Fray, prof.nzw.ZUT

Szczecin 2009

Podziękowanie

Wszystkim, którzy przyczynili się do powstania tej pracy chcę serdecznie podziękować za okazaną pomoc, w szczególności:

- mojemu Mężowi i Rodzicom za wspieranie mnie i cierpliwość podczas moich Studiów Doktoranckich oraz za pomoc bez której napisane tej pracy byłoby niemożliwe,
- promotorowi, dr hab. inż. Mirosławie El Fray prof. nzw. ZUT za merytoryczną pomoc oraz bardzo ciekawy temat,
- prof. H.D Wagner za umożliwienie przeprowadzenia prób elektroprzędnienia z roztworu podczas mojego 2-miesięcznego pobytu w Instytucie Naukowym Weizmann'a w Rheovot, w Izraelu;
- koleżankom i kolegom z Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie za miłą i życzliwą atmosferę.

Spis treści

1. WSTĘP	7
2. CEL PRACY	9
3. CZĘŚĆ REFERATOWA	10
3.1 Polimery funkcjonalne	11
3.2 Polimery hydrofilowe i amfifilowe	11
3.2.1 Hydrożele	11
3.2.2 Kopolimery amfifilowe	13
3.2.3 Polimery resorbowalne	14
3.3. Mikro/nanofibrylarne podłoża dla regeneracji tkanek.....	15
3.4 Kopolimery multiblokowe (segmentowe).....	19
3.4.1 Multiblokowe poli(alifatyczno/aromatyczne-estry) (PED)	21
3.4.2 Segmentowe poli(estro-estery) (Polyactive ®)	23
3.5 Polimery zawierające hydrofilową ceramikę - układy hybrydowe.....	24
3.6 Zastosowanie polimerów hydrofilowych w rekonstrukcji chrząstki	24
3.6.1 Materiały polimerowe stosowane w rekonstrukcji chrząstki	26
<i>Poli(alkohol winylowy) PVA</i>	26
<i>Polimery bioresorbowalne</i>	27
4. ZAKRES PRACY	28
5. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	31
5.1 Stosowane surowce i związki pomocnicze	32
5.2 Aparatura do syntezy	32
5.3 Synteza multiblokowych terpolimerów	33
5.4 Synteza układów hybrydowych z udziałem TEEE metodą polikondensacji <i>in situ</i>	35
5.5 Przygotowanie próbek do badań.....	35
<i>Formowanie włókien/monofilamentów ze stopu</i>	37
<i>Formowanie nanowłókien metodą elektroprzędzenia roztworowego</i>	37
5.6 Charakterystyka metod badawczych.....	37
<i>Spektroskopia w podczerwieni</i>	37
<i>Magnetyczny rezonans jądrowy (¹H NMR)</i>	38
<i>Graniczna liczba lepkościowa</i>	38
<i>Oznaczanie masy cząsteczkowej metodą chromatografii żelowej (GPC)</i>	39
<i>Oznaczenie współczynnika szybkości płynięcia</i>	39
<i>Oznaczenie kąta zwilżania</i>	40
<i>Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)</i>	40
<i>Dynamiczna analiza termomechaniczna (DMTA)</i>	40
<i>Dyfrakcja szerokokątowego promieniowania rentgenowskiego (WAXS)</i>	40
<i>Badania wytrzymałościowe</i>	41

<i>Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)</i>	43
<i>Testy degradacji hydrolitycznej</i>	43

6. WYNIKI I DYSKUSJA..... 44

6.1 Charakterystyka otrzymanych multiblokowych terpoli(estro-etero-estrów) (TEEE) 45

6.1.1 Budowa chemiczna TEEE.....	45
<i>Spektroskopia w podczerwieni ATR FTIR</i>	45
<i>Badanie metodą protonowego rezonansu magnetycznego 1H NMR</i>	48
6.1.2 Określenie właściwości fizyko-chemicznych TEEE.....	51
<i>Graniczna liczba lepkościowa (GLL)</i>	51
<i>Chromatografia wykluczania wg wymiarów (SEC)</i>	53
<i>Wyznaczenie wskaźnika szybkości płynięcia (MFI)</i>	54
<i>Zwilżalność powierzchni TEEE</i>	56
6.1.3 Wpływ ciężaru cząsteczkowego PEG na właściwości termiczne TEEE.....	58
6.1.4 Badania właściwości relaksacyjnych TEEE metodą dynamicznej analizy termomechanicznej (DMTA)	65
6.1.5 Analiza struktury TEEE metodą dyfrakcji szerokokątowego promieniowania rentgenowskiego WAXS.....	71
6.1.6 Właściwości mechaniczne TEEE przy statycznym rozciąganiu.....	72
6.1.7 Wytrzymałość na ściskanie.....	76
6.1.8 Degradacja hydrolityczna.....	82

6.2 Modyfikacja multiblokowych terpoli(estro-etero-estrów) nanokrystalicznym hydroksyapatytem (HAP) 87

6.2.1 Budowa chemiczna materiałów hybrydowych	88
<i>Spektroskopia w podczerwieni</i>	88
<i>Analiza metodą 1H NMR</i>	89
6.2.2 Morfologia otrzymanych materiałów hybrydowych.....	90
6.2.3 Charakterystyka właściwości fizyko-chemicznych materiałów hybrydowych.....	93
<i>Oznaczenia granicznej liczby lepkościowej (GLL)</i>	94
<i>Oznaczenia wskaźnika szybkości płynięcia (MFI)</i>	94
<i>Pomiary kąta zwilżania</i>	95
6.2.4 Analiza właściwości termicznych materiałów hybrydowych.....	96
6.2.5 Dynamiczna analiza termomechaniczna (DMTA).....	98
6.2.6 Analiza struktury metodą WAXS.....	100
6.2.7 Ocena właściwości mechanicznych materiałów polimerowo-ceramicznych	101

6.3 Próby formowania monofilamentów/włókien oraz nanowłókien z nowych TEEE i materiałów hybrydowych..... 102

6.3.1 Formowanie monofilamentów/włókien ze stopu.....	103
6.3.2 Ocena zdolności formowania nanowłókien metodą elektroprzędzenia.....	105
<i>Ocena morfologii nanowłókien za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej</i>	106

6.4 Możliwości wykorzystania nowych terpoli(estro-etero-estrów) i materiałów hybrydowych w rekonstrukcji tkanek miękkich..... 109

6.4.1 Badania biogodności nowych TEEE i materiałów hybrydowych in vitro	109
<i>Ocena proliferacji komórek i ich apoptozy</i>	110
6.4.2 Ocena biogodności in vivo.....	113

7. WNIOSKI116

8. LITERATURA118

Spis oznaczeń i symboli stosowanych w pracy

TE	–	elastomery termoplastyczne
TEEE	–	multiblokowe terpoli(estro-etero-estry)
PED	–	poli(alifatyczno/aromatyczny ester)
TE	–	<i>tissue engineering</i> , inżynieria tkankowa
PHEMA	–	2-hydroksyetylometakrylan
PEO	–	poli(tlenek etylenu)
PPO	–	poli(tlenek propylenu)
PLA	–	poli(kwas mlekowy)
PCL	–	poli(ϵ -kaprolakton)
PAN	–	poli(akrylonitryl)
PVA	–	poli(alkohol winylowy)
PS	–	polistyren
PMMA	–	poli(metakrylam metylu)
PU	–	poliuretan
PA	–	poliamid
PE	–	polietylen
PBT	–	poli(tereftalan butylenu)
PEG	–	poli(glikol etylenowy)
PEG ₁₀₀₀	–	poli(glikol etylenowy) o masie cząsteczkowej 1000 g/mol
PEG ₄₆₀₀	–	poli(glikol etylenowy) o masie cząsteczkowej 4600 g/mol
DMT	–	tereftalan dimetylu
1,4 BD	–	1,4 – butanodiol
HA	–	kwas hialuronowy
DLA	–	kwas dilynoleinowy (dimer kwasu tłuszczowego, Pripol)
HAP	–	hydroksyapatyt
HAP-s	–	hydroksyapatyt spiekany
HAP-k	–	hydroksyapatyt niekalcynowany
TCP	–	trójfosforan wapniowy
VE	–	witamina E
ABA	–	kopolimery triblokowe
A	–	jednostka powtarzalna w budowie makrocząsteczki A
B	–	jednostka powtarzalna w budowie makrocząsteczki B

FTIR	–	spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
$^1\text{H NMR}$	–	protonowy rezonans jądrowy
DSC	–	różnicowa kalorymetria skaningowa
DMTA	–	dynamiczna analiza termomechaniczna
WAXS	–	szerokokątowe rozpraszanie promieniowania X
DP_h	–	stopień polimeryzacji polikondesacyjnej segment sztywnego
x	–	ilość powtarzalnych jednostek poli(glikolu etylenowego)
GLL	–	graniczna liczba lepkościowa
WSP	–	wskaźnik szybkości płynięcia
ϵ_r	–	wydłużenie względne przy zerwaniu
σ_r	–	napężenie przy zerwaniu
E	–	moduł Young'a
E'	–	moduł zachowawczy
E''	–	moduł stratności
$\tan \delta$	–	mechaniczne tłumienie (tangens kata stratności)
η	–	graniczna liczba lepkościowa
L_0	–	długość początkowa próbki
L	–	długość końcowa próbki
T_g	–	temperatura zeszklenia
T_{m1}, T_{m2}	–	temperatura topnienia odpowiednio segmentów giętkich lub segmentów sztywnych
T_{c1}, T_{c2}	–	temperatura krystalizacji odpowiednio segmentów giętkich lub segmentów sztywnych
ΔC_p	–	pojemność cieplna
$\Delta H_{m1}, \Delta H_{m2}$	–	zmiana entalpii związana z topnieniem odpowiednio segmentów giętkich lub segmentów sztywnych
$\Delta H_{c1}, \Delta H_{c2}$	–	zmiana entalpii związana z krystalizacją odpowiednio segmentów giętkich lub segmentów sztywnych
W_h, W_s	–	procentowa zawartość odpowiednio segmentów sztywnych lub segmentów giętkich
2Θ	–	kąt dyfrakcji

1. Wstęp

Materiały polimerowe od ponad 50 lat są stosowane w medycynie do wytwarzania produktów jednorazowego użytku oraz implantów. Ich znaczenie ciągle wzrasta ze względu na unikatowe właściwości biologiczne takie jak biogodność komórkowa, biofunkcjonalność i różnorodność właściwości [1]. Gwałtowny rozwój elastomerów termoplastycznych (TPE), materiałów klasyfikowanych jako odrębna grupa elastomerów polimerowych, przyczynił się do opracowania unikatowych w swoich właściwościach materiałów wyróżniających się doskonałymi cechami fizyko-chemicznymi, mechanicznymi i biologicznymi [2-6]. Ze względu na budowę elastomerów termoplastycznych i możliwość regulowania udziału fazy twardej i miękkiej w kopolimerach, ich właściwości można projektować już na etapie syntezy, otrzymując polimery od elastycznych, kauczuko-podobnych, po polimery sztywne o charakterze termoplastów [2,4,7]. Przez dobór odpowiedniego rodzaju składników i ich udziałów ilościowych, a przede wszystkim ze względu na tworzenie się struktury o fizycznej naturze węzłów sieci (termicznie odwracalnej jak w klasycznych termoplastach), można otrzymywać wyroby o różnej twardości i elastyczności, bez potrzeby stosowania plastyfikatorów [2,8].

Materiały do zastosowań medycznych, zwane często polimerami biomedycznymi muszą odpowiadać wymogom, od spełnienia których zależy zarówno skuteczność działania wyrobów jak i zdrowie pacjenta. Wymogi te odnoszą się nie tylko do produkcji polimerów i ich przetwarzania na wyroby końcowe, ale także do zachowania się takich wyrobów w środowisku biologicznie aktywnym [9].

Polimery biomedyczne muszą być otrzymywane w sposób powtarzalny z monomerów o wysokiej czystości. Rozwój materiałów polimerowych dla technik medycznych spowodował, że TPE o specyficznych właściwościach, między innymi podatności na kontrolowaną biodegradację i odpowiednich właściwościach hydrofilowo-hydrofobowych, są materiałami coraz bardziej poszukiwanymi przez konstruktorów i odbiorców (pacjentów) [10]. Jest to grupa polimerów, która znalazła szereg zastosowań praktycznych np. polimery do rekonstrukcji tkanek lub systemy kontrolowanego uwalniania leków [11]. Co raz częściej materiały tego typu znajdują się w obszarze zainteresowań inżynierii tkankowej, dziedziny zajmującej się głównie manipulacją komórkami lub czynnikami wzrostu na podłożach, m.in. polimerowych,

stanowiących rusztowanie dla nowopowstającej tkanki [10]. Podłoża te, muszą charakteryzować się odpowiednimi właściwościami fizyko-chemicznymi, a zwłaszcza powierzchniowymi (hydrofilowością), które decydują o absorpcji protein, plazmy i macierzy międzykomórkowej i w konsekwencji o wzroście i rozmnażaniu komórek.

2. Cel pracy

Celem pracy było opracowanie warunków syntezy i przebadanie nowych polimerowych układów hydrofilowych do potencjalnych zastosowań w rekonstrukcji tkanek miękkich. Zaprojektowano i wykonano syntezy multiblokowych terpoli(etero-estrów) (TEEE), w których segmenty sztywne stanowiły sekwencje oligomeru tereftalanu butylenu (PBT), a jako segmenty giętkie zastosowano dwa rodzaje oligomerów: hydrofilowy poli(1,2–oksyetyleno)diol [poli(glikol etylenowy), PEG] o masie cząsteczkowej 1000 i 4600 g/mol oraz reszty dimeryzowanego kwasu linoleinowego (nazywanego dalej w pracy kwasem dilinoleinowym) (DLA). Syntezy przeprowadzono w obecności witaminy E (α -tokoferolu, VE). Otrzymane polimery modyfikowano również hydroksyapatytem (HAP) w celu uzyskania podwyższonej hydrofilowości.

Zbadano wpływ udziału wagowego sekwencji oligoeterowych na wybrane właściwości TEEE, w tym na budowę chemiczną, strukturę fazową, morfologię, właściwości mechaniczne i termomechaniczne oraz powierzchniowe.

Celem pracy było również zbadanie wpływu zawartości eterowych segmentów giętkich (PEG) na zdolność do degradacji hydrolitycznej w temperaturze 37 °C. Ze względu na możliwość potencjalnego zastosowania nowych polimerów w medycynie, przeprowadzono wstępne badania biologiczne określając żywotność komórek, ilość komórek martwych i apoptycznych oraz badając odpowiedź tkankową w testach biozgodności *in vivo* (badania przeprowadzono na Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie). Podjęto również próby otrzymywania włókien/monofilamentów i nanowłókien polimerowych, które mogłyby stanowić rusztowania dla inżynierii tkankowej.

Istotnym celem pracy było również otrzymanie materiałów hybrydowych polimerowo-ceramicznych o polepszonych właściwościach mechanicznych i podwyższonej hydrofilowości w porównaniu do niemodyfikowanych TEEE.

3. Część Referatowa

3.1 Polimery funkcjonalne

Polimery funkcjonalne to takie materiały, które wykazują ściśle zadane, specjalne właściwości np. optyczne, elektryczne, magnetyczne, biologiczne itp. dzięki wprowadzeniu do ich struktury specyficznych grup funkcyjnych. Uzyskana dzięki temu specyficzna reaktywność lub określone właściwości fizyko-chemiczne powodują, że polimery takie służą jako katalizatory, wymienniki jonowe, selektywne sorbenty, super absorbenty lub podłoża dla enzymów i komórek [12]. To właśnie ta grupa materiałów decyduje w głównym stopniu o dzisiejszym rozwoju elektroniki, optoelektroniki, informatyki, czy telekomunikacji, jak również medycyny i inżynierii tkankowej, a te dziedziny z kolei powodują rozwój innych gałęzi gospodarki. W technikach medycznych, materiały te mają kluczowe znaczenie dla rozwoju takich dziedzin jak ortopedia, kardiologia lub inżynieria tkankowa. Mogą one zastępować niektóre narządy lub tkanki oraz spełniać określone funkcje w ludzkim organizmie, takie jak transport leków oraz ich selektywne dostarczanie i uwalnianie [13] dzięki obecności określonych grup funkcyjnych wpływających na ich hydrofilowość/hydrofobowość, rozpuszczalność, pęcznienie, zmianę siły jonowej itp. [14].

Spośród wielu cech decydujących o przydatności danego materiału do zastosowań biomedycznych, hydrofilowość powierzchni odgrywa bardzo ważną rolę, gdyż reguluje m.in. proces absorpcji niespecyficznych protein zmniejszając tym samym ryzyko aktywacji komórek (wydzielania się cytokin, które są potężnymi mediatorami reakcji zapalnych i immunologicznych, mogących powodować skutki uboczne w całym organizmie)[15].

3.2 Polimery hydrofilowe i amfifilowe

3.2.1 Hydrożele

Hydrożele polimerowe stanowią jedną z ważniejszych grup polimerów funkcjonalnych, dzięki możliwości zatrzymywania w swojej strukturze dużych ilości wody (nawet do 95% masy, Rys. 1). Pojawienie się tych silnie hydrofilowych materiałów datowane jest na rok 1960, kiedy Wichterle i Lim [16] po raz pierwszy zaproponowali użycie sieci hydrofilowych z 2-hydroksyetylometakrylanu (PHEMA) do

otrzymania soczewek kontaktowych. Od tego czasu wzrosło zainteresowanie hydrożelami i ich wykorzystanie w zastosowaniach biomedycznych i farmaceutycznych [17].

Naturalne i syntetyczne hydrożele zatrzymują wodę w trójwymiarowej sieci łańcuchów polimerowych [18]. Ostatnie zainteresowania opracowaniem nowych syntetycznych hydrożeli i kompozytów hydrożelowych można przypisać unikalnej kombinacji takich właściwości jak hydrofilowość, biokompatybilność, mały współczynnik tarcia oraz zdolność do reagowania na zmiany bodźców zewnętrznych, takich jak pH, temperatura, siła jonowa itp. [19]. W porównaniu do innych syntetycznych biomateriałów, hydrożele dzięki relatywnie wysokiej zawartości wody, miękkości i plastyczności, posiadają zbliżone do żywej tkanki miękkiej właściwości fizyczne. Niskie napięcie międzyfazowe sprawia, iż wykazują one minimalną tendencję do adsorpcji protein z płynów fizjologicznych [20].

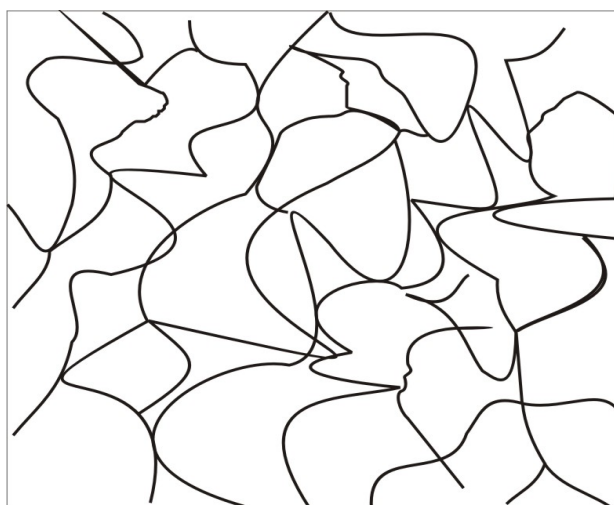
Biomateriały hydrożelowe znalazły szerokie zastosowanie np. w dostarczaniu leków, jako soczewki kontaktowe, implanty rogówkowe i składniki skóry, sztuczne ścięgna, więzadła i substytuty chrząstki [21]. Krytyczną barierą ograniczającą ich użycie do zastosowań, w których przenoszone są obciążenia, jak np. zastępowanie zniszczonej tkanki łącznej stawów, jest brak wystarczających właściwości mechanicznych (niska wytrzymałość na ściskanie) w narzuconych warunkach obciążeń fizjologicznych [22]. Naturalne połączenia stawów są poddawane ścisnaniu i siłom ścinającym kilkakrotnie większym od wagi ciała przy milionach cykli odkształceń w trakcie ich „życia”.

Właściwości hydrożeli są określane przez rodzaj monomerów, gęstość usieciowania i warunki polimeryzacji [23-25]. Próbując udoskonalić właściwości hydrożeli nadających się do zastosowań biomedycznych jako materiały przenoszące obciążenia, wprowadzono materiały kompozytowe, stosując jako dodatki lateks lub szkło, używając związki sieciujące takie jak aldehyd glutarowy oraz procedurę zamrażania – topnienia w celu zainicjowania częściowej krystalizacji [26].

Zdolność wchłaniania płynów, bez trwałej utraty kształtu i właściwości mechanicznych, jest bardzo istotną cechą hydrożeli spotykaną również w wielu organach naturalnych takich jak np.: mięśnie, ścięgna, chrząstki, jelita. Sorpcja wody przez hydrożele spowodowana jest ich hydratacją. Brak rozpuszczalności hydrożelu wynika najczęściej z istnienia wiązań kowalencyjnych pomiędzy poszczególnymi

makrocząsteczkami (hydrożele chemiczne), choć mogą to być również wiązania wodorowe lub oddziaływania elektrostatyczne (hydrożele fizyczne, pseudożele) [27,28]

Hydrożele mogą być stabilne chemicznie, ale także ulegać biodegradacji. Mogą one przybierać rozmaite fizyczne formy tj.: uformowane stałe kształty (soczewki kontaktowe), matryce ze sprasowanego proszku (tabletki lub kapsułki doustne), mikrocząstki (bioadhezyjne nośniki), powłoki (na implanty lub kapsułki i tabletki), membrany („ścieżka” przez którą następuje transport leków), kapsułki dla płynów (żele wrażliwe na podgrzewanie lub chłodzenie) [29]



Rys. 1 Schemat sieci hydrożelowej

3.2.2 Kopolimery amfifilowe

Polimery o silnie hydrofilowych właściwościach posiadają mimo swoich zalet wiele ograniczeń, dlatego możliwość projektowania polimerów łączących w sobie cechy hydrofilowe i hydrofobowe (czyli amfifilowe) otworzyła drogę do otrzymywania bardzo specyficznych w swoich właściwościach polimerów, z których najbardziej znanymi i stosowanymi na szeroką skalę są Pluronic® i Poloksamer®. Są to trójblokowe kopolimery typu ABA zbudowane z poli(tlenku etylenu) (PEO) oraz poli(tlenku propylenu) (PPO) o wysokich ciężarach cząsteczkowych. Są to materiały, których interakcja z wodą może być kontrolowana przez ich skład oraz temperaturę [30].

Wodne roztwory tych kopolimerów wykazują interesujący fenomen agregacji pod wpływem temperatury, jako rezultat hydrofobowej natury bloków PPO. Przy

niskiej temperaturze i stężeniu kopolimery blokowe na bazie PEO i PPO występują w roztworze w postaci rozpuszczonych monomerów. Mogą one jednak pod wpływem zwiększonej temperatury i ich stężenia organizować się w micle zbudowane z bloków kopolimerowych.

Roztwory kopolimerów posiadają bardzo dobre właściwości termozelujące i bioadhezyjne i są potencjalnie dobrymi materiałami w zastosowaniach medycznych i dentystycznych, np.: jako tkanka adhezyjna, czy wstrzykiwany do powierzchni śluzówki nośnik leków [30].

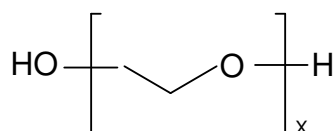
Trójblokowe kopolimery PEO–PPO–PEO są szeroko stosowane w różnych dziedzinach przemysłu takich jak np. biotechnologiczny czy farmaceutyczny z powodu ich unikalnych właściwości powierzchniowych, niskiej toksyczności i minimalnej odpowiedzi immunologicznej organizmu [30].

3.2.3 Polimery resorbowalne

Wiele hydrożeli polimerowych lub polimerów amfifilowych ulega kontrolowanej biodegradacji lub bioresorpcji. Polimery bioresorbowalne są materiałami, które powinny degradować w środowisku biologicznie czynnym do nieszkodliwych produktów rozpadu i produktów ubocznych. O tym, czy dany polimer resorbowalny może być stosowany do wyrobu produktów medycznych decydują zarówno aspekty techniczne jak i właściwości biologiczne tego materiału [31, 32]. Polimer winien być produkowany w sposób powtarzalny na skalę przemysłową i odznaczać się wysoką czystością. Degradacja polimerowych materiałów winna przebiegać w sposób kontrolowany. Zbyt szybka degradacja może spowodować nie tylko przedwczesną utratę właściwości mechanicznych, lecz także uwalnianie w krótkim czasie znacznej ilości produktów degradacji, przekraczającej zdolność organizmu do ich wydalania. W warunkach optymalnych dla potrzeb inżynierii tkankowej (*ang. tissue engineering, TE*), materiał polimerowy powinien ulegać stopniowej resorpcji, przebiegającej zgodnie z postępującym procesem odbudowy tkanek [33].

Polimery bioresorbowalne stosowane w medycynie, które produkowane są na skalę przemysłową to głównie: poli(kwas mlekowy) (PLA) [34], poli(ε kaprolakton)(PCL) [35], poli(tlenek etylenu) (PEO) [36] oraz inne.

Jednym z ważniejszych przedstawicieli polimerów bioresorbowalnych jest poli(glikol etylenowy)(PEG) (Rys. 2) lub jego analog o wysokiej masie cząsteczkowej czyli poli(tlenek etylenu)(PEO) .



Rys. 2. Budowa chemiczna poli(glikolu etylenu) (PEG).

Poli(glikol etylenowy) jest semikrystalicznym polimerem o temperaturze zeszklenia poniżej temperatury pokojowej (od - 53°C do -59°C w zależności od stopnia polimeryzacji, x) [37], jest rozpuszczalny w wodzie i w wielu organicznych rozpuszczalnikach, wykazuje dobrą biogodność i wysoką hydrofilowość. Do jego wad należy podatność na degradację termoutleniającą, która może mieć zarówno miejsce podczas syntezy jak i przetwórstwa [38]. PEG jest podatny na ataki wolnych rodników utleniających, które mogą spowodować zmniejszenie masy cząsteczkowej i tworzenie utlenionych produktów o małej masie cząsteczkowej [39].

PEG, podobnie jak inne wcześniej wspomniane polimery bioresorbowalne są szczególnie interesujące dla inżynierii tkankowej, której metody opierają się głównie na manipulacji komórkami, czynnikami wzrostowymi oraz podłożami (dwu- lub trójwymiarowymi) będącymi rusztowaniem dla nowopowstającej tkanki lub sposobem na ich wszczepienie w miejsce odtwarzanej tkanki [40].

3.3. Mikro/nanofibrylarne podłoża dla regeneracji tkanek

Trójwymiarowe podłoża polimerowe dla rozwoju regenerowanych tkanek mają strukturę porowatą, którą można uzyskiwać wieloma metodami, takimi jak stosowanie porogenu i jego wymywanie z matrycy polimeru, termicznie indukowanej separacji faz, spieniania gazami lub tworzenia struktur włóknistych, w tym z mikro- i nanowłókien [41]. Te ostatnie są to najczęściej monofilamenty, które nie zawsze poddaje się rozciąganiu w celu zorientowania cząsteczek wzdłuż osi jak w przypadku klasycznych włókien. Należy tu raczej mówić o skłębionych makrocząsteczkach o bardzo niskim

stopniu rozciągu, których zadaniem jest stworzenie przestrzennego „rusztowania”, na którym można osadzać komórki.

Szczególnie interesujące są nanowłókna polimerowe, które można otrzymywać przy użyciu takich metod jak wyciąganie z roztworu [44,43], syntezy na matrycy [43-46], samoorganizacji makrocząsteczek [43,44], kontrolowanej polimeryzacji [44,47] oraz elektroprzędzenia [43]. Zestawienie najważniejszych metod przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. Zalety i wady różnych metod otrzymywania nanowłókien.

Proces	Zalety	Wady
Wyciąganie z roztworu (<i>drawing</i>)	Minimalne wymagania sprzętowe	Proces nieciągły
Synteza na matrycy (<i>template synthesis</i>)	Włókna o różnej średnicy ze względu na używanie różnych membran	Nie można otrzymać pojedynczego włókna
Samoorganizacja makrocząsteczek	Dobra dla otrzymywania nanowłókien o małych średnicach	Złożony proces
Kontrolowana polimeryzacja	Włókna powstają podczas polimeryzacji	Niestabilna postać krystalograficzna włókna
Metoda przędzenia ze stopu	Dobra wydajność przędzenia	Włókna nie mają dobrych właściwości mechanicznych
Elektroprzędzenie	Mogą być produkowane długie, nieprzerwane włókna metodą roztworową i stopową	Niestabilność strumienia

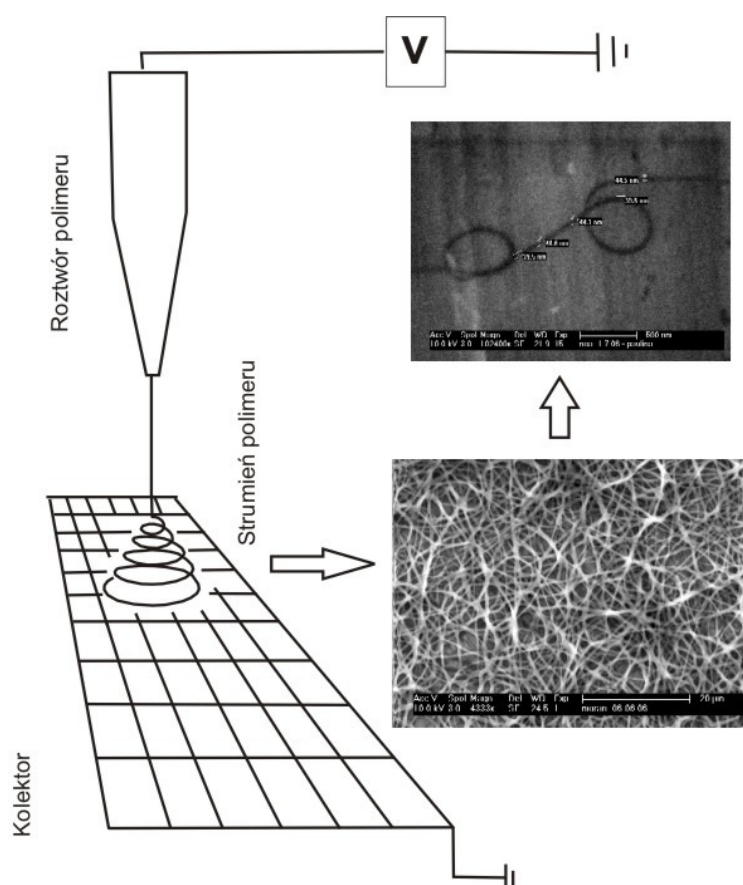
Najlepiej rozwiniętą metodą jest proces elektroprzędzenia, który został opatentowany przez Formhalsa w 1934 roku [48]. Metoda ta pozwala na formowanie włókien polimerowych o średnicy od kilku nanometrów do 1µm, w zależności od typu polimeru i warunków procesu.

Metoda elektroprzędzenia wykorzystuje proces generacji silnego pola elektrycznego między stopem lub roztworem polimeru a metalicznym kolektorem. Pod wpływem działania sił pola elektrostatycznego w roztworze przewodzącym następuje przemieszczenie się ładunków w kierunku uziemionego kolektora. W otworze pipety kropla płynu ulega zniekształceniu, przyjmując charakterystyczny stożkowy kształt, zjawisko to nosi nazwę stożka Taylora [43,49,50]. Po przekroczeniu krytycznej wartości natężenia pola zainicjowany zostaje wypływ płynu przewodzącego. Zostaje

on rozciągnięty w polu elektrostatycznym do postaci cienkiego włókna, które zostaje zebrane na kolektorze.

Dużą zaletą tej metody jest to, iż włókna można otrzymywać praktycznie z każdego polimeru włóknotwórczego, jeżeli tylko można go rozpuścić w odpowiednim rozpuszczalniku lub stopić. Do wytwarzania włókien w polu elektrostatycznym wykorzystuje się zarówno olefiny, poliamidy, poliestry, aramidy, polimery akrylowe jak i białka, DNA, polipeptydy lub polimery o specjalnych właściwościach np. polimery elektroprowadzące [51].

Aparatura służąca do formowania nanowłókien metodą elektroprzędzenia z roztworu jest stosunkowo prosta (Rys. 3), prąd prowadzi się w temperaturze pokojowej, a otrzymywane tą metodą nanowłókna mogą mieć średnicę nawet poniżej 50 nm.



Rys. 3. Schemat aparatury do formowania włókien metodą elektrostatyczną.

Polimer, z którego formowane jest włókno musi być rozpuszczalny w rozpuszczalniku lub układzie rozpuszczalników. Właściwości roztworu polimeru mają

istotny wpływ na proces elektroprzędzenia, a w rezultacie na morfologię nanowłókna. Roztwór polimeru powinien charakteryzować się odpowiednio niskim napięciem powierzchniowym, wystarczającą polarnością i odpowiednią lepkością, aby poruszający się w polu elektrostatycznym strumień nie rozpadł się na krople zanim zdąży z niego odparować rozpuszczalnik [43,52].

Kontrolowanie średnicy otrzymanych włókien zależy od stężenia polimeru w roztworze. Stężenie polimeru w roztworze przędzalniczym ma zasadniczy wpływ na strukturę i kształt tworzących się włókien. Głównym powodem sklejanie się nanowłókien jest na ogół zbyt mała lotność rozpuszczalnika lub zbyt duży jego udział w roztworze przędzalniczym. Czas, w jakim strumyk roztworu przędzalniczego pokonuje drogę pomiędzy dyszą przędzalniczą a uziemionym kolektorem często jest też zbyt krótki, aby rozpuszczalnik mógł całkowicie odparować. Roztwór polimeru powinien być wystarczająco stężony, aby makrocząsteczki mogły utworzyć włókno, z drugiej strony stężenie polimeru nie powinno być zbyt duże, ponieważ zbyt wysoka lepkość roztworu jest przeszkodą dla stabilnego rozciągania roztworu w polu elektrostatycznym [43,53-56]

Tab. 2. Zestawienie niektórych polimerów i rozpuszczalników stosowanych w metodzie elektroprzędzenia z roztworu.

Polimer	Rozpuszczalnik	Stężenie roztworu
Poliamid 6.6	Kwas mrówkowy	10 %
Poliakrylonitryl, PAN	Dimetyloformamid	15 %
Poli(alkohol winylowy) PVA/krzemionka	Woda	10 %
Poli(tlenek etylenu), PEO	Woda	1-10 %
	Alkohol etylenowy	1-10 %
	Izopropanol : woda (6:1)	3-10 %
Kolagen/PEO	Kwas solny	1-2 %
Polistyren, PS	Tetrahydrofuran	18-35 %
	Dimetyloformamid	30 %
	Metyloetyloketon	8 %
Poli(metakrylan metylu), PMMA	Tetrahydrofuran Aceton Chloroform	10 %

Zestalone włókna są odbierane na kolektorze, którego kształt zwykle dobiera się pod kątem dalszego wykorzystania otrzymanych nanowłókien. Najczęściej stosuje się uziemioną folię aluminiową, metalową siatkę, metalową wirującą ramkę, wirujący dysk

lub szybko obracające się wałki. Nanowłókna o zastosowaniach medycznych mogą być nakładane bezpośrednio na powierzchnię ciała pacjenta. W większości przypadków nanowłókna otrzymywane w procesie formowania w polu elektrostatycznym mają postać włókniny, co w praktyce ogranicza ich zastosowanie tylko do materiałów filtracyjnych, materiałów opatrunkowych lub jako pokrycia implantów [57].

3.4 Kopolimery multiblokowe (segmentowe)

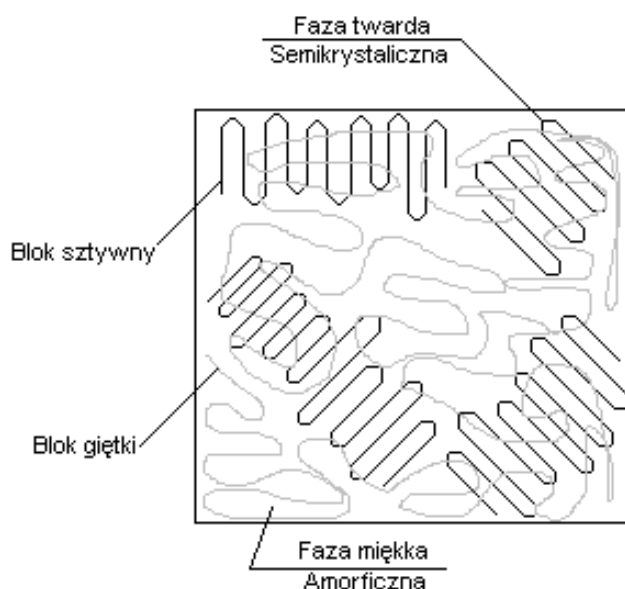
Polimery o budowie segmentowej, należące do grupy elastomerów termoplastycznych (*ang. thermoplastic elastomers, TPE*) są szczególnie interesujące ze względu na możliwość regulowania ich właściwości poprzez odpowiedni udział fazy twardej (segmentów sztywnych) i fazy miękkiej (segmentów giętkich) w kopolimerze, i wiele z tych układów znalazło już zastosowania komercyjne (np. segmentowe poliuretany są już od lat stosowane jako biozgodne i hemokompatybilne materiały polimerowe w kardiochirurgii) [58-59].

TPE są polimerami o specyficznych właściwościach wynikających z braku współmieszalności pomiędzy segmentami budującymi fazę twardą i fazę miękką. Faza twarda (zbudowana z segmentów sztywnych) nadaje materiałowi dużą wytrzymałość mechaniczną i wpływa na jego właściwości przetwórcze, faza miękka (zbudowana z segmentów giętkich) wpływa natomiast na elastyczność i zdolność do dużych odkształceń względnych charakterystycznych dla elastomerów [60,61]. Właściwości elastyczne i jednocześnie termoplastyczne TPE wynikają z ich budowy molekularnej i specyficznej struktury nadmolekularnej, w tym morfologicznej [62]. Dzięki możliwościom regulacji udziału fazy twardej i miękkiej na etapie syntezy, TPE mogą wykazywać właściwości od sztywnych termoplastów po materiały kauczuko-podobne [63]. Elastomery termoplastyczne stosunkowo niedawno wyodrębniły się jako nowa grupa polimerów konstrukcyjnych, a ocena ich właściwości jest przedmiotem intensywnych badań wielu zespołów naukowych na świecie. TPE wyróżniają się doskonałymi właściwościami fizyko-chemicznymi i mechanicznymi oraz wysoką biozgodnością w stosunku do żywych organizmów [64,65]. Przykładem są szeroko wykorzystywane w technikach biomedycznych elastomery poliuretanowe lub poliestrowe [66,67].

Elastomery termoplastyczne posiadają cechy charakterystyczne dla gumy (wysokie odkształcenie), ale mogą być przetwarzane tradycyjną techniką, jaką stosuje się do tworzyw termoplastycznych. Ich przetwórstwo można prowadzić metodą prasowania lub wytłaczania w temperaturach wyższych od temperatury zeszklenia lub temperatury topnienia krystalicznych domen segmentów sztywnych, co stwarza możliwość ich wielokrotnego przetwórstwa [68]. Przez dobór odpowiedniego rodzaju surowców i ich stosunków ilościowych, można otrzymać wyroby o różnej twardości i elastyczności, bez potrzeby stosowania dodatku plastyfikatorów [69].

Wiele wyrobów produkowanych dotychczas z gumy można z powodzeniem wytwarzać z TPE ze względu na proste przetwórstwo i recykling odpadów bez zmian właściwości materiału [70,71]. Jest to grupa polimerów, która znalazła szereg zastosowań praktycznych, z medycznymi włącznie np.: polimery do rekonstrukcji tkanek miękkich czy systemy uwalniania leków [72].

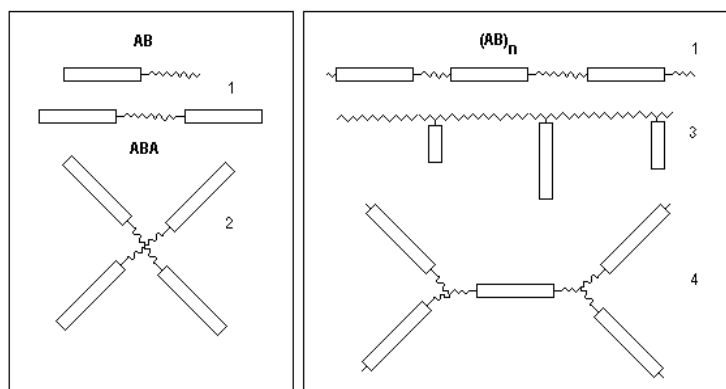
Charakterystyczną cechą budowy kopolimerów jest zdolność do tworzenia przez bloki sztywne, w wyniku różnego rodzaju oddziaływań międzycząsteczkowych, tzw. „fizycznych węzłów sieci” [73,74]. Schemat budowy fazowej kopolimeru blokowego o zdolnościach do krystalizacji segmentów sztywnych przedstawia Rys. 4.



Rys. 4. Schemat budowy fazowej kopolimeru blokowego PUE i PEA o właściwościach elastotermoplastycznych [4, 75]

Elastomery termoplastyczne o charakterze di- tri- i multiblokowych polimerów mają budowę liniową lub gwiazdzistą (radialną) (Rys. 5). Jako składniki układów

elastotermoplastycznych stosowane są często kopolimery szczepione. Kopolimery multiblokowe mogą mieć również budowę liniową lub rozgałęzioną.



Rys. 5. Schemat budowy kopolimerów di- (AB), tri- (ABA) i multiblokowych (AB)_n; 1-makrocząsteczki liniowe, 2-gwiazdowe, 3-szczepione i 4-rozgałęzione [4,73]

W zależności od chemicznej natury bloków, w strukturze elastomerów blokowych mogą występować dwie fazy amorficzne, faza amorficzna i krystaliczna (semikrystaliczna) lub amorficzna i pseudokrystaliczna [76]. Ważną rolę odgrywa również interfaza [77]. Bloki sztywne są zdolne do krystalizacji lub są szkliste. Natomiast bloki giętkie nadają polimerowi charakter elastyczny i są często bezpostaciowe (amorficzne) [78].

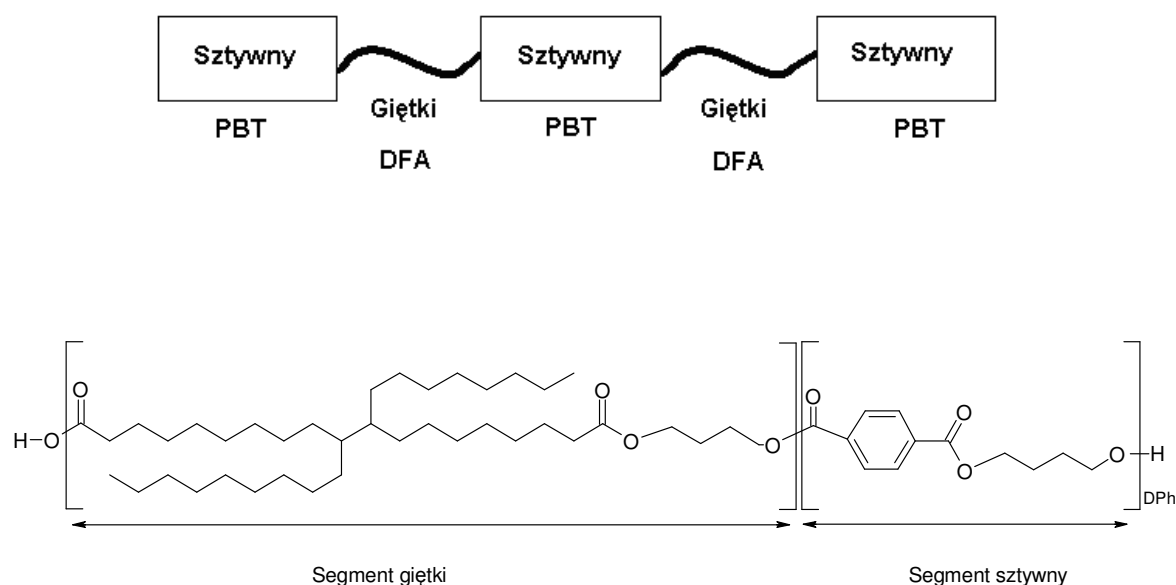
Jako segmenty giętkie, najczęściej stosuje się alifatyczne: polietery, poliestry, poliwęglany, oligomery dimeryzowanych kwasów tłuszczowych, poliolefiny i polidieny. Segmentami sztywnymi są najczęściej bloki aromatycznych poliestrów poli(tereftalanu butylenu) (PBT), bloki polistyrenowe (PS), poliuretanowe (PU), poliamidowe (PA), itp. [79, 80].

3.4.1 Multiblokowe poli(alifatyczno/aromatyczne-estry) (PED)

Poszukując nowych materiałów o polepszonych właściwościach mechanicznych i biologicznych, które można stosować w kontakcie z organizmem żywym, duże zainteresowanie wzbudzają poli(alifatyczno/aromatyczne-estry) (PED) [81-82]. Są to kopolimery multiblokowe zawierające w swej makrocząsteczce semikrystaliczny poli(tereftalan butylenu) (PBT) i monomer dimeryzowanego kwasu tłuszczowego (DFA) zawierający 36 atomów węgla w cząsteczce, którym jest dimer kwasu linoleinowego (dlatego też można go nazwać kwasem dilinoleinowym, DLA). Do

otrzymywania kopolimerów PED stosuje się dwuetapowy proces transestryfikacji i polikondensacji w stopie. W zależności od zawartości segmentów PBT tworzących fazę twardą i segmentów giętkich DLA tworzących fazę miękką, polimery te charakteryzują się różnymi właściwościami mechanicznymi, w tym doskonałymi parametrami zmęczeniowymi [83-86]. Ponadto, polimery PED charakteryzują się właściwościami hydrofobowymi, doskonałą odpornością na degradację utleniającą i termiczną, zaś stosowanie DLA umożliwia otrzymywanie tych polimerów bez dodatku stabilizatorów termicznych [87].

Schemat blokowy ułożenia segmentów w kopolimerach PED oraz budowę chemiczną ilustruje Rys.6.



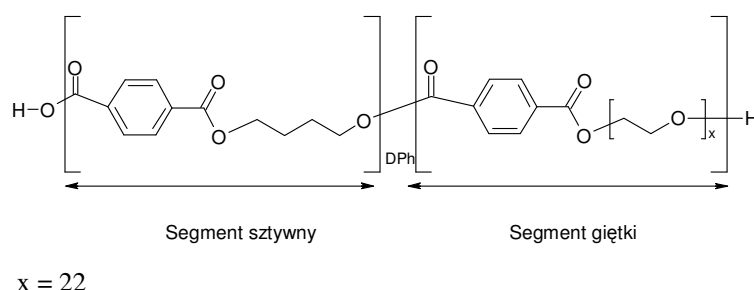
Rys. 6. Schemat budowy PED oraz teoretyczna budowa chemiczna.

Poliestry te są „fizycznie usieciowane” i mogą być projektowane „na miarę” dzięki możliwości zmiany zawartości segmentów giętkich i sztywnych od 26 do 74 % wag. prowadząc do otrzymywania materiałów od półsztywnych do kauczuko- podobnych (przy 74% wag. segmentu giętkiego).

Najnowsze badania wykazały, że są to materiały biogodne *in vitro* i *in vivo*, a odpowiednio modyfikowane wykazują również bioaktywność [88].

3.4.2 Segmentowe poli(estro-etry) (Polyactive®)

Innym przykładem segmentowych kopolimerów są poli(estro-etry) (PEE), zbudowane ze sztywnych segmentów poli(tereftalanu butyleny)(PBT) i oligoeterowych segmentów giętkich poli(glikolu etylenowego) (PEG) o zdefiniowanym stopniu polimeryzacji równym ok. 22 [89] (Rys. 7). Materiały te zostały skomercjalizowane pod nazwą handlową Polyactive® [90-92]. Zastosowanie sekwencji oligoeterowych sprawia, że polimery te charakteryzują się właściwościami hydrofilowymi. Przy ich wysokim udziale (70 % wag. segmentów giętkich) są to materiały ulegające szybkiej degradacji utleniającej i hydrolitycznej [93-95].



Rys. 7 Schemat budowy chemicznej kopolimery (estro-eteru) typu Polyactive®

Układy PBT-PEG charakteryzują się dobrymi właściwościami fizycznymi przy wysokim udziale wagowym segmentów estrowych, takimi jak elastyczność, twardość i wytrzymałość w połączeniu z dobrymi właściwościami przetwórczymi. Na zmianę właściwości poli(estro-eterów) mogą wpływać wysokie temperatury użytkowania oraz działanie np. rozpuszczalników ze względu na obecność niestabilnego termicznie PEG [96] ulegając degradacji utleniającej, a w obecności wody również degradacji hydrolitycznej [97]. Ta ostatnia cecha spowodowała zainicjowanie szeregu badań nad kopolimerami PBT/PEG pod kątem ich zastosowań jako biodegradowalne rusztowania w inżynierii zarówno miękkich jak i twardych tkanek [98].

Badania *in vitro* i *in vivo* wykazały, że kopolimery PBT-PEG są dobrze tolerowane przez żywy organizm i nie powodują skutków ubocznych. Znalazły już zastosowanie m.in. jako substytuty kości i sztuczna skóra [99].

3.5 Polimery zawierające hydrofilową ceramikę - układy hybrydowe

W co raz większym stopniu, badania nad nowymi materiałami do implantacji i nadzieje z tym związane koncentrują się wokół kompozytów. Układy hybrydowe zawierające w swej budowie hydroksylapatyt (HAP) i polimery takie jak np. polietylen były pierwszymi z sukcesem skomercjalizowanymi kompozytami biomedycznymi stosowanymi w rekonstrukcji kości, które znalazły zastosowanie do wytwarzania implantów dna oczodołu [100]. Zaletą takich materiałów jest porównywalny z kością moduł Younga oraz bardzo dobra odporność na kruche pękanie.

Innym przykładem kompozytu do zastosowań w ortopedii jest materiał zawierający kolagen i HAP, w którym uzyskuje się skład zbliżony do składu kości lecz o odmiennej mikrostrukturze. Biomateriały tego typu mają słabą wytrzymałość mechaniczną, ale jednocześnie wykazują lepsze właściwości osteokondukcyjne w stosunku do HAP lub kolagenu użytych oddzielnie. Inną ich ważną cechą jest możliwość kontroli szybkości biodegradacji [101, 102].

W zależności od sposobu i rodzaju oddziaływań kompozytów z tkankami, klasyfikowane są one jako (i) kompozyty bioinertne (np. włókno węglowe/poli(eter-eter-keton), kompozyty węglowo/węglowe), (ii) kompozyty bioaktywne (HAP/kolagen, HAP/PE lub HAP/Ti-6Al-4V) oraz (iii) kompozyty bioresorbowalne (TCP/kolagen, TCP/PCL lub TCP/PLA) [103, 104].

3.6 Zastosowanie polimerów hydrofilowych w rekonstrukcji chrząstki

Jednym z ważnych zastosowań medycznych polimerów hydrofilowych, w tym należących do grupy TPE (wspomniany wcześniej Polyactive®), jest sztuczna chrząstka stawowa.

Chrząstka stawowa to rodzaj amortyzatora w stawie [105], stanowiąca zwartą tkankę łączną, równocześnie sztywną i elastyczną, która nie posiada naczyń i zakończeń nerwowych [106, 107]. Odżywana jest drogą dyfuzji substancji odżywczych z naczyń krwionośnych ochrzęstnej otaczającej chrząstkę i wykazuje małą intensywność przemiany materii.

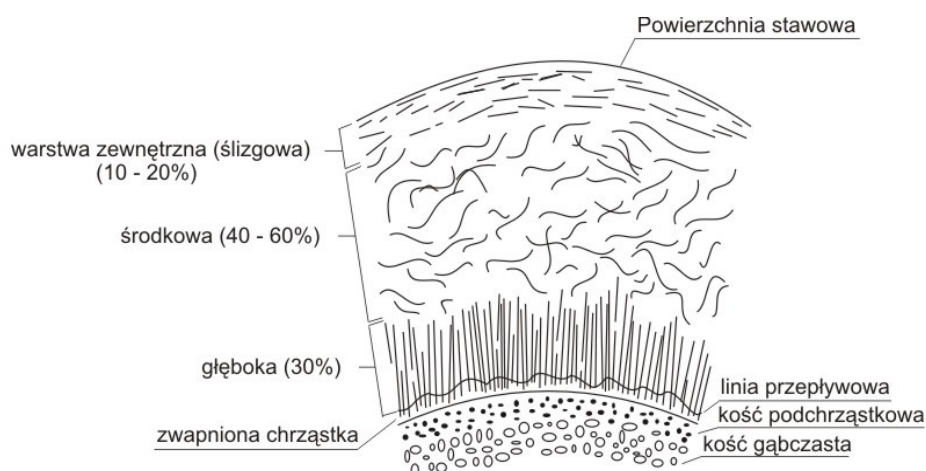
Zachowanie się chrząstki stawowej determinowane jest przez fizyczne właściwości tkanki [106]. Fizykochemicznie, chrząstka stawowa zachowuje się jak sztywny biologiczny hydrożel [105]. Matryca chrząstki jest zbudowana z włókien

kolagenowych (50 – 60% ciężaru w stanie suchym tkanki), proteoglikanów (30 – 50% ciężaru w stanie suchym tkanki) oraz białka nie kolagenowego i glikoproteidów [105]. Chrzątka jest dwufazowym materiałem składającym się z fazy stałej (około 15 – 32%) i fazy płynnej (około 68 – 85%). Faza stała jest przeważnie kompozytem kolagenu i proteoglikanów. Włókna kolagenowe są odpowiedzialne za rozciąganie i ściskanie sztywnej chrząstki. Proteoglikany są odpowiedzialne za właściwości biomechaniczne chrząstki przy ściskaniu. Faza płynna stanowi przede wszystkim wodę i dominują tu mechanizmy kontrolne ściśliwości tkanki [105]. Ogólne właściwości chrząstki zestawiono w Tabeli 3.

Tab. 3. Właściwości chrząstki [105]

Cecha	Wartość
Grubość	0,5 – 7,1 mm
Uwodnienie kompozytu	do 80%
Wytrzymałość na ściskanie	0,1 – 2,0 MPa
Współczynnik Poissona	0,2
Przepuszczalność	$5,0 \times 10^{-15} \text{ m}^4/\text{Ns}$
Wytrzymałość na rozciąganie	14 – 25 MPa
Szywność poprzeczna	6 – 130 MPa

Z innego punktu widzenia chrząstka stawowa jest strukturalnie niejednorodną i wielowarstwową tkanką z włóknami wzmacniającymi strukturę kompozytu. Ten kompozyt zbudowany jest z trzech warstw: powierzchniowej, środkowej i głębokiej. W każdej z trzech warstw włókna kolagenowe mają inną orientację [105], co przedstawia Rys. 8.



Rys. 8. Budowa wewnętrzna chrząstki stawowej

Gdy możliwości przenoszenia obciążeń przez chrząstkę zostają przekroczone dochodzi do jej uszkodzenia i zwyrodnienia [105]. Wady stawowe chrząstki są głównym problemem w chirurgii ortopedycznej, ponieważ uszkodzona chrząstka ma ograniczoną zdolność do samoregeneracji z powodu nieobecności unaczynienia i zakończeń nerwowych w tkance [108, 109]. Konsekwencje tych uszkodzeń mają ogromne znaczenie społeczne i ekonomiczne [110].

Tradycyjne leczenie, mające na celu naprawienie uszkodzonej chrząstki obejmuje techniki alloplastyki, zastępowanie całych stawów, wprowadzanie implantów z odpowiednich biomateriałów oraz najbardziej pożądaną autologiczną transplantację chondrocytów. Alternatywą dla wyżej wymienionych metod leczenia jest dążenie do rozwoju biokompatybilnych, biodegradowalnych rusztowań, na których namnaża się komórki chondrocytów własnych pacjenta, a następnie wprowadza w miejsce ubytku [108].

3.6.1 Materiały polimerowe stosowane w rekonstrukcji chrząstki

Poli(alkohol winylowy) PVA

Jednym z przedstawicieli hydrożeli stosowanych w rekonstrukcji chrząstki jest poli(alkohol winylowy)(PVA). Właściwości fizyczne i chemiczne poli(alkoholu winylowego) zależą w znacznym stopniu od struktury wyjściowego poli(octanu winylu), z którego jest otrzymywany oraz stopnia i warunków hydrolizy [21]. Hydrożele PVA posiadają trójwymiarową otwartą strukturę cząsteczkową. Są odporne na działanie rozcieńczonych kwasów, mocnych zasad i roztworów powszechnych detergentów [21], doskonale zaś rozpuszczają się w wodzie. Sieciowane chemicznie (głównie aldehydem glutarowym) nie są zbyt wytrzymałe. Jedną z metod poprawy właściwości mechanicznych PVA jest ich sieciowanie fizyczne i tworzenie tzw. kriożeli (*cryogels*) [111].

Kriożele z PVA przygotowuje się przez wielokrotne powtarzanie procesu zamrażania–odmrażania i dehydratację w próżni. Moduł elastyczności tak przygotowanych materiałów jest bliski wartości naturalnej chrząstki [112], a kriożele PVA wykazują dobrą zgodność biologiczną i doskonałą przezroczystość. Z tego względu są badane pod kątem materiałów na sztuczną chrząstkę oraz jako specjalne

dyski międzykręgowce. Dzięki mikroporowatej strukturze umożliwiają dyfuzję i wymianę płynów wewnątrzustrojowych oraz są odporne na obciążenia [22].

Polimery bioresorbowalne

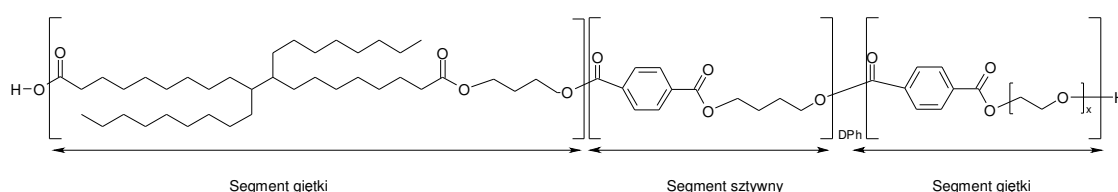
Tkanka chrzęstna może być również regenerowana przy zastosowaniu technik inżynierii tkankowej, choć idealne rusztowanie dla chrząstki nie zostało jeszcze zidentyfikowane [11]. Potencjalnie, takie rusztowania można wytwarzać m.in. z ulegających biodegradacji elastomerów poliuretanowych, których kompatybilność z różnymi tkankami i komórkami szeroko udokumentowano [11]. Biodegradowane porowate rusztowania poliuretanowe charakteryzują się wysoką stymulacją osadzania się komórek na podłożu, ich wzrostu i biosyntetycznej aktywności chondrocytów stawowych i utrzymaniem różnorodnych fenotypów [11]. Jest to spowodowane korzystnymi właściwościami mechanicznymi, trwałością, elastycznością, i kontrolowaną hydrofobowością powierzchni poliuretanowego rusztowania. W dodatku, biodegradowalny poliuretan wykazuje stosunkowo niskie tempo degradacji *in vitro*, które jest zgodne z niskim tempem regeneracji tkanki chrzęstnej [11].

Wiele aktualnych badań skupia się również na innych polimerach ulegających biodegradacji, takich jak poli(kwas glikolowy) (PGA), poli(L–kwas mlekowy) (PLLA) i ich kopolimery, poli(kwas mlekowy–co–kwas glikolowy) (PLGA). Mechaniczne właściwości tych polimerów, takie jak wytrzymałość na ścislenie są podobne do naturalnej chrząstki. PLLA jest bardziej hydrofobowy niż PGA i materiał ten jest mniej krystaliczny oraz wolniej degradowuje. Jednak podobnie jak chrząstka, która jest szklista, charakteryzuje się wysoką krystalicznością [34].

Z doniesień literaturowych wynika, że w celu stworzenia optymalnego środowiska dla wzrostu chondrocytów na podłożach PLGA wykonuje się immobilizację kwasu hialuronowego (HA) na powierzchni makroporów takiego rusztowania. Unieruchomienie HA stwarza nie tylko optymalne środowisko dla wzrostu chondrocytów, ale też zapobiega ich odróżnicowaniu [113].

Możliwość skonstruowania materiału, który byłby substytutem naturalnej chrząstki jest więc ogromnym wyzwaniem biorąc pod uwagę przede wszystkim ograniczoną możliwość do samoregeneracji tej tkanki i złożoność budowy biologicznej.

W wyniku modyfikacji chemicznej kopolimerów PED otrzymano nowe multiblokowe terpolimery, nazwane terpoli(estro-etero-estrami) (TEEE), zawierające w segmentach giętkich zarówno reszty estrowe zawierające DLA oraz reszty oligoeterowe zawierające PEG. Segmenty sztywne tworzone były przez reszty PBT. Założoną budowę chemiczną TEEE przedstawia Rys. 11.



gdzie: $x = 22$ lub 105

$DPh = 1$ lub $2,8$

Rys. 11. Budowa terpoli(estro-etero-estramów) (PBT/DLA/PEG)

Aby osiągnąć zamierzony cel pracy, wykonano syntezy wyżej wymienionych polimerów różniących się udziałem wagowym komponentów tworzących segmenty giętkie oraz masą cząsteczkową oligo(1,2-oksyetyleno) diolu, odpowiednio 1000 i 4600 g/mol. Polimery zawierały odpowiednio 26% i 45% wagowych segmentów sztywnych. Zastosowano α -tokoferol (witaminę E, VE) jako nietoksyczny stabilizator termiczny. Terpolimery TEEE poddano również modyfikacji nanometrycznym hydroksyapatytem w celu zwiększenia charakteru hydrofilowego otrzymanych materiałów.

Zakres badań obejmował weryfikację budowy chemicznej metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT IR) i protonowego rezonansu jądrowego (1H NMR). Oceniono właściwości fizyczne wyznaczając kąt zwilżania powierzchni polimerów wodą oraz właściwości termiczne metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC). Przeprowadzono również badania właściwości relaksacyjnych metodą dynamicznej analizy termomechanicznej (DMTA). Strukturę fizyczną TEEE zbadano za pomocą szerokokątowego rozpraszania promieniowania rentgenowskiego (WAXS). Zakres prac obejmował również podjęcie prób otrzymania mikrowłókien/monofilamentów i nanowłókien dla wybranych układów. Przeprowadzono również badania właściwości mechanicznych przy statycznym rozciąganiu i ściskaniu, a wyniki porównano z danymi dla naturalnej tkanki miękkiej jaką jest chrząstka stawowa. Możliwości aplikacyjne otrzymanych polimerów w

medycynie zweryfikowano na podstawie przeprowadzonych na Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie testach biogodności komórkowej *in vitro* i *in vivo*.

5. Część doświadczalna

5.1 Stosowane surowce i związki pomocnicze

Synteza układów hydrofilowych o strukturze multiblokowych terpoli(estro-etero-estrów) została przeprowadzona na drodze dwuetapowego procesu transestryfikacji i polikondensacji w fazie stopionej.

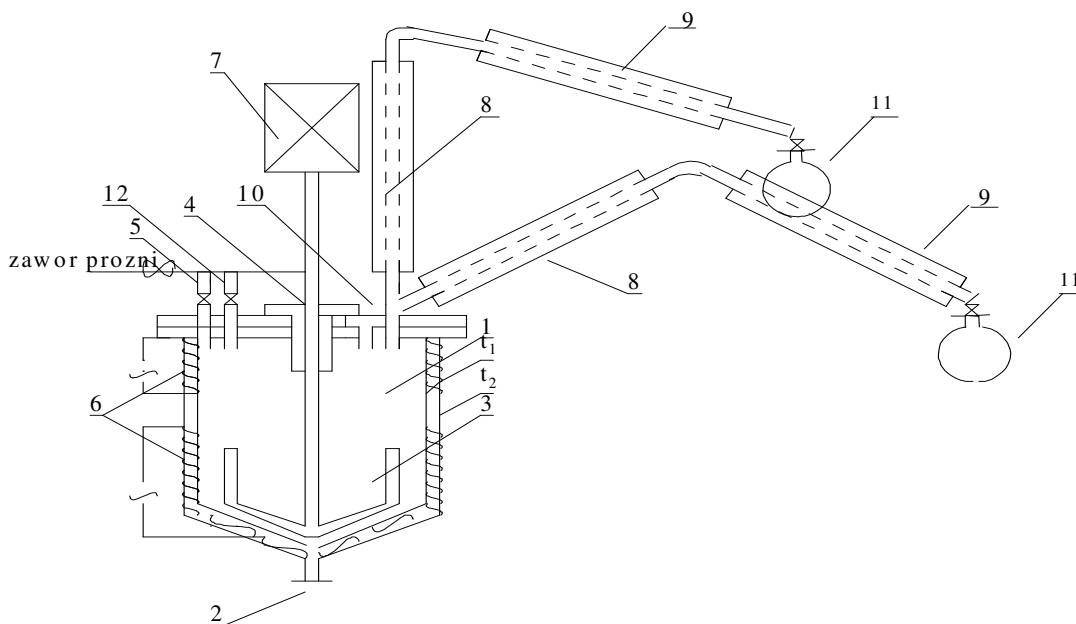
Jako substraty reakcji zastosowano:

- tereftalan dimetylu (DMT), firmy „Elana”, Toruń,
- 1,4-butanodiol (1,4-BD), firmy „BASF”, Niemcy,
- dimeryzowany kwas tłuszczowy (kwas dilynoleinowy, DLA)- nazwa handlowa Pripol 1009, firma „Uniqema” Holandia, masa cząsteczkowa ok.570 g/mol,
- poli(glikol etylenowy)(PEG) o masie cząsteczkowej 1000 g/mol i 4600 g/mol, Sigma Aldrich,
- nanoceramika hydroksyapatytowa o wielkości 300–500 nm, wytworzona przez prof. dr hab. inż. A. Ślósarczyk na Akademii Górniczo – Hutniczej w Krakowie,
- α -tokoferol (witamina E, VE) firmy „Medana Pharma Terpol Group”,
- katalizator magnezowo-tytanowy (MgTi).

5.2 Aparatura do syntezy

Aparatura do syntezy polimerów składa się z reaktora, który przedstawiono na Rys. 12.

Reaktor o pojemności 1,8 dm³ przeznaczony był do procesu transestryfikacji i polikondensacji oraz dostosowany do pracy pod zmniejszonym ciśnieniem (poniżej 1 mm Hg). Pokrywa reaktora wyposażona była w dławicę służącą do prowadzenia i uszczelniania wału mieszadła. Ponadto w pokrywie umieszczone były króćce do odprowadzenia substratów reakcji i azotu, przyłączenia pompy próżniowej i odprowadzenia gazowych produktów reakcji oraz pomiaru temperatury i ciśnienia. Temperaturę wnętrza reaktora transestryfikacji utrzymywano za pomocą grzałek elektrycznych rozmieszczonych na zewnętrznej ścianie reaktora w dwóch strefach. Każda strefa ogrzewania wyposażona była w miernik, rejestrator i regulator temperatury. Regulację obrotów silnika prądu stałego realizowano za pomocą układu tyrystorowego w zakresie od 4 do 120 obr/min.



Rys.12. Urządzenie do otrzymywania TEEE: 1- reaktor, 2-spust, 3-mieszadło, 4-uszczelnienie wału mieszadła, 5-wsyp surowców, 6-strefy grzejne I II, 7-silnik prądu zmiennego, 8, 9 -chłodnice ,10- zawór manometru 11-odbieralniki, 12-zawór azotu, t1, t2 -czujniki pomiaru temperatury

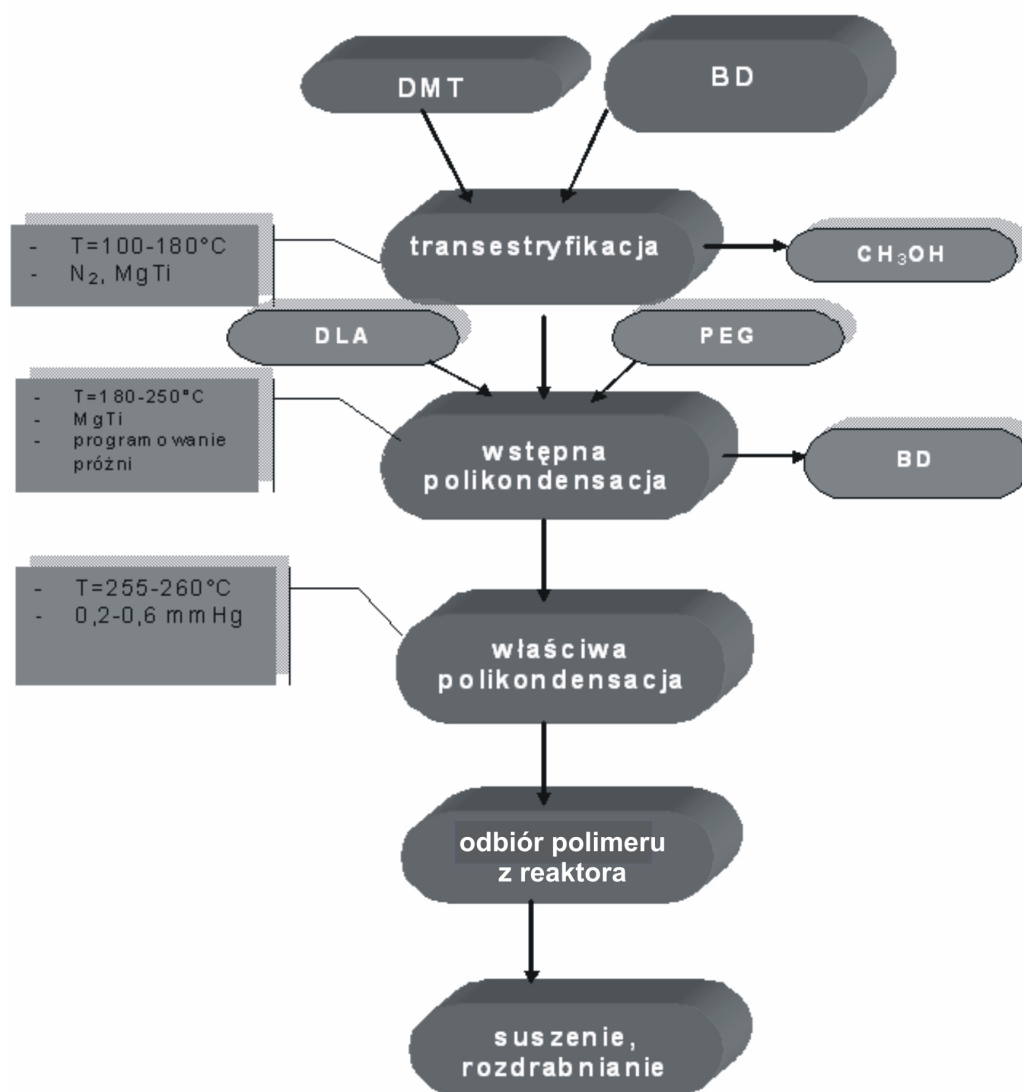
W stożkowym dnie reaktora umieszczono króciec z wymienną dyszą teflonową do wytłaczania polimeru w postaci żyłki. Pod dnem reaktora umieszczono wannę z wodą, do której wprowadzono strumień stopionego polimeru formując go w żyłkę. Polimer w tej postaci cięto na granulaty.

Aparaturę do otrzymywania polimerów zaprojektowano i wykonano na Politechnice Szczecińskiej, obecnie Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym (ZUT).

5.3 Synteza multibkolowych terpolimerów

Terpoli(estro-etero-estry)(TEEE) otrzymywano metodą transestryfikacji i polikondensacji w masie stopionej. Transestryfikacja tereftalanu dimetylu (DMT) za pomocą 1,4 – butanodiolu (BD) zachodziła w stopie, w obecności katalizatora i gazu obojętnego N_2 , w czasie podgrzewania mieszaniny reakcyjnej i przy oddestylowywaniu metanolu. Reakcję kończono po odebraniu 95% teoretycznej ilości metanolu. Następnie do produktu reakcji dodawano oligo(1,2–oksyetyleno) diol (PEG) o masie cząsteczkowej 1000 lub 4600 g/mol i/lub kwas dilynoleinowy (DLA). Polikondensację

prowadzono w temperaturze od 255°C do 260°C, w czasie dwóch godzin, pod ciśnieniem 0,6 hPa przy intensywnym mieszaniu. Ko- i terpolimery otrzymano z udziałem nietoksycznego stabilizatora termicznego (witamina E). Otrzymany produkt chłodzono i pod ciśnieniem ok. 0,4 MPa wytłaczano w postaci żyłki, a następnie granulowano. Schemat syntezy przedstawiono na Rys. 13.



Rys. 13. Schemat syntezy terpoli(estro-etero-estrów)(TEEE)

Otrzymano dwie serie terpolimerów multiblokowych o zmiennym udziale wagowym składników segmentów giętkich (PEG i DLA) i stałej zawartości segmentów sztywnych PBT wynoszącej odpowiednio 26 i 45% wag. Schemat budowy chemicznej TEEE przedstawiono na Rys. 11.

5.4 Synteza układów hybrydowych z udziałem TEEE metodą polikondensacji *in situ*

Syntezę układów hybrydowych prowadzono w sposób analogiczny jak dla multiblokowych terpolimerów. Różnica występowała na etapie polikondensacji. Na tym etapie bowiem wprowadzano mieszaninę DLA i hydroksyapatytu (HAP), którą wcześniej poddano obróbce ultradźwiękami w czasie 40 minut. Mieszaninę dodawano do produktu reakcji transestryfikacji wraz z oligo(1,2-oksyetyleno) diolem o masie cząsteczkowej 1000 lub 4600 g/mol. Użyto hydroksyapatyt nie kalcynowany (oznaczany w pracy jako „HAP-k”) lub spiekany (oznaczany w pracy jako „HAP-s”). Dalszą syntezę prowadzono tak jak dla multiblokowych terpolimerów wg schematu jak na Rys. 13. Otrzymane polimery organiczno/nieorganiczne (hybrydowe) odbierano w postaci żyłki i granulowano. Do otrzymania materiałów hybrydowych zastosowano polimer o zawartości 45 %wag. segmentów sztywnych PBT oraz odpowiednio 19%wag. segmentów giętkich DLA i 36% wag. segmentów giętkich PEG.

Wykaz wszystkich zsyntezowanych materiałów przedstawia Tabela 4.

5.5 Przygotowanie próbek do badań.

Otrzymane ko- i terpolimery po zgranulowaniu i wysuszeniu w suszarce próżniowej przetwarzano na kształtki w postaci krążków do oznaczania właściwości mechanicznych (wytrzymałości na ściskanie) metodą wtrysku. Większość wyprasek wtryskowych charakteryzowała się bardzo dobrym odwzorowaniem formy. Wtryski wykonano w temperaturze wyższej o ok. 10 °C od temperatury topnienia materiału. Otrzymano krążki o średnicy 15 mm i grubości 10 mm.

Folie do badań wytrzymałości na rozciąganie i badań metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), spektroskopii szerokokątowego rozpraszania promieniowania rentgenowskiego (WAXS), spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) formowano metodą prasowania w temperaturze o około 10°C wyższej od temperatury topnienia poszczególnych terpolimerów. Ciśnienie prasowania wynosiło od 15 do 20 MPa. Uzyskiwano próbki w postaci folii o grubości 0,5 mm, które następnie wykrawano do odpowiednich dla danej metody kształtów (krążki o średnicy 5 mm i wioselka B5).

Tabela 4. Wykaz otrzymanych multiblokowych terpolimerów i materiałów hybrydowych

Materiał	Skład				
	PBT	DLA	PEG	WIT. E	HAP
1	26%	74%	-	-	–
PEG 1000					
2	26%	59%	15%	+	–
3		37%	37%		
4		15%	59%		
5	26%	-	74%	+	–
6	45%	55%	–	–	–
7	45%	36%	19%	+	–
8		19%	36%	+	
9	45%	–	55%	+	–
PEG 4600					
10	26%	59%	15%	+	–
11		37%	37%		
12		15%	59%		
13	26%	-	74%	+	–
14	45%	55%	–	–	–
15	45%	36%	19%	+	–
16		19%	36%		
17	45%	–	55%	+	–
PEG 1000 + Ceramika					
18	45%	19	36	+	0,5% HAP-k
19				–	
20				+	0,5% HAP-s
21				–	

Formowanie włókien/monofilamentów ze stopu

Przeprowadzono próby formowania włókien/monofilamentów metodą przędzenia ze stopu. Wysuszony materiał dozowano do leja zasypowego maszyny przędzalniczej (konstrukcja własna Instytutu Polimerów). Temperatury w strefach grzania były wyższe o 10 stopni od temperatury topnienia danego materiału polimerowego i hybrydowego. Zastosowano ślimak o $l/d=13,3$, natomiast średnica dyszy przędzalniczej wynosiła 0,8 mm. Zestalone włókna odbierano i kierowano na system galet, uzyskując nieznaczny stopień rozciągu, traktując je raczej jako monofilamenty niż klasyczne, wysokozorientowane włókna.

Formowanie nanowłókien metodą elektroprzędzenia roztworowego

Wybrane materiały polimerowe poddano próbom formowania nanowłókien metodą elektroprzędzenia z roztworu podczas pobytu na stażu w Weizmann Institute of Sciences, Rheovot, Izrael. Zastosowano 5% roztwór polimeru w heksafluoro-2-propanolu (HFP). Następnie przygotowany roztwór wprowadzano do strzykawki zakończonej stępią stalową igłą (średnica 0,8 mm), zamocowaną w pozycji prostopadłej do kolektora. Do środka strzykawki doprowadzono dodatnią elektrodę z wysokim napięciem (20 kV lub 25 kV), która była zanurzona w roztworze polimeru. Natomiast ujemna elektroda przyłożona była do podłoża kolektora. Kolektor (oddalony od strzykawki o 25 cm lub 35 cm) obłożony był folią aluminiową. Nanowłókna odbierano na szkiełka mikroskopowe lub na folię aluminiową.

5.6 Charakterystyka metod badawczych.

Spektroskopia w podczerwieni

Badania struktury chemicznej metodą spektroskopii w podczerwieni ATR – FT IR wykonano za pomocą spektrofotometru FTIR Nexus (firmy Thermo Nicolet Co.) z oprogramowaniem w zakresie od 600 do 4000 cm^{-1} .

Magnetyczny rezonans jądrowy (^1H NMR)

Do oceny budowy chemicznej otrzymanych ko- i terpolimerów metodą magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR) wykorzystano aparat Bruker Avance DPX 400 MHz. Akwizycje widm prowadzono w temperaturze pokojowej dla 3% roztworów próbek rozpuszczając je w CDCl_3 z dodatkiem tetrametylosilanu (TMS) jako wzorca wewnętrznego. Badania wykonano w Instytucie Chemii i Podstaw Ochrony Środowiska ZUT.

Graniczna liczba lepkościowa

Graniczną liczbę lepkościową (GLL) oznaczono za pomocą wiskozymetru Ubbelohde'a (kapilara o stałej $k=0.1136$) w temperaturze 30°C rozpuszczając próbki w równowagowej mieszaninie fenolu w trichloroetylenie. Obliczenia i pomiary zostały wykonane według normy PN – 93/C – 89430.

Graniczną liczbę lepkościową wyznaczono ze wzoru:

$$GLL = \frac{\sqrt{2 \times \eta_w - \ln \eta_{wzgl}}}{c} \left[\frac{dl}{g} \right]$$

$$\eta_{wzgl} = \frac{t_1}{t_0}$$

$$\eta_w = \eta_{wzgl} - 1$$

gdzie:

η_w – lepkość właściwa

η_{wzgl} – lepkość względna

c – stężenie [g/100ml]

t_0 – czas przepływu rozpuszczalnika [s]

t_1 – czas przepływu roztworu polimeru [s]

Oznaczanie masy cząsteczkowej metodą chromatografii żelowej (GPC)

Oznaczenia liczbowo (M_n) i wagowo (M_w) średnich mas cząsteczkowych oraz polidispersyjności (M_w/M_n) wykonano przy użyciu chromatografii z wykluczaniem wg. wymiarów (*size exclusion chromatography*, SEC). Analizie poddawano próbki o stężeniu 2,0 mg/ml wprowadzanych do chromatografu w ilości 4 mL. Rozdział próbek prowadzono na kolumnach styrażelowych (sześć kolumn: 106, 105, 104, 103, 500 i 100_AA). Analizy prowadzono w systemie pracującym w THF składającym się z pompy Waters M515 i wyposażonym w refraktometr Optilab DSP Interferometric Refractometer (Watt Technology) oraz wiskozymetr Wiscostar (Wyatt Technology) oraz detektory: DAWN EOS 18 angle Multiangle Light Scattering (MALS)(Watt Technology) oraz detektor Quasielastic Light Scattering QELS (Wyatt Technology). Analizy prowadzono przy przepływie eluentu o natężeniu 1 ml/min w układach termostatowanych w temperaturze 35°C. Obliczenia prowadzono wg metody dla kopolimerów opartej o kalibrację uniwersalną w programie Astra V 5.3.2.14 (Watt Technology Corp.). Badania przeprowadzono w Wydziale Polimerów Uniwersytetu Akron, OH, USA.

Oznaczenie współczynnika szybkości płynięcia

Współczynnik szybkości płynięcia oznaczono na aparacie “Melt Flow” włoskiej firmy Ceast-Torin. WSP jest to liczba wyrażająca masę stopionego polimeru (w gramach) wytłoczonego przez dyszę pod określonym obciążeniem 2,16 kN i w określonej temperaturze (170°C i 230°C), w ciągu określonego czasu odniesienia (w minutach). Za czas odniesienia przyjmuje się zazwyczaj 10 minut.

$$WSP = \frac{T \times m}{t} \left[\frac{g}{10 \text{ min}} \right]$$

gdzie:

T – czas odniesienia (najczęściej 10 min. = 600 sek.) [s]

t – czas między odcięciem następujących po sobie wytłoczonych odcinków polimeru [s]

m – średnia masa wytłoczonych

Oznaczenie kąta zwilżania

W celu oceny właściwości hydrofilowych otrzymanych materiałów polimerowych i układów hybrydowych przeprowadzono badania kąta zwilżania powierzchni materiałów wodą dejonizowaną przy zastosowaniu aparatu Contact Angle System OCA. Metoda ta polega na umiejscowieniu kropli wody na powierzchni materiału i wyznaczeniu kąta pomiędzy nimi. Układy hydrofilowe osiągają kąt zwilżania poniżej 90° , natomiast hydrofobowe powyżej 90° [114].

Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)

Pomiary metodą DSC prowadzono stosując aparat firmy „Du Pont” z całą pomiarową TA Instruments (DSC 910) firmy przy szybkości ogrzewania i chłodzenia 10 deg/min w zakresie od -100°C do 250°C . Stosowano procedurę ogrzewanie-chłodzenie-ogrzewanie poddając analizie próbki o jednakowej historii termicznej. Wyznaczono temperatury przemian fazowych i efekty cieplne podczas chłodzenia i drugiego ogrzewania próbek.

Dynamiczna analiza termomechaniczna (DMTA)

Dynamiczną analizę termomechaniczną (DMTA) prowadzono w zakresie temperatur od -100°C do temperatury topnienia polimerów z szybkością ogrzewania 1 deg/min . Stosowano aparat DMTA Rheometrics Viscoelastometer RSA-II przy częstotliwości 1 Hz .

Dyfrakcja szerokokątowego promieniowania rentgenowskiego (WAXS)

Pomiary metodą WAXS przeprowadzono za pomocą dyfraktometru TUR M62 z goniometrem horyzontalnym szerokokątowym HZG-4. Zastosowano promieniowanie miedziowe CuK_α o długości fali $1,54 \text{ \AA}$ monochromatyzowane niklem. Dyfrakcję rejestrowano w zakresie kątów 2θ od 5 do 38° z szybkością goniometru 2 deg/min w temperaturze pokojowej. Badania wykonano w Zakładzie Polimerów Politechniki Poznańskiej.

Badania wytrzymałościowe

Badania mechaniczne wytrzymałości na rozciąganie przeprowadzono na maszynie wytrzymałościowej „Instron” model 1161 i ściszenie przeprowadzono na maszynie wytrzymałościowej „Instron”. Badania zostały wykonane zgodnie z normami PN-81/C-89034 i EN ISO 604:2002.

W badaniach wytrzymałości na rozciąganie materiałów w postaci folii, prędkość przesuwu głowicy (trawersu) w maszynie wynosiła 100 mm/min. Zastosowano głowicę o nominalnej sile 50N, a rozstaw szczęk wynosił 23 mm. W czasie pomiaru rejestrowano obciążenie i wydłużenie odcinka pomiarowego próbki, uzyskując krzywą „obciążenie-wydłużenie”, na podstawie której dokonano obliczeń.

W celu obliczenia podstawowych własności wytrzymałościowych korzystano z następujących wzorów:

- napężenie przy zerwaniu:

$$\sigma_r = \frac{F_r}{A_0} [MPa]$$

- napężenie przy granicy plastyczności:

$$\sigma_s = \frac{F_s}{A_0} [MPa]$$

F_r – obciążenie przy którym próbka uległa zerwaniu [N]

F_s – obciążenie rozciągające przy osiągnięciu granicy plastyczności [N]

A_0 – pole powierzchni początkowego przekroju poprzecznego próbki [mm²]

- wydłużenie względne przy zerwaniu:

$$\epsilon_r = \frac{\Delta l_r}{l_0} \times 100\% [\%]$$

- wydłużenie względne przy granicy plastyczności:

$$\varepsilon_s = \frac{\Delta l_s}{l_0} \times 100\% [\%]$$

Δl_r – zmiana odcinka pomiarowego próbki w chwili zerwania [mm]

Δl_s – zmiana odcinka pomiarowego w chwili osiągnięcia granicy plastyczności [mm]

l_0 – początkowa długość odcinka pomiarowego próbki [mm]

Badanie wytrzymałości na ściskanie wykonano na próbkach cylindrycznych poddające je ściskaniu wzdłuż osi głównej aż do 60% odkształcenia i wyznaczając maksymalne naprężenie przy zadanym odkształceniu.

$$\sigma_x = \frac{F}{A} [MPa]$$

gdzie:

σ_x – naprężenie jakie zostanie osiągnięte przy określonym odkształceniu x,

F – odpowiednia siła mierzona w niutonach,

A – przekrój poprzeczny kształtki wyrażony w milimetrach kwadratowych,

Oznaczono również moduł styczny przy ściskaniu wg wzoru

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

gdzie: σ – naprężenie w megapaskalach, mierzone przy wartości odkształcenia ε ;

ε – odkształcenie przy wartości naprężenia σ

Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM)

Do zobrazowania morfologii kruchych przełamów materiałów polimerowych i hybrydowych zastosowano skaningowy mikroskop elektronowy firmy Jeol (Japonia) JSM 6100. Próbki napyłano cienką warstwą (60Å) stopu AuPd40. Obserwację wytworzonych nanowłókien prowadzono przy zastosowaniu środowiskowego skaningowego mikroskopu elektronowego (ESEM) marki Philips XL30 przy 10 kV.

Testy degradacji hydrolitycznej

Wybrane materiały polimerowe zostały poddane testowi degradacji hydrolitycznej w izotonicznym roztworze chlorku sodu buforowanym fosforanami (PBS) w temperaturze 37°C przez 8 tygodni. Roztwór wymieniany był co 7 dni. Zbadano właściwości mechaniczne materiałów, oznaczono chłonność wody (A) oraz ubytek masy (W_l) wg. wzorów:

$$A = (W_m - W_s) \times 100 \% / W_s$$

gdzie:

W_s , W_m — odpowiednio, masa próbki suchej i mokrej w określonym czasie

$$W_l = (W_0 - W_s) \times 100 \% / W_0$$

W_s , W_0 — odpowiednio, masa próbki suchej i masa początkowa

6. Wyniki i dyskusja

6.1 Charakterystyka otrzymanych multiblokowych terpoli(estro-etero-estrów) (TEEE)

Przeprowadzono badania właściwości fizycznych, termicznych i mechanicznych oraz podjęto próby formowania włókien/monofilamentów i nanowłókien z syntezowanych multiblokowych terpolimerów różniących się zawartością segmentów giętkich przy dwóch stałych udziałach segmentów sztywnych tj. 26% wag. i 45% wag. Badania te miały na celu określenie wpływu zawartości segmentów giętkich PEG i DLA na strukturę i właściwości TEEE, a w szczególności na zmiany hydrofilowości.

6.1.1 Budowa chemiczna TEEE

W celu określenia budowy chemicznej TEEE przeprowadzono badania metodą spektroskopii w podczerwieni (ATR-FT IR) oraz magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR.

Spektroskopia w podczerwieni ATR FTIR

Weryfikacja budowy chemicznej terpolimerów za pomocą spektroskopii w podczerwieni (Rys. 14a i b) wskazała na występowanie w spektrogramach dwóch pasm, charakterystycznych dla wiązań estrowych (3000 i 1720 cm^{-1}) w widmie kopolimerów zawierających poli(tereftalan butylenu) i reszty kwasu dilynoleinowego (o udziale 26/74 i 45/55 segmentów sztywnych/giętkich). Pasma przy 1720 cm^{-1} przypisano drganiom rozciągającym $\nu(\text{C=O})$ charakterystycznym dla kwasu dilynoleinowego. Rozszczepiony pik w paśmie 3000 cm^{-1} odpowiada drganiom rozciągającym $\nu(\text{C-H})$. Jego intensywność wzrasta wraz z rosnącą zawartością alifatycznych segmentów estrowych. W terpolimerach, zawierających dodatkowo segment eterowy można zauważyć charakterystyczne, rozmyte pasmo przy długości fali 3500 cm^{-1} , które jest typowe dla grup końcowych (O-H). Pasma przy 1150 cm^{-1} odpowiada drganiom rozciągającym $\nu(\text{C-O-C})$ segmentów eterowych pochodzące od PEG.

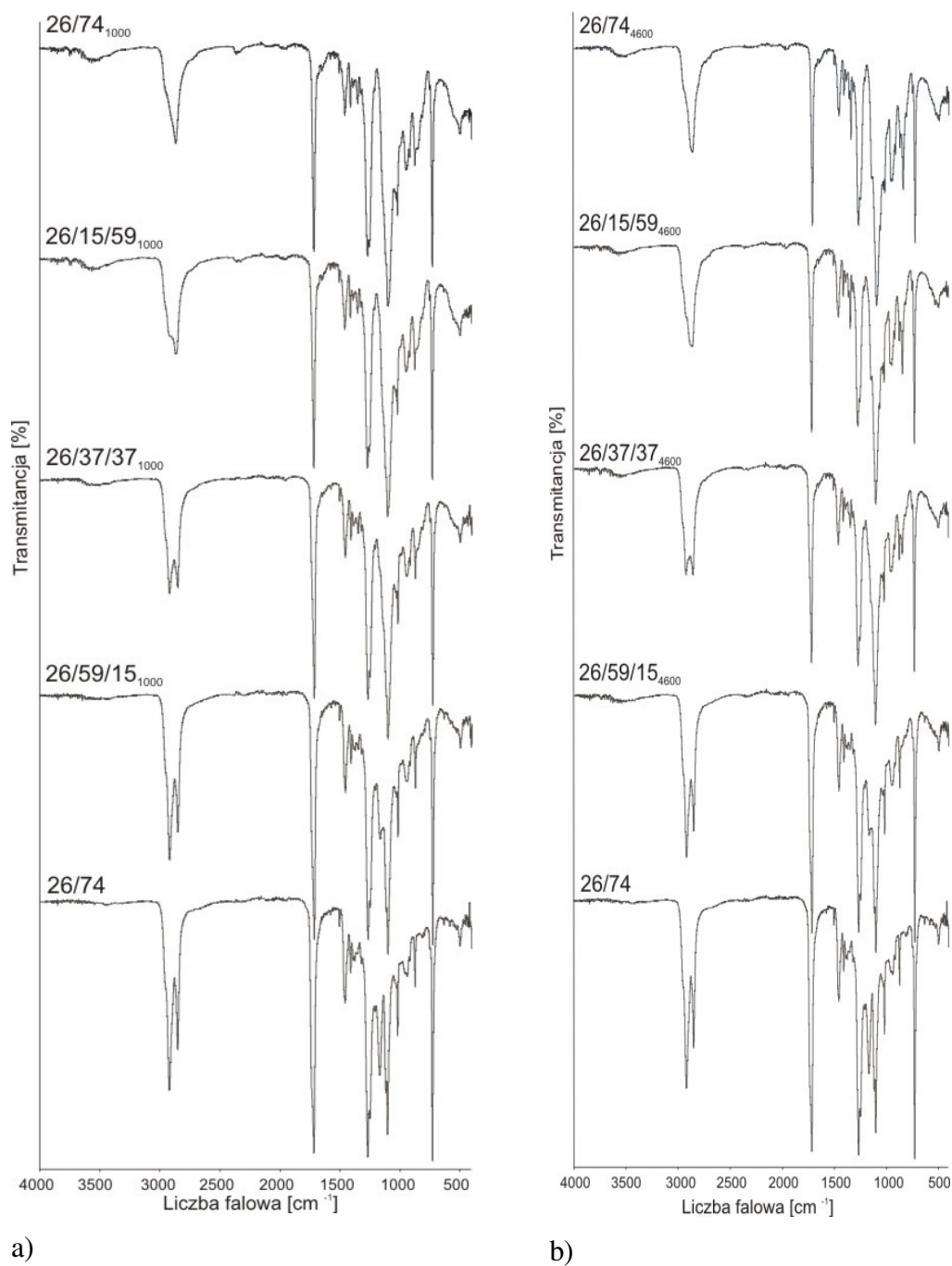
W Tabeli 5 przedstawiono zestawienie charakterystycznych wartości pasm występujących w otrzymanych polimerach.

Tab.5. Charakterystyczne pasma i odpowiadające im rodzaje oddziaływań w zsyntezowanych polimerach

długość fali [cm ⁻¹]	charakterystyka pasma	rodzaj drgań / oddziaływanie
3500	O-H	drgania rozciągające γ (OH)
2921,5	- CH - C-CH ₂ -C	drgania rozciągające γ (CH) grupy pochodzące od PBT
2854,5	O-CH ₂ -O	gr. pochodzące od kw. karboksylowych
1720	- C=O - aromatyczne	drgania rozciągające γ (C=O) zw. karbonylowe
1457,5	- CH ₂ - OH	drgania deformacyjne w płaszczyźnie (CH ₂) kw. karboksylowe
1409,4	OH C-O	kw. karboksylowe drgania rozciągające
1266,6	C-O	kw. karboksylowe
1150	C-O-C	drgania rozciągające asymetryczne (C-O-C)
1116,7	C-C CH	drgania rozciągające szkieletowe (C-C) drgania deformacyjne (CH)
1100,2	C-O	drgania rozciągające (C-O)
1017	C-O OH	drgania rozciągające (-COO-) drgania deformacyjne
872,5	=CH	drgania deformacyjne poza płaszczyzną (=CH)
728	-(CH ₂) ₄ -O	drgania deformacyjne

Dla układów o zmiennej zawartości PEG i zróżnicowanym ciężarze cząsteczkowym (Rys.14) intensywność estrowych pików zwiększa się wraz z malejącą zawartością poli(glikolu etylenowego), natomiast pojawia się pasmo eterowe, którego intensywność zwiększa się wraz z rosnącą zawartością PEG. Świadczy to o wbudowaniu się oligomeru eterowego w strukturę terpolimeru.

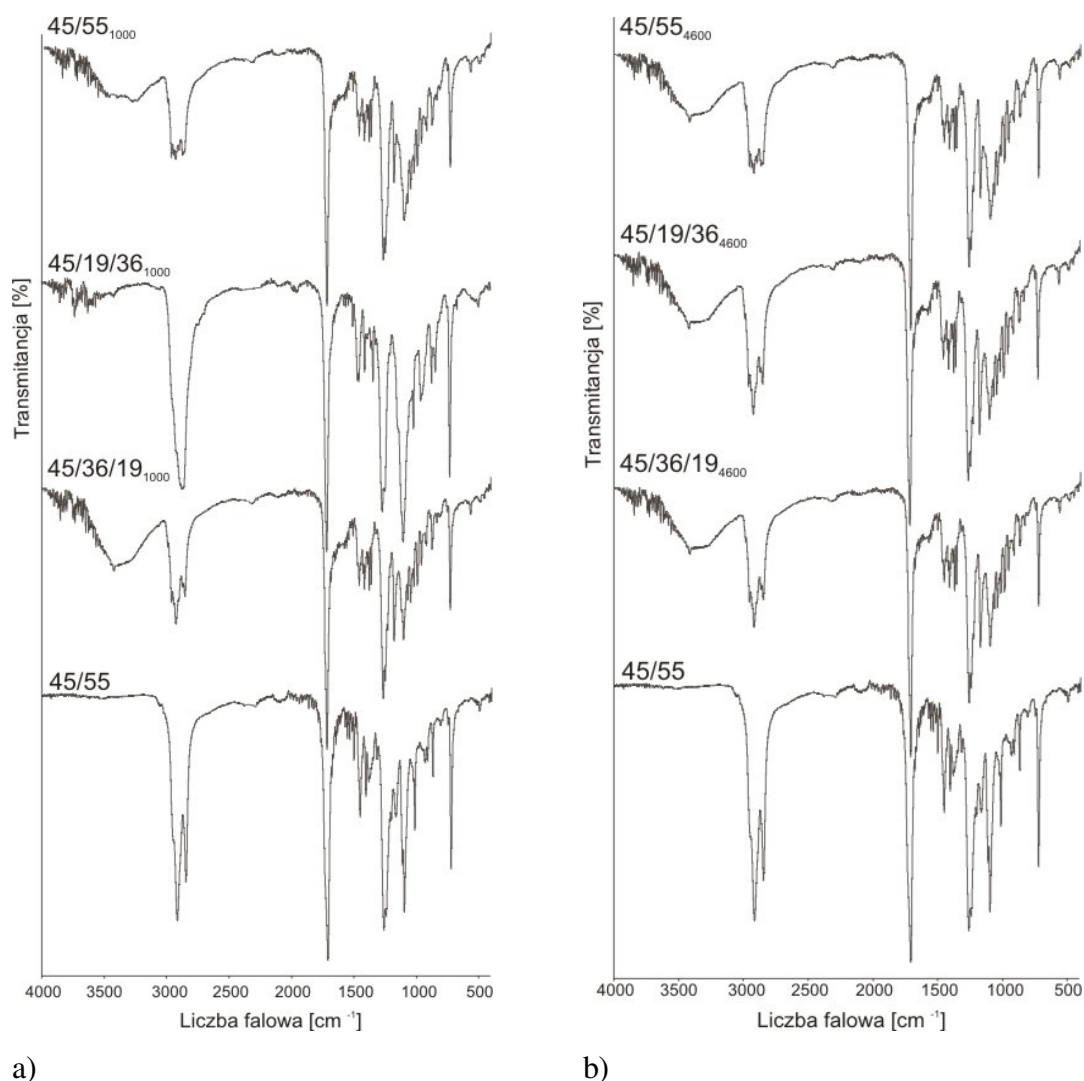
Widma polimerów zawierających 45% segmentów sztywnych przedstawiono na Rys.15 a i b. Polimery tej serii charakteryzują się występowaniem analogicznych pasm jak w układach zawierających 26% segmentów sztywnych, choć wyraźne różnice można zauważyć w zakresie 3200–3500 cm⁻¹, charakterystycznym dla drgań rozciągających –OH (polimery zawierające 36 i 19% PEG) oraz przy 2900 cm⁻¹ dla polimerów zawierających 36% wag. oligoeteru o masie cząsteczkowej 1000 g/mol.



a)

b)

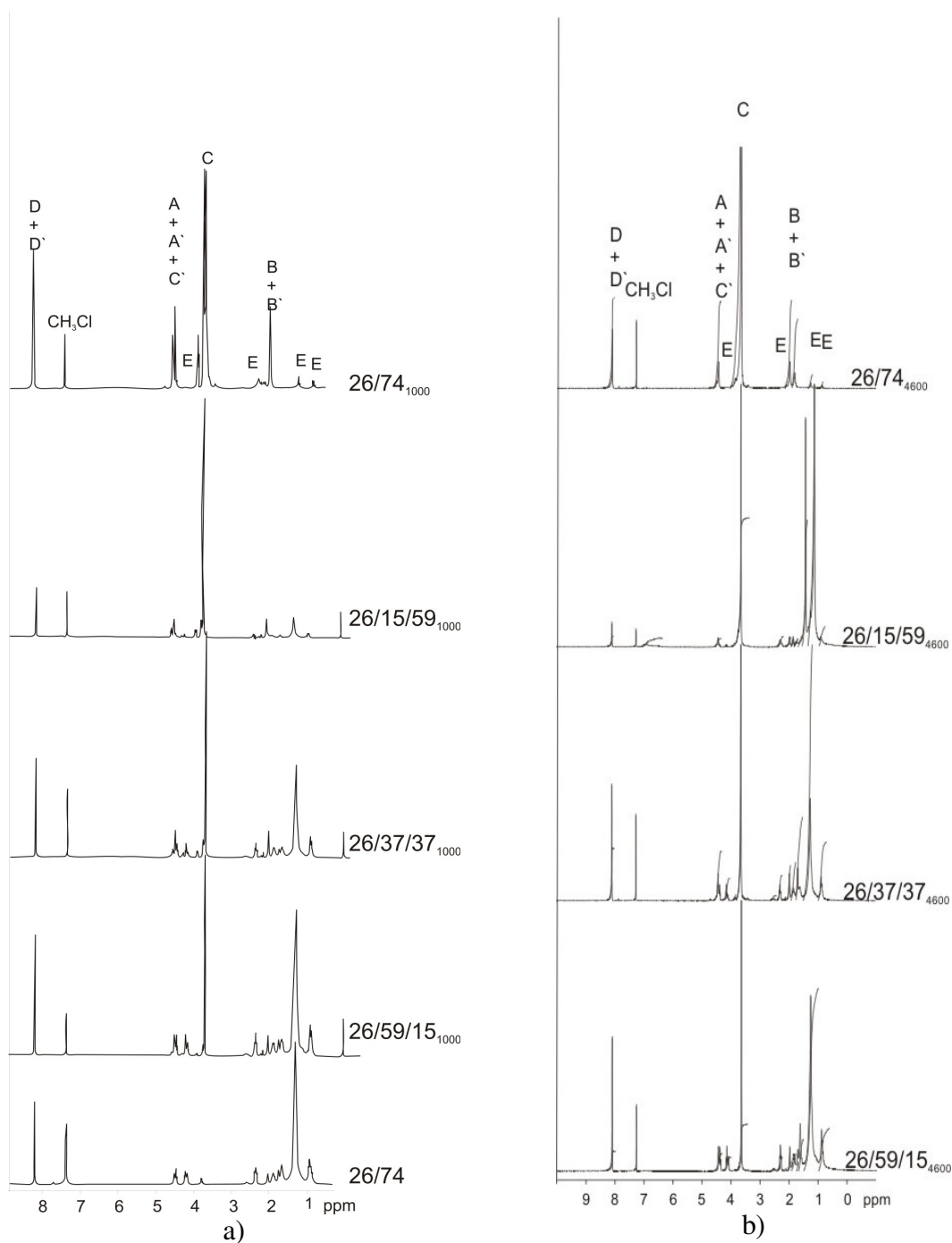
Rys. 14. Widma w podczerwieni terpolimerów zawierających 26% segmentów PBT i zmienny udział segmentów DLA i PEG 1000 (a) oraz 4600 (b). Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**



Rys. 15. Widma w podczerwieni terpolimerów zawierających 45% segmentów sztywnych *PBT* i zmienny udział segmentów *DLA* i *PEG 1000* (a) oraz *4600* (b). Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny *PBT*/segment giętki *DLA*/segment giętki *PEG*

Badanie metodą protonowego rezonansu magnetycznego ^1H NMR

W celu potwierdzenia zakładanej budowy chemicznej ko- i terpolimerów wykonano badania ^1H NMR. Rys.16 i 17 przedstawiają widma, w których zidentyfikowano sygnały pochodzące od protonów występujących w badanych polimerach o różnej intensywności względnej.

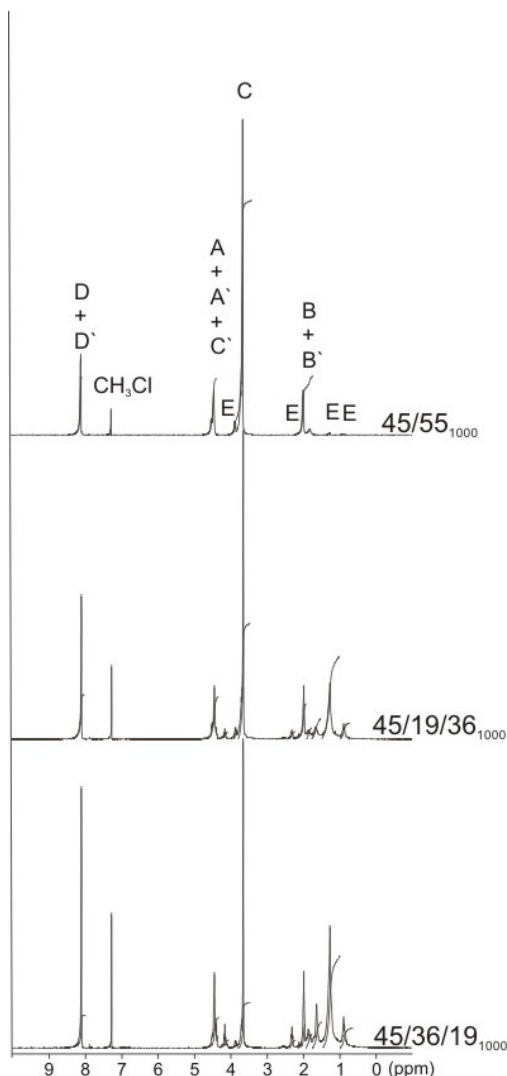


Rys. 16. Widma H^1 NMR układów zawierających 26% segmentów sztywnych PBT i zmienny udział segmentów DLA i PEG₁₀₀₀ (a) oraz 4600 (b). Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny PBT/segment giętki DLA/segment giętki PEG

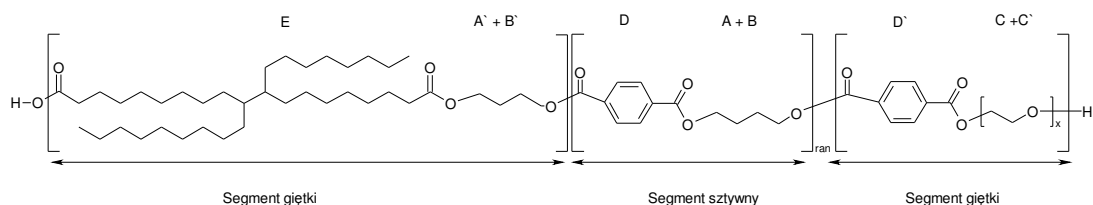
Sygnały w zakresie 8,26 ppm odpowiadają protonom metylenowym pochodzącym od pierścienia benzoesowego występującego w segmentach sztywnych (reszty kwasu tereftalowego) jak i giętkich eterowych (z dwoma podstawnikami). Dwa multiplety przy 4,2 i 2,0 ppm można przypisać protonom metylenowym pochodzącym od 1,4-BD. Natomiast sygnały o największej intensywności obserwowane w obszarze 4,5 i 3,87 ppm

opisują protony pochodzące od PEG. Pozostałe multiplety można przypisać protonom alifatycznym pochodzącym od DLA.

Uzyskane wyniki pozwoliły na ustalenie budowy chemicznej ko- i terpolimerów jak to pokazano na Rys. 18.



Rys. 17. Widma H^1 NMR układów zawierających 45% segmentów sztywnych PBT i PEG_{1000} . Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny PBT/segment giętki DLA/segment giętki PEG



$$x = 22, 105$$

DP_h – teoretyczny stopień polimeryzacji polikondensacyjnej segmentów sztywnych = 1 i 2,8

Rys. 18. Schemat budowy chemicznej terpolimerów multiblokowych TEEE

6.1.2 Określenie właściwości fizyko-chemicznych TEEE

Dla otrzymanych multibkolowych terpolimerów wykonano podstawowe badania właściwości fizyko-chemicznych w funkcji zawartości eterowych segmentów giętkich oraz ich zmiennego ciężaru cząsteczkowego. Wyznaczono wartości granicznej liczby lepkościowej (GLL) oraz oznaczono masy cząsteczkowe metodą chromatografii wykluczania wg. wymiarów (SEC).

Graniczna liczba lepkościowa (GLL)

Pomiary granicznej liczby lepkościowej (GLL) zostały przeprowadzone dla wszystkich badanych ko- i terpolimerów. Wyniki przeprowadzonych pomiarów umieszczono w tabelach 6 i 7.

Wiadomo, iż masa cząsteczkowa polimeru jest bezpośrednio związana z lepkością jego roztworu [115]. Z równania Staudingera, zmodyfikowanego przez Marka i Houwinka wynika, że graniczna liczba lepkościowa wzrasta wraz z wartością lepkościowo średniej masy cząsteczkowej polimeru [116].

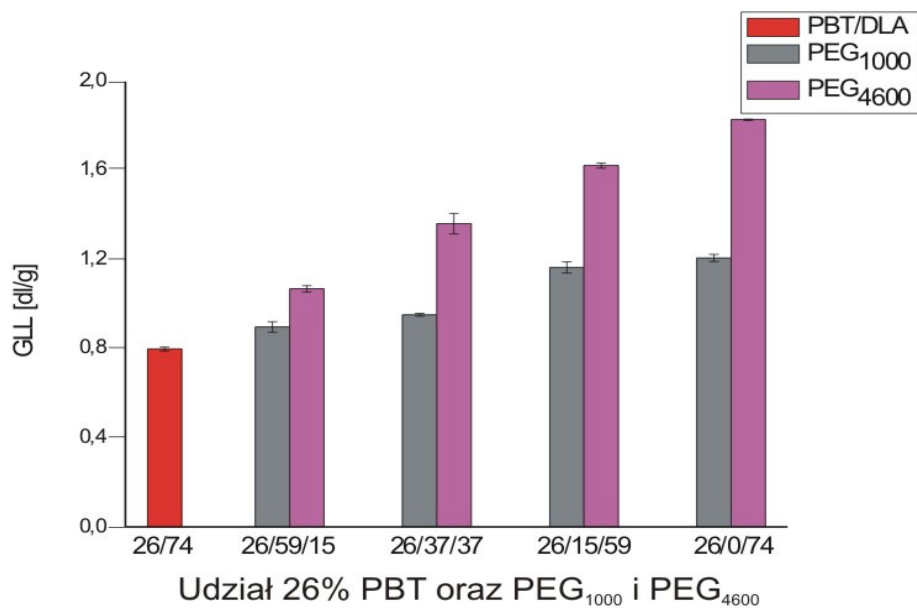
Z tabel 6 i 7 wynika, że największą wartość GLL posiada układ zawierający 74% PEG₄₆₀₀ (1,829 dl/g). GLL osiąga wyższe wartości przy tym samym udziale procentowym segmentów sztywnych i giętkich dla polimerów zawierających PEG o masie cząsteczkowej 4600 g/mol (Tabela 7) w porównaniu do PEG o masie cząsteczkowej 1000g/mol (Tabela 6).

Tab. 6. Wartości GLL dla TEEE zawierających PEG₁₀₀₀

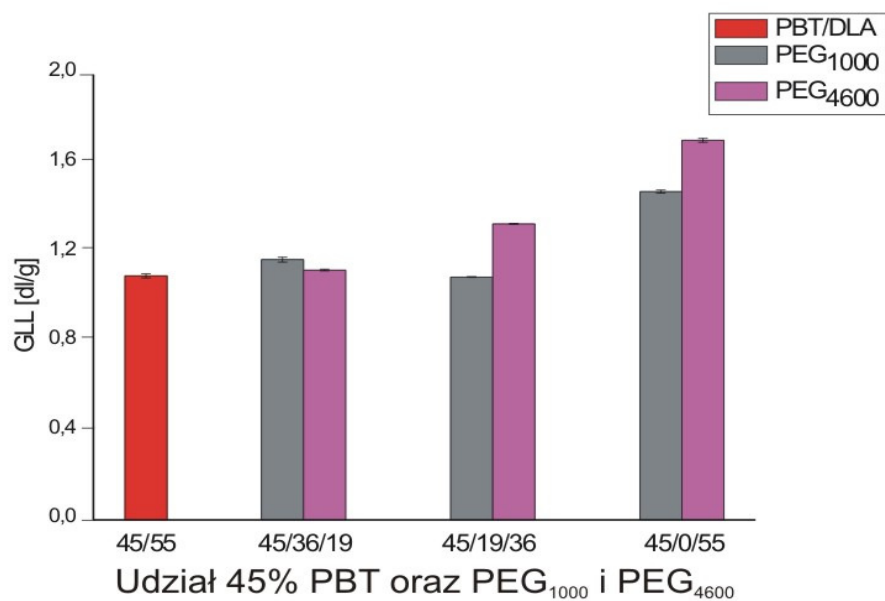
Skład materiału	GLL [dl/g]
26/74	0,799
26/59/15 ₁₀₀₀	0,898
26/37/37 ₁₀₀₀	0,953
26/15/59 ₁₀₀₀	1,165
26/74 ₁₀₀₀	1,208
45/55	1,096
45/36/19 ₁₀₀₀	1,169
45/19/36 ₁₀₀₀	1,091
45/55 ₁₀₀₀	1,475

Tab. 7. Wartości GLL dla TEEE zawierających PEG₄₆₀₀

Skład materiału	GLL [dl/g]
26/74	0,799
26/59/15 ₄₆₀₀	1,070
26/37/37 ₄₆₀₀	1,362
26/15/59 ₄₆₀₀	1,623
26/74 ₄₆₀₀	1,829
45/55	1,096
45/36/19 ₄₆₀₀	1,122
45/19/36 ₄₆₀₀	1,330
45/55 ₄₆₀₀	1,705



Rys.19. Zmiany GLL w zależności od zmiennej zawartości segmentów giętkich DLA i PEG 1000 oraz 4600 przy stałej zawartości segmentów sztywnych równych 26% . Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny PBT/segment giętki DLA/segment giętki PEG



Rys.20. Zmiany GLL w zależności od zmiennej zawartości segmentów giętkich DLA i PEG 1000 oraz 4600 przy stałej zawartości segmentów sztywnych równych 45% . Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny PBT/segment giętki DLA/segment giętki PEG

Z przedstawionych na Rys.19 i 20 danych wynika, że polimery TEEE zawierające 26% wag. segmentów sztywnych (Rys. 19) osiągają wyższe wartości granicznej liczby lepkościowej przy większej zawartości PEG tworzącego segmenty

giętkie i wyraźnie zależą od masy cząsteczkowej PEG. Polimery zawierające 45% wag. PBT osiągają wyższe wartości lepkości względnej, choć różnice związane z masą cząsteczkową PEG nie są już tak wyraźne.

Chromatografia wykluczania wg wymiarów (SEC)

W celu oszacowania wartości mas cząsteczkowych otrzymanych terpolimerów multibkolowych wykonano badania metodą chromatografii wykluczania wg wymiarów (GPC/SEC). Badaniom poddano tylko serię zawierającą 26% wag. segmentów sztywnych ze względu na dobrą rozpuszczalność w chloroformie (seria polimerów zawierających 45% wag. segmentów sztywnych nie rozpuszczała się w stosowanym rozpuszczalniku). Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 8.

Stwierdzono, że wzrost zawartości PEG oraz jego wyższa masa cząsteczkowa wpływają na wzrost wartości liczbowo (M_n) i wagowo (M_w) średnich mas cząsteczkowych zsyntezowanych materiałów polimerowych. Wzrasta również dyspersyjność (polidispersyjność) mas cząsteczkowych (M_w/M_n).

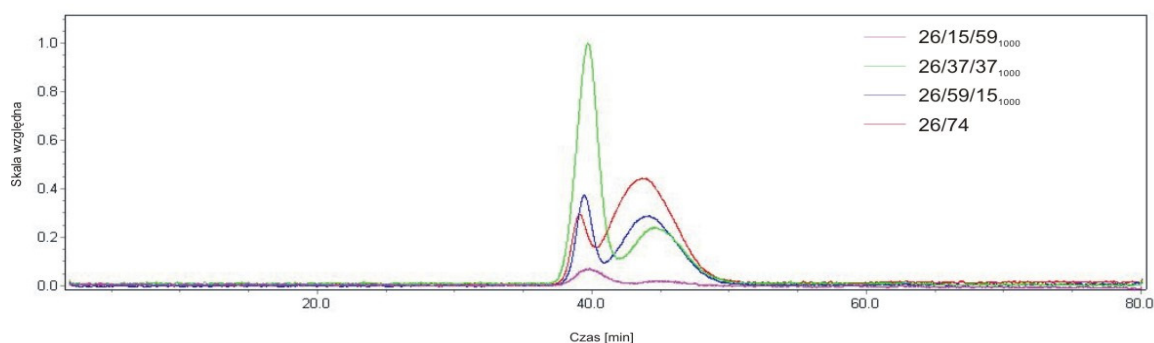
Tab. 8. Wartości mas cząsteczkowych dla układów zawierających PEG₁₀₀₀ i PEG₄₆₀₀

Skład materiału	M_n	M_w	M_w/M_n
26/74	8.595e+3	1.686e+4	1.962
26/59/15 ₁₀₀₀	7.090e+3	1.427e+4	2.013
26/37/37 ₁₀₀₀	8.039e+3	2.581e+4	3.211
26/15/59 ₁₀₀₀	1.852e+5	3.432e+5	1.854
26/74 ₁₀₀₀	*		

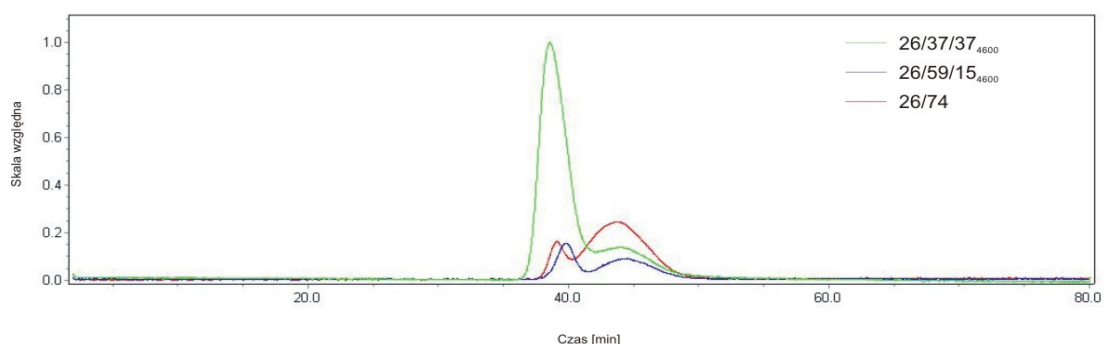
Skład materiału	M_n	M_w	M_w/M_n
26/74	8.595e+3	1.686e+4	1.962
26/59/15 ₄₆₀₀	1.519e+4	3.320e+4	2.186
26/37/37 ₄₆₀₀	1.988e+4	9.080e+4	4.566
26/15/59 ₄₆₀₀	*		
26/74 ₄₆₀₀	*		

* polimer nie rozpuścił się w THF

Rys. 21 i 22 przedstawiają chromatogramy z charakterystycznymi bimodalnymi krzywymi rozkładu mas cząsteczkowych.



Rys. 21. Chromatogramy GPC dla TEEE zawierających 26% PBT i zmienną zawartość PEG_{1000} . Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**



Rys. 22. Chromatogramy GPC dla TEEE zawierających 26% PBT i zmienną zawartość PEG_{4600} . Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**

Wyznaczenie wskaźnika szybkości płynięcia (MFI)

Zbadano wpływ zawartości segmentów giętkich PEG na wartości wskaźnika szybkości płynięcia (MFI). Wzrost wartości MFI wiąże się ze spadkiem lepkości stopowej. W Tabelach 9 i 10 przedstawiono wartości MFI dla obydwu serii TEEE różniących się masą cząsteczkową PEG oraz różnym udziałem segmentów sztywnych.

Polimery zawierające 26% segmentów sztywnych oraz PEG o ciężarze cząsteczkowym 1000 g/mol w segmentach giętkich osiągały wysokie wartości wskaźnika szybkości płynięcia (Tab. 9 i Rys. 23). Natomiast dla serii polimerów zawierających 26% PBT oraz PEG_{4600} stwierdzono znacznie niższe wartości MFI (Rys. 24), które gwałtownie spadały wraz z rosnącym udziałem PEG_{4600} .

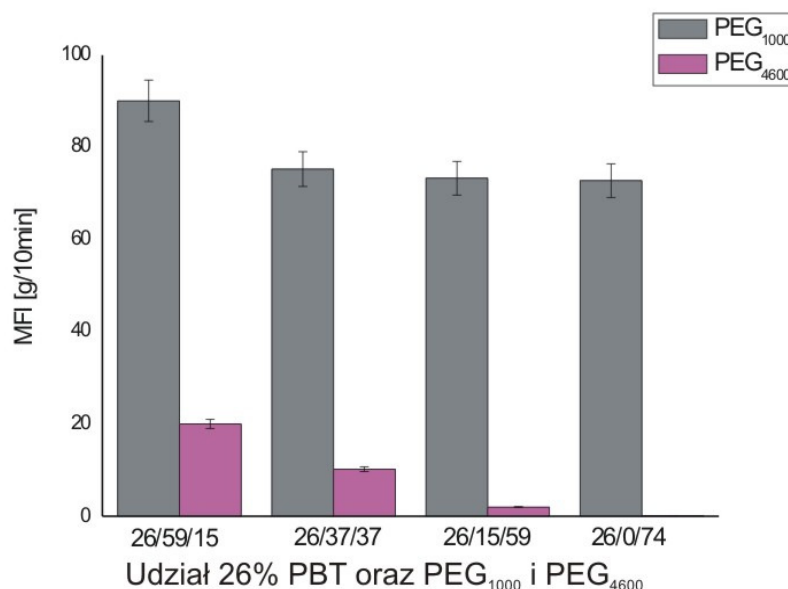
Tabela 9. Wartości MFI dla TEEE zawierających PEG₁₀₀₀

Skład materiału	MFI [g/10min]
26/74	–
26/59/15 ₁₀₀₀	90,1
26/37/37 ₁₀₀₀	75,3
26/15/59 ₁₀₀₀	73,3
26/74 ₁₀₀₀	72,8
45/55	35
45/36/19 ₁₀₀₀	67
45/19/36 ₁₀₀₀	60
45/55 ₁₀₀₀	46

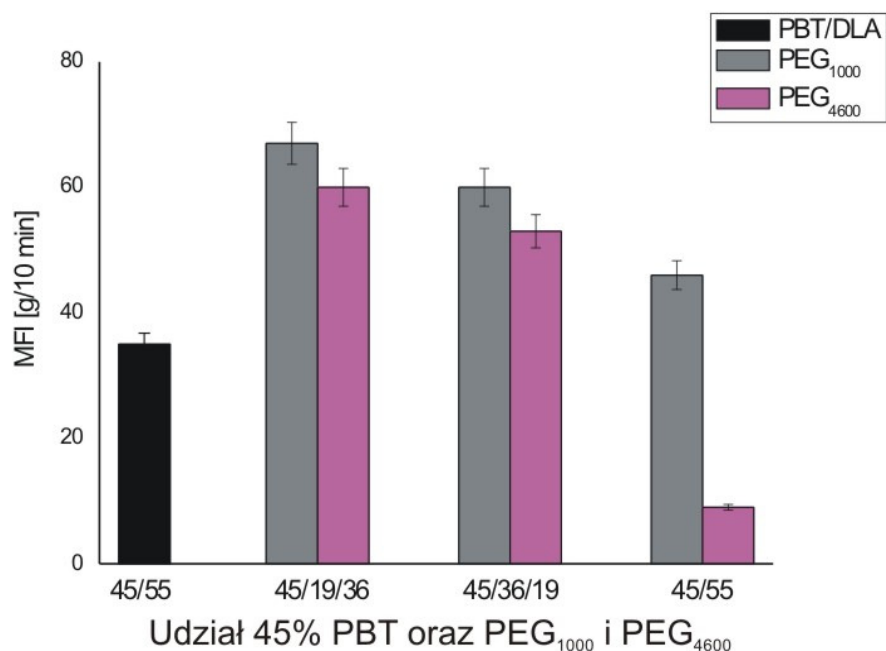
Tabela 10 Wartości MFI dla TEEE zawierających PEG₄₆₀₀

Skład materiału	MFI [g/10min]
26/74	–
26/59/15 ₄₆₀₀	20,0
26/37/37 ₄₆₀₀	10,2
26/15/59 ₄₆₀₀	2,0
26/74 ₄₆₀₀	0,1
45/55	35
45/36/19 ₄₆₀₀	60
45/19/36 ₄₆₀₀	53
45/55 ₄₆₀₀	9

Analizując wyniki dla drugiej serii polimerów, tj. zawierającej wyższy udział segmentów sztywnych (45%) stwierdzono, że wprowadzenie sekwencji oligoeterowych do poli(alifatyczno/aromatycznego-estru), wyraźnie wpływa na wzrost wskaźnika szybkości płynięcia w porównaniu do kopolimerów zawierających zarówno tylko estrowe segmenty giętkie jak i poli(estro-eterów) (Rys. 24). Najniższą wartość MFI zaobserwowano dla polimeru zawierającego 26% PBT oraz 74% PEG₄₆₀₀ równą 0,076 g/10min.



*Rys. 23. Wskaźnik szybkości płynięcia (MFI) dla polimerów zawierających 26% segmentów sztywnych i zmienny udział PEG₁₀₀₀ i PEG₄₆₀₀ w segmentach giętkich wyznaczony w temperaturze 170°C i pod obciążeniem 2160g. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG***



Rys. 25. Wskaźnik szybkości płynięcia (MFI) dla polimerów zawierających 45% segmentów sztywnych i zmienny udział PEG₁₀₀₀ i PEG₄₆₀₀ w segmentach giętkich wyznaczony w temperaturze 230°C i pod obciążeniem 2160g. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**

Zwilżalność powierzchni TEEE

Nadrzędnym celem pracy było otrzymanie materiałów o właściwościach hydrofilowych gdyż poli(alifatyczno/aromatyczne-estry) zawierające dimeryzowany kwas tłuszczowy są materiałami o hydrofobowych właściwościach. Jednym ze sposobów osiągnięcia celu pracy było zastosowanie hydrofilowego PEGu, zwłaszcza o wysokiej masie cząsteczkowej. Właściwości hydrofilowe zweryfikowano na podstawie badań kąta zwilżania powierzchni polimerów wodą. Otrzymane wartości przedstawiono w tabelach 11 i 12.

Jak wynika z przedstawionych danych, kopolimer PBT/DLA wykazuje stosunkowo wysokie wartości kąta zwilżania (92°). Wprowadzenie oligoeteru (PEG₁₀₀₀) (Tab.11) do struktury polimeru skutkuje znacznym obniżeniem wartości kąta zwilżania (do ok. 71°), przy czym najniższą wartość (58,8°) zaobserwowano dla TEEE zawierającego stosunkowo mało, bo tylko 15% wag. PEG₁₀₀₀.

Tab.11. Wartości kąta zwilżania dla TEEE zawierających PEG₁₀₀₀

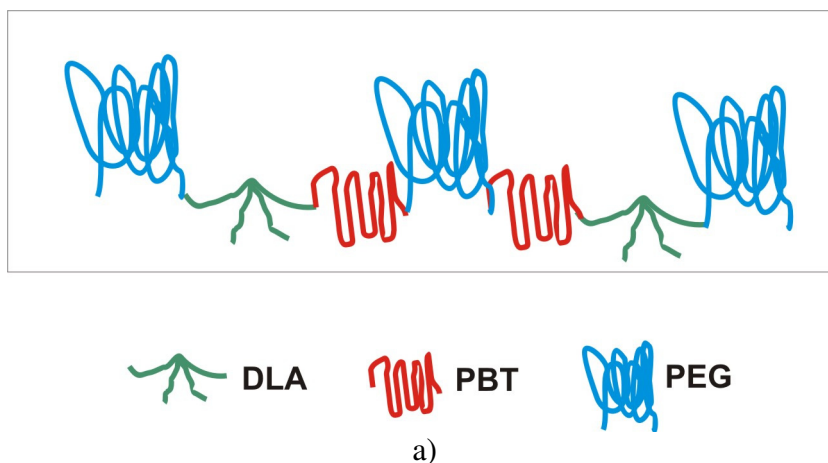
Skład materiału	Kąt zwilżania [°]
26/74	92 ± 2
26/59/15 ₁₀₀₀	58,8 ± 0,95
26/37/37 ₁₀₀₀	71,7 ± 5,29
26/15/59 ₁₀₀₀	71,9 ± 1,69
45/55	75,4 ± 0,81
45/36/19 ₁₀₀₀	62,1 ± 0,59
45/19/36 ₁₀₀₀	69,8 ± 6,41

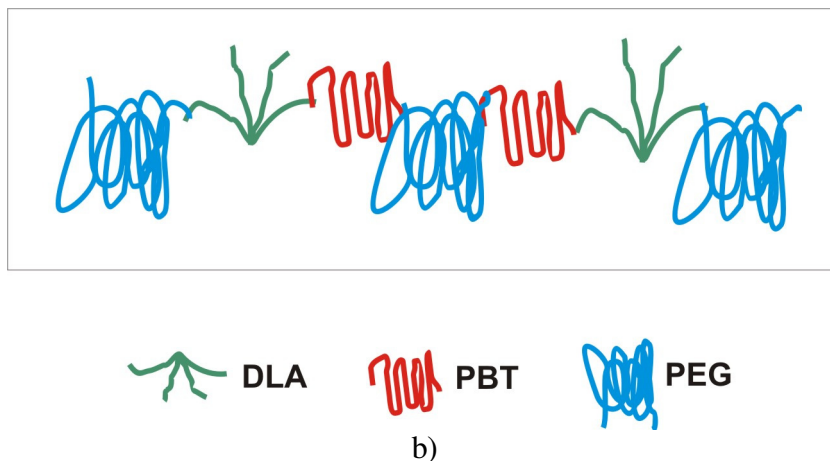
Tab.12. Wartości kąta zwilżania dla TEEE zawierających PEG₄₆₀₀

Skład materiału	Kąt zwilżania [°]
26/74	92 ± 2
26/59/15 ₄₆₀₀	34,1 ± 0,86
26/37/37 ₄₆₀₀	73,1 ± 0,11
26/15/59 ₄₆₀₀	106,5 ± 0,24
45/55	75,4 ± 0,81
45/36/19 ₄₆₀₀	20,7 ± 3,89
45/19/36 ₄₆₀₀	72,3 ± 6,61

Podobnie niską wartość stwierdzono w serii terpolimerów multiblokowych zawierających PEG₄₆₀₀ (Tab. 12), gdzie wartość kąta zwilżania zmniejszyła się dla analogicznego układu aż do 34,1°. Podobne zjawisko obniżenia wartości kąta zwilżania powierzchni badanych materiałów wodą zaobserwowano dla serii polimerów zawierających wyższy udział segmentów sztywnych. Interesujący jest fakt, iż w każdej z badanych serii terpolimerów, zwiększony udział segmentów eterowych powodował podwyższenie wartości kąta zwilżania w porównaniu do materiałów zawierających niższą zawartość hydrofilowego PEG.

Obserwowane zmiany można tłumaczyć zjawiskiem preferencyjnego ustawiania się silnie hydrofilowych domen PEG na powierzchni polimeru, co zobrazowano na Rys.25a. Co więcej, w przypadku zastosowania PEG₄₆₀₀, ale w TEEE o największym udziale tj. 59% wag. osiąga on najwyższą wartość (106,5°). W tym przypadku można przypuszczać, że to hydrofobowy DLA preferencyjnie układa się na powierzchni polimeru (Rys.25b). Przypuszczenia takie jednak wymagają potwierdzenia, chociażby takimi metodami jak SAXS.





Rys. 25. Hipotetyczne ułożenie domen hydrofilowych i hydrofobowych w TEEE zawierających 15% wag. segmentów hydrofilowych PEG (a) lub 15% wag. segmentów hydrofobowych DLA (b)

6.1.3 Wpływ ciężaru cząsteczkowego PEG na właściwości termiczne TEEE

Przeprowadzono badania DSC multibkolowych ko- i terpolimerów zawierających 26% i 45% wag. segmentów sztywnych oraz różniących się składnikami i ich zawartością w segmentach giętkich.

Na termogramach zaznaczono zmiany temperatur przemian fazowych, w tym. temperatury krystalizacji T_c , topnienia T_m i zeszklenia T_g oraz ciepło topnienia i krystalizacji (ΔH_m i ΔH_c) nowych multibkolowych terpoli(estro–etero–estrów). Tabele 13 i 14 zawierają zestawienie wyznaczonych wartości.

Na rysunkach 26-27 przedstawiono termogramy DSC ko- i terpolimerów zawierających 26% segmentów sztywnych oraz zmienny udział segmentów giętkich PEG o różnych ciężarach cząsteczkowych. Zgodnie z zasadami doboru składników segmentów giętkich, substancje polimerowe, które mogą tworzyć tego typu segmenty w elastomerach termoplastycznych powinny wykazywać odpowiednią wartość parametru rozpuszczalności i są zazwyczaj amorficzne [117]. Zastosowany dimeryzowany kwas tłuszczowy oraz poli(glikol etylenowy) spełniają kryterium niemieszalności termodynamicznej z segmentami sztywnymi [118], choć PEG przy wysokich masach cząsteczkowych wykazuje zdolność do krystalizacji, co zostało udowodnione w literaturze [3].

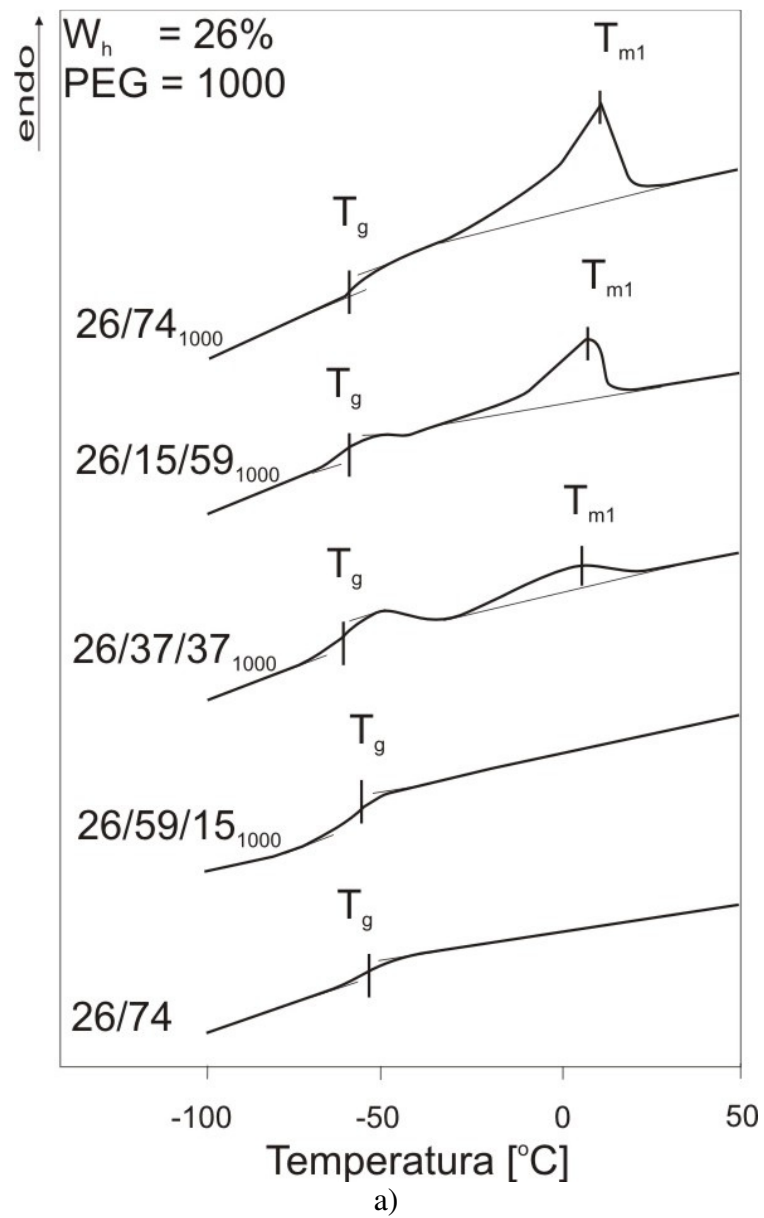
*Tabela 13. Wyniki analizy termicznej z pomiarów DSC dla TEEE zawierających 26% segmentów sztywnych. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG***

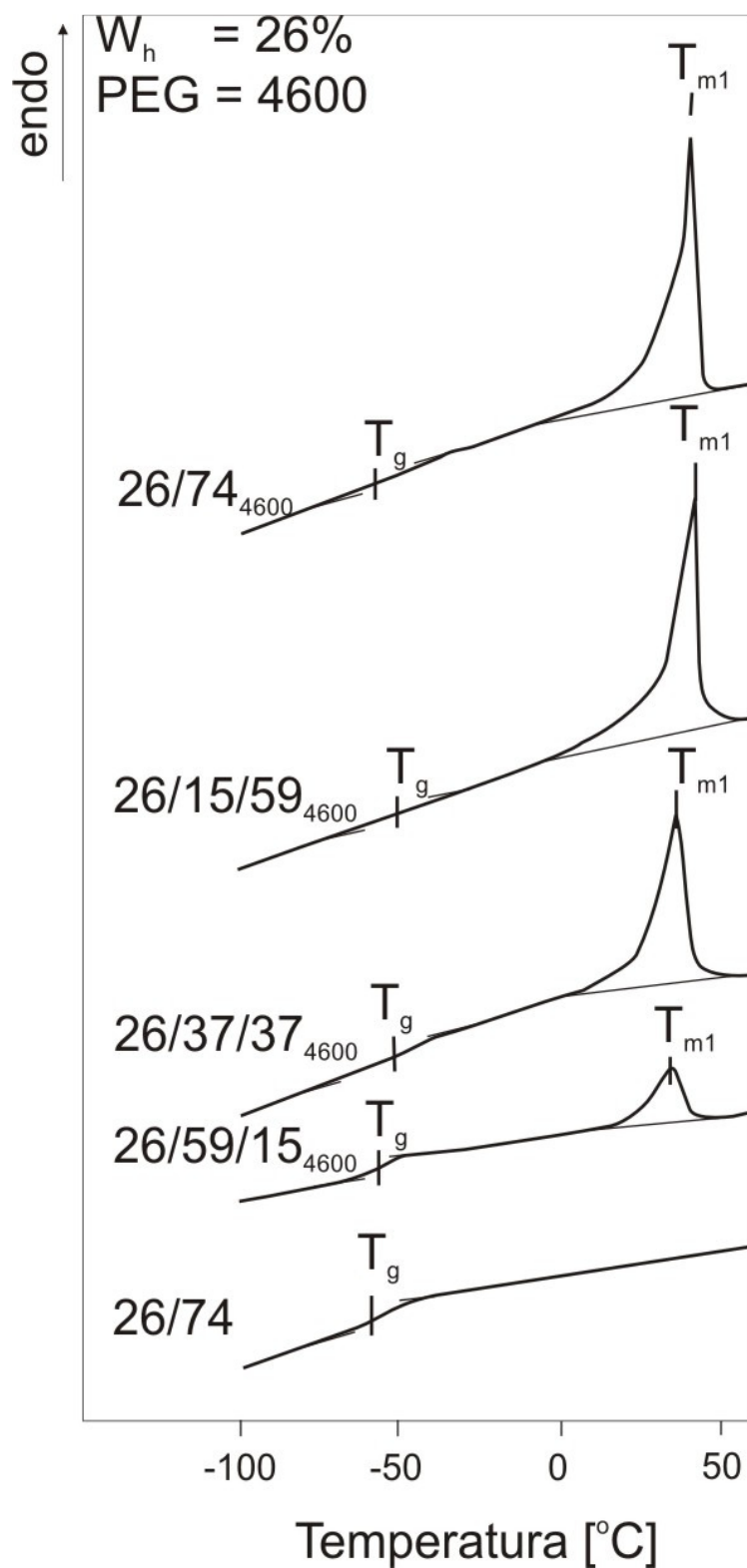
Skład materiału	Segmenty giętkie						Segmenty sztywne			
	T_{gl} [°C]	Δcp [J/g°C]	T_{c1} [°C]	ΔH_{c1} [J/g]	T_{m1} [°C]	ΔH_{m1} [J/g]	T_{c2} [°C]	ΔH_{c2} [J/g]	T_{m2} [°C]	ΔH_{m2} [J/g]
26/74	-54,2	0,466	-	-	-	-	11,5	7,64	103	8,49
PEG 1000										
26/59/15 ₁₀₀₀	-55,6	0,530					13,4	7,56	102,7	6,07
26/37/37 ₁₀₀₀	-62,4	0,484	-	-	3,4	8,381	58,9	5,78	122,3	8,02
26/15/59 ₁₀₀₀	-59,3	0,504	-32,9	15,55	5,8	24,25	60,2	9,24	125,6	8,74
26/74 ₁₀₀₀	-59,1	0,442	-20,2	35,76	5,9	36,06	89,9	8,41	137,9	8,90
PEG 4600										
26/59/15 ₄₆₀₀	-54,4	0,298	32,7	15,25	32,7	15,25	30,0	7,26	123,5	5,59
26/37/37 ₄₆₀₀	-50,7	0,282	-5,7	34,40	34,2	34,79	68,0	6,14	142,9	10,19
26/15/59 ₄₆₀₀	-51,3	0,320	8,8	54,69	40,5	59,38	125,9	7,94	174,0	6,09
26/74 ₄₆₀₀	-57,3	0,323	15,7	61,76	39,6	74,48	153,5	7,62	195,2	6,81

*Tabela 14. Wyniki analizy termicznej z pomiarów DSC dla TEEE zawierających 45% segmentów sztywnych. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG***

Skład materiału	Segmenty giętkie						Segmenty sztywne			
	T_{gl} [°C]	Δcp [J/g°C]	T_{c1} [°C]	ΔH_{c1} [J/g]	T_{m1} [°C]	ΔH_{m1} [J/g]	T_{c2} [°C]	ΔH_{c2} [J/g]	T_{m2} [°C]	ΔH_{m2} [J/g]
45/55	-43,7	0,230	-	-	-	-	73,3	20,85	165,4	16,97
PEG 1000										
45/36/19 ₁₀₀₀	-35,6	0,433	-	-	-	-	112,8	22,39	169,1	15,98
45/19/36 ₁₀₀₀	-47,5	0,254	-	-	-	-	125,1	20,75	174,1	16,49
45/55 ₁₀₀₀	-59,0	0,292	-	-	-8,1	2,38	131,5	23,76	186,7	18,44
PEG 4600										
45/36/19 ₄₆₀₀	-47,3	0,209	-46,0	10,35	26,7	19,19	104,2	15,81	176,0	12,41
45/19/36 ₄₆₀₀	-58,3	0,068	-22,3	19,56	27,1	23,55	140,2	23,89	192,9	17,40
45/55 ₄₆₀₀	-58,1	0,020	5,0	40,88	37,3	42,28	176,6	26,82	221,1	20,88

T_g , T_m , T_c – odpowiednio temperatura zeszklenia, topnienia, krystalizacji, ΔH_m , ΔH_c – odpowiednio entalpia topnienia, krystalizacji, Δcp – pojemność cieplna





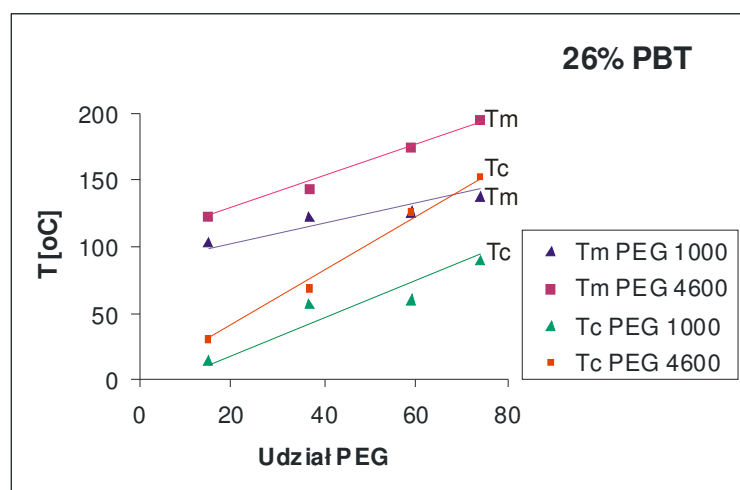
b)

Rys. 26. Termogramy DSC dla ko- i terpolimerów zawierających 26% wag. segmentów sztywnych oraz PEG₁₀₀₀(a) i PEG₄₆₀₀ (b). Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**

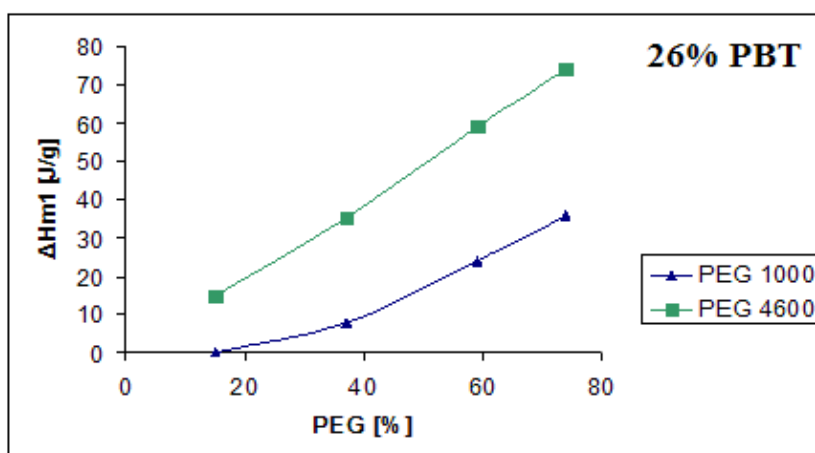
Analiza termogramów dla polimerów zawierających 26% segmentów sztywnych i zmienny udział PEG₁₀₀₀ i PEG₄₆₀₀ (Rys. 26 a,) uwidacznia wyraźne przesunięcie

temperatury zeszklenia wraz ze wzrostem zawartości PEG w makroczasteczce. Polimery zawierające od 37% PEG wykazują endotermie topnienia segmentów giętkich przypisywane PEG₁₀₀₀. Ich występowanie w pobliżu T_g utrudnia znacznie prawidłowe odczytanie zmian ciepła właściwego. Efekt topnienia segmentów giętkich jest jeszcze bardziej wyraźny dla serii polimerów zawierających PEG₄₆₀₀ (Rys. 26 b) , gdzie już dla polimeru o najniższej zawartości segmentów eterowych, tj. 15% obserwowane są endotermie topnienia.

Na podstawie analizy zależności temperatur T_m i T_c w funkcji udziału wagowego PEG (Rys. 27) stwierdzono, że zarówno temperatura topnienia jak i temperatura krystalizacji terpolimerów przesuwają się w kierunku wyższych temperatur wraz ze zwiększającym się udziałem sekwencji oligoeterowych w segmentach giętkich.



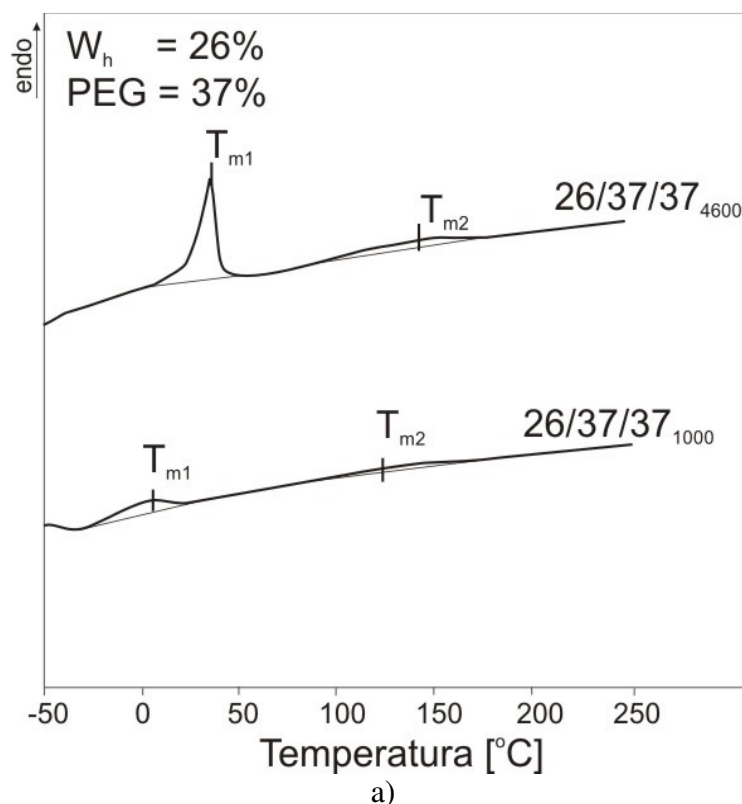
Rys.27. Przebieg zmian temperatury topnienia T_{m2} segmentów sztywnych i temperatury krystalizacji T_c w funkcji zawartości PEG w segmentach giętkich.

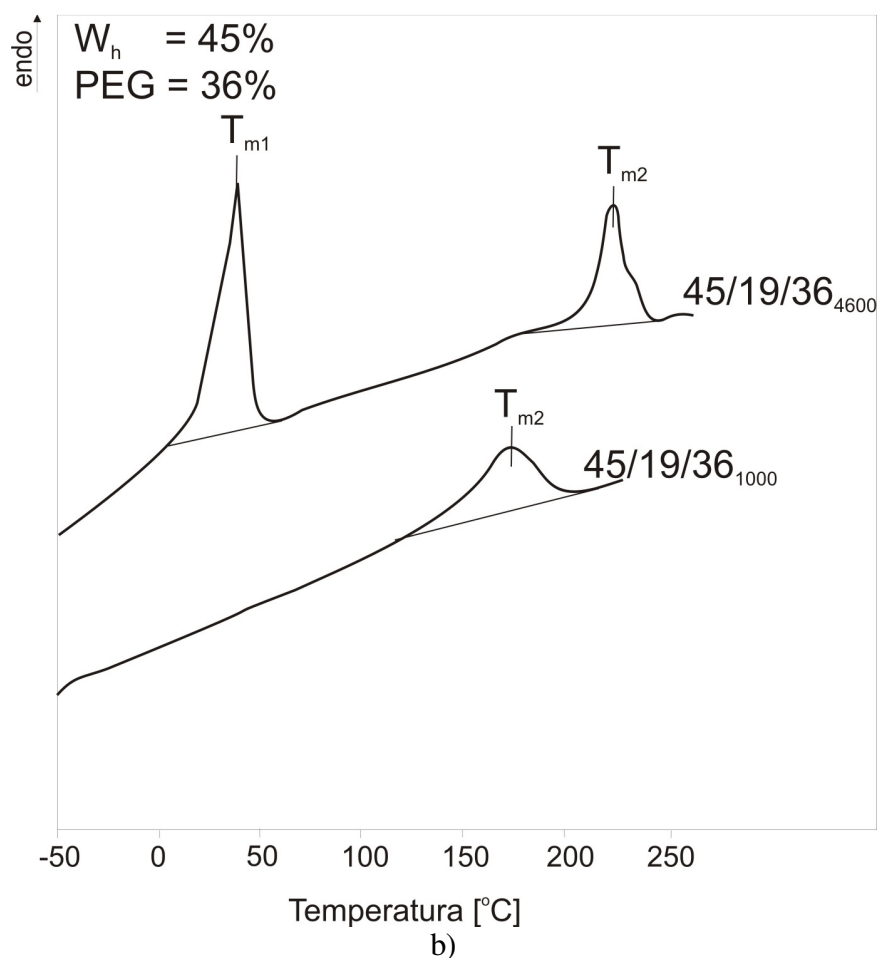


Rys. 28. Przebieg zmian entalpii topnienia ΔH_{m1} w funkcji zawartości PEG w segmentach giętkich.

Podobny charakter zmian odnotowano dla zmian entalpii topnienia krystalitów fazy giętkiej, ΔH_{m1} , która maleje wraz ze zmniejszającą się zawartością PEG (Rys. 28), przy czym dla terpolimerów zawierających PEG₄₆₀₀ zaobserwowano wyższe wartości entalpii topnienia niż w przypadku terpolimerów zawierających PEG₁₀₀₀.

Na Rys. 29 a i b przedstawiono przykładowe przebiegi termogramów DSC terpolimerów zawierających w segmentach giętkich bloki oligoeterowe (PEG) o różnych masach cząsteczkowych i zmienny udział segmentów sztywnych PBT (odpowiednio 26 i 45% wag.). Dla terpolimerów zawierających niski udział segmentów sztywnych (Rys. 27a) zaobserwowano endotermie topnienia krystalitów segmentów giętkich T_{m1} i sztywnych T_{m2} . Wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej PEG temperatury T_{m1} i T_{m2} przesuwają się w kierunku wartości dodatnich.



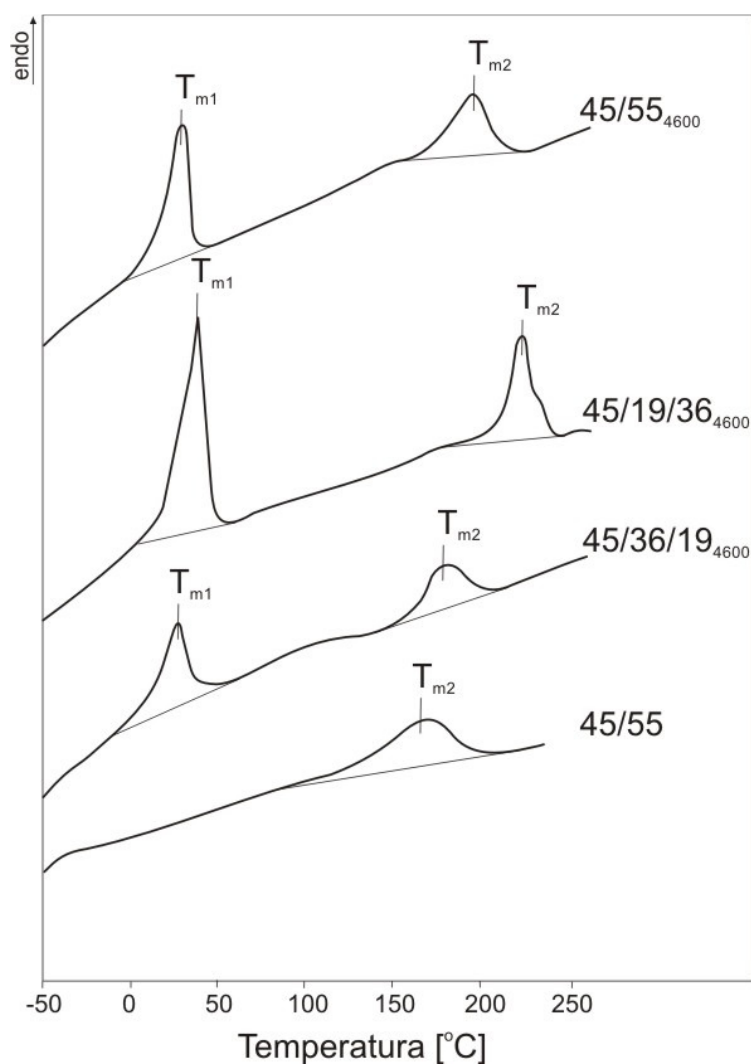


Rys. 29. Termogramy DSC terpolimerów zawierających 26% wag. (a) i 45% wag. (b) segmentów sztywnych i PEG o różnych masach cząsteczkowych.

Podobne zjawisko występowania temperatury T_{m1} segmentów giętkich i jej zmiany w zależności od budowy segmentów obserwowano w układach terpolimerów, w których zamiast PEG stosowano poli(oksy)tetrametylen (PTMO) [119]. W przypadku terpolimerów zawierających wyższy udział segmentów sztywnych (45% wag.) i oligoeterowe segmenty giętkie zbudowane z udziałem PEG₁₀₀₀ (Rys. 27b), nie zaobserwowano wystąpienia temperatury topnienia T_{m1} . Dopiero zastosowanie oligoeteru o wysokiej masie cząsteczkowej (PEG₄₆₀₀) wywołuje krystalizację segmentów giętkich, widoczną jako ostra endoterma T_{m1} .

Na Rys. 30 przedstawiono termogramy dla serii TEEE o zmiennym udziale oligoeterowych segmentów giętkich o masie cząsteczkowej 4600 g/mol i zawartości 45% wag. segmentów sztywnych. W części niskotemperaturowej termogramów obserwuje się endotermy przypisywane topnieniu fazy krystalicznej segmentów giętkich T_{m1} . Pik topnienia segmentów sztywnych, T_{m2} , przesuwa się w kierunku

wyższych temperatur wraz ze wzrostem udziału PEG w TEEE. Endotermy w części wysokotemperaturowej ulegają również wyostrzeniu.



Rys. 30. Przykładowe przebieg termogramów DSC terpolimerów TEEE zawierających 45% wag. segmentów sztywnych i zmienny udział DLA oraz PEG4600. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny PBT/segment giętki DLA/segment giętki PEG

6.1.4 Badania właściwości relaksacyjnych TEEE metodą dynamicznej analizy termomechanicznej (DMTA)

Otrzymane ko- i terpolimery multiblokowe charakteryzowano pod kątem struktury fazowej, a zwłaszcza przemian relaksacyjnych w cząsteczce, które wpływają na wiele cech użytkowych polimerów. W tym celu przeprowadzono badania metodą

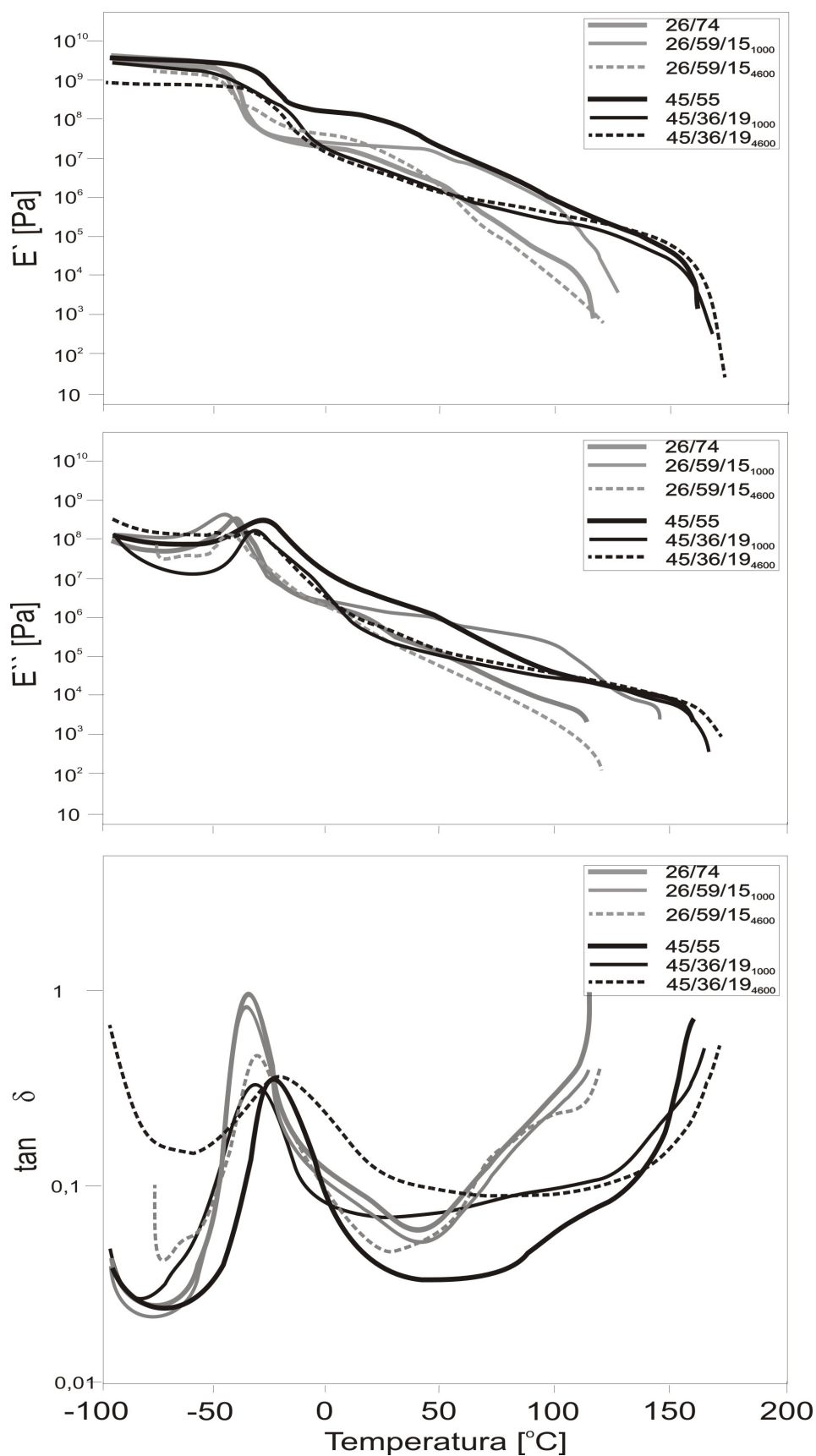
dynamicznej analizy termomechanicznej (DMTA) (Rys. 31, 32). DMTA opisuje procesy relaksacyjne w materiałach polimerowych zachodzące podczas przechodzenia od stanu zeszkłonego to stopionego w funkcji temperatury.

Dla terpolimerów zawierających 26% segmentów sztywnych (próbki 26/59/15 zawierające odpowiednio 26%PBT, 59%DLA i 15%PEG) i 45% segmentów sztywnych (próbki 45/36/19 zawierające odpowiednio 45%PBT, 36%DLA i 19%PEG) różniących się ciężarem cząsteczkowym użytego PEG oraz dla poli(alifatyczno/aromatycznych-estrów) 26/74 i 45/55 zaobserwowano pomiędzy T_g a T_m relatywnie płaski przebieg modułu E' (Rys. 31). W temperaturze poniżej -80°C wszystkie układy wykazują charakterystyczną dla stanu szklanego wartość modułu zachowawczego powyżej 10^9 Pa. Ze wzrostem temperatury obserwuje się obniżenie wartości modułów, co z kolei charakteryzuje przejście segmentów giętkich w stan lepkosprężysty. Dalszy wzrost temperatury powoduje wystąpienie szerokiego plateau modułu, które kończy się gwałtownym obniżeniem w punkcie stopienia krystalitów segmentów sztywnych. Dla terpolimerów zawierających 45% segmentów sztywnych, wyższa masa cząsteczkowa oligoeteru (PEG_{4600}) wyraźnie wpływa na obniżenie wartości modułu zachowawczego w części niskotemperaturowej.

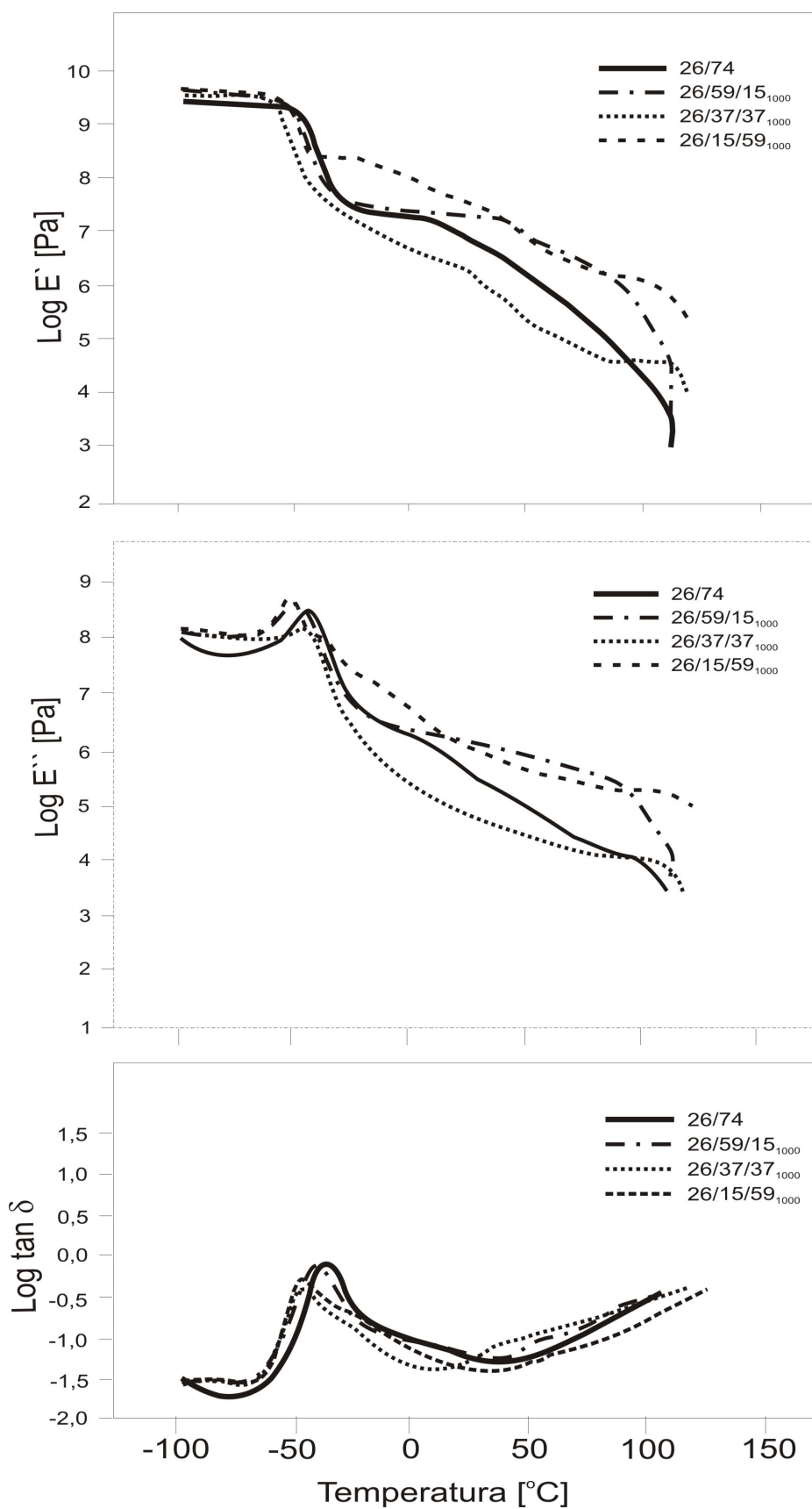
Na rys. 31 wykres środkowy ilustruje zmiany modułu stratności E'' w funkcji temperatury dla wybranych układów. Najwyższą wartość modułu, powyżej 10^8 Pa, o wyraźnym, ostrym maksimum zaobserwowano dla terpolimeru 26/59/15₁₀₀₀ zawierającego wysoki udział amorficznego DLA (59%wag.). Wzrost zawartości segmentów sztywnych w materiałach polimerowych wpływa na przesunięcie maksimów E'' w kierunku wyższych temperatur. Zaobserwowano rozmycie pików, które jest szczególnie wyraźne dla układów zawierających PEG_{4600} .

Ostatni wykres na rys. 31 przedstawia zmiany $\tan \delta$ w funkcji temperatury. Stwierdzono przesunięcie pików $\tan \delta$ wraz ze wzrastającym udziałem segmentów sztywnych w kierunku rosnących temperatur. Dla terpolimerów zawierających PEG_{4600} piki są rozmyte i przesunięte w kierunku wyższych temperatur względem układów z PEG_{1000} i w kierunku niższych temperatur dla niższej zawartości segmentów sztywnych.

Kształt pików modułu E'' i $\tan \delta$ potwierdza obserwacje z badań DSC, a szczególnie dotyczące zmian T_g i T_{m1} wiążące się z ciężarem cząsteczkowym oligoeteru, które wskazują na przesuwanie się wartości wraz ze wzrostem masy cząsteczkowej PEG.



Rys. 31. Zmiany modułu zachowawczego E' , modułu stratności E'' i $\tan \delta$ w funkcji temperatury dla ko- i ter polimerów o zawartości segmentów sztywnych 26% i 45% oraz PEG₁₀₀₀ i PEG₄₆₀₀. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.



Rys. 32. Zmiany modułu zachowawczego E' , modułu stratności E'' i $\tan \delta$ w funkcji temperatury dla ko- i ter polimerów o zawartości segmentów sztywnych 26% oraz PEG₁₀₀₀. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Porównując zmiany w obrębie jednej serii (Rys. 32) zawierającej 26% segmentów sztywnych PBT zauważa się pojawienie się wąskiego plateau w obrębie temperatury topnienia pochodzącej od PEG przy wyższym udziale PEG₁₀₀₀ (37% wag.)

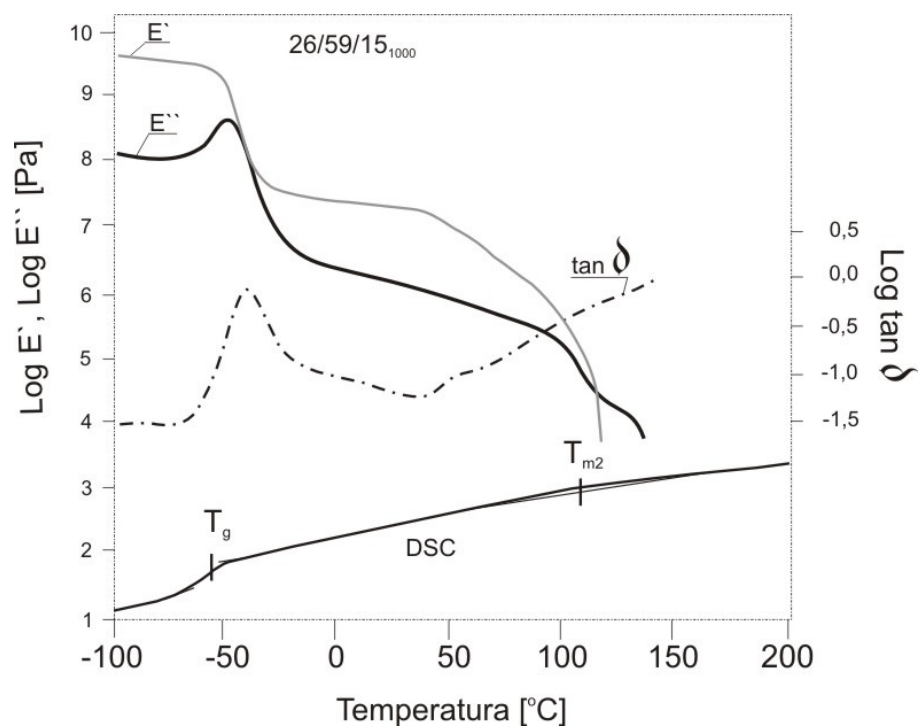
Wzrost zawartości PEG w materiałach polimerowych wpływa na przesunięcie maksimów E'' w kierunku niższych temperatur. Zaobserwowano rozmycie pików, które jest szczególnie wyraźne dla układów zawierających 59% PEG.

Stwierdzono przesunięcie pików $\tan \delta$ wraz ze wzrastającym udziałem PEG w kierunku niższych temperatur. Dla terpolimerów zawierających PEG₁₀₀₀ piki są rozmyte i przesunięte w kierunku niższych temperatur względem układów nie zawierających PEG bądź jego niski udział (15%). Świadczyć to może o nakładaniu się przemian relaksacyjnych, głównie zeszklenia i topnienia segmentów giętkich będących efektem zmniejszenia się współmieszalności sekwencji poli(butylene tereftalanowych) z długimi resztami oligoeterowymi i wystąpienia wyraźnej mikroseparacji fazowej.

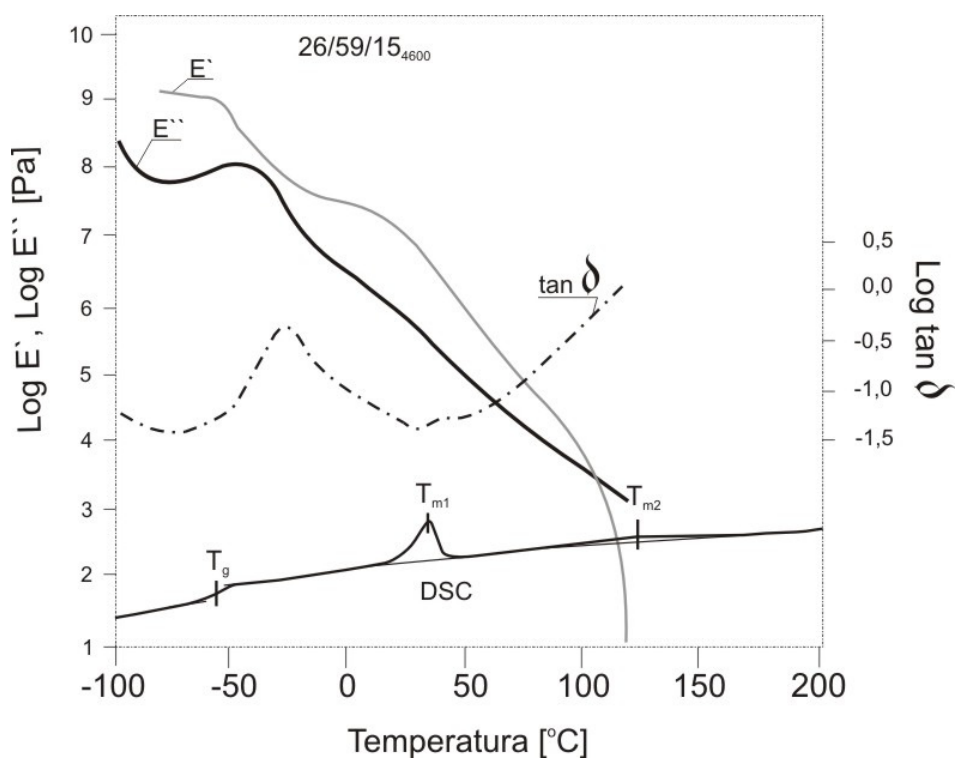
Te polimery, które w badaniach DSC wykazywały wyraźną krystalizację segmentów giętkich (zwłaszcza zawierające oligoeter o masie cząsteczkowej 4600 g/mol) wykazują szerokie maxima mogące świadczyć o zachodzeniu kilku procesów relaksacyjnych jednocześnie [3]. Występowanie węższych pików dla polimerów o wyższym udziale amorficznego DLA może świadczyć m.in. o wzrastającej jednorodności fazy amorficznej.

Na rysunkach 33 i 34 przedstawiono korelację występującą pomiędzy przemianami zachodzącymi na podstawie termogramów DSC z diagramami dynamicznych właściwości mechanicznych, tj. modulem zachowawczym E' , modulem stratności E'' i tangensem kąta stratności $\tan \delta$ dla terpolimerów różniących się masą cząsteczkową PEG.

Dla przedstawionych terpolimerów, jak też i dla pozostałych układów zaobserwowano zgodność pomiędzy strefą zeszklenia, endotermami przypisywanymi topnieniu i krystalizacji segmentów giętkich i sztywnych, a przebiegiem przemian relaksacyjnych zachodzących podczas dynamicznych badań mechanicznych.



Rys. 33. Zależność modułu zachowawczego E' , modułu stratności E'' , $\tan \delta$ i krzywej DSC od temperatury dla terpolimerów zawierających 26%PBT, 59%DLA i 15%PEG₁₀₀₀.



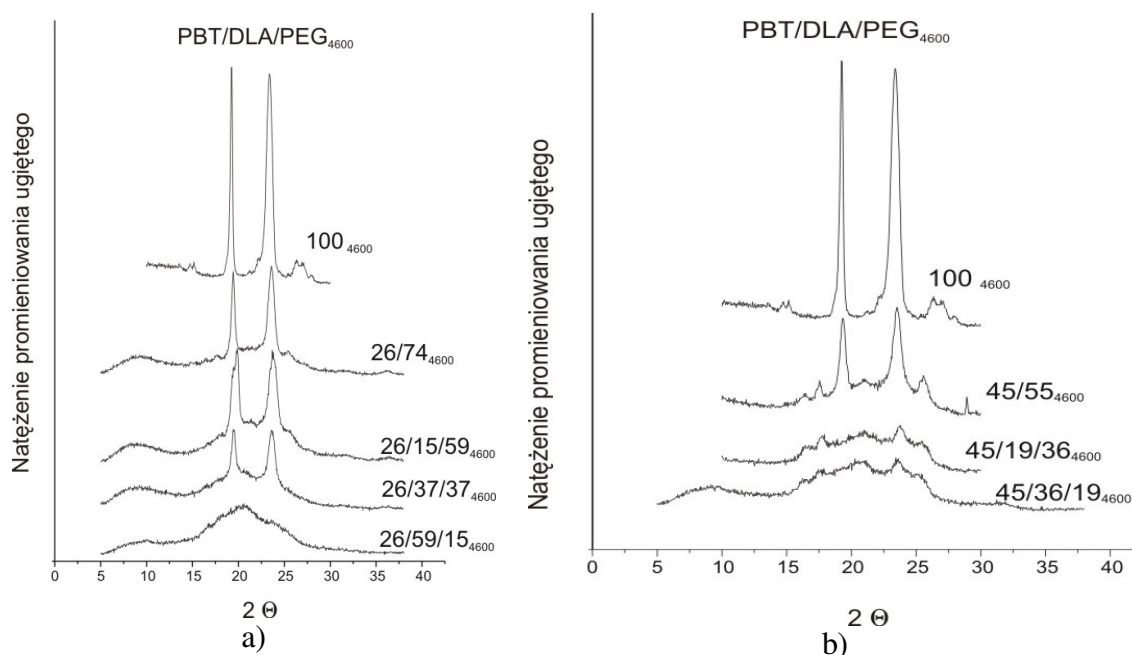
Rys. 34. Zależność modułu zachowawczego E' , modułu stratności E'' , $\tan \delta$ i krzywej DSC od temperatury dla terpolimerów zawierających 26%PBT, 59%DLA i 15%PEG₄₆₀₀.

6.1.5 Analiza struktury TEEE metodą dyfrakcji szerokokątowego promieniowania rentgenowskiego WAXS

Badania terpoli(esrto-etero-estrów) metodą WAXS zostały wykonane w celu oceny jakościowej ich struktury fizycznej, zwłaszcza w odniesieniu do wcześniej diskutowanych wyników różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) i dynamicznych właściwości termomechanicznych (DMTA), i w szczególności dla polimerów zawierających PEG₄₆₀₀ (Rys. 34) w obydwu seriach.

Jakościowa ocena dyfraktogramów dowodzi, że wszystkie polimery wykazują dobrze wykształcone fazy krystaliczne, co wykazano w badaniach DSC. Obraz dyfraktogramów zmienia się wraz ze wzrostem udziału PEG₄₆₀₀. W kopolimerach zawierających 26% segmentów sztywnych (Rys. 35a) występują tylko refleksy o kątach odbłyску odpowiednio $2\theta=19,3$ i $23,4$ odpowiadające wartościom kątów dyfrakcji charakterystycznym dla PEG₄₆₀₀. Obecne na dyfraktogramach maksima dyfrakcyjne dla tych kopolimerów można przypisać fazie krystalicznej bloków giętkich PEG₄₆₀₀.

Rentgenogramy próbek zawierających 45% segmentów sztywnych (Rys. 35b) cechują się obecnością dwóch maksimów dyfrakcyjnych pochodzących od fazy krystalicznej segmentów PEG₄₆₀₀ oraz PBT. Piki dyfrakcyjne przy kącie $2\theta=16,36$ i $17,52$ oraz pik przy $20,88$ pochodzący od PBT cechują się stopniowym obniżaniem intensywności w miarę wzrostu zawartości PEG₄₆₀₀, co może świadczyć o postępującym rozdrobnieniu krystalitów. Jednocześnie w tych materiałach pojawiają się refleksy związane z krystalizacją bloków giętkich PEG₄₆₀₀ przy kątach odbłyску odpowiednio $2\theta=19,3$ i $23,4$. Wyniki te potwierdzają więc obserwowaną w badaniach DSC krystalizację segmentów giętkich przy zastosowaniu PEG o wysokiej masie cząsteczkowej.

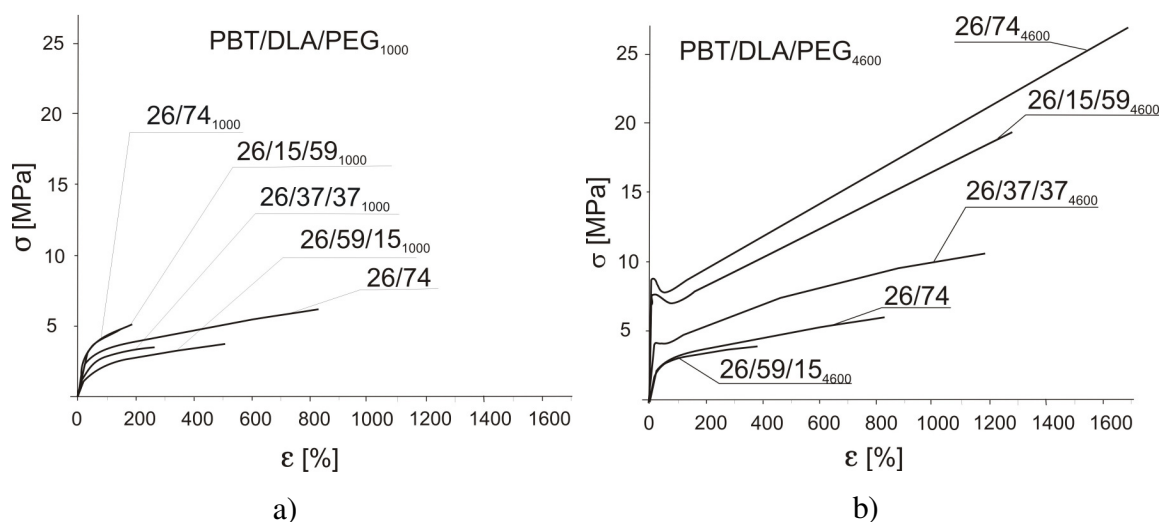


Rys. 35. Dyfraktogramy terpolimerów o zmiennym udziale segmentów sztywnych zawierających PEG₄₆₀₀ o zawartości segmentów sztywnych 26% wag. (a) i 45% wag. (b).

6.1.6 Właściwości mechaniczne TEEE przy statycznym rozciąganiu

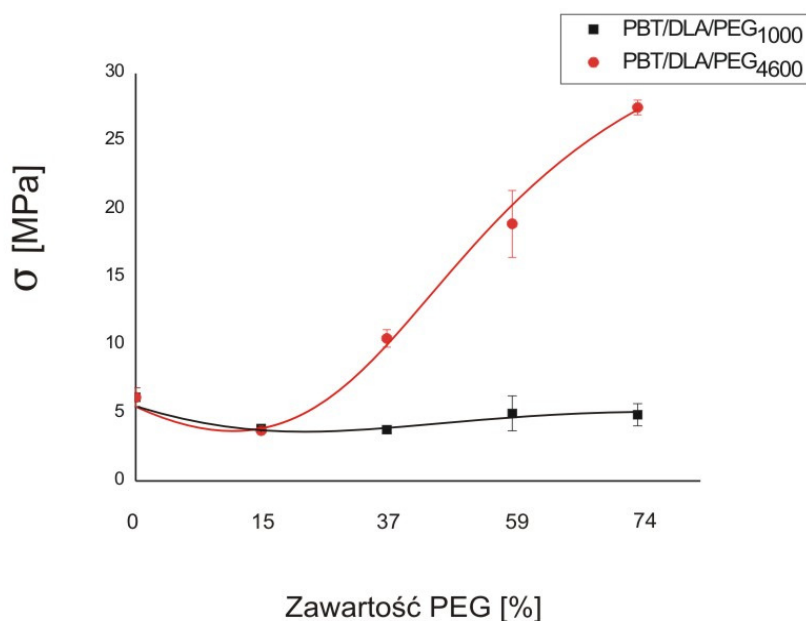
Zbadano wpływ ciężaru cząsteczkowego PEG oraz jego udziału wagowego w multiblokowych ko- i terpolimerach na naprężenie zrywające, naprężenie na granicy plastyczności i wydłużenie względne przy zerwaniu.

Stwierdzono, że przy zawartości 26% wag segmentów sztywnych, wartość naprężenia przy zerwaniu rośnie wraz ze wzrostem zawartości PEG w segmentach giętkich, przy czym dla polimerów zawierających PEG o większym ciężarze cząsteczkowym (Rys. 36 b), naprężenie przy zerwaniu jest prawie czterokrotnie wyższe od wartości dla układów zawierających PEG₁₀₀₀ (Rys. 36 a). Wprowadzenie PEG₄₆₀₀ wpływa również na wystąpienie wyraźnej granicy plastyczności, która pojawia się już przy 37% udziale segmentów oligoeterowych (Rys. 36 b).

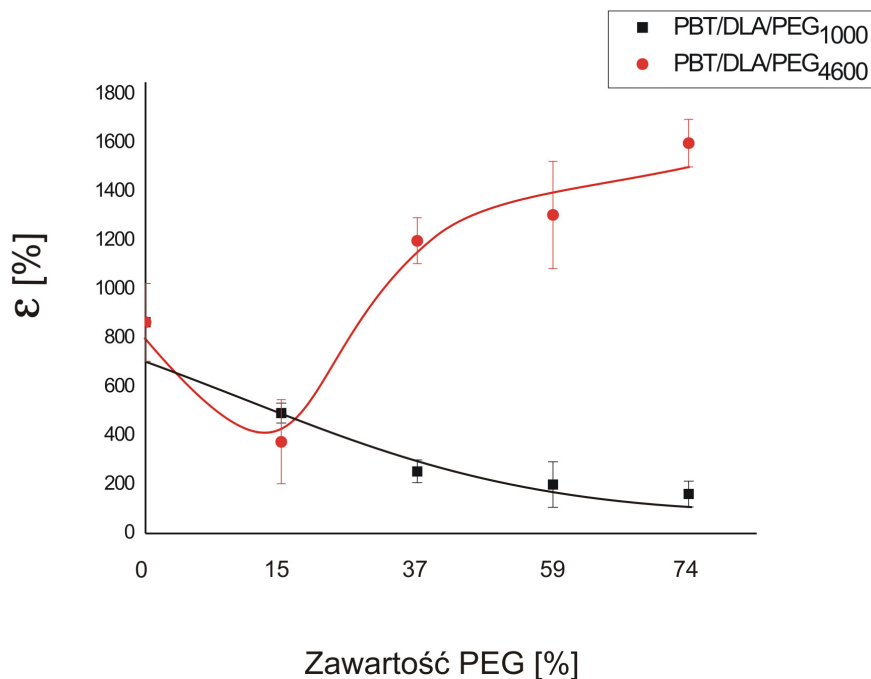


Rys. 36. Krzywe naprężenie–wydłużenie dla TEEE zawierających PEG₁₀₀₀ (a) i PEG₄₆₀₀ (b) przy zawartości segmentów sztywnych 26% wag. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Te istotne różnice wynikające z zastosowania oligoeterów o różnych masach cząsteczkowych dobrze ilustruje Rys. 37, na którym zestawiono zmiany wartości naprężenia (a) i wydłużenia (b) przy zerwaniu w zależności od masy cząsteczkowej użytego oligoeteru. Zmiany naprężenia przy zerwaniu mają charakter zmian rosnących prostoliniowo wraz ze wzrostem udziału PEG, o dużym nachyleniu prostej dla serii zawierającej PEG₄₆₀₀ (Rys. 37 a). Charakter zmian wydłużenia przy zerwaniu jest nieco inny, gdyż dla PEG₄₆₀₀ wydłużenie rośnie, natomiast dla PEG₁₀₀₀ wartości obniżają się wraz ze wzrostem udziału oligoeteru (Rys. 37 b).



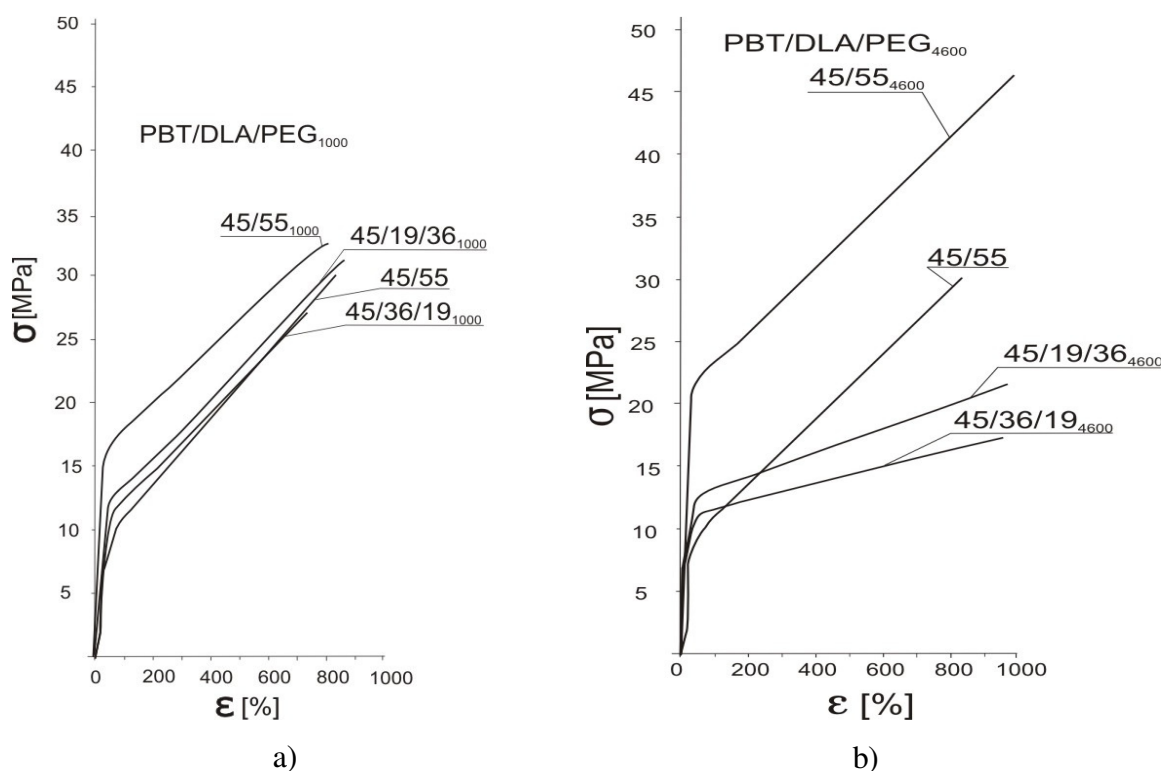
a)



b)

Rys.37. Zmiana naprężenia przy zerwaniu (a) i wydłużenia przy zerwaniu (b) w zależności od zawartości PEG w terpolimerach zawierających 26% segmentów sztywnych

Układy zawierające wyższy udział segmentów sztywnych charakteryzują się wyższymi naprężeniami przy zerwaniu niż układy zawierające 26% wag (Rys. 38) co jest typowe dla elastomerów termoplastycznych, gdyż to segmenty sztywne decydują o właściwościach mechanicznych [120]. Zwiększenie wartości naprężenia przy zerwaniu odbywa się jednak kosztem wydłużenia, gdyż jest ono niższe w porównaniu do polimerów z serii zawierającej 26% wag segmentów poli(tereftalanu butylenu).



Rys. 38. Krzywe naprężenie–wydłużenie dla TEEE zawierających PEG_{1000} (a) i PEG_{4600} (b) przy zawartości segmentów sztywnych 45% wag. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

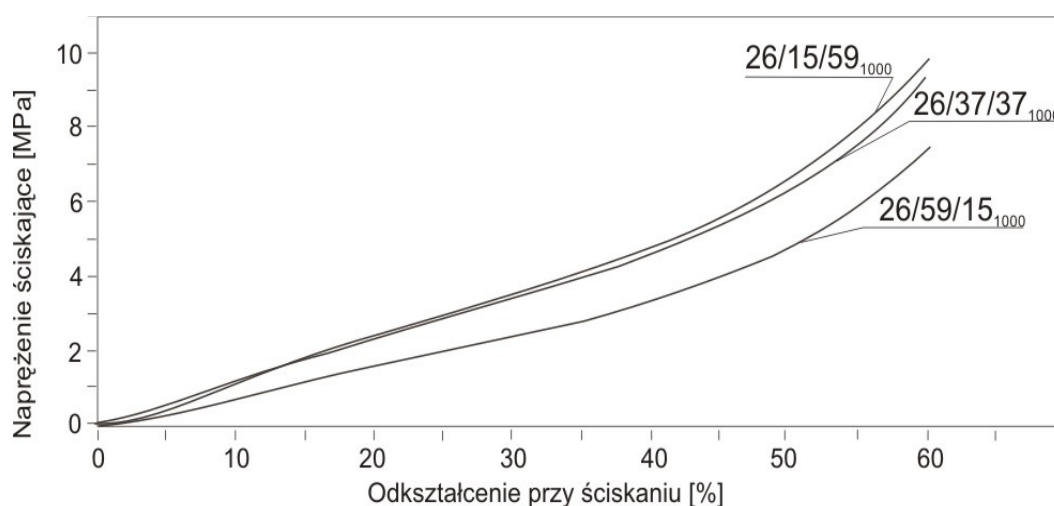
Wprowadzenie do struktury polimerów PEG_{1000} powoduje nieznaczne różnice w osiągniętych wartościach naprężenia (Rys. 38 a), natomiast zastosowanie PEG_{4600} ma już znacznie większy wpływ na zmiany naprężenia, i to dosyć nieoczekiwane, gdyż terpolimery zawierające 19% wag. i 39% wag. PEG_{4600} mają mniejszą wytrzymałość niż wyjściowe kopolimery zawierające tylko jeden składnik w segmentach giętkich (albo DLA, albo PEG). Wyniki te są odzwierciedleniem struktury, którą badano metodami DSC i DMTA, która jest wyraźnie zaburzona wprowadzeniem oligoeteru jako składnika segmentów giętkich i zmniejszenia ich zdolności do krystalizacji naprężeniowej przy dużych odkształceniach występujących w pobliżu momentu zerwania próbki [1].

6.1.7 Wytrzymałość na ściskanie

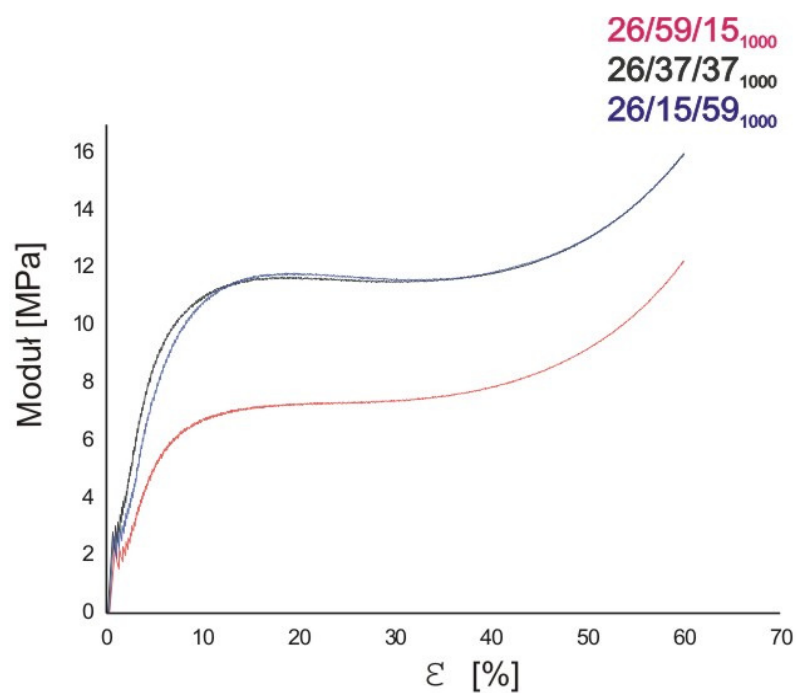
Jedną z ważnych cech mechanicznych materiałów polimerowych jest wytrzymałość na ściskanie, zwłaszcza jeśli materiały są projektowane do zastosowań, w których materiał jest poddawany obciążeniom. Otrzymane TEEE poddano więc badaniom wytrzymałości na ściskanie przy 60% odkształcenia zgodnie z normą EN ISO 604:2002. Zbadano wpływ ciężaru cząsteczkowego PEG oraz jego udziału wagowego w multiblokowych ko- i terpolimerach na zmiany naprężenia ściskającego i modułów, a wyniki zebrano na Rys. 39 – 46. Wartości maksymalnego naprężenia przy zadanym odkształceniu i modułu sprężystości zestawiono w Tabelach 15 - 18.

*Tab.15 Porównanie właściwości TEEE przy statycznym ściskaniu dla TEEE zawierających PEG₁₀₀₀. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.*

Skład materiału	Maksymalne naprężenie przy ściskaniu [MPa]	Odkształcenie [%]	Moduł przy 60% odkształcenia [MPa]
26/59/15 ₁₀₀₀	7,38 ± 0,15	60	12,26 ± 0,77
26/37/37 ₁₀₀₀	9,42 ± 0,53	60	15,99 ± 0,54
26/15/59 ₁₀₀₀	9,83 ± 0,28	60	16,00 ± 0,54



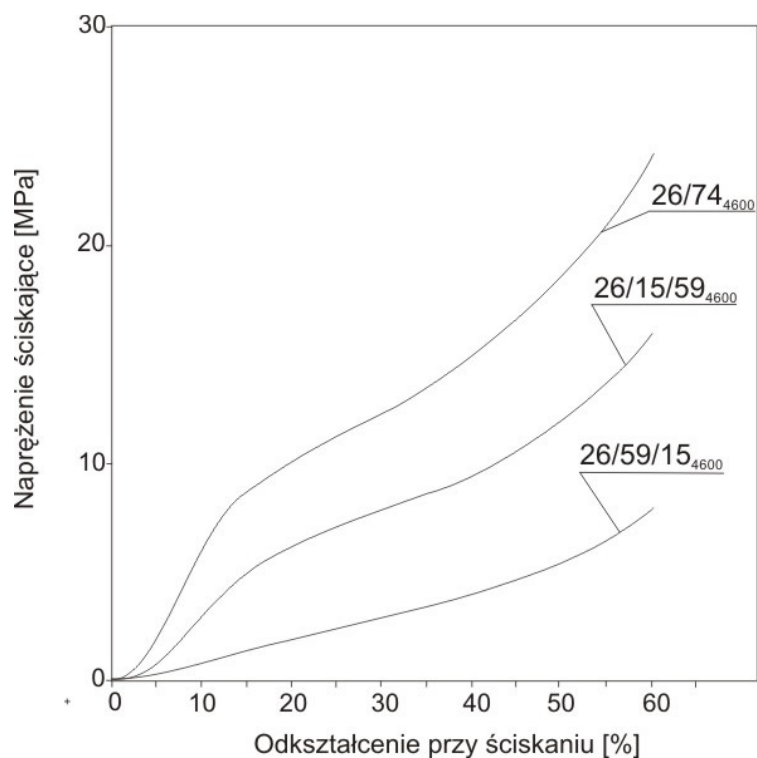
Rys. 39. Krzywe naprężenie-odkształcenie przy ściskaniu dla TEEE zawierających PEG₁₀₀₀ i 26% wag. segmentów sztywnych.



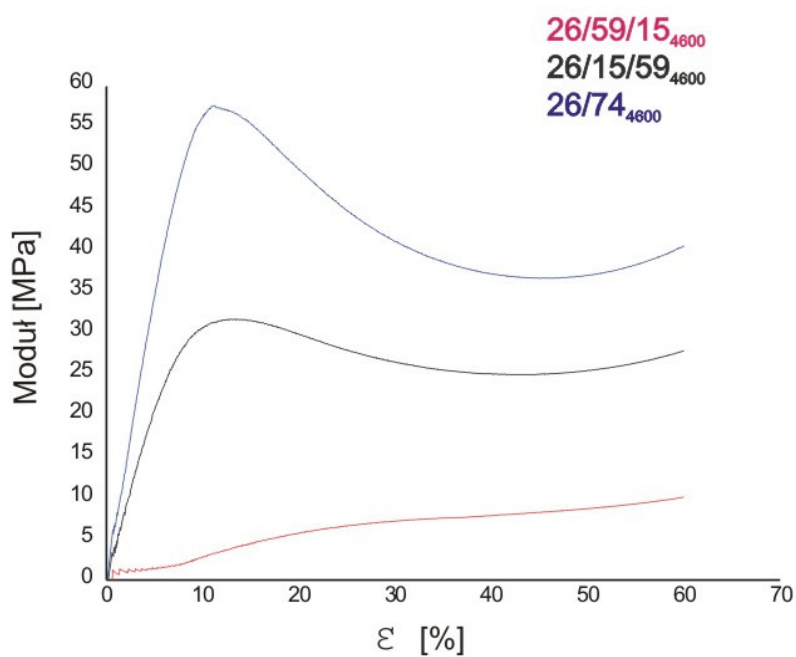
Rys. 40. Zmiana modułu E w zależności od odkształcenia przy ściskaniu dla TEEE zawierających PEG_{1000} i 26% wag. segmentów sztywnych

Tab. 16 Porównanie właściwości TEEE przy statycznym ściskaniu dla TEEE zawierających PEG_{4600} . Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Skład materiału	Maksymalne naprężenie przy ściskaniu [MPa]	Odkształcenie [%]	Moduł przy 60% odkształcenia [MPa]
26/59/15 ₄₆₀₀	7,26 ± 1,43	60	10,10 ± 0,76
26/15/59 ₄₆₀₀	15,89 ± 2,27	60	27,84 ± 0,56
26/74 ₄₆₀₀	23,83 ± 2,13	60	40,60 ± 1,02



Rys. 41. Krzywe naprężenie-odkształcenie przy ściskaniu dla TEEE zawierających PEG₄₆₀₀ i 26% wag. segmentów sztywnych



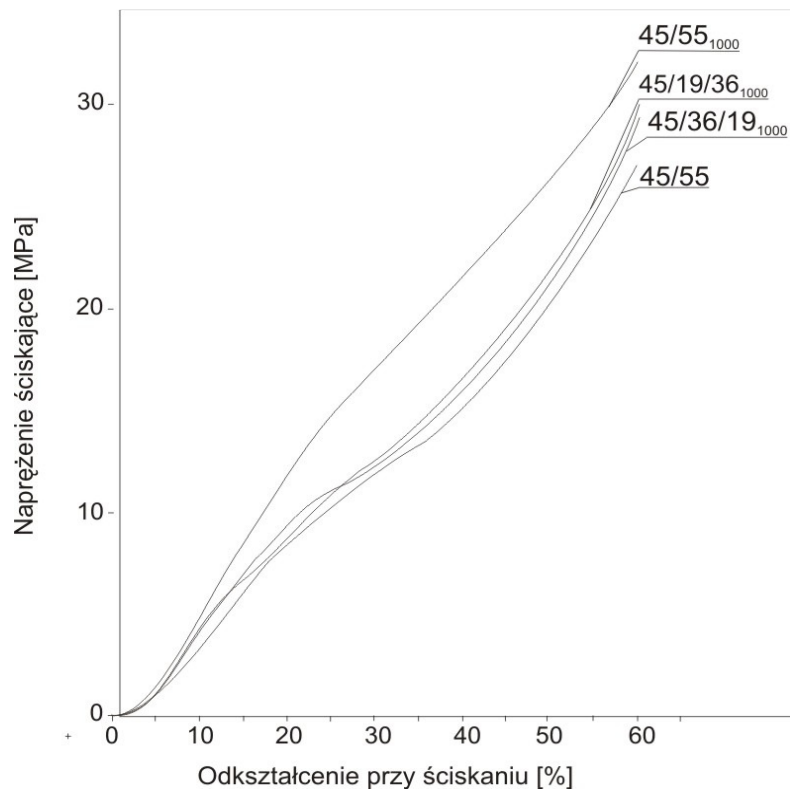
Rys. 42. Zmiana modułu E w zależności od odkształcenia przy ściskaniu dla TEEE zawierających PEG₄₆₀₀ i 26% wag. segmentów sztywnych

Analiza wyników wytrzymałości na ściskanie dla serii polimerów zawierających 26% segmentów sztywnych wykazała pozytywny efekt zwiększenia wytrzymałości oraz modułów wraz z rosnącym udziałem PEG₁₀₀₀ (Rys. 39 i 40). Zjawisko to jest jeszcze bardziej widoczne dla terpolimerów zawierających PEG₄₆₀₀ (Rys. 41 i 42), dla których wartości naprężenia wynoszą od 7,26 do 23,83 MPa, zaś moduł przy 60% odkształcenia osiąga największą wartość równą 40,6 MPa dla polimeru zawierającego 74% PEG₄₆₀₀. Materiał ten wykazuje wyraźne maksimum modułu (57,4 MPa przy 12% odkształcenia)

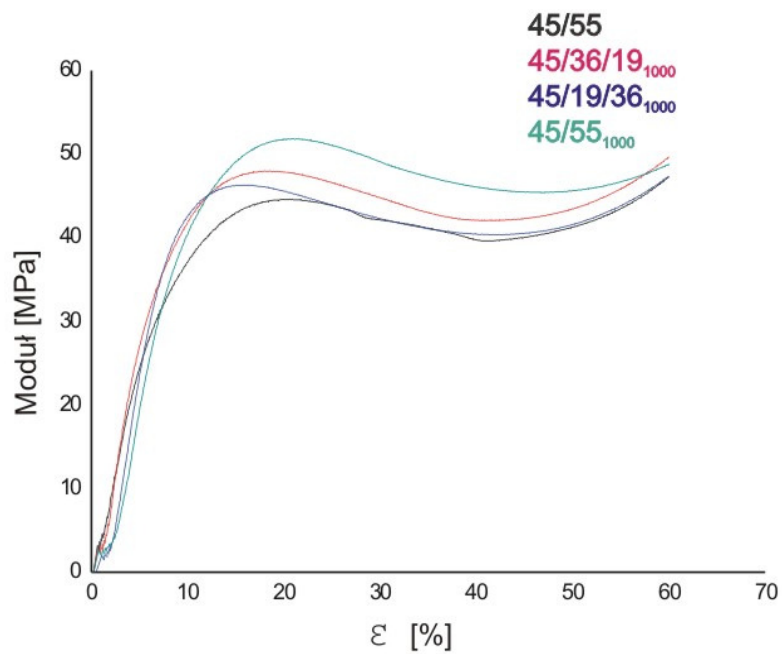
Dla serii zawierającej wyższy udział segmentów sztywnych tj 45% wag. (Rys. 43) oraz PEG₁₀₀₀ zauważa się znaczny wzrost wartości naprężenia ściskającego w porównaniu do układów o niższej zawartości segmentów sztywnych. Maksymalne wartości naprężenia przy zadanym odkształceniu dla terpolimerów wynoszą od 26,7 do 32,73 MPa. Jak należało się spodziewać, moduły sprężystości są również odpowiednio wyższe i wynoszą od 47,3 MPa do 49,7 MPa i nieco większe wartości osiągają dla serii zawierającej PEG₁₀₀₀ (Rys. 43).

*Tab. 17 Porównanie właściwości TEEE przy statycznym ściskaniu dla TEEE zawierających PEG₁₀₀₀. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.*

Skład materiału	Maksymalne naprężenie przy ściskaniu [MPa]	Odkształcenie [%]	Moduł przy 60% odkształcenia [MPa]
45/55	26,70 ± 3,08	60	47,31 ± 12,81
45/36/19 ₁₀₀₀	29,33 ± 0,77	60	49,70 ± 3,91
45/19/36 ₁₀₀₀	29,49 ± 1,11	60	47,37 ± 5,30
45/55 ₁₀₀₀	32,73 ± 3,61	60	48,77 ± 15,38



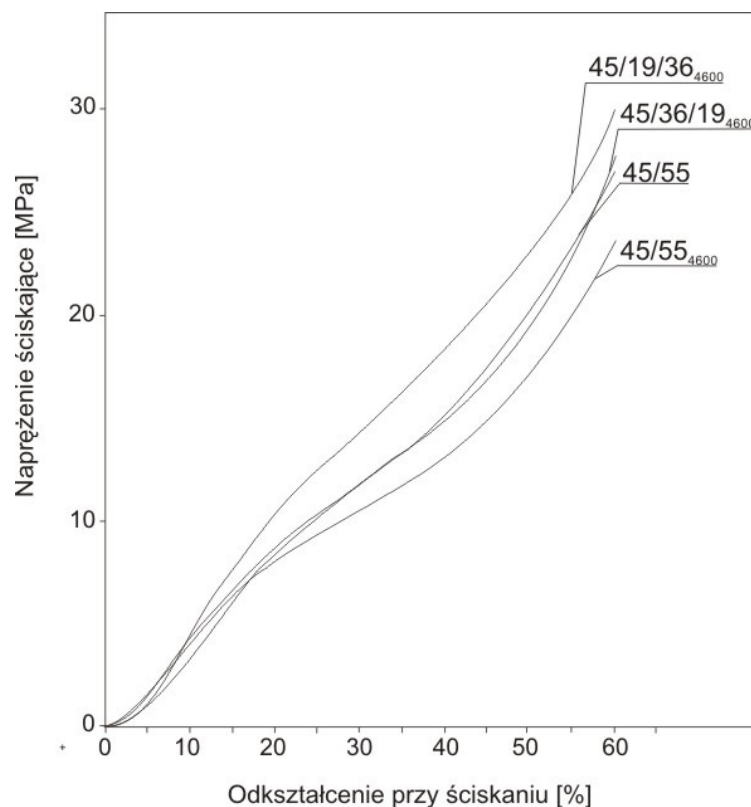
Rys. 43. Krzywe napężenie-odkształcenie przy ściskaniu dla TEEE zawierających PEG_{1000} i 45% wag. segmentów sztywnych



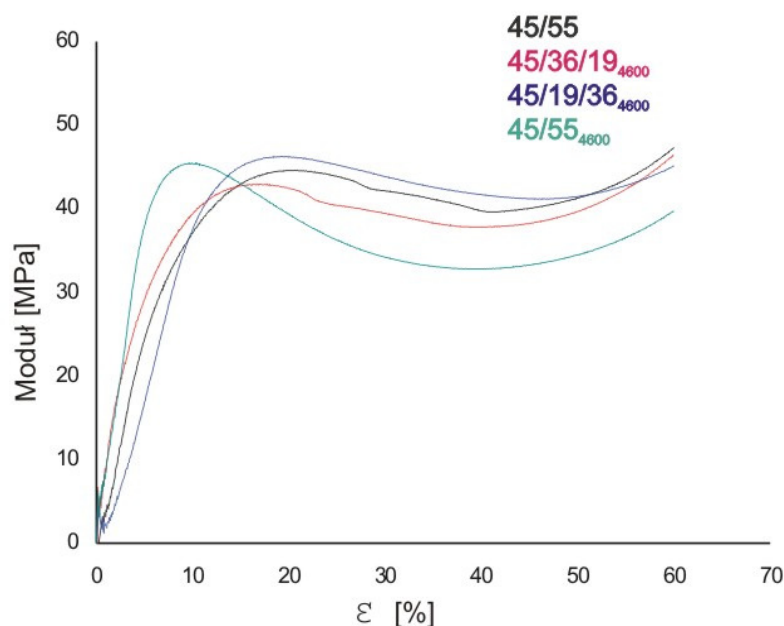
Rys. 44. Zmiana modułu E w zależności od odkształcenia przy ściskaniu dla TEEE zawierających PEG_{1000} i 45% wag. segmentów sztywnych

Tab. 18 Porównanie właściwości TEEE przy statycznym ściskaniu dla TEEE zawierających PEG₄₆₀₀. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Skład materiału	Maksymalne naprężenie przy ściskaniu [MPa]	Odkształcenie [%]	Moduł przy 60% odkształcenia [MPa]
45/55	26,70 ± 3,08	60	47,31 ± 12,81
45/36/19 ₄₆₀₀	26,74 ± 1,64	60	46,47 ± 10,40
45/19/36 ₄₆₀₀	29,28 ± 2,26	60	45,15 ± 8,53
45/55 ₄₆₀₀	22,42 ± 1,65	60	39,78 ± 15,39



Rys. 45. Krzywe naprężenie-odkształcenie przy ściskaniu dla TEEE zawierających PEG₄₆₀₀ i 45% wag. segmentów sztywnych



Rys. 46. Zmiana modułu E w zależności od odkształcenia przy ściskaniu dla TEEE zawierających PEG₄₆₀₀ i 45% wag. segmentów sztywnych

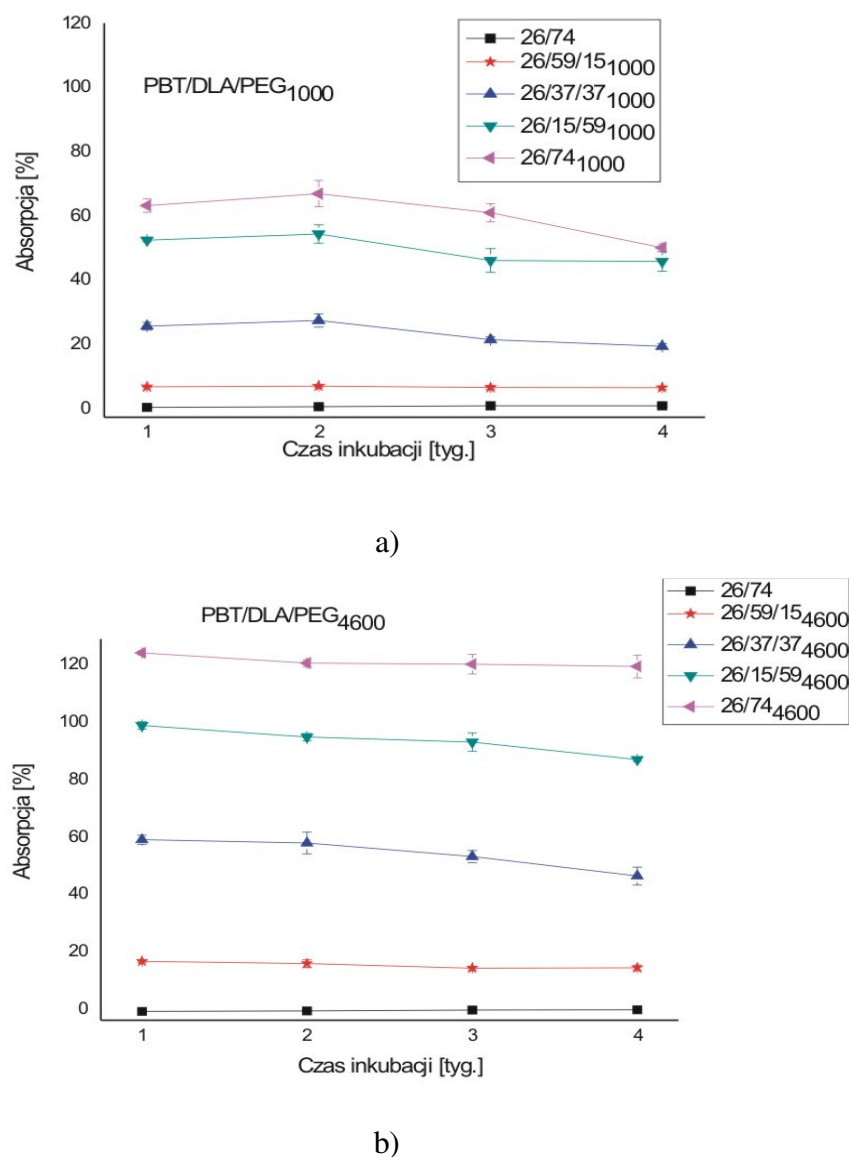
6.1.8 Degradacja hydrolityczna

Degradacja hydrolityczna jest przykładem najprostszego rozkładu polimerów pod wpływem wody. Polimery kondensacyjne i addycyjne, takie jak poliestry, poliamidy, poliuretany i poliwęglany zawierające aktywne grupy funkcyjne lub polarne heteroatomy w łańcuchu ulegają szczególnie łatwo hydrolizie. Proces degradacji hydrolitycznej jest szeroko wykorzystywany w chirurgii i farmakologii do uzyskiwania czasowego efektu terapeutycznego (np. wchłaniane nici chirurgiczne, nośniki leków o przedłużonym działaniu itp.) [121].

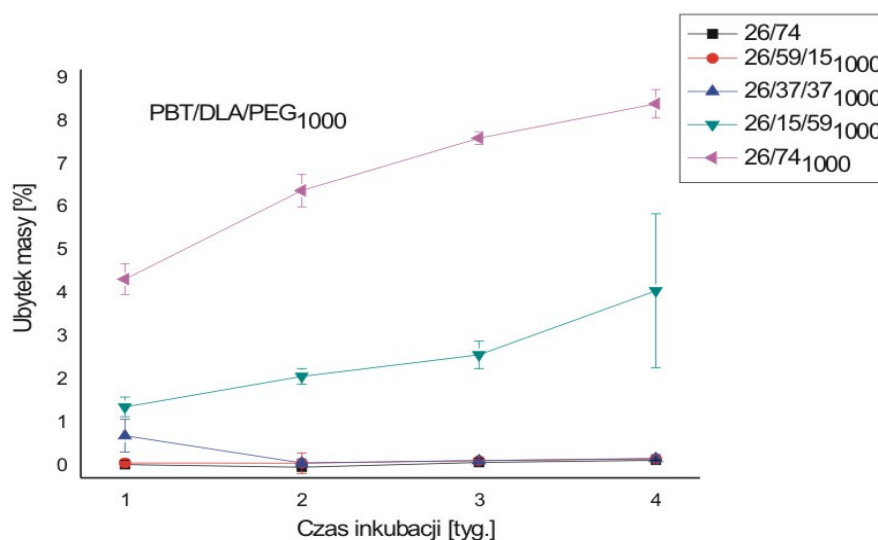
Zjawisko degradacji hydrolitycznej zbadano w odniesieniu do zsyntezowanych multiblokowych terpoli(estro-etero-estrów) oznaczając absorpcję wody i ubytek masy (Rys. 47 i 48) po 4 tygodniach inkubacji w SBF oraz oznaczając zmiany właściwości mechanicznych po 8 tygodniach degradacji (Rys.49-52). Badaniom absorpcji i ubytku masy poddano tylko polimery z serii zawierającej 26% wag segmentów sztywnych.

Dla materiałów zawierających PEG₁₀₀₀ zauważa się początkowo wzrost absorpcji płynu (następuje pęcznienie materiału), a następnie od 3 tygodnia badań stopniowy spadek. Absorpcja jest wyższa dla materiałów zawierających PEG₄₆₀₀ (Rys. 47b). zmniejszenie absorpcji przy wzroście ubytku masy. Terpolimery tej serii wykazują

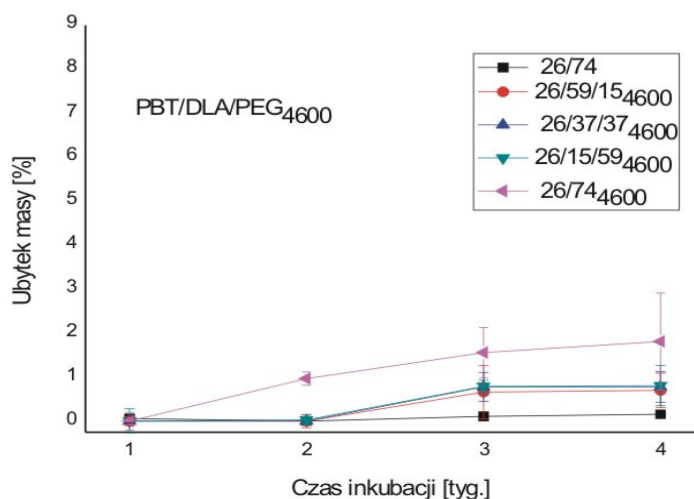
znacznie mniejszy ubytek masy (Rys. 48b) w porównaniu do materiałów zawierających PEG₁₀₀₀ (Rys. 48a). Większą absorpcję płynu i zarazem mniejszy ubytek masy wykazywały układy z PEG₄₆₀₀. Świadczy to również o wolniejszej degradacji tych materiałów oraz o ich większej hydrofilowości, co zaobserwowano podczas badania kąta zwilżania.



Rys. 47. Absorpcja wody po 4 tygodniach inkubacji próbek zawierających 26% segmentów sztywnych i PEG₁₀₀₀ (a) oraz PEG₄₆₀₀ (b). Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.



a)



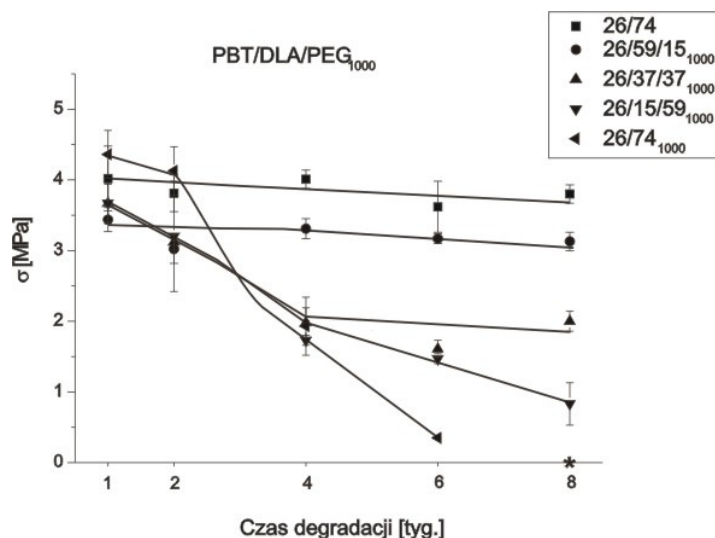
b)

Rys. 48. Ubytek masy po 4 tygodniach inkubacji próbek zawierających 26% segmentów sztywnych i PEG₁₀₀₀ (a) oraz PEG₄₆₀₀ (b). Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

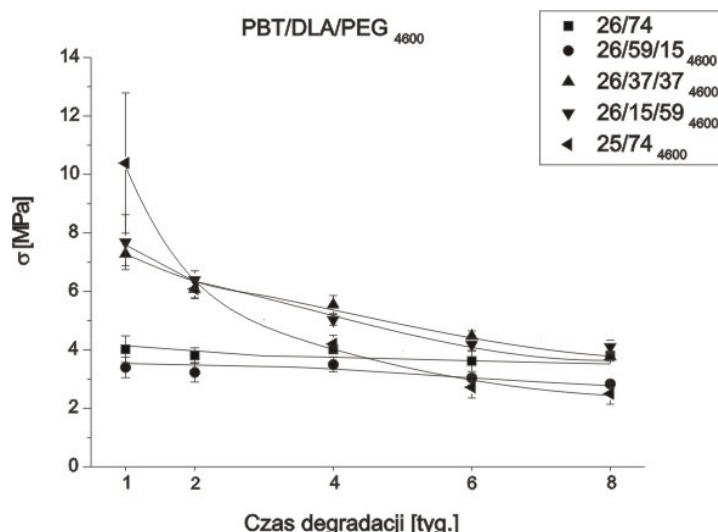
Degradacja hydrolityczna, wyrażona procentowym ubytkiem masy zachodzi szybciej w układach o wysokim udziale poli(glikolu etylenowego) o masie cząsteczkowej 1000 g/mol (Rys. 48a). Polimery zawierający zdolny do krystalizacji PEG₄₆₀₀ wykazują znacznie mniejszy, bo nie przekraczający 1% ubytek masy po 4 tygodniach inkubacji w SBF.

Wyniki badań absorpcji i ubytku masy znajdują potwierdzenie w zmianach właściwości mechanicznych polimerów, które zostały poddane degradacji przez 8 tygodni (Rys. 49-52). Wprowadzenie do struktury kopolimeru multiblokowego typu poli(alifatyczno/aromatycznego-estru) hydrofilowych sekwencji eterowych powoduje,

że już przy 37 i 59% wag. udziału PEG₁₀₀₀, polimery wykazują prawie 40% spadek wartości naprężenia początkowego po 4 tygodniach inkubacji (Rys. 49). Zastosowanie PEG₄₆₀₀ nie pociąga za sobą tak dużych zmian we właściwościach mechanicznych (Rys. 50), a spadek wytrzymałości przy zerwaniu nie jest tak gwałtowny. Związane jest to z krystalicznością oligoeteru, w konsekwencji czego polimery zawierające PEG₄₆₀₀ ulegają wolniejszej degradacji, gdyż krystaliczny oligoeter utrudnia dostęp do obszarów amorficznych, i tym samym zmniejsza ich zawartość w polimerach.



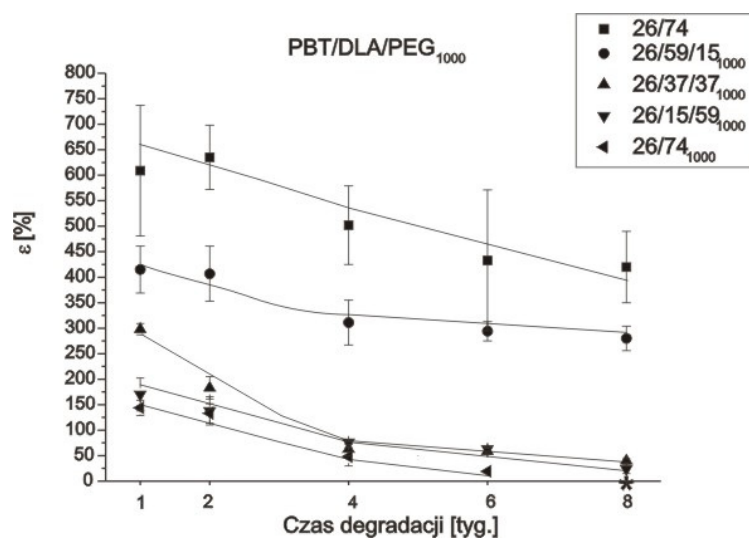
Rys.49. Zmiany naprężenie przy zerwaniu w funkcji czasu degradacji polimerów zawierających 26%wag. segmentów sztywnych i PEG1000. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.



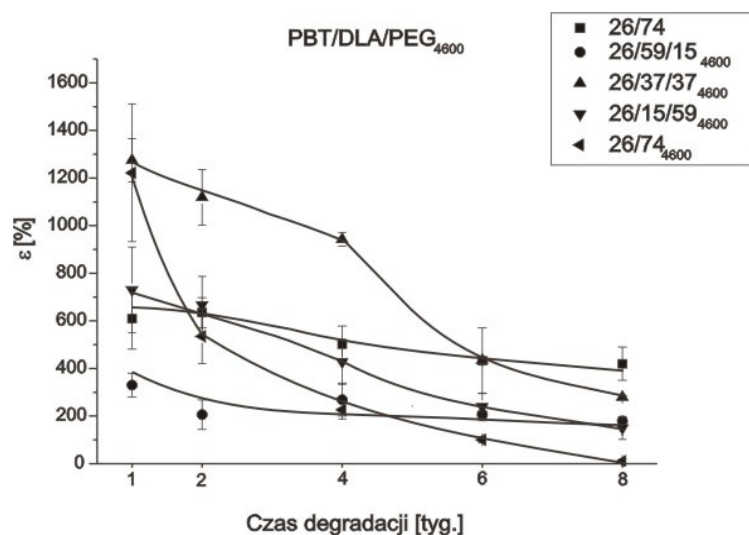
Rys. 50. Zmiany naprężenie przy zerwaniu w funkcji czasu degradacji polimerów zawierających 26%wag. segmentów sztywnych i PEG4600. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Dla wszystkich badanych polimerów spada naprężenie przy zerwaniu wraz z wydłużającym się czasem prowadzenia inkubacji. Jednakże spadki naprężenia są niewielkie, zwłaszcza dla serii zawierającej PEG₄₆₀₀.

Spadek właściwości mechanicznych jest bardziej zauważalny podczas obserwacji zmian wydłużenia przy zerwaniu, tak jak to przedstawiono na Rys. 51 i 52.



Rys. 51. Zmiany wydłużenia przy zerwaniu w funkcji czasu degradacji polimerów zawierających 26% wag. segmentów sztywnych i PEG₁₀₀₀. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.



Rys. 52. Zmiany wydłużenia przy zerwaniu w funkcji czasu degradacji polimerów zawierających 26% wag. segmentów sztywnych i PEG₄₆₀₀. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Podczas degradacji zauważa się znaczny spadek wydłużenia przy zerwaniu wraz z czasem degradacji, zwłaszcza dla polimerów zawierających PEG₁₀₀₀ (Rys. 51). Dla układu PBT/PEG₁₀₀₀ w ósmym tygodniu nie przeprowadzono badania ponieważ próbki rozpadły się podczas inkubacji. Podobny charakter zmian zaobserwowano dla polimerów zawierających rosnący udział PEG₄₆₀₀ w segmentach giętkich.

6.2 Modyfikacja multiblokowych terpoli(estro-etero-estrów) nanokrystalicznym hydroksyapatytem (HAP)

Jak już wspomniano wcześniej, głównym celem pracy było wytworzenie materiałów, będących analogami strukturalnymi poli(alifatyczno/aromatycznych-estrów)(PED) o właściwościach hydrofilowych. Jednym ze sposobów osiągnięcia tego celu była wcześniej opisana modyfikacja chemiczna PED silnie hydrofilowym oligoeterem PEG o różnych masach cząsteczkowych. Otrzymano w ten sposób materiały, które wykazały istotne zmiany właściwości po wprowadzeniu oligoeteru jako dodatkowego (oprócz DLA) składnika segmentów giętkich.

Jedną z metod zmiany właściwości polimerów jest stosowanie materiałów nieorganicznych, takich jak tlenki metali, cząstki (mikro- i nano) ceramiczne itp. [122]. Spośród materiałów o dużej zdolności do oddziaływania ze środowiskiem wodnym wyróżnić należy hydroksyapatyty (HAP), będące podstawowym składnikiem mineralnym kości i zębów [123]. Szybkość oraz stopień resorpcji i biodegradacji hydroksyapatytu zależy od jego składu chemicznego, fazowego i porowatości. Na szybkość resorpcji wpływa również obecność fazy amorficznej na granicach ziaren, obecność faz wtórnych, rozwinięcie powierzchni porowatej ceramiki i mały stopień krystaliczności. Z tego względu, nanokrystaliczny HAP jest niezwykle interesującym materiałem, gdyż oprócz cech hydrofilowości charakteryzuje się wielkością ziaren od 300 do 500 nm i może stanowić jednocześnie wzmocnienie dla matrycy polimerowej.

Podjęto zatem próby zwiększenia hydrofilowości terpolimerów TEEE na drodze modyfikacji nanometrycznym HAP metodą polimeryzacji *in situ* [124]. Jako matrycę do wytworzenia materiałów hybrydowych wytypowano terpolimer z serii zawierającej 45% wag. segmentów sztywnych PBT (materiały tej serii charakteryzowały się naprężeniami przy zerwaniu w zakresie od 14 do 30 MPa, a więc wartościami mieszczącymi się w zakresie wartości naprężenia przy zerwaniu dla naturalnej chrząstki

[105]. Wytypowano zatem polimer wykazujący wartość 30 MPa naprężenia przy zerwaniu, 29,5 MPa naprężenie przy ściskaniu, wartością modułu przy 60% odkształcenia przy ściskaniu równą 47,37 MPa, o składzie jak podano w Tabeli 19. Zastosowano dwa rodzaje nanocząstek HAP: spiekany (HAP-s) i nie kalcynowany (HAP-k) [100].

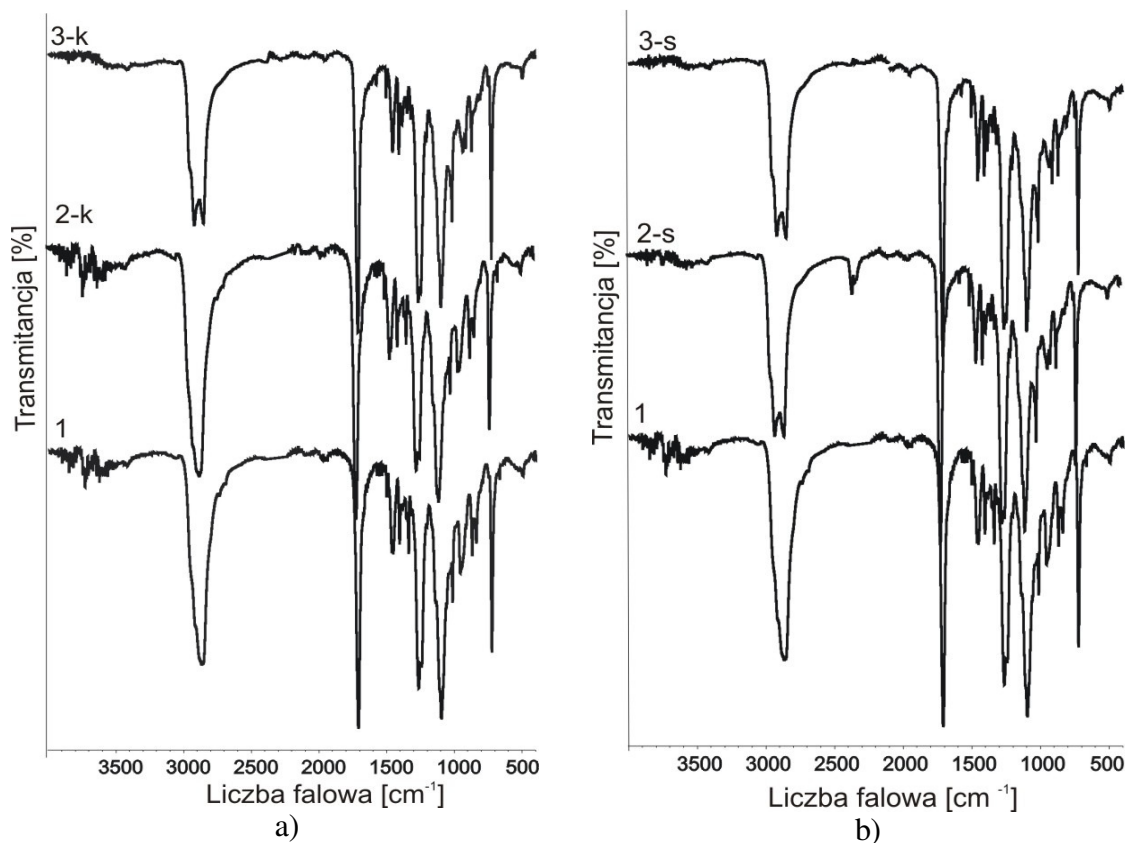
Tab. 19 Wykaz zsyntezowanych materiałów hybrydowych metodą polikondensacji in situ, zawierających TEEE jako matryce polimerową i dwa rodzaje nanocząstek hydroksyapatytu.

Skład materiału	Oznaczenie w pracy
45/19/36 ₁₀₀₀ /Wit. E	1
45/19/36 ₁₀₀₀ /HAP nie kalcynowany/Wit. E	2 – k (HAP-k-E)
45/19/36 ₁₀₀₀ /HAP nie kalcynowany	3 – k (HAP-k)
45/19/36 ₁₀₀₀ /HAP spiekany/Wit. E	2 – s (HAP-s-E)
45/19/36 ₁₀₀₀ /HAP spiekany	3 – s (HAP-s)

6.2.1 Budowa chemiczna materiałów hybrydowych

Spektroskopia w podczerwieni

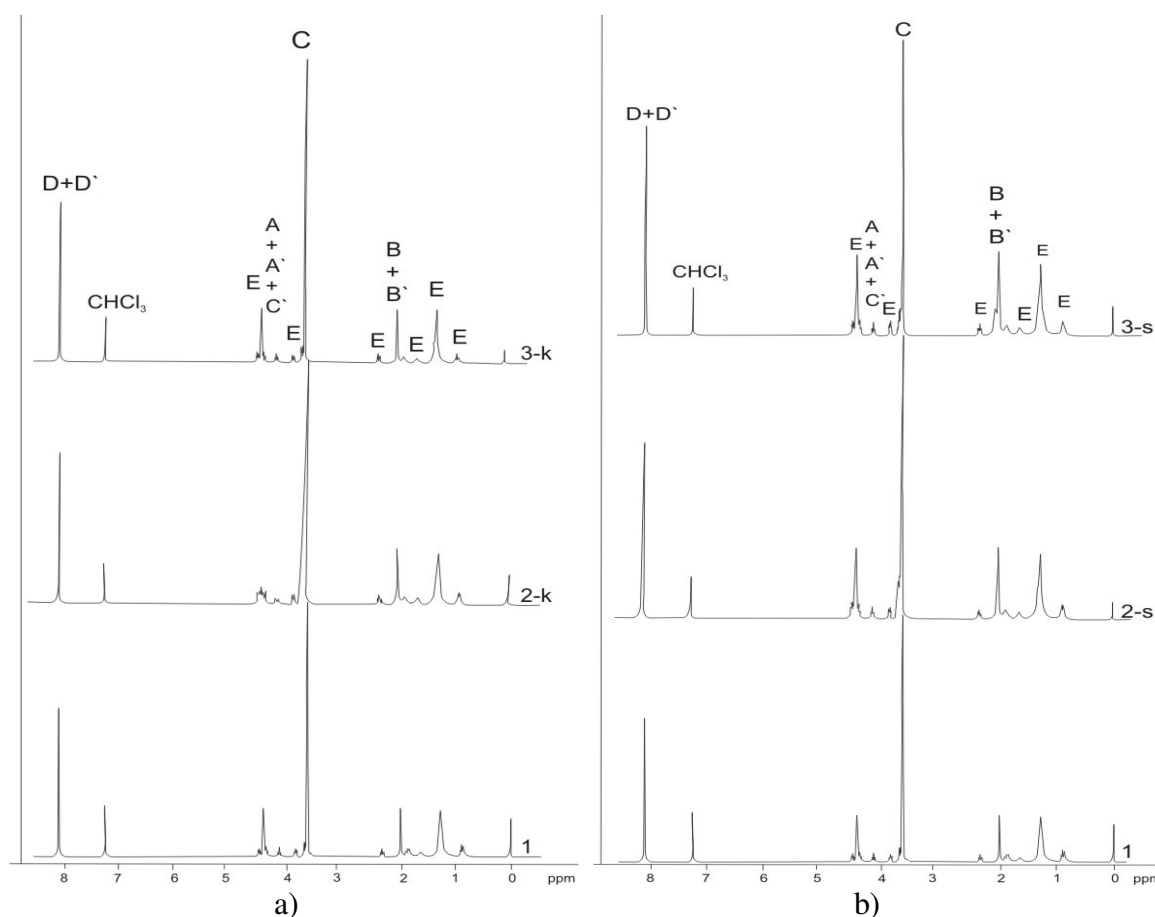
Weryfikacja budowy chemicznej terpolimerów za pomocą spektroskopii w podczerwieni (Rys. 54 a i b) wykazała występowanie tych samych sygnałów jak dla układów nie zawierających HAP (Rys. 16). Wprowadzenie do struktury 0,5 %wt HAP nie spowodowało zmian w strukturze matrycy polimerowej, do której został wprowadzony nano-HAP, choć dla układów zawierających HAP spiekany (2-s i 3-s) oraz HAP niekalcynowany (3-k) pojedynczy pik w okolicy 2900cm⁻¹ charakterystyczny dla drgań rozciągających γ -(CH) oraz grup C-CH₂-C pochodzących od poli(tereftalanu butylenu) ulega rozszczepieniu.



Rys. 53. Widma w podczerwieni TEEE zawierających 45% wag. segmentów sztywnych i 36% wag. PEG_{1000} modyfikowanych hydroksyapatytem nie kalcynowanym (a) i spiekany (b), gdzie: 1 – oznacza układ z witaminą E (VE), 2-k – oznacza układ z witaminą E oraz HAP niekalcynowanym, 3-k – oznacza układ z HAP niekalcynowanym, 2-s – oznacza układ z witaminą E oraz HAP spiekany, 3-s – oznacza układ z HAP spiekany.

Analiza metodą ^1H NMR

Widma protonowego rezonansu magnetycznego (Rys. 54 a,b) wykazały obecność sygnałów pochodzących od wodorów zgodnie z założoną budową chemiczną TEEE, przedstawioną w rozdziale 6.1.1. W przypadku zastosowania HAP niekalcynowanego i witaminy E (próbka 2-k) zaobserwowano zmianę intensywności sygnału przy 4.53 ppm pochodzącego od protonów grupy O-CH_2 (Rys. 54a).

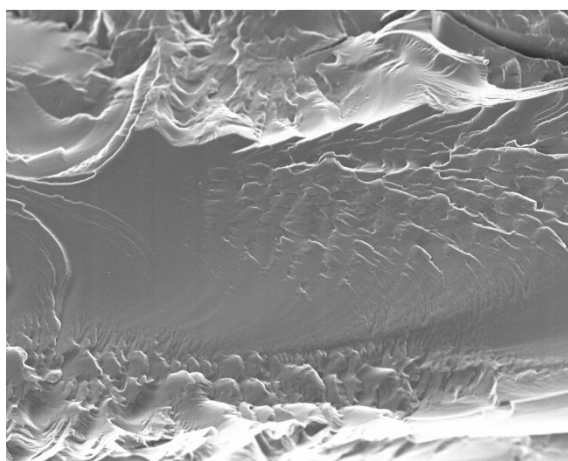


Rys. 54. Widma H^1 NMR układów zawierających 45% segmentów sztywnych i modyfikowanych hydroksyapatytem. Oznaczenia jak na rysunku 53

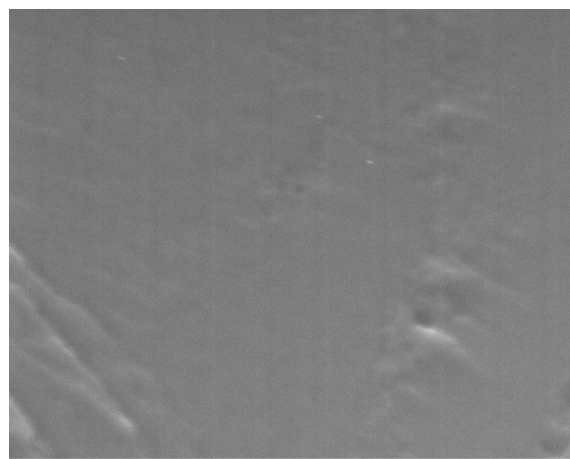
6.2.2 Morfologia otrzymanych materiałów hybrydowych

Poniższe zdjęcia wykonane na kruchych przełamach w ciekłym azocie przedstawiają morfologię przykładowych terpolimerów TEEE (Rys.56-57) oraz układów zawierających hydroksyapatyt wprowadzony do matrycy polimerowej metodą polimerizacji *in situ* (Rys. 58-61).

Pokazany na Rys. 55 obraz przełomu próbki PBT/DLA, a więc niemodyfikowanego poli(alifatyczno/aromatycznego-estru) wykazuje, że jest to materiał elastyczny (*ang. ductile*), nie wykazujący wyraźnych cech strukturalnych ze względu na swój amorficzny charakter. Wprowadzenie segmentów oligoeterowych (Rys. 56 i 57) powoduje, że powierzchnia przełamów staje się bardziej pofałdowana, a przy podwyższonym udziale segmentów sztywnych PBT (Rys. 57), widoczne są wyraźnie powyciągane z matrycy fibryle, mogące świadczyć o zmianie charakteru matrycy z elastycznej na sztywną.

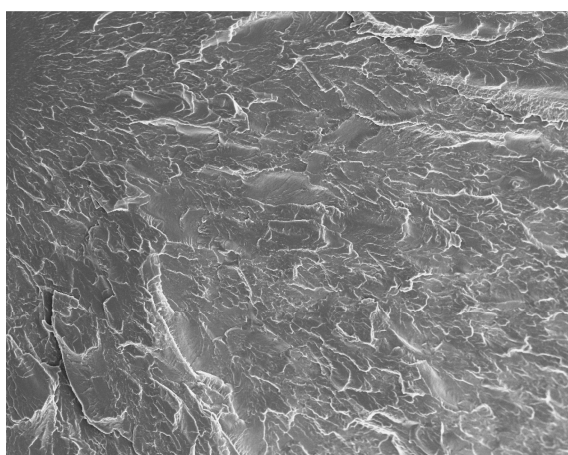


pow. 200x

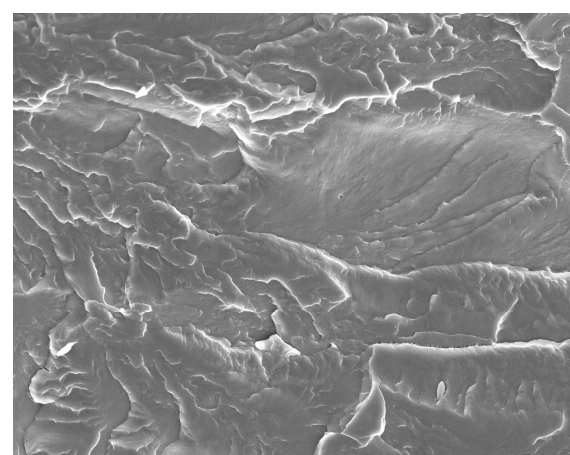


pow.1000x

Rys. 55. Obraz ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) kopolimeru zawierającego 26%PBT i 74%DLA

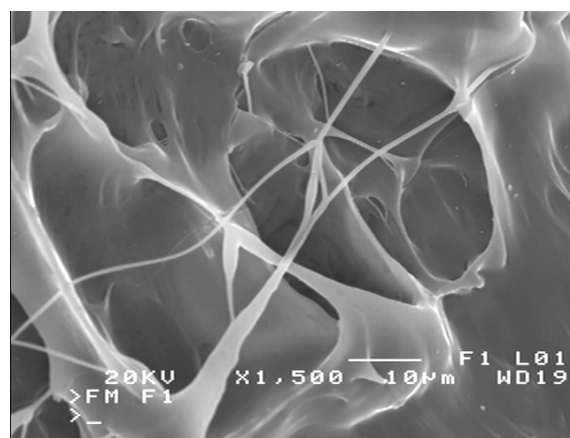
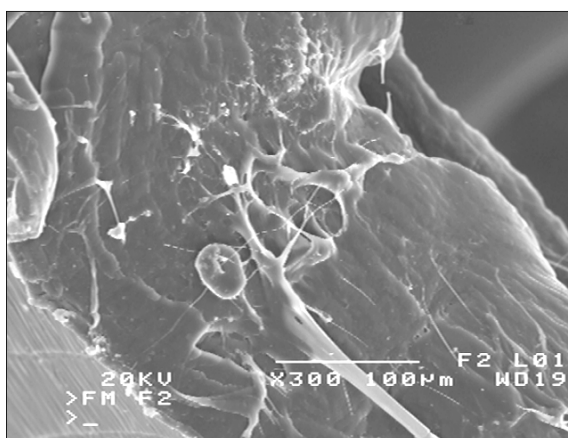


pow. 200x



pow. 1000x

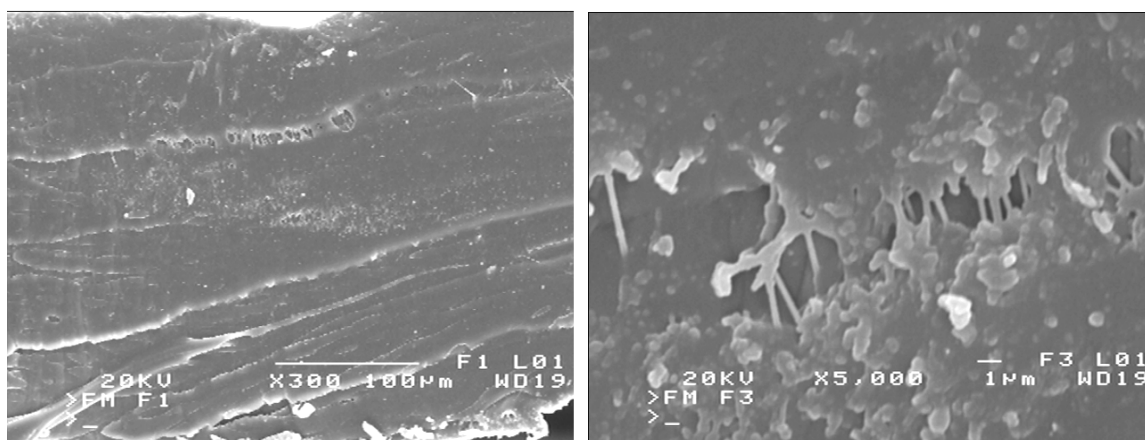
Rys. 56. Obraz ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) terpolimeru zawierającego 26%PBT, 37%DLA i 37%PEG₁₀₀₀



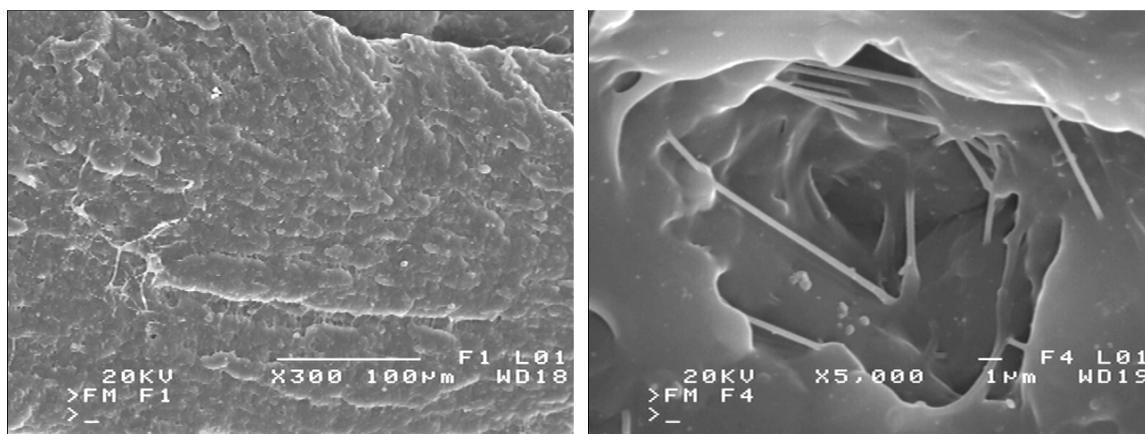
Rys. 57. Obraz ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) terpolimeru zawierającego 45%PBT, 19%DLA i 36%PEG₁₀₀₀

Wprowadzanie nanocząstek ceramicznych do struktury polimeru metodą polikondensacji *in situ* jest, jak wynika z opisów literaturowych, jedną z lepszych metod wytwarzania nanokompozytów, ze względu na bardziej równomierne rozproszenie nanocząstek w matrycy polimerowej [122].

Wprowadzenie nanocząstek manometrycznego HAP niekalcynowanego w obecności witaminy E (Rys. 58) skutkuje powstawaniem licznych aglomeratów o wielkości ok. 1 μm . Znacznie korzystniejsze, bo bardziej równomierne wprowadzenie nano-HAP niekalcynowanego, zaobserwowano dla materiału, w którym nie stosowano witaminy E jako stabilizatora termicznego (Rys. 59).



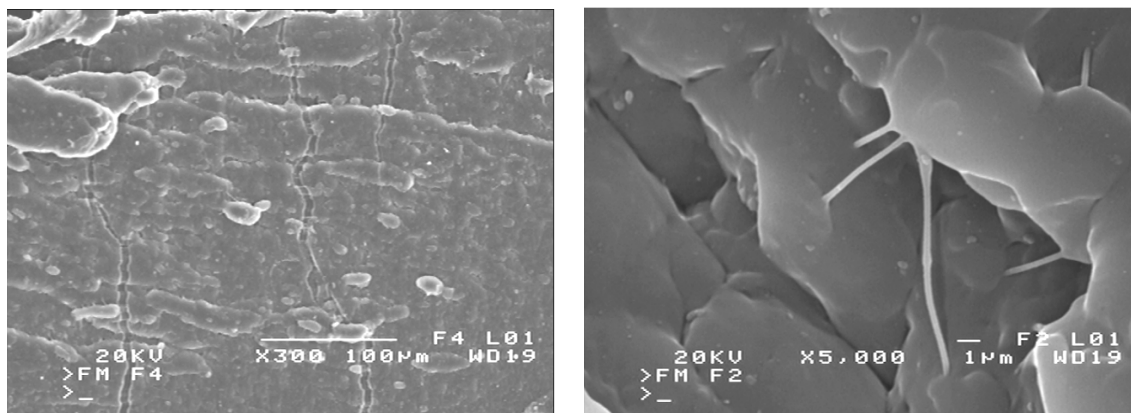
Rys. 58. Obraz ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) terpolimeru 2-k



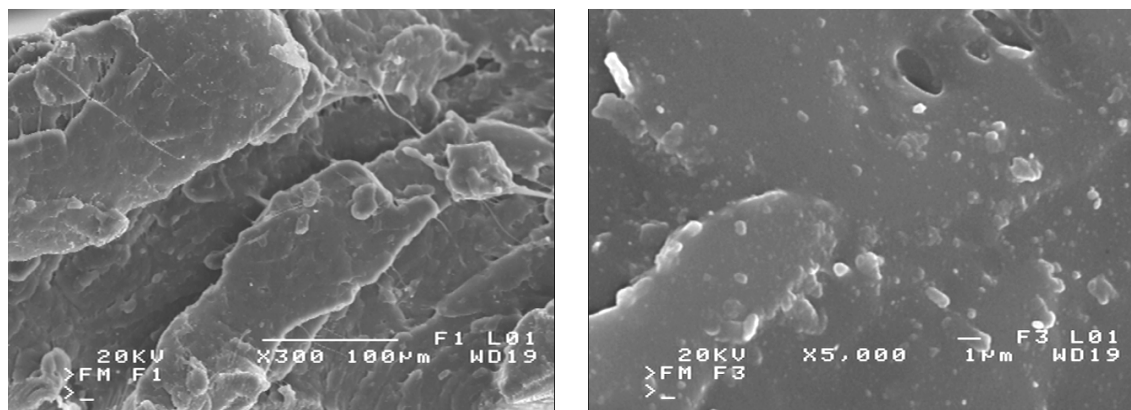
Rys. 59. Obraz ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) terpolimeru 3-k

Zastosowanie spiekane HAP, zarówno w obecności witaminy E (Rys. 60), jak i bez jej udziału (Rys. 61) pozwoliło na uzyskanie materiałów hybrydowych o znacznie

lepszym (bardziej równomiernym) rozproszeniu cząstek, nie obserwowano również tak wielu dużych aglomeratów, jak w przypadku hydroksyapatytu niekalcynowanego.



Rys. 60. Obraz ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) terpolimeru 2-s



Rys. 61. Obraz ze skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) terpolimeru 3-s

6.2.3 Charakterystyka właściwości fizyko-chemicznych materiałów hybrydowych

Dla zsyntezowanych multibkolowych terpolimerów modyfikowanych HAP-em, wykonano podstawowe badania właściwości fizyko-chemicznych w celu oceny wpływu zastosowanego stabilizatora termicznego (VE) oraz hydroksyapatytu niekalcynowanego i spiekanego na graniczną liczbę lepkościową (GLL), wskaźnik szybkości płynięcia (MFI) oraz kąt zwilżania powierzchni wodą.

Oznaczenia granicznej liczby lepkościowej (GLL)

Jak wynika z tabeli 20 i 21 wprowadzenie hydroksyapatytu do matrycy multiblokowego TEEE wpływa na wzrost wartości GLL otrzymanych układów. Największą wartość osiąga materiał zawierający HAP spiekany oraz witaminę E. Układ zawierający HAP niekalcynowany oraz witaminę E wykazuje porównywalne wartości granicznej liczby lepkościowej jak układ zawierający jedynie witaminę E jako stabilizator termiczny.

Tab. 20. Wartości GLL dla układów zawierających HAP niekalcynowany

Lp.	Skład materiału					GLL [dl/g]
	PBT	DLA	PEG ₁₀₀₀	HAP	VE	
1	45%	19%	36%	–	+	1,091
2–k				+	+	1,091
3–k				+	–	1,228

Tab. 21. Wartości GLL dla układów zawierających HAP spiekany

Lp.	Skład materiału					GLL [dl/g]
	PBT	DLA	PEG ₁₀₀₀	HAP	VE	
1	45%	19%	36%	–	+	1,091
2–s				+	+	1,283
3–s				+	–	1,062

Oznaczenia wskaźnika szybkości płynięcia (MFI)

Zbadano wpływ rodzaju wprowadzonego hydroksyapatytu i/lub witaminy E na wskaźnik szybkości płynięcia (MFI) dla zsyntezowanych materiałów. Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 22 i 23.

Tab. 22. Wartości MFI dla układów zawierających HAP niekalcynowany

Lp.	MFI [g/10 min]
1	60
2–k	49,7
3–k	41,6

Tab. 23. Wartości MFI dla układów zawierających HAP spiekany

Lp.	MFI [g/10 min]
1	60
2-s	26,3
3-s	72,7

Materiały zawierające hydroksyapatyt niekalcynowany oraz witaminę E charakteryzowały się obniżonymi wartościami MFI (Tab. 22) w porównaniu do wyjściowego TEEE, podczas gdy polimer zawierający w swej osnowie hydroksyapatyt spiekany i dodatek witaminy E (Tab. 23) wykazał gwałtowny spadek MFI do wartości 26,31 [g/10min], co można tłumaczyć występowaniem gwałtownej przemiany fazowej rzutu na lepkość, jak to wykazały wartości GLL (tab. 21).

Pomiary kąta zwilżania

Przeprowadzone pomiary kąta zwilżania powierzchni wodą otrzymanych materiałów hybrydowych (Tabela 24) wykazały, że wprowadzenie hydroksyapatytu niekalcynowanego do matrycy terpolimeru wpływa na obniżenie wartości kąta zwilżania, zwłaszcza przy braku dodatku witaminy E. Natomiast materiały zawierające hydroksyapatyt spiekany (Tab. 25) wykazały nieznaczny wzrost wartości kąta zwilżania powierzchni wodą w porównaniu do materiału nie zawierającego hydroksyapatytu, wskazując jednocześnie na bardziej hydrofobowy charakter powierzchni. Stosując badania kąta zwilżania metodą stawiania kropli zauważono, że jedynie polimer zawierający HAP niekalcynowany wykazał znaczne obniżenie wartości kąta zwilżania wodą.

Tab. 24. Wartości kąta zwilżania dla układów zawierających HAP niekalcynowany

Lp.	Kąt zwilżania
1	69,8 ± 6,41
2-k	62,9 ± 4,83
3-k	42,1 ± 4,60

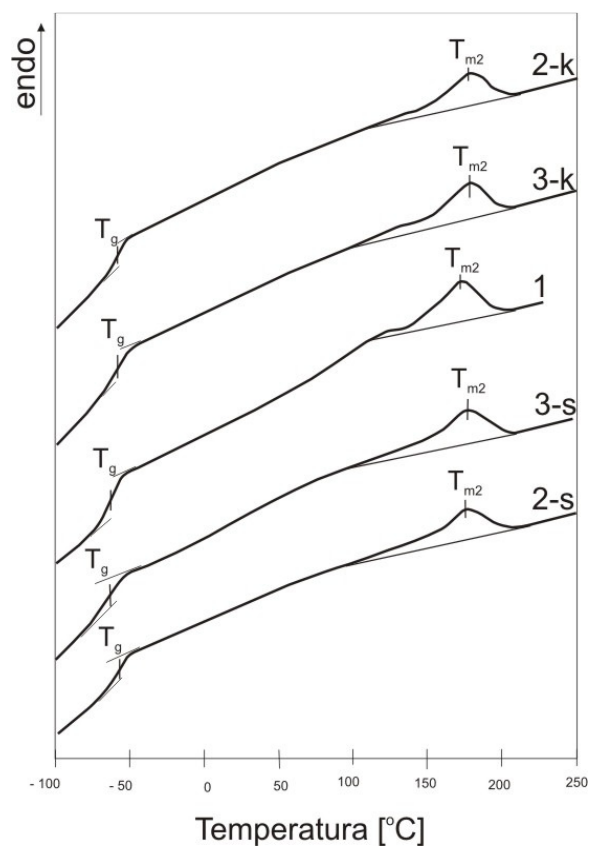
Tab. 25. Wartości kąta zwilżania dla układów zawierających HAP spiekany

Lp.	Kąt zwilżania
1	$69,8 \pm 6,41$
2-s	$70,9 \pm 2,43$
3-s	$74,1 \pm 3,71$

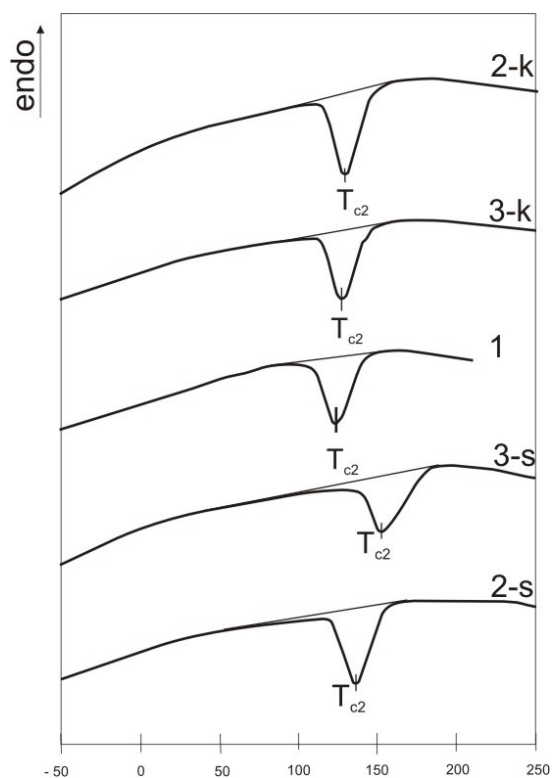
6.2.4 Analiza właściwości termicznych materiałów hybrydowych

Przeprowadzono badania metodą DSC dla materiałów hybrydowych, w których matryce stanowił polimer zawierający 45%wag segmentów sztywnych, 19% wag. segmentów giętkich oligoestrowych (DLA) i 36%wag segmentów giętkich oligoeterowych (PEG), natomiast fazę nieograniczoną stanowił nanometryczny hydroksyapatyt (niekalcynowany i spiekany).

Na rysunku 62 przedstawiono przebiegi termogramów DSC z drugiego grzania i chłodzenia materiałów polimerowo-ceramicznych. Wprowadzenie dwóch różnych nanocząstek hydroksyapatytowych (niekalcynowanych lub spiekanych) wpłynęło na pojawienie się istotnych różnic w charakterze przemian termicznych, tak podczas grzania jak i podczas chłodzenia. Jak wynika z Rys. 62 a, endotermy topnienia krystalitów segmentów sztywnych dla materiałów zawierających HAP niekalcynowany są przesunięte w kierunku wyższych temperatur w porównaniu do materiałów zawierających HAP spiekany. Podobne zjawisko zaobserwowano podczas analizy obszaru niskotemperaturowego, gdzie temperatura zeszklenia, T_g , jest nieco niższa dla materiałów zawierających HAP spiekany w porównaniu do układów zawierających HAP niekalcynowany. Największe różnice zaobserwowano jednak podczas chłodzenia układów hybrydowych (Rys. 62 b), gdyż materiał zawierający HAP spiekany wykazał największe przesunięcie wartości temperatury krystalizacji w porównaniu z materiałem wyjściowym. Równoległe wprowadzenie HAP spiekanego i witaminy E nie powodowało już tak wyraźnych różnic w procesach krystalizacji materiału polimerowo-ceramicznego.



a) II grzanie

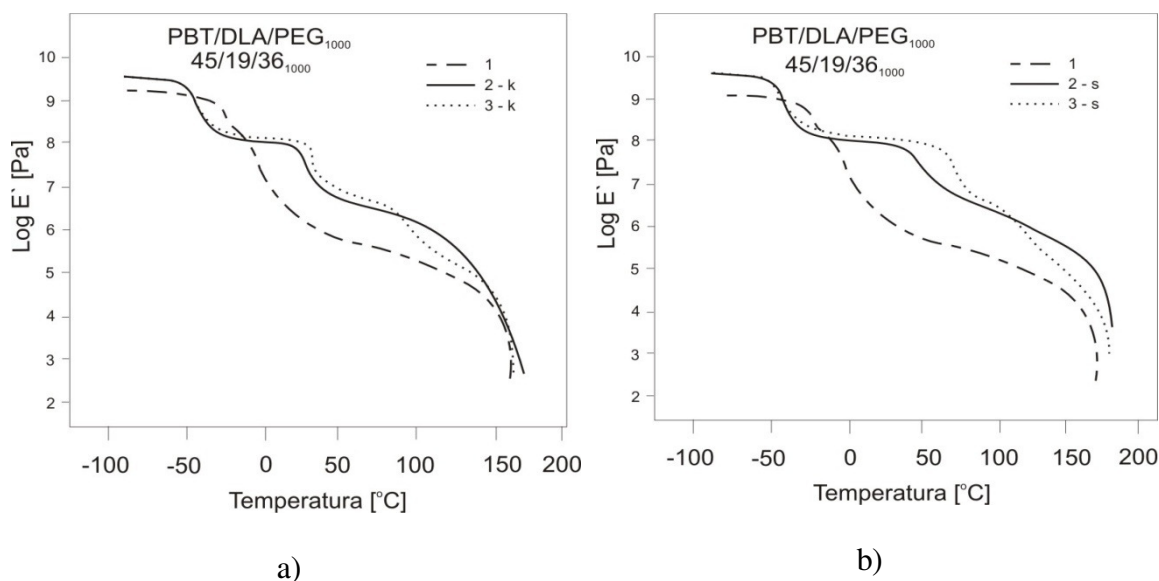


b) chłodzenie

Rys. 62. Termogramy DSC terpolimerów PBT/DLA/PEG₁₀₀₀ zawierających hydroksyapatyt. Oznaczenia jak na rysunku 53.

6.2.5 Dynamiczna analiza termomechaniczna (DMTA)

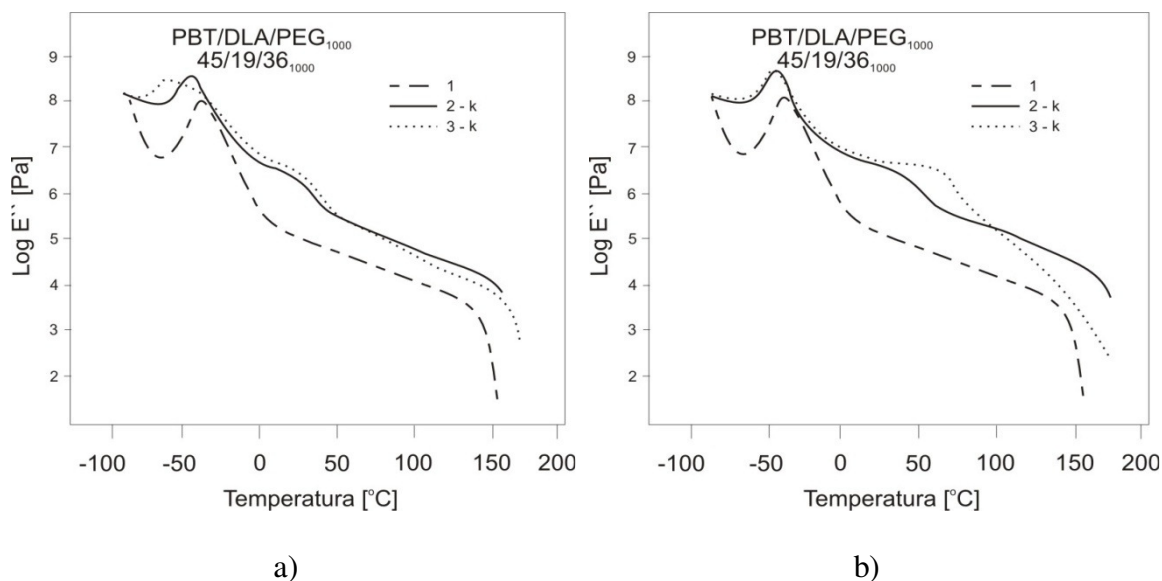
Strukturę fazową materiałów polimerowo-ceramicznych zbadano również metodą DMTA (Rys. 63-65). Materiał wyjściowy (linia przerywana) charakteryzuje się szerokim plateau „tzw. „małego” modułu elastyczności (modułu zachowawczego, E') podobnie jak w kauczukach. W przedziale temperatur od -100°C do -20°C funkcja $\log E' = f(T)$ ma płaski przebieg, a jej moduł nie zmienia się, TEEE występuje w postaci zeszkłonej. W wyższych temperaturach do 20°C następuje spadek modułu, a w makrocząsteczce następują lepkosprężyste procesy relaksacyjne związane z przejściem polimeru ze stanu szklistego w stan wysokoplastyczny w obrębie segmentów giętkich. Wprowadzenie nanocząstek hydroksyapatytu powoduje pojawienie się dodatkowej (oprócz niskotemperaturowej) skokowej zmiany modułu zachowawczego (Rys. 63 a, b) w obszarze ok. $50-80^{\circ}\text{C}$. Wprowadzenie materiału ceramicznego do struktury polimeru powoduje również podwyższenie wartości modułu zachowawczego, niezależnie od rodzaju użytego HAP.



Rys. 63. Zależność dynamicznych właściwości termomechanicznych ($\log E'$) materiałów hybrydowych w funkcji temperatury. Oznaczenia jak na rysunku 53.

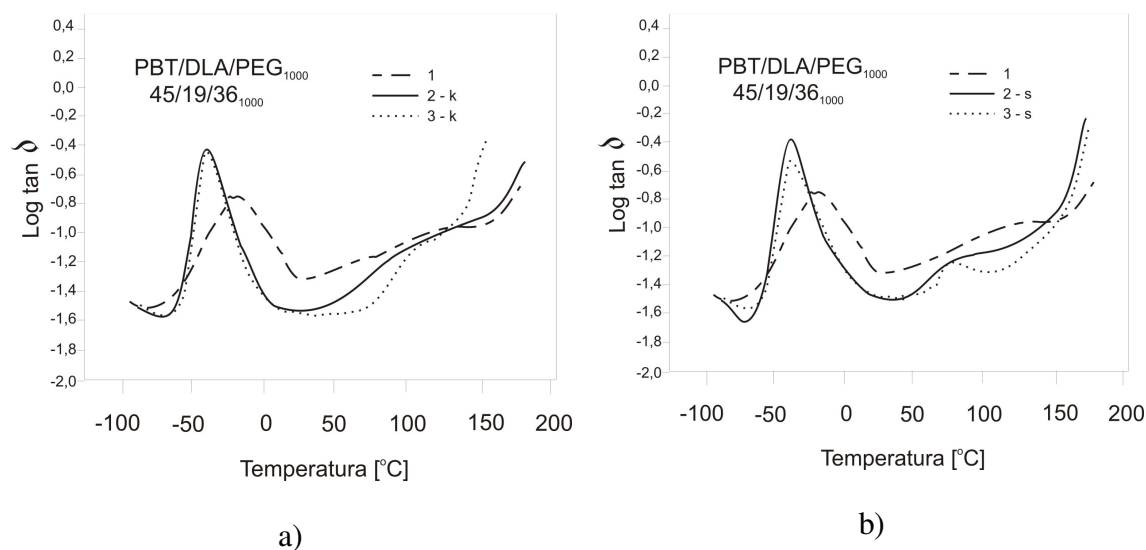
Maksimum logarytmu modułu stratności E'' odnosi się do temperatury zeszklenia fazy amorficznej i ulega znacznemu przesunięciu w kierunku niższych temperatur po wprowadzeniu zarówno HAP-k (Rys. 64 a) jak i HAP-s (Rys. 64 b). Widmo relaksacyjne wskazuje również na pojawienie się wyraźnego zbocza w obszarze

do 50°C dla polimerów zawierających HAP-k i do 80°C dla polimerów zawierających HAP-s, świadczącego o zaburzeniu struktury.



Rys. 64. Zależność dynamicznych właściwości termomechanicznych ($\log E''$) materiałów hybrydowych w funkcji temperatury. Oznaczenia jak na rysunku 53

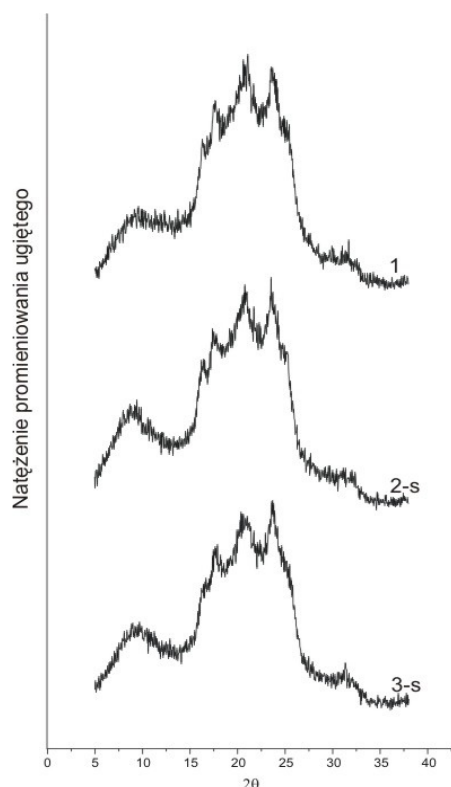
Zmiany te są również zauważalne na widmach $\log \tan \delta$ (Rys 65), na których oprócz wyraźnego, ostrego maksimum w obszarze niskotemperaturowym można zauważyć obecność drugiego, niewielkiego pik relaksacyjnego w obszarze temperatur dodatnich (szczególnie wyraźnego dla polimeru zawierającego HAP spiekany).



Rys. 65. Zależność dynamicznych właściwości termomechanicznych ($\tan \delta$) materiałów hybrydowych w funkcji temperatury. Oznaczenia jak na rysunku 53

6.2.6 Analiza struktury metodą WAXS

Na Rys. 66 pokazano dyfraktogramy wybranych układów hybrydowych zawierających terpolimer PBT/DLA/PEG₁₀₀₀ (45/19/36) i HAP spiekany. Jakościowa ocena dyfraktogramów dowodzi, że wszystkie polimery mają dobrze wykształcone fazy krystaliczne.



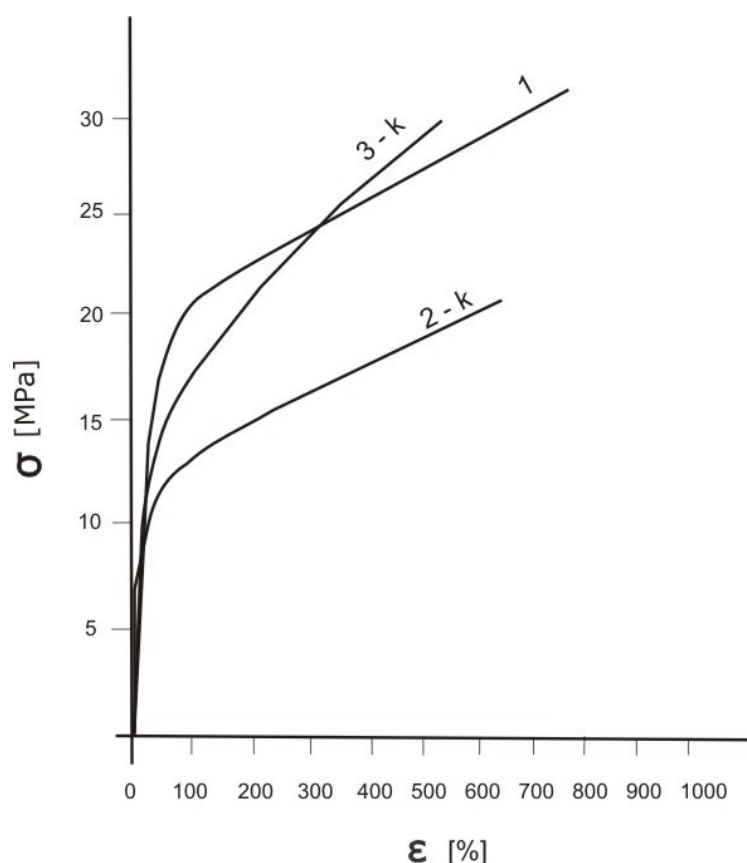
Rys. 66. Dyfraktogramy terpolimerów zawierających HAP spiekany. Gdzie oznaczenia zastosowano jak w rysunku 53.

Rentgenogramy polimerów zawierających HAP cechują się obecnością dwóch maksimów dyfrakcyjnych pochodzących od fazy krystalicznej segmentów PBT. Piki dyfrakcyjne przy kącie $2\theta = 16,36$ i $17,52$ i $20,88$ pochodzą od PBT. Jednocześnie w tych materiałach pojawiają się refleksy związane z krystalizacją segmentów giętkich PEG₁₀₀₀ przy kątach odbłyску odpowiednio $2\theta = \text{około } 9,32$, ulegające wyraźnemu wykształceniu w polimerach zawierających hydroksyapatyt (próbki 2-s i 3-s).

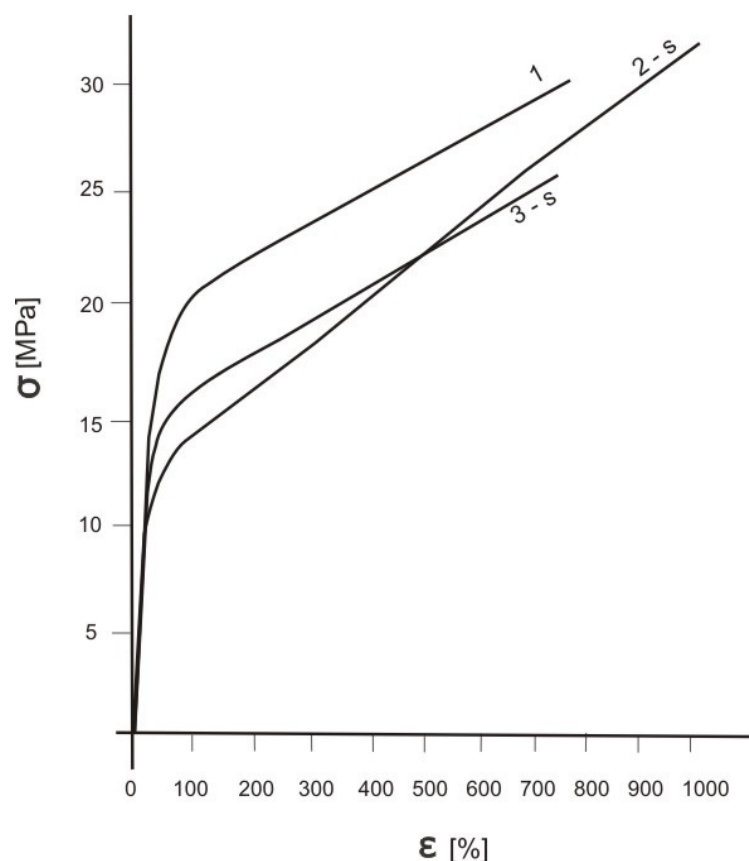
6.2.7 Ocena właściwości mechanicznych materiałów polimerowo-ceramicznych

Liczne prace literaturowe wskazują, że wprowadzenie nanocząstek do matrycy polimerów skutkuje zazwyczaj poprawą właściwości mechanicznych, zwłaszcza modułu Young'a [125], co jest cechą charakterystyczną dla nanokompozytów. Zbadano zatem wpływ wprowadzanego nanokrystalicznego hydroksyapatytu na naprężenie zrywające, naprężenie na granicy plastyczności, wydłużenie względne przy zerwaniu oraz moduł Young'a materiałów polimerowo-ceramicznych.

Wprowadzenie niekalcynowanego HAP do multiblokowego terpolimeru PBT/DLA/PEG₁₀₀₀ pozwoliło uzyskać materiał o porównywalnych właściwościach mechanicznych do wyjściowego terpolimeru (dodatkowe wprowadzenie witaminy E zdecydowanie obniżyło wytrzymałość przy zerwaniu)(Rys. 67).



Rys. 67. Krzywe naprężenie–wydłużenie dla TEEE zawierających HAP niekalcynowany. Oznaczenia jak na rysunku 53.



Rys.68. Krzywe naprężenie–wydłużenie dla TEEE zawierających HAP spiekany. Gdzie oznaczenia zastosowano jak w rysunku 53.

Terpolimery zawierające hydroksyapatyt spiekany (Rys. 68) mają porównywalne wartości naprężenia przy zerwaniu niezależnie od tego, czy wprowadzany był tylko HAP spiekany czy dodawano jeszcze witaminę E. Materiał zawierający VE (krzywa 2-s) charakteryzował się większymi wartościami wydłużenia do zerwania.

6.3 Próby formowania monofilamentów/włókien oraz nanowłókien z nowych TEEE i materiałów hybrydowych

Współczesne wyzwania medycyny regeneracyjnej i inżynierii tkankowej kierują się na wytwarzanie różnorodnych przestrzennych struktur (3D), które stanowiłyby „rusztowania” dla komórek zdolnych do proliferacji i namnażania się w celach hodowli *in vitro* całych tkanek a nawet organów. Jedną w form przestrzennych podłoży do hodowli komórkowych są polimerowe struktury włókniste, o charakterze splecionych lub regularnie ułożonych monofilamentów (miedzianych mat polimerowych) o średnicach mikro- lub nanoskopowych (mikro- lub nanowłókna) o mikroporowatej strukturze,

dzięki której dostarczane są składniki odżywcze do wnętrza trójwymiarowego podłoża [33].

Upatrując możliwości potencjalnych zastosowań medycznych wytworzonych terpolimerów TEEE i materiałów hybrydowych, przeprowadzono próby formowania mikrowłókien o charakterze raczej monofilamentów niż wysoko zorientowanych klasycznych włókien oraz nanowłókien otrzymanych z wykorzystaniem metody elektroprzędzenia.

6.3.1 Formowanie monofilamentów/włókien ze stopu

Przeprowadzono próby formowania monofilamentów/włókien metodą stopową wykorzystując urządzenie zaprojektowane i wykonane w Instytucie Polimerów Politechniki Szczecińskiej, obecnie Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym. Temperatury w pierwszej strefie ślimaka były wyższe o 10 stopni od temperatury topnienia oznaczonej metodą Boethiusa, natomiast w filierze temperatury były wyższe o ok. 20 stopni dla danego terpolimeru i materiałów hybrydowych,

Próbowo formowania włókien poddano wszystkie zsyntezowane nowe polimery, aczkolwiek nie udało się otrzymać włókien z polimeru zawierającego 26% segmentów sztywnych i 15% segmentów oligoeterowych (PEG₁₀₀₀), co było związane z wyjątkowo długim czasem krystalizacji tego materiału.

Łatwiejszemu formowaniu ulegały polimery zawierające 45% segmentów sztywnych i PEG₁₀₀₀ w segmentach giętkich.

Z powodzeniem przeprowadzono również próby formowania monofilamentów z materiałów polimerowo-ceramicznych, stwierdzając jednocześnie, że dodatek HAP stabilizuje termicznie układ, dzięki czemu polimer zawierający niestabilny termicznie PEG₁₀₀₀ można było przetwarzać w wysokich temperaturach bez dodatku stabilizatora termicznego (VE).

Na podstawie obserwacji organoleptycznych stwierdzono, że przy zastosowanej metodzie formowania i odbierania włókien przy prędkościach przędzenia ok. 700-900 m/min uzyskano fibryle o niskim stopniu orientacji cząsteczek (duże deformacje i wysoki stopień orientacji włókien uzyskuje się przy prędkościach przędzenia równych lub wyższych od 3000 m/min [126]. W tabeli 26 zestawiono wyliczone wartości grubości włókien dla polimerów zawierających 26% segmentów sztywnych i zmienny udział PEG₄₆₀₀.

Tab. 26. Grubość włókien dla polimerów zawierających 26% segmentów sztywnych i zmienny udział PEG₄₆₀₀ w segmentach giętkich. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Skład	dtex ^{a)}	den ^{b)}	N _m ^{c)}
26/59/15 ₄₆₀₀	-	-	-
26/37/37 ₄₆₀₀	755,6	680,04	14,87
26/15/59 ₄₆₀₀	299,4	269,46	34,38
26/74 ₄₆₀₀	203	182,7	50,78

- a) teks (tex) – jednostka masy przez jednostkę miary długości przędzy i nici włókienniczych odpowiadająca 10⁻⁶ kg/m.
b) liczba g masy włókna lub przędzy o długości 9000 m
c) liczba metrów włókna lub przędzy w 1 g masy

W przypadku materiałów zawierających 45% wag. segmentów sztywnych i PEG₁₀₀₀ otrzymano włókna o średnicach od 324 do 612 den (Tabela 27). Najcieńsze włókna otrzymano z terpolimeru zawierającego 36% PEG₁₀₀₀ w segmentach giętkich. Porównywalną grubość wykazały włókna otrzymane z próbek zawierających 19% i 55% PEG₄₆₀₀ oraz 36% PEG₁₀₀₀. Najgrubsze włókno otrzymano z TEEE o udziale PEG₁₀₀₀ równym 55% i nie zawierającej stabilizatora (witaminy E).

Tab.27. Grubość włókien dla polimerów zawierających 45% PBT i zmienną zawartość PEG₁₀₀₀. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Skład	dtex ^{a)}	den ^{b)}	N _m ^{c)}
45/55	239,2	215,28	42,09
45/36/19 ₁₀₀₀	474,6	427,14	21,14
45/19/36 ₁₀₀₀	360,2	324,18	27,92
45/55 ₁₀₀₀	450,8	405,72	22,38

a), b), c) – oznaczenia jak w Tabeli 26

Zastosowanie PEG o wyższej masie, tj. 4600 g/mol pozwoliło na formowanie jeszcze cieńszych włókien (od 215 do 387 den) (Tabela 28).

Wprowadzenie hydroksypatytu do matrycy TEEE pozwoliło na uformowanie włókien o podobnej grubości, tj. od 279 do 421 den), co ilustruje Tabela 29.

Tab.28. Grubość włókien dla próbek zawierających 45% PBT i zmienną zawartość PEG₄₆₀₀. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Skład	dtex ^{a)}	den ^{b)}	N _m ^{c)}
45/55	239,2	215,28	42,09
45/36/19 ₄₆₀₀	368	331,2	27,24
45/19/36 ₄₆₀₀	430,6	387,54	23,73
45/55 ₄₆₀₀	369,8	332,82	27,37

a), b), c) – oznaczenia jak w Tabeli 26

Tab. 29. Grubość włókien dla materiałów zawierających 36% PEG, 19% DLA i 45% PBT oraz odpowiednio niekalcynowanego i spiekanego oraz witaminę E (VE).

Skład	dtex ^{a)}	den ^{b)}	N _m ^{c)}
1	360,2	324,2	27,92
3 - k	376	338,4	26,71
2 - k	468,6	421,7	23,56
3 - s	438,8	394,9	22,89
2 - s	311	279,5	32,42

a), b), c) – oznaczenia jak w Tabeli 26

Najmniejszą grubość włókna uzyskano dla układu hybrydowego zawierającego witaminę E i spiekany hydroksyapatyt (279,5 den). Natomiast największą grubość włókna otrzymano dla próbki zawierającej niekalcynowany hydroksyapatyt i witaminę E (421,7 den). Różnice jednak nie były na tyle duże aby można było wywnioskować, który z zastosowanych dodatków: hydroksyapatyt czy witamina E wpływają wyraźnie na polepszenie właściwości włóknotwórczych badanych układów.

We wszystkich przypadkach, zarówno dla terpolimerów jak i materiałów hybrydowych wytworzono surowe włókna (nierozciągane) monofilamentowe o średnicach nadających się do zastosowań jako fibrylarne podłoża dla wzrostu i proliferacji komórek w inżynierii tkankowej.

6.3.2 Ocena zdolności formowania nanowłókien metodą elektroprzędzenia

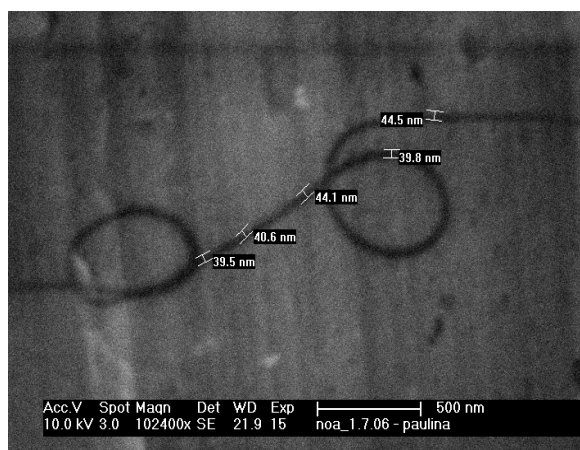
Technologia wytwarzania nanowłókien polimerowych jest niezwykle przyszłościowa, ponieważ w porównaniu do włókien klasycznych, nanowłókna mają

zupełnie inne, nowe właściwości [43,127]. Zastosowanie metody elektroprzędzenia pozwala na wytwarzanie nanowłókien z roztworów polimerowych [53, 128, 129], choć najbardziej przyszłościową metodą wydaje się być elektroprzędzenie ze stopu [130, 131]. Ta metoda pozwala m.in. eliminować stosowanie często toksycznych rozpuszczalników, a ponadto pozwala na formowanie nanowłókien z materiałów hybrydowych (organiczno-nieorganicznych).

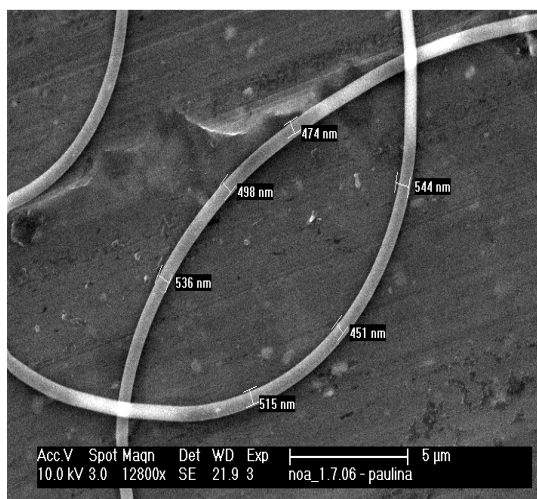
W pracy przeprowadzono próby otrzymywania nanowłókien z terpolimerów, które formowano klasyczną metodą stopową do postaci monofilamentów. W tym przypadku jednak wykorzystano metodę elektroprzędzenia z roztworu dobierając rodzaj rozpuszczalnika i stężenie roztworu, odległość dyszy od kolektora oraz napięcie pola elektrostatycznego.

Ocena morfologii nanowłókien za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej

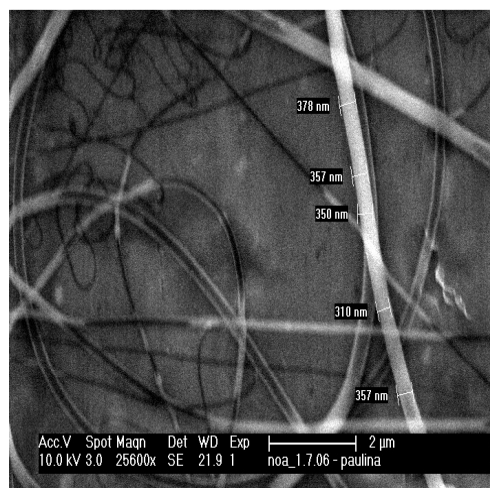
Morfologię otrzymanych nanowłókien dla przykładowych terpolimerów obrazowano za pomocą SEM. Zastosowanie techniki elektroprzędzenia z roztworu pozwoliło na otrzymanie nanowłókien TEEE o średnicy ok. 39 do 500nm, co ilustrują Rys. 69 i 70.



*Rys.69. Zdjęcie SEM nanowłókien otrzymanych z próbki 45/19/36₁₀₀₀ (Warunki elektroprzędzenia: napięcie:20V, odległość kolektora: 25cm, czas wyptywu:2 min). Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.*



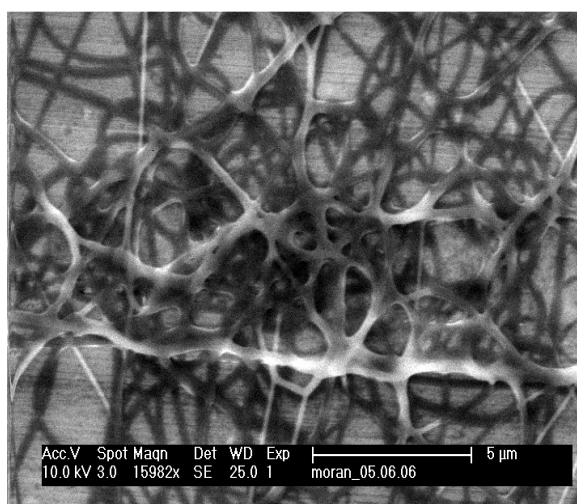
a)



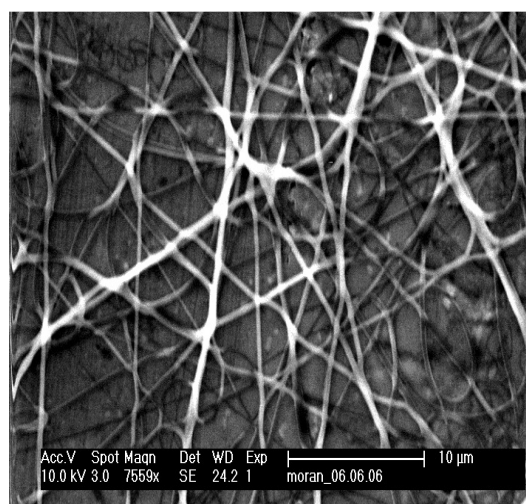
b)

Rys. 70. Zdjęcie SEM nanowłókien otrzymanych z TEEE 45/19/36₁₀₀₀ (a,b) oraz . Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny PBT/segment giętki DLA/segment giętki PEG.

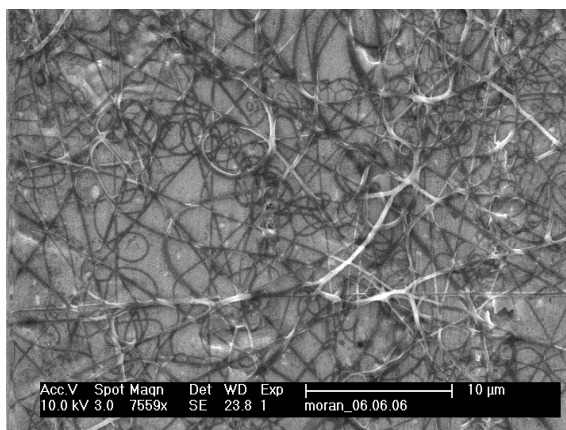
Do formowania nanowłókien zastosowano 5% roztwór polimeru w heksafluoro-2-propanolu o dobrych właściwościach przędnych, uzyskując nanowłókna zarówno z TEEE zawierających wysoki udział segmentów sztywnych, tj. 45% wag. (Rys. 70), jak również dla terpolimerów zawierających 26% wag. segmentów sztywnych (Rys. 71). Roztwory polimerów w chloroformie wykazywały znacznie gorsze właściwości przędne.



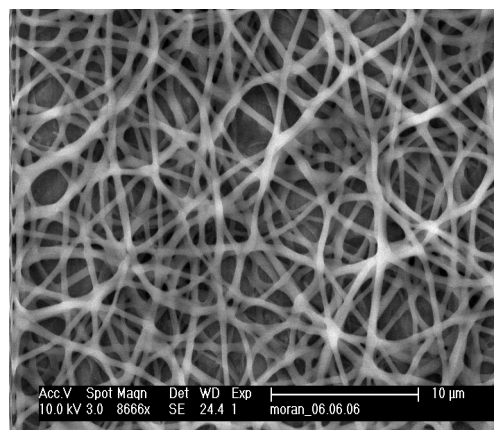
a)



b)



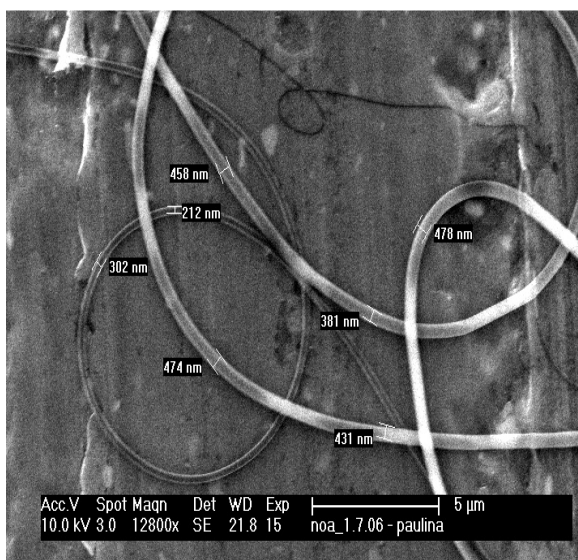
c)



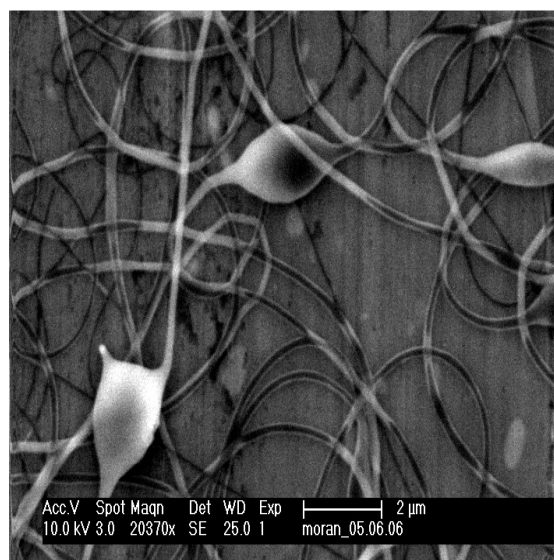
d)

Rys.71. Zdjęcie SEM nanowłókien otrzymanych z TEEE 26/37/37 o różnym ciężarze cząsteczkowym PEG: a) 1000 g/mol, b) 4600 g/mol oraz z terpolimeru 26/59/15 zawierającego PEG: (c) 1000 g/mol, d) 4600 g/mol. Kolejne cyfry w stosowanych oznaczeniach odpowiadają zawartości segmentów: segment sztywny **PBT**/segment giętki **DLA**/segment giętki **PEG**.

Jak należało się spodziewać, przy próbach formowania nanowłókien metodą elektroprzędzenia roztworowego z materiałów hybrydowych (Rys. 72) dochodziło do tworzenia się tzw. struktury paciorkowatej związanej z aglomeracją nanocząstek HAP i ich wytrącaniem się w postaci charakterystycznych kropelek (Rys. 72b).



a)



b)

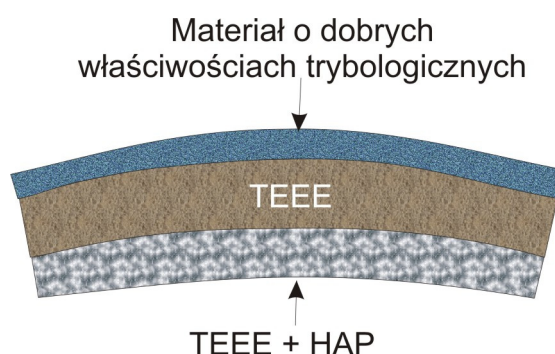
Rys.72. Zdjęcie SEM nanowłókien otrzymanych z TEEE 45/19/36₁₀₀₀ o różnej zawartości stabilizatora. a) 1, b) 2 – k. Oznaczenia jak na Rys. 53.

6.4 Możliwości wykorzystania nowych terpoli(estro-etero-estrów) i materiałów hybrydowych w rekonstrukcji tkanek miękkich

Tkanki miękkie, do których należy n.inn. skóra, mięśnie, chrząstka lub ścięgna charakteryzują się strukturą warstwową lub hierarchiczną, a ich właściwości mechaniczne mieszczą się w granicach od kilku do kilkudziesięciu megapaskali, w zależności o miejsca występowania w organizmie. Jedną z ważnych i stosunkowo trudnych do rekonstrukcji w przypadku uszkodzenia jest tkanka chrzęstna, która nie posiada naczyń i zakończeń nerwowych i posiada tym samym niewielką zdolność do regeneracji [105,106].

6.4.1 Badania biogodności nowych TEEE i materiałów hybrydowych in vitro

Przeprowadzone badania, zwłaszcza dane dotyczące wytrzymałości mechanicznej na ściskanie i rozciąganie stały się podstawą do wytypowania wybranych, nowych materiałów do testów biogodności komórkowej jako systemów o potencjalnym zastosowaniu w rekonstrukcji tkanki chrzęstnej. Na podstawie analizy doniesień literaturowych stwierdzono, że substytut tkanki chrzęstnej jako kompozytu warstwowego (Rys. 8) powinien posiadać również strukturę warstwową, w której co najmniej jedna warstwa powinna być zbudowana z materiału o odpowiedniej wytrzymałości na rozciąganie i ściskanie (na przykład TEEE), a warstwa głęboka powinna posiadać zdolność do zespalandia się z kością, celem lepszej osteointegracji czyli integracji z naturalną tkanką (na przykład polimer TEEE zawierający hydroksyapatyt, naturalny składnik kości). Zaproponowany model takiego rozwiązania przedstawia Rys. 73.



Rys. 73. Proponowany model implantu warstwowego wykonanego m.inn. z TEEE i materiału hybrydowego (TEEE+HAP)

Do badań biogodności *in vitro* i *in vivo* wytypowano terpoli(estro-etero-ester) zawierający 45% wag. PBT, 19% wag. DLA i 36% wag. PEG₁₀₀₀ (składnik warstwy TEEE w modelu na Rys. 73), który jednocześnie był stosowany jako matryca do wytwarzania układów hybrydowych z hydroksyapatytami (HAP-k i HAP-s). Testy biogodności przeprowadzono również dla materiałów hybrydowych zawierających hydroksyapatyty (składnik warstwy TEEE+HAP).

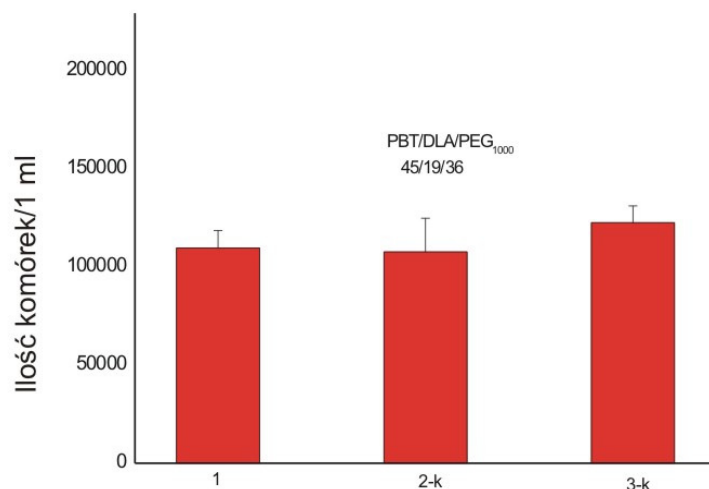
Badania proliferacji komórek przeprowadzono na linii komórkowej 3T3 hodowanej w standardowych warunkach przez 5 dni. Stosowano 100 000 komórek na 1 ml medium hodowlanego (wartość ta stanowiła też kontrolę). Badania żywotności komórek oceniono na cytometrze przepływowym barwiąc komórki roztworem jodku propydy. Komórki żywe, nie ulegały wybarwieniu (usuwały jodek propydy z wnętrza), komórki martwe i apoptotyczne barwiły się jodkiem propydy.

Badania biogodności *in vivo* przeprowadzono na małych zwierzętach doświadczalnych (na podstawie odpowiedniego pozwolenia Komisji Etycznej) – szczury rasy Wistar płci męskiej o wadze od 200g do 220g. Każdy polimer wszczepiono w ilości 10 próbek po jednej każdemu szczurowi. Pierwszej dziesiątce szczurów wszczepiono do tkanki mięśniowej polimer TEEE, drugiej dziesiątce wszczepiono do lewego uda podokostnowo polimer zawierający HAP-k. W celu oceny reakcji kości na uraz operacyjny u każdego z tych zwierząt z kości udowej prawej złuszczone okostną bez wszczepiania polimeru. Trzeciej dziesiątce wszczepiono do uda lewego polimer zawierający HAP-s. W celu odniesienia powstałych zmian w kościach uda prawe tych zwierząt pozostawiono bez operacji i oznaczono jako grupę kontrolną (Z). Test prowadzono przez 180 dni. Dokonano oceny makroskopowej i mikroskopowej wypreparowanych tkanek wraz z wszczepionymi polimerami (po uśmierceniu zwierząt pentabarbitolem).

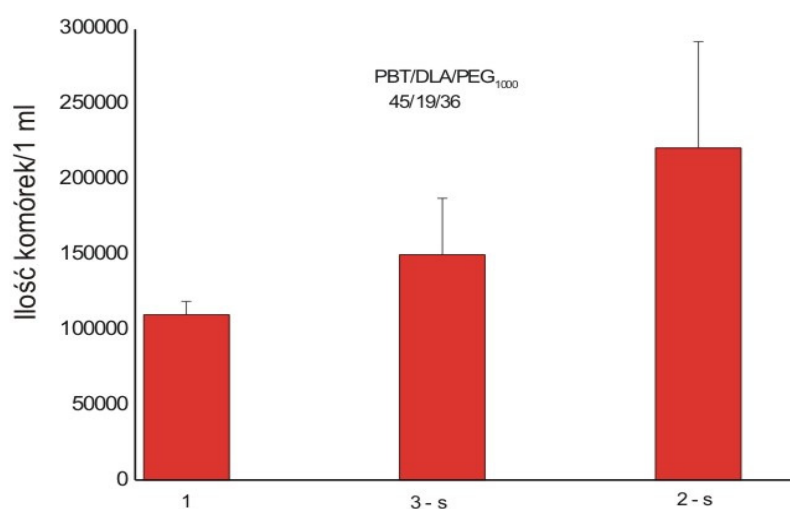
Badania biogodności *in vitro* i *in vivo* wykonano na Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie (dr hab. n.med. Piotr Prowans, Klinika Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Ręki).

Ocena proliferacji komórek i ich apoptozy

Testy biogodności *in vitro* pozwoliły na ocenę wzrostu (prolifracji) komórek co przedstawiono na Rys. 74 i 75 oraz ich śmiertelność i apoptozę, jak to przedstawiono na Rys. 76 i 77.



Rys. 74. Proliferacja komórek na podłożach polimerowych zawierających TEEE i materiały hybrydowe zawierające hydroksyapatyt nie kalcynowany (oznaczenia jak na rys. 53)

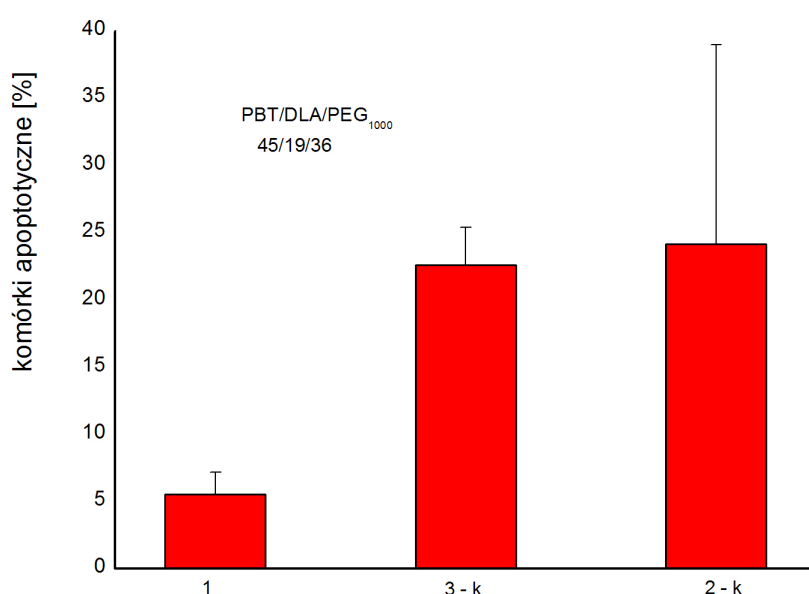


Rys. 75. Proliferacja komórek na podłożach polimerowych zawierających TEEE i materiały hybrydowe zawierające hydroksyapatyt spiekany (oznaczenia jak na rys. 53)

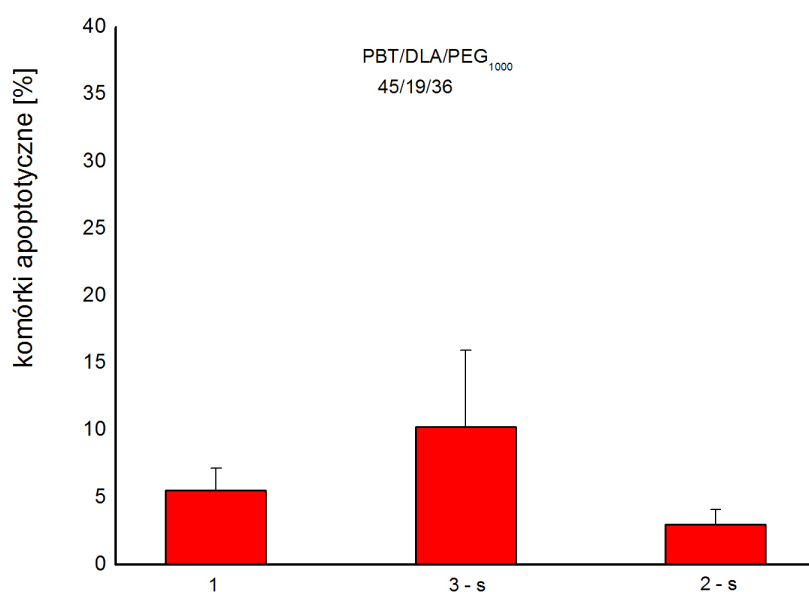
Jak wynika w Rys. 74 dodatek hydroksyapatytu niekalcynowanego nie wpływa istotnie na zwiększoną proliferację komórek. Zastosowanie w materiałach hybrydowych hydroksyapatytu spiekane (Rys. 75) spowodowało większą proliferację komórek. Zatem, materiały hybrydowe zawierające HAP spiekany powinny być rozważane jako

materiały na warstwę głęboką proponowanego implantu ze względu na lepszą biogodności komórkową manifestowaną znacznie większą liczbą namnożonych komórek niż dla HAP niekalcynowanego .

Z wynikami proliferacji komórek korespondują wyniki śmiertelności i apoptozy (programowanej śmierci) komórek. Układy zawierające hydroksyapatyt niekalcynowany wykazały śmiertelność komórek w granicach 22-24 % (Rys. 76), podczas gdy dla układu zawierającego hydroksyapatyt spiekany stwierdzono bardzo niską śmiertelność komórek, która wynosiła około 2,9 % (Rys. 77).



Rys. 76. Ilość komórek śmiertelnych i apoptycznych komórek na podłożach polimerowych zawierających TEEE i materiały hybrydowe zawierające hydroksyapatyt nie kalcynowany (oznaczenia jak na rys. 53)



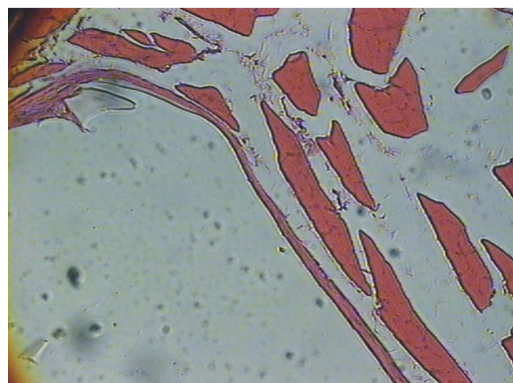
Rys. 77. Ilość komórek apoptotycznych na podłożach polimerowych zawierających TEEE i materiały hybrydowe zawierające hydroksyapatyt spiekany (oznaczenia jak na rys53.)

6.4.2 Ocena biogodności *in vivo*

Ocenę biogodności *in vivo* przeprowadzono na małych zwierzętach doświadczalnych. Stwierdzono, że wszystkie zwierzęta przeżyły okres obserwacji. Rany wygoiły się przez rychłozrost. Nie stwierdzono zmian w wyglądzie, zachowaniu i aktywności zwierząt. W ocenie makroskopowej tkanek miękkich nie stwierdzono zmian naciekowych lub zanikowych w otoczeniu wszczepów. Widoczne na przekrojach poprzecznych otoczki łącznotkankowe dookoła polimeru (Rys. 78) były cienkie i wiotkie. Nie stwierdzono obecności płynu w otoczce.



a)



b)

Rys. 78. Otoczka łącznotkankowa dookoła polimeru zawierającego a) HAP-k i b) HAP-s (pow. 200x)

W celu oceny wpływu materiałów hybrydowych zawierających nanocząstki hydroksyapatytu na tkankę kostną (osteosyntezę manifestowaną pogrubieniem kości) wykonano podokostnowy test implantacyjny. W badaniu mikroskopowym oceniono grubość kości oraz rodzaj zmian zachodzących w jej obrębie (Tabela 30). Porównując wpływ nowych polimerów na pogrubienie i przebudowę kości oraz zawartość tkanki łącznej stwierdzono, że najlepszymi właściwościami charakteryzował się TEEE zawierający hydroksyapatyt spiekany.

Tabela 30 Zestawienie wyników pomiaru grubości kości i intensywności wytworzenia tkanki łącznej.

Materiał	Grubość kości [mm]	Pogrubienie kości	Przebudowa kości	Tkanka łączna
Zdrowa okostna	0,665	3+/2++	3+	3+/2++
TEEE + HAP-k	0,641	1+	-	4+/1++
TEEE + HAP-s	0,657	2+/1++	2+	6+/1+++
Silikon	0,665	3+	3+	2+/2++/3+++

Oznaczenia: kolejne cyfry oznaczają ilość stwierdzonych przypadków w grupie 10 badanych zwierząt; znaki + odnoszą się do intensywności zmian: + nieznaczne, ++ średnie, +++ intensywne



Rys. 79. Przebudowa kości po podokostnowym wszczepieniu polimeru zawierającego HAP-s. (pow. 400x)

Spodziewane właściwości osteoindukcyjne zostały potwierdzone klinicznie na modelu zwierzęcym. Obraz histologiczny tkanki kostnej, z której została zeszkrobana okostna i w to miejsce został przyłożony polimer zawierający HAP spiekany, wykazał (Rys. 79) przebudowę kości, tj. zmianę struktury z kości uporządkowanej drobnowłóknistej, blaszkowatej na kość nieuporządkowaną, grubowłóknistą, splotowatą (wygląd jak w świeżym zroście kostnym).

7. Wnioski

Podsumowując przedstawione wyniki należy stwierdzić, że otrzymano nowe multiblokowe terpoli(estro-etero-estry) (TEEE) w procesie transestryfikacji i polikondensacji w stopie. Dzięki zastosowaniu oligoeterów PEG o różnych masach cząsteczkowych oprócz reszt dimeryzowanego kwasu tłuszczowego jako składników segmentów giętkich otrzymano materiały charakteryzujące się znacznie podwyższoną hydrofilowością w porównaniu do materiałów, w których stosowano tylko dimeryzowany kwas tłuszczowy w segmentach giętkich. Podobny efekt uzyskano dla przykładowych materiałów hybrydowych (polimerowo-ceramicznych), w których zastosowano nanometryczny hydroksyapatyt. Co więcej, w odniesieniu do HAP stwierdzono, że wykazuje on właściwości stabilizujące, porównywalne z witaminą E, nietoksycznym stabilizatorem stosowanym w reakcjach otrzymywania TEEE.

Określono strukturę chemiczną nowych układów potwierdzając założony wcześniej schemat budowy terpolimerów multiblokowych. Badania DSC i DMTA potwierdziły strukturę fazową charakterystyczną dla elastomerów termoplastycznych.

Właściwości mechaniczne terpolimerów o niskim udziale segmentów sztywnych silnie zależą od ciężaru cząsteczkowego PEG – najlepsze właściwości uzyskano dla oligoeteru o wysokiej masie cząsteczkowej, tj. PEG₄₆₀₀. Zastosowanie ceramiki hydroksyapatytowej poprawia właściwości mechaniczne TEEE. Badania właściwości wytrzymałościowych zależą od zawartości segmentów sztywnych w makrocząsteczce i wskazują na naprężenia do zerwania w granicach 6-47 MPa i wydłużeniu przy zerwaniu 300-1000 % w zależności od użytego PEG i jego udziału jak również od udziałów PBT.

Wyniki przeprowadzonych prób formowania włókien (surowych monofilamentów nie poddawanych rozciąganiu) wykazały, że nowe układy polimerowe PBT/DLA/PEG wykazują doskonałe właściwości przedne, nawet przy bardzo niskiej zawartości segmentów sztywnych PBT, przy zastosowaniu techniki formowania stopowego.

Wyniki elektroprzewodzenia z roztworu pokazały, że nowe terpolimery nadają się doskonale do formowania porowatych trójwymiarowych podłoży (niedzianych mat) do hodowli komórkowych. Najlepsze właściwości do elektroprzewodzenia wykazały roztwory polimerów w heksafluoro-2-propanolu o stężeniu 5%.

Do ważniejszych wyników poznawczych pracy należy otrzymanie nowych biodegradowalnych oraz biozgodnych materiałów polimerowych, z których zwłaszcza materiały hybrydowe polimerowo/ceramiczne zawierające nanometryczny hydroksyapatyt charakteryzują się doskonałą biozgodnością *in vitro* i *in vivo*. Zaproponowano model warstwowego kompozytu, który mógłby nadawać się na substytut chrząstki stawowej, w którym jedna z warstw (od strony kości gąbczastej) byłaby pokryta lub w całości wykonana z materiału polimerowo/ceramicznego zawierającego nanocząstki hydroksyapatytu. Jak wykazano na modelu zwierzęcym, wprowadzenie hydroksyapatytu do struktury materiału kontaktującego się z kością wpływa korzystnie na przebudowę tkanki kostnej, co jest dobrym wskaźnikiem do zastosowań tych materiałów w ortopedii.

Wyniki przedstawione w niniejszej dysertacji były przedmiotem czterech publikacji w czasopismach o cyrkulacji międzynarodowej i siedmiu publikacji w czasopismach recenzowanych.

8. Literatura

- [1] El Fray M. *Wpływ budowy segmentów giętkich na wybrane właściwości segmentowych kopolimerów blokowych*, Praca Doktorska, Szczecin **1996**
- [2] El Fray M. *Nanostructured elastomeric biomaterials for soft tissue reconostruction*. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa **2003** 1-144
- [3] Słonecki J. *Struktura i niektóre właściwości kopolimerów (estro-eterów)* Prace Naukowe Politechniki Szczecińskiej 479 **1992** 9 – 15
- [4] Holden G., Legge N.R., Quirk R., Schroeder H.E., *Thermoplastic Elastomers*, 2nd Ed. Hanser Publishers Munich Vienna, New York **1996**
- [5] Chandra R., Rustigi R. *Biodegradable polymers* Prog. Polym. Sci. 23 **1998** 1273-1335
- [6] Olędzka E., Sobczak M., Kołodziejski W.L. *Polymers in medicine -review of recent studiem* Polimery 52 **2007** 795-803
- [7] Gogeva T., Fakirov S. *Poly(ether/ester)s Based on Poly(tetramethylene terephthalate) and. Poly(ethylene glycol)* Macromol Chem 191 **1990** 2355
- [8] Deschamps AA, Grijpma DW, Feijen J. *Poly(ethylene oxide)/poly(butylene terephthalate) segmented block copolymers: the effect of copolymer composition on physical properties and degradation behavior*. Polymer 42 **2001** 9335–9345
- [9] Błazewicz S., Stoch L. *Biomateriały t.4* Warszawa Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT **2003**
- [10] Zdebiak P., El Fray M. *The perspectives of polymeric hydrogels and thermoplastic elastomers as cartilage-like materials* Inżynieria Biomateriałów 54-55 **2006** 27
- [11] Grad S., Kupsik L., Gorna K., Gogolewski S., Alini M. *The use of biodegradable polyurethane scaffolds for cartilage tissue engineering: potential and limitations* Biomaterials 24 **2003** 5163-71
- [12] Łukaszczyk J. *Biomateriały polimerowe do zastosowań medycznych* Pomerania-Plast 2007 Szczecin-Kołobrzeg 23-25 maja **2007** 33-34
- [13] Jaszcz K., Łukaszczyk J. *Otrzymywanie i modyfikacja biodegradowalnych poliestrów multifunkcjonalnych* Pomerania-Plast 2007 Szczecin-Kołobrzeg 23-25 maja **2007** 103-104

- [14] Łukaszczyk J., Śmiga-Matuszowicz M., Jaszcz K., Karczmarek M. *Badanie właściwości nowych utwardzalnych In situ biomateriałów sieciowanych z udziałem bezwodnika metakrylowego* Pomerania-Plast 2007 Szczecin-Kołobrzeg 23-25 maja **2007** 149-150
- [15] Lanza R., Langer R., Vacanti J., *Principles of Tissue Engineering*, 3rd Edition, Elsevier, Oxford **2007**
- [16] Gupta P., Vermani K., Garg S. *Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery* DDT 10 **2002** 569–578
- [17] Hoffman A. S. *Hydrogels for biomedical applications* Advanced Drug Delivery Reviews 43 **2002** 3 – 12.
- [18] Corkhill P. H., Trevett A. S., Tighe B. J. *The potential of hydrogels as synthetic articular cartilage* Proc. Inst. Mech. Engrs 204 **1990** 147 – 55.
- [19] Stammen J. A., Williams S., Ku D. N., Guldberg R. E. *Mechanical properties of a novel PVA hydrogel in shear and unconfined compression* Biomaterials 22 **2001** 799 – 806.
- [20] Pluta J., Karolewicz B. *Hydrożele: właściwości i zastosowanie w technologii postaci leku. Charakterystyka hydrożeli* Polimery w medycynie 2 **2004** 3 – 16
- [21] Polyvinyl alcohol (PVA) sponge data sheet ERKOL S.A.
- [22] Zheng – Qin G., Jin – Mei X., Xiang – Hong Z. *The development of artificial articular cartilage – PVA – hydrogel* Biomed. Mater. Engng 8 **1998** 75 – 81.
- [23] Drury J.L., Mooney D.J. *Hydrogels for tissue engineering: scaffold design variables and applications* Biomaterials 24 **2003** 4337-4351
- [24] Hennink W.E., Van Nostrum C.F. *Novel crosslinking methods to design hydrogels* Advanced Drug Delivery Reviews 54 **2002** 13-36
- [25] Thomas J., Lowman A., Marcolongo M. *Novel associated hydrogels for nucleus pulposus replacement* J Biomed Res 67 A **2003** 1329-1337
- [26] Hassan C. M., Ward J. H., Peppas N. A. *Modeling of crystal dissolution of poly(vinyl alcohol) gels produced by freezing/thawing processes* Polymer 41 **2000** 6729 – 29
- [27] Osada Y., Kajiwaru K. *Gels Handbook*, Academic Press **2001**
- [28] Rosiak J. M., Czechowska-Biskup R., Filipczak K., Henke A., Kadłubowski S., Kozicki M., Ulański P. *Radiacyjna inżynieria biomedyczna*. 47 **2004** Z. 1

- [29] Savas H., Guven O. *Gelation, swelling and water vapor permeability behavior of radiation synthesized poly(ethylene oxide) hydrogels* Radiation Physics and Chemistry 64 **2002** 35 – 40.
- [30] Krakovský, Ilavský M., Posil H., Pletli J. *Structure of pluronics – based networks. Department of Macromolecular Physics* Faculty of Mathematics and Physics, Charles University, V Holešovičkách 2, 180 00 Praha 8, Czech Republic
- [31] Zdebiak P., Piątek M., El Fray M., B.Szaraniec, M, Ziabka, A. Morawska-Chochół, Chlopek J. *Resorbable fibers for medical application* Inżynieria Biomateriałów 69-72 **2007** 111-114
- [32] Olędzka E. Sobczak M. Kołodziejski W.L. *Polimery w medycynie-przegląd dotychczasowych osiągnięć* Polimery 11/12 **2007**
- [33] Rosół P. Chłopek J. *Kompozyty z polimerów biostabilnych I bioresorbowalnych modyfikowane bioaktywną ceramiką* Kompozyty (Composites) 5 **2005** 4
- [34] Sato T., Chen G., Ushida T., Ishii T., Ochiai N., Tateishi T., Tanaka J.: *Evaluation of PLLA – collagen hybrid sponge as scaffold for cartilage tissue engineering* Materials Science and Engineering 24 **2004** 365 – 372
- [35] Hongfan Sun¹, Lin Mei¹, Cunxian Song², Xiumin Cui, Pengyan Wang *The in vivo degradation, absorption and excretion of PCL-based implant* Biomaterials 27 **2006** 1735–1740
- [36] Mincheva R., Manolova N., Sabov R., Kjurkchiev G., Rashkov I. *Hydrogels from chitosan crosslinked with poly(ethylene glycol) diacid as bone regeneration materials* e-Polymers 058 **2004**
- [37] La Shandra Teresa James *PEO-containing copolymers as corley polyurethane soft segments in the development of high performance materials* Massachusetts Institute of Technology June **2005**
- [38] Malda J., Woodfield T.B.F., van der Vloodt F., Kooya F.K., Martens D.E, Tramper J., van Blitterswijk C.A., Riesle J. *The effect of PEGT/PBT scaffold architecture on oxygen gradients in tissue engineered cartilaginous constructs* Biomaterials 25 **2004** 5773–5780
- [39] Wei-Chi Lai, Wen-Bin Liao: *Thermo-oxidative degradation of poly(ethylene glycol)/poly(L-lactic acid) blends* Polymer 44 **2003** 8103-8109.
- [40] Słynarski K. *Osteoindukcyjne właściwości wielopotencjalnych komórek szpiku* Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja: 3 **2000**

- [41] Makoto Kawanishi, Takashi Ushida, Tadashi Kaneko, Hideo Niwa, Toru Fukubayashi, Kozo Nakamura, Hiromi Oda, Sakae Tanaka, Tetsuya Tateishi *New type of biodegradable porous scaffolds for tissue-engineered articular cartilage* Materials Science and Engineering 24 **2004** 431–435
- [42] Ayutsede J. Eyitouyo, *Regeneration of Bombyx Mori Silk Nanofibers and Nanocomposite Fibrils by the Electrospinning Process* Drexel University **2005**
- [43] Seeram Ramakrishna, Kazutoshi Fujihara, Wee-Eong Teo, Teik-Cheng Lim & Zuwei Ma *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers* National University of Signapore, **2005**
- [44] Łaskiewicz B., Czarnecki P., Kulpiński P., Niekraszewicz B., Rubacha M., *NANOWŁÓKNA wytwarzanie, właściwości i zastosowanie* Łódź **2004**
- [45] Feng L., Li H.S., Zhai J., Song L. Y., Jiang L., Zhu B.D. *Template Based Synthesis of Aligned Polyacrylonitrile Nanofibers Using A Novel Extrusion Method* Syntethic Metals, 135-136 **2003** 817-818
- [46] López Colón D., Kohli P., Martin C., *Preparation of protein nanotubes using the template method* University of Florida
- [47] Kageyama K., Tamazawa J.I., Aida T. *Extrusion Polymerization: Catalyzed Synthesis of Crystalline Linear Polyethylene Nanofibers Within a Mesoporous Silica* Science, 285 1999 2113-2115.
- [48] Frenot A., Chronakis I.S. *Polymer nanofibers assembled by electrospinning, Current Opinion in Colloid and Interface Science* 8 **2003** 64–75
- [49] Darrell H Reneker, Iksoo Chun *Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning* UK Nanotechnology 7 **1996** 216–223
- [50] Zheng-Ming Huang, Y. -Z. Zhang, M. Kotaki and S. Ramakrishna *A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites* Elsevier 63 **2003** 2223-2253
- [51] Lyons J., Li C., Ko F. *Melt-electrospinning part I: processing parameters and geometric properties* Polymer 45 **2004** 7597-7603
- [52] Zhou H., Green T. B., Lak Joo Y. *The thermal effects on electrospinning of polylactic acid melts* Polymer 47 **2006** 7497-7505
- [53] Reneker D., Chun I. *Nanometre diameter fibres of polymer, produced by electrospinning* Nanotechnology 7 **1996** 216–223
- [54] Burger C., Hsiao B.S., Chu B. *Nanofibrous materials and their applications* Annu. Rev. Mater. Res.36 **2006** 333-368

- [55] Spasova M. *Perspectives On: Criteria for Complex Evaluation of the Morphology and Alignment of Electrospun Polymer Nanofibers* Journal of Bioactive and compatible polymers 21 **2006** 465- 479
- [56] Fong H., Liu W., Wang C., Vaia R. *Generation of electrospun fibers of nylon 6 and nylon 6-montmorillonite nanocomposite* Polymer 43 **2002** 775-780
- [57] Wan Y. Q., He J. H., Yu J. Y. *Application of Vibration Technology to Polymer Electrospinning* International Journal of Nonlinear Sciences and Numerical Simulation 5(3) **2004** 253-262
- [58] Szycher M. *Handbook of Polyurethanes* CRC Press Inc., Boca Raton, Florida **1999**
- [59] Okada M. *Prog. Chemical syntheses of biodegradable polymers* Polym. Sci., 27 **2002** 87-133
- [60] Lelah M. D., Cooper S. L. *Polyurethanes in Medicine* CRC Press, Inc., Boca Raton Florida **1986**
- [61] Roślaniec Z. *Układy polimerowe o właściwościach elastotermoplastycznych*, Prace Naukowe Politechniki Szczecińskiej 503 **1993** 39-47
- [62] El Fray M. *Novel polyester elastomeric biomaterials* Inżynieria Biomateriałów 34 **2004** 14-15
- [63] Samurai S., Okamoto Y., Sakaue H., Nakamura T., Banda L., Nomura S. *Structure and properties of segmented poly(urethaneurea)s with relatively short hard-segment chains* J Polym Sci, Polym Phys, 38 **2000** 1716–1728
- [64] Gedde U. W. *Polimer Physic*, Chapman & Hall, London **1995**
- [65] El Fray M., Słonecki J. *Multiblock copolymers consisting of polyester and polyaliphatic block* Anger Macromol Chem 243 **1996** 103-117
- [66] Lee H. S., Yoo S. R., Seo S. W. *Domain and segmental deformation behavior of thermoplastic elastomers using synchrotron SAXS and FTIR methods* J Polym Sci Polym. Phys. 37 **1999** 3233–3245
- [67] Lee H. S., Park H. D., Cho C. K. *Domain and segment orientation behavior of PBS–PTMG segmented block copolymers* J Appl Polym Sci 77 **2000** 699–709
- [68] Striebeck N., Sapoundjieva D., Denchev Z., Apostolov A. A., Zachmann H. G., Stamm M., Fakirov S. *Deformation Behavior of Poly(ether ester) Copolymer as Revealed by Small- and Wide-Angle Scattering of X-ray Radiation from Synchrotron* Macromolecules 30 **1997** 1329–1339
- [69] Szlest – Lewandowska A., Skupień A., Masiulanis B. *Syntezy i właściwości nowych poliuretanów dla medycyny* Elastomery 6(37) **2002** 3-4

- [70] Słonecki J. *Investigation of the hardness and thermal properties of copoly(ether-ester)s containing segments of different molecular weight* Polymer 31 **1990** 1464–1466
- [71] Słonecki J. *Wpływ udziału masowego i ciężaru cząsteczkowego segmentów na warunki otrzymywania, budowę i właściwości termoplastyczne kopolimerów (KPEE)* Polimery 37 **1992** 19–24
- [72] El Fray M., Kozłowska A., Słonecki J. *Influence of the oligoamide's soft segments mass concentration on some selected properties of copoly(ester-amide)s* Elastomery 3 **1997** 12-20
- [73] Hoeschele G.K. *Thermostable polyester-block-copolymers* Angew. Makromol. Chem. 58/59 **1997** 299-319
- [74] Słonecki J. *Wpływ długości łańcucha i udziału oligo(oksyetylenowych) segmentów giętkich na niektóre właściwości kopolimerów (etero-eterów). Cz. I Właściwości termiczne i morfologia* Polimery 40 **1995** 572–579
- [75] Rosłaniec Z. *Układy polimerowe o właściwościach elastotermoplastycznych* PNPS 503 **1993** 1 – 189
- [76] Ślusarski L. *Elastomery termoplastyczne: budowa i właściwości* Prace Naukowe Politechniki Szczecińskiej 330 **1988** 5-12
- [77] Heindeck D. W., Reder C. P. *Plast. Eng.* 3 **1989** 87–91
- [78] Rosłaniec Z., Pękala S., Wojcikiewicz H. *Termoplastyczne elastomery estrowo-eterowo-silksanowe* Prace Naukowe Politechniki Szczecińskiej 443 **1991** 17-51
- [79] Pietkiewicz D. *Synteza i właściwości ciekłokrystalicznych elastomerów eterowo-estrowych* Praca Doktorska Szczecin **1999**
- [80] Szymczak A. *Synteza i właściwości jonomerowych elastomerów eterowo-estrowych* Praca Doktorska Szczecin **1999**
- [81] Prowans P., El Fray M., Słonecki J. *Biocompatibility studies of new multiblock poly(ester-ester)s composed of poly(butylene terephthalate) and dimerized fatty acid* Biomaterials 23 **2002** 2973 - 2978
- [82] El Fray M., Słonecki J., Broza G. *Melt-crystallized segmented aromatic-aliphatic copoly-(ester-ester)s based on poly(butylene terephthalate) and a dimerized fatty acid* Polimery 42 **1997** 35-39
- [83] El Fray M., *Ocena pełzania elastomerów termoplastycznych w warunkach dynamicznych* Inżynieria Biomateriałów 37 **2004** 35-38

- [84] El Fray M. *A long-term mechanical fatigue examination of thermoplastic elastomers* Elastomery 8(5) **2004** 15-19
- [85] El Fray M., Altstädt V. *Fatigue behaviour of multiblock thermoplastic elastomers. 3. Stepwise increasing strain test of poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymers* Polymer 45 **2004** 263-27
- [86]. El Fray M, Altstädt V. *Fatigue behaviour of multiblock thermoplastic elastomers. 1. Stepwise increasing load testing of poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymers* Polymer 44 **2003** 4635-4642
- [87] El Fray M., Altstädt V. *Fatigue behaviour of multiblock thermoplastic elastomers. 2. Dynamic creep of poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymers* Polymer 44 **2003** 4643-4650
- [88] Prowans P., El Fray M., Jursa J. *Study on degradation and systemic toxicity of multiblock poly(aliphatic/aromatic-ester) copolymers* Polimery, 50(2) **2005** 45-52
- [89] Roessler M., Wilke A., Griss P., Kienapfel H. *Missing Osteoconductive Effect of a Resorbable PEO/PBT Copolymer in Human Bone Defects: A Clinically Relevant Pilot Study with Contrary Results to Previous Animal Studies* Dept. of Orthopaedic Surgery Philipps University 35033 Marburg, Germany
- [90] Dua C., Meijer G.J., van de Valk C., Haan R.E., Bezemer J.M., Hesselink S.C., Cui F.Z., de Groot K., Layrolle P. *Bone growth in biomimetic apatite coated porous Polyactive[®] 1000PEGT70PBT30 implants* Biomaterials 23 **2002** 4649-4656
- [91] Bakkum E.A., Trimbois J.B., Dalmeijer R.A.J., van Blitterswijk C.A. *Preventing intraperitoneal adhesion formation with PolyactiveTM, a degradable copolymer acting as a barrier* J. Mat. Sci.: Mat. Med. 6 **1995** 41-45
- [92] Kellomäki M., Paasimaa S., Grijpma D.W., *In vitro degradation of Polyactive[®] 1000PEOT70PBT30 devices.* Biomaterials 23 **2002** 283-295
- [93] Sakkers R.J.B., de Wijn J.R., Dalmeyer R.A.J., Brand R., van Blitterswijk C.A. *Evaluation of copolymers of polyethylene oxide and polybutylene terephthalate (polyactive): mechanical behaviour* J of Mater Sci: Materials in Medicine 9 **1998** 375-379
- [94] Deschamps Audrey A., Claase Menno B., Sleijster Warnerie J., de Bruijn Joost D., Grijpma Dirk W., Feijen Jan *Design of segmented poly(ether ester) materials and structures for the tissue engineering of bone* Journal of Controlled Release 78 **2002** 175-186

- [95] Bezemer J.M., Grijpma D.W., Dijkstra P.J., van Blitterswijk C.A., Feijen J. *A controlled release system for proteins based on poly(ether ester) block-copolymers: polymer network characterization* Journal of Controlled Release 62 **1999** 393–405
- [96] Bezemer J.M., Grijpma D.W., Dijkstra P.J., van Blitterswijk C.A., Feijen J. *Control of protein delivery from amphiphilic poly(ether ester) multiblock copolymers by varying their water content using emulsification techniques* Journal of Controlled Release 66 **2000** 307–320
- [97] Deschamps A. A., van Apeldoorn A. A., Hayenc H., de Bruijn J.D., Karst U., Grijpma D.W., Feijen J. *In vivo and in vitro degradation of poly(ether ester) block copolymers based on poly(ethylene glycol) and poly(butylene terephthalate)* Biomaterials 25 **2004** 247–258
- [98] van Dijkhuizen-Radersma R., Péters F.L.A.M.A., Stienstara N.A., Grijpma D.W., Feijen J., de Groot K., Bezemer J.M., *Control of vitamin B₁₂ release from poly(ethylene glycol)/poly(butylene terephthalate) multiblock copolymers* Biomaterial 23 **2002** 1527-1536
- [99] Radder A.M., Davies J.E., Leenders H., van Blitterswijk C.A. *Interfacial behavior of PEO/PBT copolymers (polyactive®) in a calvarial system: An in vitro study* Journal of Biomedical Materials Research 28 **1994** 269-277
- [100] Ślosarczyk A., Stobierska E., Paszkiewicz Z., Gawlicki M. *Calcium phosphate materials prepared from precipitates with various calcium phosphate molar ratios* J.Am.Ceram.Soc. 79,10 **1996** 2539-44
- [101] Fakirov S. *Handbook of Condensation Thermoplastic Elastomers* New York: WILEY- VCH, Verlag GmbH & C **2005**
- [102] Ślosarczyk Anna: *Biomineralizacja i biomateriały. Bioceramiczne tworzywa hydroksyapatytowe* 2000 233-244
- [103] Liu Q., de Wijn J. R., van Blitterswijk C.A. *Composite biomaterials with chemical bonding between hydroxyapatite filler particles and PEG/PBT copolymer matrix* J Biomed Mater Res. 40 **1998** 490-497
- [104] Murugan R., Ramakrishna S. *Development of nanocomposites for bone grafting* Composites Sci Technol. 65 **2005** 2385-2406
- [105] Mow V.C., Ratcliffe A. *Structure and function of articular cartilage and meniscus* In Mow V. C., Hayes W. C., eds. *Basic orthopaedic biomechanics* Philadelphia: Lippincott-Raven **1997** 113 – 177

- [106] Mercier N. R., Costantino H. R., Tracy M. A., Bonassar L. J. *Poly(lactide – co – glycolide) microspheres as a moldable scaffold for cartilage tissue engineering* Biomaterials 26 **2005** 1945 – 52.
- [107] Miyata S., Furukawa K. S., Ushida T., Nitta Y., Tateishi T. *Static and dynamic mechanical properties of extracellular matrix synthesized by cultured chondrocytes* Materials Science and Engineering 24 **2004** 425–29
- [108] Broom N.D., Oloyede A. *The importance of physicochemical swelling in cartilage illustrated with a model hydrogel system* Biomaterials 19 **1998** 1179 – 88
- [109] Bryant S.J., Anseth K.S. *The effects of scaffold thickness on tissue engineered cartilage in photocrosslinked poly(ethylene oxide) hydrogels* Biomaterials 22 **2001** 619 – 626
- [110] Sato T., Chen G., Ushida T., Ishii T., Ochiai N., Tateishi T. *Tissue – engineered cartilage by in vivo culturing of chondrocytes in PLGA – collagen hybrid sponge* Materials Science and Engineering 17 **2001** 83 – 89
- [111] El Fray M., Pilaszekiewicz A., Świążkowski W., Kurzydłowski K.J. *Morphology assessment of chemically modified and cryostructured poly(vinyl alcohol) hydrogel* Europ. Polym. J. 43 **2007** 2035-40
- [112] Pilaszekiewicz A., El Fray M., Świążkowski W., Kurzydłowski K. J. *Chemically and physically crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for cartilage repair* e-Polymers 013 **2005** 1-6
- [113] Yoo H. S., Lee E. A., Yoon J. J., Park T. G. *Hyaluronic acid modified biodegradable scaffolds for cartilage tissue engineering* Biomaterials 26 (2005) 1925 – 33
- [114] Szafran Mikołaj, Lipiec Wojciech, Okowiak Justyna, Konopka Katarzyna, Kurzydłowski Krzysztof J. *Nowe kompozyty ceramika-polimer o osnowie z ceramicznego tworzywa porowatego z tlenku glinu* Kompozyty 3 **2003** 8 337-342
- [115] Steler R., Zuchowska D. J. Appl. Polim. Sci. 42 **1991** 1032-37
- [116] Fatamura S., Meineck E.A. Polym. Eng. Sci. **1997** 563-569
- [117] Van Krevelen D.W. *Properties of Polymers, they estimation and correlation with chemical structure* Elsevier Sci. Pub. Co. Amsterdam **1996**
- [118] Manuel H.J. Gaymans R.I. Polymer 34 **1993** 636
- [119] El Fray M., Slonecki J. *Dimer fatty acid - modified poly[ester-b-ether]s : synthesis and properties* Polym. Plast. Techn. Eng. 38 **1999** 51

- [120] Walker B., Rader Ch. P., ed. *Handbook of thermoplastic Elastomers* New York **1988** 251
- [121] Reis RL, Julio SR. *Biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine* New York: CRC Press **2005**
- [122] Tripathy A.R., Burgaz E., Kukureka S.N., MacKnight W.J. *Poly(butylene terephthalate) nanocomposites prepared by in-situ polymerization* *Macromolecules* 36 **2003** 8593-8596
- [123] Azevedo M.C., Reis R.L., Claase M.B., Grijpma D.W., Feijen J. *Development and properties of polycaprolactone/hydroxyapatite composite biomaterials* *J Mater Sci Mater Med* 14 **2003** 103-107.
- [124] El Fray M., Zdebiak P., Ślósarczyk A., Paszkiewicz Z. *Preparation and selected properties of organic/inorganic composites based on poly(ester-ether-ester) terpolymers and nanocrystalline hydroxyapatite* *Inżynieria Biomateriałów* 62 **2007** 2-7
- [125] El Fray M, Boccaccini A.R. *Novel hybrid PET/DFA – TiO₂ nanocomposites by in situ polycondensation* *Mater Lett* **2005** 2300–2304
- [126] Przygocki W., Włochowicz A. *Uporządkowanie makrocząsteczek w polimerach i włóknach* WNT Warszawa **2006**
- [127] Pedicini A., Harris R.J. *Mechanical behavior of electrospun polyurethane* *Polymer* 44(22) **2003** 6857-6862
- [128] Chronakis Ioannis S. *Novel nanocomposites and nanoceramics based on polymer nanofibers using electrospinning process—A review* *J Mater Process Technol* 167(2-3) **2005** 283-293
- [129] Deitzel J.M., Kleinmeyer J., Harris D., Beck N. C. *The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles* *Polymer* 42(1) **2001** 261-272
- [130] Ayutsede J.E. *Regeneration of Bombyx Mori Silk Nanofibers and Nanocomposite Fibrils by the Electrospinning Process* Drexel University, Praca doktorska **2005**
- [131] Huang Z.-M., Zhang Y.-Z., Kotaki M., Ramakrishna S. *A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites* *Composites Science and Technology* 63 **2003** 2223-2253