

OTRZYMYWANIE NOWYCH, WYSOKOELASTYCZNYCH I BIORESORBOWALNYCH KOPOLIMERÓW WĘGLANÓW ALIFATYCZNYCH

MAŁGORZATA PASTUSIAK^{1*}, PIOTR DOBRZYŃSKI^{1,2},
JANUSZ KASPERCZYK^{1,3}, ANNA SMOLA¹, MICHAŁ SOBOTA¹

¹ CENTRUM MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH I WĘGLOWYCH PAN
UL. SKŁODOWSKIEJ 34, 41-819 ZABRZE

² INSTYTUT CHEMII, OCHRONY ŚRODOWISKA I BIOTECHNOLOGII,
AKADEMIA IM. JANA DŁUGOSZA,
AL. ARMII KRAJOWEJ 13/15, 42-201 CZĘSTOCHOWA

³ ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY, WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY,
KATEDRA I ZAKŁAD BIOFARMACJI,
UL. NARCYZÓW 1, 41-200 SOSNOWIEC

*E-MAIL: MPASTUSIAK@CMPW-PAN.EDU.PL

Streszczenie

Szereg bioresorbowalnych, liniowych kopolimerów węglanu 1,3-trimetyleny (TMC) z węglanem 2,2-dimetylotrimetyleny (DTC) syntezowano poprzez polimeryzację z otwarciem pierścienia (ROP) prowadzoną w stopie. Kopolimery otrzymano w obecności jednowodnego acetyloacetonianu cynku (II), jako inicjatora. Związek ten, o niskiej toksyczności okazał się bardzo efektywnym inicjatorem przedstawionych reakcji. Otrzymane kopolimery scharakteryzowane zostały metodami spektroskopii ¹H and ¹³C NMR, a także metodą DSC, TGA i GPC. Zbadano wpływ składu komonomerów na termiczne i mechaniczne właściwości otrzymanych kopolimerów. Następnie wytypowano najlepszy materiał spośród syntezowanych kopolimerów, z którego uformowano elastyczne, porowate podłoże do hodowli komórek.

Słowa kluczowe: polimery bioresorbowalne, kopolimeryzacja, cykliczne węglany, węglan trimetyleny, węglan 2,2-dimetylotrimetyleny

[Inżynieria Biomateriałów 118 (2013) 37-42]

Wprowadzenie

Bioresorbowalne kopolimery zawierające w swoim składzie jednostki węglanowe pochodzące od węglanu trimetyleny, charakteryzują się wysoką elastycznością. To sprawia, że są one bardzo obiecującymi materiałami do zastosowań biomedycznych zwłaszcza w technikach inżynierii tkankowej do formowania nośników komórek mięśniowych (mięsień sercowy) czy elastycznych implantów w neurochirurgii i chirurgii miękkiej. Szczególnie interesujące właściwości termiczne i mechaniczne prezentują kopolimery dwóch sześcioczłonowych węglanów: węglanu trimetyleny z węglanem 2,2-dimetylotrimetyleny. Węglany te pomimo podobnej struktury posiadają jednak wyraźnie odmienne właściwości termiczne. Poliwęglan trimetyleny (PTMC) jest polimerem amorficznym o temperaturze zeszczenia $T_g = -17^\circ\text{C}$, natomiast poliwęglan 2,2-dimetylotrimetyleny (PDTC) jest polimerem semikrystalicznym [1-3].

Dotychczas, kopolimery tych monomerów otrzymywane były w obecności kompleksów ziem rzadkich, charakteryzowały się stosunkowo niskim stopniem krystaliczności i niską masą molową [4,5].

THE OBTAINING OF NEW HIGH ELASTIC BIORESORBABLE ALIPHATIC CARBONATE COPOLYMERS

MAŁGORZATA PASTUSIAK^{1*}, PIOTR DOBRZYŃSKI^{1,2},
JANUSZ KASPERCZYK^{1,3}, ANNA SMOLA¹, MICHAŁ SOBOTA¹

¹ CENTRE OF POLYMER AND CARBON MATERIALS,
POLISH ACADEMY OF SCIENCES,
34 SKŁODOWSKA-CURIE STREET, 41-800 ZABRZE, POLAND

² INSTITUTE OF CHEMISTRY, ENVIRONMENTAL PROTECTION AND
BIOTECHNOLOGY, JAN DŁUGOSZ UNIVERSITY IN CZĘSTOCHOWA,
13 ARMII KRAJOWEJ STR., 42-218 CZĘSTOCHOWA, POLAND

³ DEPARTMENT OF BIOPHARMACY, SCHOOL OF PHARMACY,
MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA,
1 NARCYZOW STR., 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

* E-MAIL: MPASTUSIAK@CMPW-PAN.EDU.PL

Abstract

A series of bioresorbable, linear copolymers of 1,3-trimethylene carbonate (TMC) and 2,2-dimethyltrimethylene carbonate (DTC) were synthesized by bulk ring-opening polymerization (ROP). Copolymers were prepared in the presence of zinc acetylacetonate monohydrate (II) as initiator. This low toxic compound occurred to be a very effective initiator of presented reactions. The resulting copolymers were characterized by ¹H and ¹³C NMR spectroscopy, DSC, TGA and GPC measurements. The influence of the monomer composition on the thermal and mechanical properties of the obtained copolymers was investigated. Afterwards, from synthesized copolymers the best material was selected for manufacturing highly flexible, porous scaffolds for cell culture.

Keywords: bioresorbable polymers, copolymerization, cyclic carbonates, 1,3-trimethylene carbonate, 2,2-dimethyltrimethylene carbonate

[Engineering of Biomaterials 118 (2013) 37-42]

Introduction

Bioresorbable copolymers, containing carbonate units, derived from trimethylene carbonate monomer present high flexibility and low glass transition temperature. This makes them very promising materials for biomedical applications, especially for scaffold for muscle cells (heart muscle) in tissue engineering techniques or flexible implant in neurosurgery and soft surgery formation. Especially, copolymers with two six-membered carbonates, such as trimethylene carbonate and 2,2-dimethyltrimethylene carbonate, showed interesting thermal and mechanical properties. However, these carbonate copolymers despite the similar structure to poly(trimethylene carbonate), clearly showed different thermal and morphological properties. PTMC is an amorphous polymer with glass transition temperature $T_g = -17^\circ\text{C}$, while PDTC is a semicrystalline polymer with higher mechanical strength [1-3].

Up to now copolymers of these monomers were obtained with rare earth complexes as an initiator but they characterized by the relatively low degree of crystallinity and low molar mass [4,5].

W obecnej publikacji opisaliśmy badania prowadzone nad kopolimeryzacją sześcioczłonowych, cyklicznych węglanów z zastosowaniem jednowodnego acetyloacetonianu cynku (II), jako inicjatora. Inicjator ten jest związkiem prostym w budowie, stabilnym i stosunkowo niedrogim, a przede wszystkim niskotoksycznym.

Materiały i metody

Monomery i inicjatory

Stosowany cykliczny monomer: węglan trimetylenu (TMC) jest komercyjnym produktem firmy Boehringer (Ingelheim, Niemcy), który przed zastosowaniem oczyszczany był poprzez rekrytalizację z suchego octanu etylu. Drugi monomer: węglan 2,2-dimetylotrimetylenu (DTC), syntezowano poprzez transestryfikację glikolu neopentylu (Aldrich) z węglanem difenylu (Aldrich), a następnie w wyniku termicznej degradacji otrzymywano oligowęglan. Jako inicjator reakcji transestryfikacji stosowano butanolan tytanu (IV) (Aldrich). Po odrzuceniu pierwszej frakcji, otrzymany produkt przemywano dwukrotnie na lejku Buchnera schłodzonym, suchym eterem tert-butylo metylowym (Aldrich). Następnie otrzymany monomer DTC rekrytalizowano z osuszonego toluenu. Uzyskano produkt z 30% wydajnością [6]. Acetyloacetonian cynku jednowodny (II) firmy Alfa Aesar, stosowano bez dodatkowego oczyszczania.

Przebieg kopolimeryzacji

Monomer(y) z odpowiednią ilością inicjatora w atmosferze argonu umieszczano w suchych, szklanych ampulach, które szczelnie zamykano. Ampuły ogrzewano następnie w łaźni olejowej, w temperaturze 130°C, wstrząsając okresowo ich zawartość. Po określonym czasie reakcji ampuły chłodzono do temperatury pokojowej. Otrzymane polimery i kopolimery oczyszczano z resztek monomerów poprzez rozpuszczenie w chloroformie i wkraplanie tak otrzymanego roztworu do chłodnego metanolu. Następnie, oczyszczony materiał, po osuszeniu w suszarce próżniowej w temperaturze pokojowej, poddawano dalszym badaniom.

Formowanie skafoldu

Porowate podłoża otrzymano metodą odlewania z roztworu/ wypłukiwania soli [7,8]. Jako czynnik porotwórczy zastosowano przesiane ziarna chlorku sodu (POCH, Gliwice) o wielkości: 100-300 µm. Porogen mieszano z 20% roztworem kopolimeru w chlorku metylenu (POCH, Gliwice) w takiej proporcji, aby uzyskać udział objętościowy soli równy 80%. Mieszaninę przeniesiono na szklaną szalkę Petriego, suszono w atmosferze powietrza, a następnie w suszarce próżniowej. Na koniec sól wypłukano za pomocą wody destylowanej, a otrzymane porowate podłoże suszono do stałej masy w suszarce próżniowej.

Techniki pomiarowe

Liczbowo i wagowo średnie masy molowe (odpowiednio M_n i M_w) oraz dyspersję (M_w/M_n) otrzymanych polimerów i kopolimerów oznaczono za pomocą chromatografu żelowego Viscotek RImax. Jako fazę ruchomą stosowano chloroform o szybkości przepływu 1 ml/min. Próbkę oznaczano w temperaturze 35°C. Jako detektor stosowano refraktometr różnicowy firmy Viscotek model 3580, a rozdział prezentowano na kolumnach Mixed E.

Liczbowo średnie masy cząsteczkowe badanych polimerów wyznaczono w oparciu o kalibrację wykonaną dla standardów polistyrenowych.

Właściwości termiczne oznaczono metodą różnicowej kalometrii skaningowej (DSC), stosując aparat Du Pont 1090B kalibrowany galem i indem (szybkość ogrzewania i chłodzenia 20°C/min w zakresie od -100°C do 220°C).

In presented paper, we described the investigations on copolymerization of six-membered cyclic carbonates using the zinc acetylacetonate monohydrate (II) as an initiator. This initiator has a simple structure, is a stable, relatively inexpensive, and above all low toxic.

Materials and Methods

Monomers and initiators

The used cyclic monomer: 1,3-trimethylene carbonate (TMC) was obtained from Boehringer (Ingelheim, Germany). It was purified by recrystallization from dried ethyl acetate and then dried in a vacuum oven at room temperature. The second monomer: 2,2-dimethyltrimethylene carbonate (DTC) was synthesized by transesterification of neopentyl glycol (Aldrich) with diphenyl carbonate (Aldrich), and as a result of thermal degradation was obtained oligocarbonate. As initiator of the transesterification reaction was used titanium (IV) butoxide (Aldrich). Having rejected the first fraction, the obtained product was washed twice in cold and dry *tert*-butyl methyl ether (Aldrich). The obtained DTC was recrystallized from dry ethyl acetate. DTC with the yield of 30% was achieved. Zinc (II) acetylacetonate monohydrate (Alfa Aesar) was used as received.

Polymerization and copolymerization procedure

Monomer(s) with the appropriate amount of initiator were charged in argon atmosphere into dried glass ampoules, which then were sealed. The ampoules were conditioned in an oil bath equipped with a periodically working shaker at 130°C. After the selected reaction time, the ampoules were quickly quenched to room temperature. The resulting polymers and copolymers were purified from residual monomer by dissolving in chloroform and dropwise addition of the resulting solution to cold methanol. Then, the purified material, after drying in a vacuum oven at room temperature, was subjected to further studies.

Preparation of scaffolds

The porous scaffolds were produced by solvent casting/salt particulate leaching technique [7,8]. As porogen were used sieved crystals of sodium chloride (POCH, Gliwice) of 100-300 µm. The porogen was mixed with 20% (w/v) copolymer solution in methylene chloride (POCH, Gliwice) in such proportion to receive a salt volume fraction of 80%. The mixture was cast on glass Petri dishes, dried overnight in air, followed in a vacuum oven. At the end, the salt was leached in demineralized water and finally obtained porous scaffold was dried to constant weight in a vacuum oven.

Measurements

The number-average and weight-average molar masses (M_n and M_w , respectively) and dispersity indexes (M_w/M_n) of the polymers and copolymers were determined by gel permeation chromatography with a Viscotek RImax chromatograph. Chloroform was used as the eluent, and the temperature and the flow rate were 35°C and 1 mL/min, respectively. Two PL Mixed E columns with a Viscotek model 3580 refractive index detector were used. The molecular weights were calibrated with polystyrene standards.

Thermal properties, such as glass transition temperatures and heats of melting, were examined by DSC with a DuPont 1090B apparatus calibrated with gallium and indium (heating and cooling rate of 20°C/min in the range from -100°C to 220°C).

Thermal stability of copolymers were examined by TGA with the TGA/DSC 1 METTLER TOLEDO apparatus, at a heating rate of 10°C/min under anaerobic conditions in a nitrogen atmosphere.

Rozkład termiczny kopolimerów TMC/DTC badano stosując aparat TGA/DSC 1 METTLER TOLEDO, pomiar wykonywano z szybkością grzania $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, w warunkach beztlenowych w atmosferze azotu.

Mikrostrukturę skafoldu zbadano za pomocą mikroskopu optycznego (STEMI DV4, Zeiss, powiększenie 20x i 80x). Porowatość skafoldu została wyznaczona na podstawie pomiaru jego masy po wysuszeniu oraz masy nasączonego wodą. Porowatość została obliczona według wzoru:

$P(\%) = (1 - \rho_a/\rho_c) \times 100\%$, gdzie ρ_a jest to gęstość skafoldu, a ρ_c jest to gęstość samego kopolimeru ($1,30 \text{ g}/\text{cm}^3$). Wartość ρ_a została określona przy pomocy równania:

$\rho_a = m_{\text{dry}}/[m_{\text{dry}}/\rho_c + (m_{\text{wet}} - m_{\text{dry}})/\rho_w]$, gdzie: ρ_w - gęstość wody w temperaturze 20°C ($0,998 \text{ g}/\text{cm}^3$), m_{dry} - masa skafoldu po wysuszeniu, m_{wet} - masa skafoldu nasączonego wodą.

Badania mechaniczne wytrzymałości na rozciąganie kopolimerów w formie wyprasek (formowanych przy użyciu prasy hydraulicznej) przeprowadzono na maszynie wytrzymałościowej typu „Instron” model 2402. Badania wytrzymałości na rozciąganie prowadzono w temperaturze 23°C , przy szybkości rozciągania $20 \text{ mm}/\text{min}$ i rozstawie szczepek 30 mm . Badania mechaniczne wytrzymałości na ściskanie skafoldu przeprowadzono na maszynie wytrzymałościowej typu „Instron” model 1195. Badania prowadzono w temperaturze 23°C , z szybkością odkształcania $2 \text{ mm}/\text{min}$.

Konwersję reakcji, skład oraz mikrostrukturę otrzymanych kopolimerów wyznaczono przy pomocy spektroskopii protonowego (^1H NMR) i węglowego (^{13}C NMR) rezonansu magnetycznego. Pomiary wykonywano na spektrometrze firmy Bruker AvanceTM 600 MHz stosując, jako rozpuszczalnik, deuterowany chloroform (CDCl_3) oraz tetrametylosilan (TMS) jako standard wewnętrzny. Widma ^1H NMR otrzymano po 64 przejściach, z czasem akwizycji $2,65 \text{ s}$ i długością pulsu $11 \mu\text{s}$. Widma ^{13}C NMR kopolimerów otrzymano po 19500 przejściach, z czasem akwizycji $0,91 \text{ s}$ oraz długością pulsu $9,1 \mu\text{s}$. Przyporządkowanie linii rezonansowych na widmie ^{13}C NMR odpowiednim sekwencjom komonomerów pozwoliło na wyznaczenie średnich długości mikrobloków węglanowych.

Wyniki i dyskusja

Wyniki badań dotyczące polimeryzacji węglanu trimetyleny (TMC), węglanu 2,2-dimetylotrimetyleny (DTC) oraz ich wzajemnej kopolimeryzacji, w obecności jednowodnego acetyloacetonianu cynku (II) - $\text{Zn}(\text{acac})_2 \times \text{H}_2\text{O}$, zostały przedstawione w TABELI 1. Wszystkie reakcje prowadzone były w stopie, przy stosunku molowym inicjator/monomer równym 1:800, w temperaturze 130°C . Temperatura reakcji była nieco wyższa od temperatury topnienia monomeru DTC i pozwalała na uzyskanie jednorodnej mieszaniny reakcyjnej.

W obecności $\text{Zn}(\text{acac})_2 \times \text{H}_2\text{O}$ polimeryzacja TMC zachodziła z dużą wydajnością i nadszpejowaną szybkością oraz pozwalała na otrzymanie poliwęglanu trimetyleny o wysokiej masie molowej [6]. Wyraźnie wolniej przebiegała jednak homopolimeryzacja DTC, a masy molowe M_n otrzymanych węglanów 2,2-dimetylotrimetyleny były ponad dwukrotnie niższe od teoretycznie wyliczonej masy molowej. Różnice te nie były spowodowane jednak reakcją typu „back-biting”, gdyż na żadnym etapie polimeryzacji nie obserwowano istotnego wzrostu dyspersji M_w/M_n , a wzrost masy molowej z postępowaniem reakcji był wprost proporcjonalny [6].

The microstructure of scaffolds was studied using an optical microscope (Stemi DV4, Zeiss, magnification 20x and 80x). The porosity of the scaffold was calculated from the weight of the dry and water-soaked scaffolds samples. The percent porosity was calculated using formula:

$P(\%) = (1 - \rho_a/\rho_c) \times 100\%$, where: ρ_a is the apparent density of the scaffold and ρ_c is the density of the solid copolymer ($1.30 \text{ g}/\text{cm}^3$). The value of ρ_a was determined using equation; $\rho_a = m_{\text{dry}}/[m_{\text{dry}}/\rho_c + (m_{\text{wet}} - m_{\text{dry}})/\rho_w]$, where: ρ_w - density of water at 20°C ($0.998 \text{ g}/\text{cm}^3$), m_{dry} - mass of scaffold after drying, m_{wet} - mass of scaffold soaked with water.

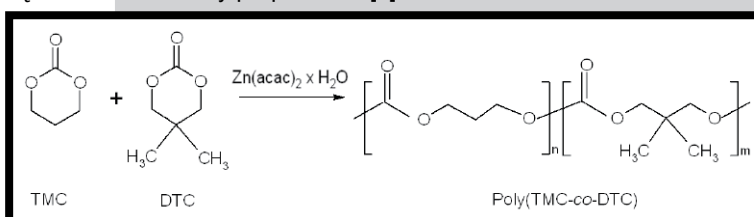
Tensile strength and Young's modulus of copolymers in the form of moldings, formed by compression using a hydraulic press, were determined on Instron 2402 testing machine. Tensile tests were carried out at 23°C , with stretch rate of $20 \text{ mm}/\text{min}$ and a span of jaws 30 mm . Compressive strength of scaffold was performed on a testing machine “Instron” model 1195. The study was conducted at 23°C with strain rate of $2 \text{ mm}/\text{min}$.

The conversion of the reaction and the microstructure of the obtained copolymers were determined by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy. The ^1H NMR spectra were recorded at 600 MHz with Avance II Bruker TM at 25°C . Dried deuterated chloroform (CDCl_3) was used as the solvent, and tetramethylsilane (TMS) was applied as the internal standard. The ^1H NMR spectra were obtained with 64 scans, 2.65-s acquisition time, and $11 \mu\text{s}$ pulse width. The ^{13}C NMR spectra were recorded at 150 MHz with 19500 scans, 0.91 s acquisition time, and $9.1 \mu\text{s}$ pulse width. Assigning lines from the ^{13}C NMR spectrum to corresponding comonomeric sequences enables the determination of average lengths of carbonate microblocks.

Results and Discussions

The results of the polymerization of TMC, DTC and copolymerization of this monomers in the presence of zinc acetylacetonate monohydrate (II) - $\text{Zn}(\text{acac})_2 \times \text{H}_2\text{O}$, are summarized in TABLE 1. All reactions were carried out in the bulk with an initiator/ comonomers ratio of 1:800, at temperature 130°C . This temperature is slightly above the melting point of the monomer DTC and allows to obtain homogeneity of reaction mixture.

In the presence of $\text{Zn}(\text{acac})_2 \times \text{H}_2\text{O}$, TMC polymerization proceeded with high yields and unexpected rate and allowed to obtain a poly(trimethylene carbonate) with high molar mass [6]. However, the homopolymerization of DTC proceeded more slowly, and the molar mass M_n of DTC was more than twice lower than the theoretically calculated molar mass. These differences were not caused by a “back-biting” reaction type, because at any stage of polymerization, there was no significant increase in dispersion of M_w/M_n , and the molar mass increase with the progress of reaction was directly proportional [6].



SCHEMAT 1. Reakcja otrzymywania kopolimeru węglanu 1,3-trimetyleny z węglanem 2,2-dimetylotrimetyleny.
SCHEME 1. Synthesis of 1,3-trimethylene carbonate with 2,2-dimethyltrimethylene carbonate copolymer.

TABELA 1. Wyniki kopolimeryzacji TMC-DTC, inicjowanej $Zn(acac)_2 \times H_2O$, prowadzonej w stopie w $t = 130^\circ C$ przy stosunku molowy I/M = 1:800.
TABLE 1. Results of copolymerization of TMC with DTC, initiated by $Zn(acac)_2 \times H_2O$, carried out in bulk at $130^\circ C$, initiator/monomers molar ratio of 1:800.

Lp. No.	(TMC:DTC) ^N [% mol]	M _n [kDa]	E [MPa]	σ _{max} [MPa]	ε _{max} [%]	T _{10%} [°C]	T _{max} [°C]
1	20:80	67.5	141	12	390	280	310
2	51:49	48.4	2.6	0.4	93	260	320
3	80:20	63.7	2.5	0.3	92	280	340

Gdzie: E - moduł Younga, σ_{max} - naprężenie na granicy plastyczności, ε_{max} - maksymalne wydłużenie, T_{10%} - temperatura, przy której ulega rozkładowi 10% badanej próbki, T_{max} - temperatura rozkładu próbki.

Where: E - Young's modulus, σ_{max} - stress at yield, ε_{max} - maximum tensile strain, T_{10%} - temperature of 10% degradation, T_{max} - the decomposition temperature

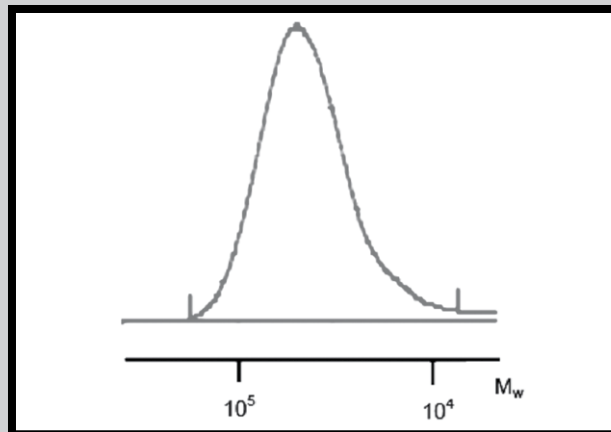
Kopolimery TMC/ DTC również zostały otrzymane w stosunkowo krótkim czasie, z konwersją monomerów sięgającą powyżej 97% (TABELA 1). Czas reakcji został określony na podstawie zależności pomiędzy czasem reakcji a konwersją monomerów w przypadku równomolowej kopolimeryzacji, prowadzonej w $130^\circ C$. Kopolimery te charakteryzowały się wysokimi masami molowymi oraz monomodalnym, wąskim rozrzutem mas molowych (RYS. 1).

Przeprowadzone badania dotyczące kopolimeryzacji wykazały, że oba komonomery węglanowe TMC i DTC w budowywane były w rosnący łańcuch kopolimeru ze zbliżoną szybkością. Średnie długości mikrobloków również przez cały proces formowania się łańcucha kopolimeru były zbliżone do siebie. Świadczy to o tym, że podczas badanej kopolimeryzacji nie zachodził proces transestryfikacji.

Wykorzystując metodę różnicowej kalometrii skaningowej (DSC) zbadano właściwości termiczne otrzymanych kopolimerów węglanu 1,3-trimetyleny z węglanem 2,2-dimetylotrimetyleny o różnych składach komonomerów (RYS. 2). Na termogramie poli(TMC-ko-DTC) o zawartości 80% DTC, obserwowano wyraźny obszar topnienia świadczący o jego semikrystaliczności i podobnie jak w przypadku homopolimeru DTC obserwuje się dwie temperatury topnienia (RYS. 2a). Pozostałe kopolimery były amorficzne (RYS. 2b,c).

Wraz z obniżaniem się zawartości jednostek węglanowych DTC w kopolimerze, wpływających na ich krystaliczność, zaobserwowano znaczne pogorszenie się parametrów wytrzymałości mechanicznej (TABELA 2).

Pomiary przeprowadzone metodą TGA wykazały, że wszystkie otrzymane kopolimery poli(TMC-ko-DTC) charakteryzowały się wysoką stabilnością termiczną, co ma duże znaczenie przy przetwórstwie. Spośród badanych kopolimerów węglanu trimetyleny z węglanem 2,2-dimetylotrimetyleny, kopolimer o zawartości 80% mol. DTC charakteryzuje się najwyższą elastycznością (maks. wydłużenie przy rozciąganiu ponad 390%) oraz najlepszymi parametrami wytrzymałości mechanicznej. Z tego powodu materiał ten wytypowano do zbadania potencjalnej jego przydatności jako materiału do formowania elastycznego, trójwymiarowego porowatego nośnika komórek do zastosowań w inżynierii tkankowej.



RYS. 1. Chromatogram GPC poli(TMC-ko-DTC) (50:50), otrzymanego z zastosowaniem $Zn(acac)_2 \times H_2O$ jako inicjatora (TABELA 1, POZ. 3) (M_n = 48 400 Da, M_w/M_n = 1,9).
FIG 1. GPC chromatogram of poly(TMC-co-DTC) (50:50), obtained using $Zn(acac)_2 \times H_2O$ as initiator (TABLE 1, NO 3) (M_n = 48 400 Da, M_w/M_n = 1.9).

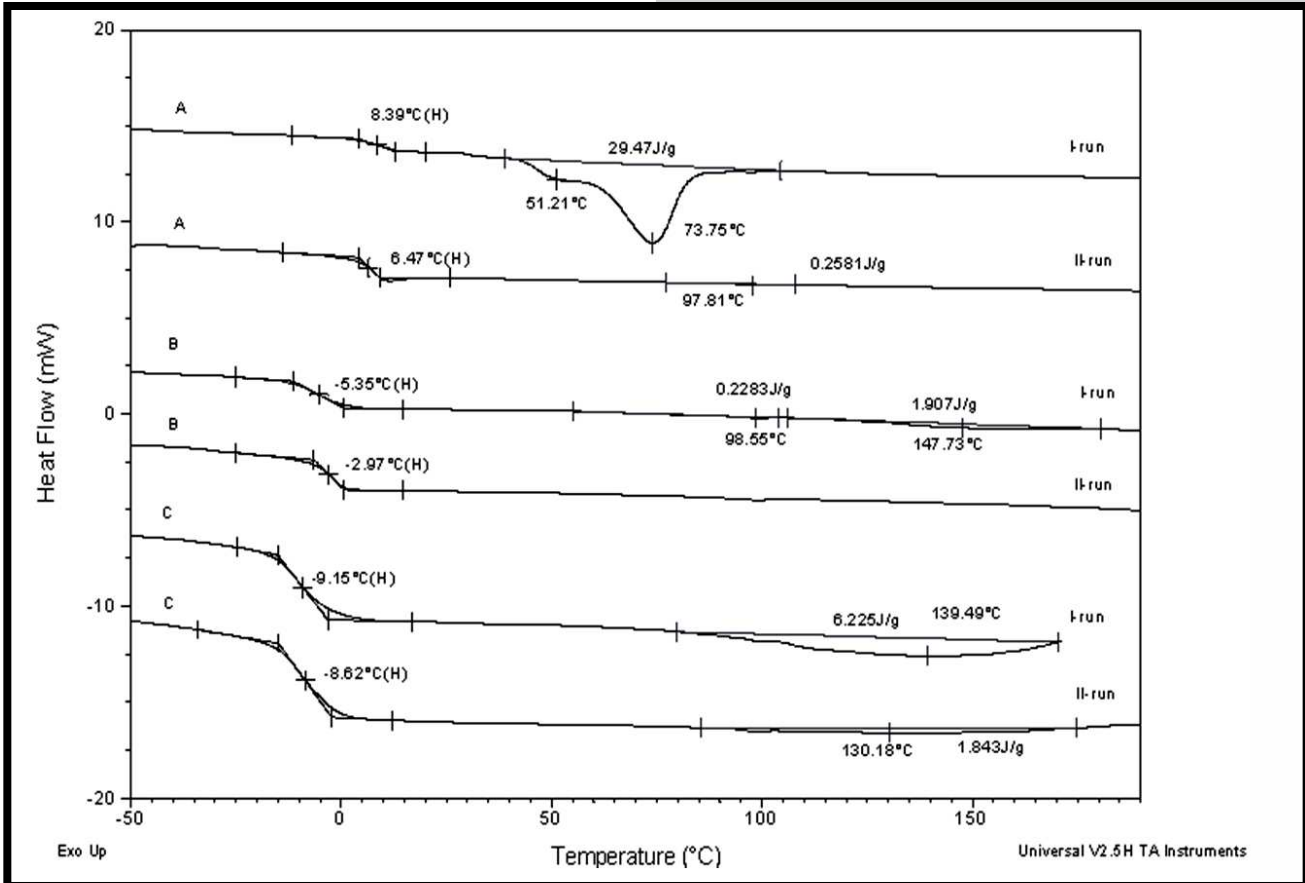
Copolymers of TMC/DTC also have been obtained in a relatively short time, with the conversion of monomers up to above 97% (TABLE 1). The reaction time was determined on the basis of the previous investigations of relation between reaction time and monomers conversion of the equimolar copolymerization conducted at $130^\circ C$. These copolymers are characterized by high molar masses and monomodal, narrow molar mass distribution (FIG. 1).

The study of copolymerization showed that both carbonate comonomers TMC and DTC were incorporated into the growing chain of the copolymer with a similar rate. The average length of microblocks through the whole process of forming a copolymer chain was also similar to each other. This indicates, that during the copolymerization study the transesterification process was not present.

The thermal properties of synthesized copolymers of TMC with DTC, obtained with different comonomer feed ratios (FIG. 2) were examined by the differential scanning calorimetry (DSC). In the thermogram of poly(TMC-co-DTC) containing of the 80% DTC, was shown a clear area providing of the melting semicrystallinity and, as in the case of homopolymer DTC, two melting points (FIG. 2a) were observed. Other obtained copolymers were amorphous (FIG. 2b,c).

The lowering of the content of DTC units in the synthesized copolymer, affected of their semicrystallinity disappearance and simultaneously a significant deterioration of mechanical strength parameters was observed (TABLE 2).

The measurements conducted with TGA showed that all obtained poly(TMC-co-DTC) present high thermal stability, which is especially important for thermo processing. Among the studied copolymers of TMC with DTC, copolymer containing 80 mol % DTC provides the highest flexibility (a tensile elongation of over 390%) and the best parameters of mechanical strength. For this reason, this material was chosen to further investigation of its potential usefulness for manufacturing a flexible, three-dimensional scaffold, which can be used in cell culture. Tissue engineering is a new but very promising area of medicine. Its aim is to regenerate and restore damaged tissues or organs. Bioresorbable three-dimensional scaffolds colonized with cells prior to implantation has just played a significant role in tissue engineering. Under the right conditions and to access to medium, these cells are multiplying and diversifying and only so prepared scaffolds can be implanted into the body cavity tissue in place.



RYS. 2. Termogramy DSC (I i II przebieg) kopolimerów TMC/DTC o zawartości: a) 20 mol % TMC, b) 51 mol % TMC, c) 80 mol % TMC.

FIG. 2. DSC thermograms (I and II run) of TMC/DTC copolymers: a) about 20 mol % of TMC, b) about 51 mol % of TMC, c) about 80% mol of TMC.

TABELA 2. Właściwości mechaniczne i stabilność termiczna kopolimerów TMC/DTC.
TABLE 2. Mechanical properties and thermal stability of the TMC/DTC copolymers.

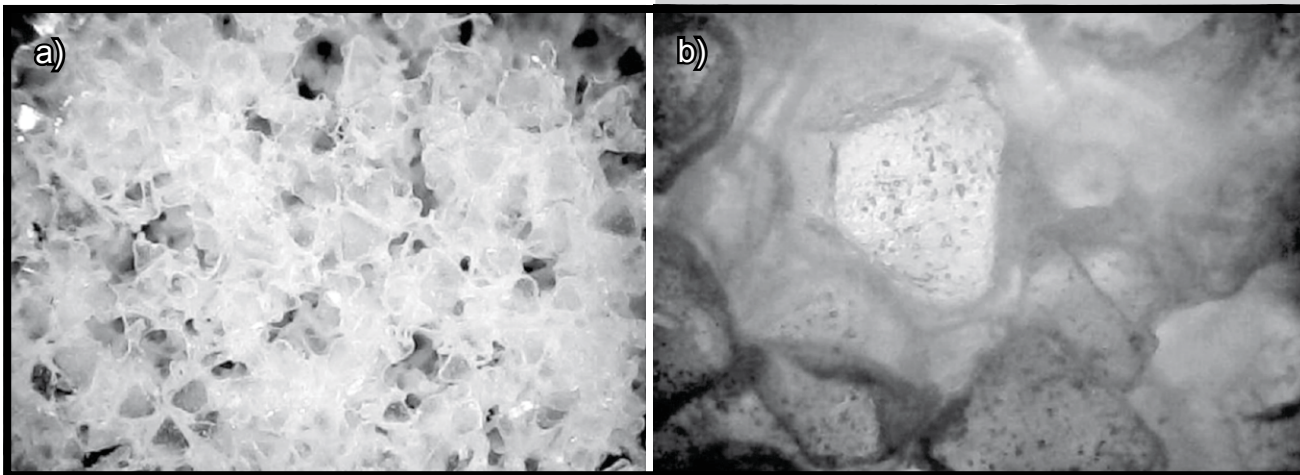
Lp. No.	(TMC:DTC) ⁰ [% mol]	Czas/Time [min]	Konw./Conv. [%]	(TMC:DTC) ^N [% mol.]	M _n [kDa]	D	L _{TMC}	L _{DTC}	R
1	100:0	6	~100	100:0	102	2.0	-	-	-
2	80:20	40	~100	80:20	63.7	2.0	5.3	1.3	0.95
3	50:50	40	97	51:49	48.4	1.9	2.1	2.1	0.95
4	20:80	40	~100	20:80	67.5	1.9	1.3	5.2	0.96
5	0:100	240	99	0:100	34.7	2.3	-	-	-

Gdzie: (TMC:DTC)⁰ - początkowy skład mieszaniny reakcyjnej; Konw. - całkowita konwersja kopolimeryzacji; (TMC:DTC)^N - skład kopolimeru; M_n - liczbowa średnia masa molowa wyznaczona metodą GPC w oparciu o wzorce polistyrenowe; D = M_w/M_n - dyspersja; L_{TMC}, L_{DTC} - średnia długość mikrobloków węglanowych TMC i DTC wyznaczona na podstawie NMR; R - współczynnik randomizacji łańcucha (beźładność łańcucha).

Where: (TMC:DTC)⁰ - initial feed molar fraction TMC and DTC; Conv. - total conversion of copolymerization; (TMC:DTC)^N - feed molar fraction of TMC and DTC; M_n - number average molecular mass were determined by GPC and calibrated with polystyrene standards; D = M_w/M_n - dispersity; L_{TMC}, L_{DTC} - average length of carbonates microblock calculated with NMR; R - degree of chain randomness.

Na RYS. 3 przedstawiono obrazy skafoldu uformowanego z poli(TMC-ko-DTC) o zawartości 80% mol. DTC, uzyskane za pomocą mikroskopu optycznego. Otrzymane podłoże polimerowe charakteryzowało się średnią wielkością porów około 100-200 μm, a ich udział objętościowy wynosił 83%. Właściwości mechaniczne tego skafoldu (moduł sprężystości na ściskanie E_c = 1,8 MPa i wytrzymałość na ściskanie σ_{c,max} = 0,75 MPa) są porównywalne z właściwościami mechanicznymi elastomerów poliuretanowych [9].

FIG. 3 shows images of the scaffold formed from poly(TMC-co-DTC) containing 80% of DTC units, obtained with an optical microscope. The resulting scaffold was characterized by a mean pore size of 100-200 μm and a pore volume fraction was about 83%. Mechanical properties of this scaffold (modulus of compression elasticity about E_c = 1.8 MPa and compressive strength about σ_{c,max} = 0.75 MPa) are comparable with the mechanical properties of the polyurethane elastomers [9].



RYS. 3. Obraz z mikroskopu optycznego porowatych podłoży na bazie kopolimerów TMC/DTC: a) powiększenie 20x, światło odbite, b) powiększenie 80x, światło prześwitujące.

FIG. 3. Optical microscope image of porous scaffold based on copolymers TMC/DTC: a) 20x magnification, reflected light, b) 80x magnification, light translucent.

Odpowiednia wytrzymałość mechaniczna i elastyczność kopolimerów węglanu trimetyleny z węglanem 2,2-dimetylotrimetyleny sprawiają, że te nowe materiały wydają się obiecującym materiałem w formowaniu porowatych, trójwymiarowych podłoży do hodowli tkanek miękkich, takich jak przykładowo: skóra czy naczynia krwionośne.

Wnioski

W obecności $Zn(acac)_2 \times H_2O$ otrzymano kopolimery węglanu trimetyleny z węglanem 2,2-dimetylotrimetyleny o wysokich masach cząsteczkowych, w stosunkowo krótkim czasie. Właściwości termiczne i mechaniczne tych kopolimerów silnie zależały od składu poszczególnych komonomerów. Otrzymane wstępne wyniki badań sugerują, że podłoża formowane z kopolimerów węglanu trimetyleny z węglanem 2,2-dimetylotrimetyleny mogłyby znaleźć potencjalne zastosowanie jako elastyczne, trójwymiarowe skafoldy do hodowli tkanek miękkich.

Podziękowania

Prace wykonano w ramach projektu „Polimerowe chirurgiczne systemy resorbowalne z pamięcią kształtu” nr UDA-POIG.01.03.01-00-123/08-05, finansowanego z funduszy strukturalnych.

Piśmiennictwo

- [1] Pęgo A.P., van Luyn M.J.A., Brouwer L.A., van Wachem P.B., Poot A.A., Grijpma D.W., Feijen J.: In vivo behavior of poly(1,3-trimethylene carbonate) and copolymers of 1,3-trimethylene carbonate with D,L-lactide or epsilon-caprolactone: Degradation and tissue response. *Journal of Biomedical Materials Research* 67 (2003) 1044-1054.
- [2] Pęgo A.P., Grijpma D.W., Feijen J.: Enhanced mechanical properties of 1,3-trimethylene carbonate polymers and networks. *Polymer* 44 (2003) 6495-6504.
- [3] Rokicki G.: Aliphatic cyclic carbonates and spiroorthocarbonates as monomers. *Progress in Polymer Science* (2000) 25259-342.
- [4] Ling J., Shen Z.Q.: Lanthanum Tris(2,6-di-tert-butyl-4-methylphenolate) as a Novel, Versatile Initiator for Homo- and Copolymerization of Cyclic Carbonates and Lactones. *Macromolecular Chemistry and Physics* 203 (2002) 735.
- [5] Zhu W., Ling J., Xu H., Shen Z.: Copolymerization of trimethylene carbonate and 2,2-dimethyltrimethylene carbonate by rare earth calixarene complexes. *Polymer* 46 (2005) 8379-8385.

The mechanical strength and flexibility of the copolymers of trimethylene carbonate/2,2-dimethyltrimethylene carbonate make that these new materials are ideal for the formation of porous three-dimensional scaffolds for the cultivation of soft tissues, as for example: skin and blood vessels.

Conclusions

In the presence of $Zn(acac)_2 \times H_2O$, in a relatively short time, high molecular weight copolymers of trimethylene carbonate with 2,2-dimethyltrimethylene carbonate were obtained. The thermal and mechanical properties of these copolymers were strongly dependent on the comonomer composition. The obtained preliminary results suggest that the scaffold formed from a copolymer of trimethylene carbonate with 2,2-dimethyltrimethylene carbonate could have potential application as a flexible, three-dimensional scaffold for soft tissue culture.

Acknowledgments

This work has been financially supported by European Regional Development Found, Project No. UDA POIG.01.03.01-123/08-05, „Bioresorbable surgery systems with shape memory properties”.

References

- [6] Dobrzyński P., Pastusiak M., Bero M.: Less Toxic Acetylacetonates as Initiators of Trimethylene Carbonate and 2,2-Dimethyltrimethylene Carbonate Ring Opening Polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* 43 (2005) 1913-1922.
- [7] Pamuła E., Błażewicz M., Czajkowska B., Dobrzyński P., Bero M., Kasperczyk J.: Elaboration and characterization of biodegradable scaffolds from poly(L-lactide-co-glycolide) synthesized with low-toxic zirconium acetylacetonate. *Annals of Transplantation* 9 (2004) 64-67.
- [8] Pamuła E., Błażewicz M., Bero M., Dobrzyński P.: Scaffolds from biodegradable aliphatic polyesters for tissue engineering. *Engineering of Biomaterials* 17-19 (2001) 15.
- [9] 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) 5163-5171.