

o walcach płaskich, o mniejszych – w walcach kulowej),
 • nawijania sprężyn wraz z wprowadzaniem do ich wnętrza rdzeni.

Opracowanie i wdrożenie technologii wytwarzania drutów dla urologii pozwoliłoby na wyeliminowanie importu tych materiałów, a tym samym na zaopatrzenie krajowych ośrodków urologicznych w wyrób spełniający wymogi nowoczesnej endoskopii.

Piśmiennictwo

- [1] Gliniewicz B., Kaliszczak A., Taraszkiewicz N.: Ureterorenoskopia w leczeniu kamicy moczowodowej. Przegląd Urologiczny, 2002, 4, 96-98
 [2] Aldana J.P.: Kamica dolnego bieguna nerki. Wybór najlepszej metody leczenia. Contemporary Urology. 2003, 8, 4-9

tation of technology used for production of wire for urology would enable to eliminate import of such materials and consequently to provide home urological centres with a product that meets the requirements of modern endoscopy.

References

- [3] Monga M.: Ureterorenoskopy giętkie – współczesne możliwości ich zastosowania oraz technika zabiegu. Contemporary Urology. 2003, 4, 13-18
 [4] Borkowski A., Borówka A.: Nowe metody leczenia kamicy górnych dróg moczowych. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 1994

BADANIA PROCESU DEGRADACJI KOPOLIMERÓW GLIKOLIDU Z ϵ -KAPROLAKTONEM PRZY POMOCY SPEKTROSKOPII NMR I SPEKTROMETRII MASOWEJ ESI-MS

JOANNA JAWORSKA*, JANUSZ KASPERCZYK*,
 PIOTR DOBRZYŃSKI*, SUMING LI**, GRAŻYNA ADAMUS*

*CENTRUM CHEMII POLIMERÓW,
 UL. SKŁODOWSKIEJ- CURIE 34., 41-800 ZABRZE, POLSKA
 **CENTRE DE RECHERCHE SUR LES BIOPOLYMERS ARTIFICIELS,
 FACULTE DE PHARMACIE,
 15 AVENUE CHARLES FLAHAULT, BP 14 491,
 34093 MONTPELLIER CEDEX 05, FRANCE

Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące hydrolytycznej degradacji resorbowalnych kopolimerów glikolidu z ϵ -kaprolaktonem. Produkty degradacji analizowano za pomocą spektroskopii NMR oraz spektrometrii masowej ESI-MS. Wysoko rozdzielczy NMR pozwala analizować mikrostrukturę łańcuchów kopolimerowych czyli rodzaj oraz udział ilościowy poszczególnych sekwencji komonomerycznych we wszystkich łańcuchach polimerowych. Zastosowana technika ESI-MS umożliwia obserwację oligomerów o maksymalnym stosunku m/z wynoszącym 2000, jednakże pozwala dokładnie określić udział i chemiczną strukturę oligomerów w badanym materiale. Wymienione techniki nawzajem się więc uzupełniają.

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),183-186]

Wstęp

W systemach biodegradowalnych lek, czy też aktywny składnik rozmieszczony jest w obrębie polimerowej matrycy, która może ulegać kontrolowanej degradacji w środowisku biologicznym. Podczas projektowania systemów biodegradowalnych należy wziąć pod uwagę czas degradacji polimeru jak i czas dyfuzji aktywnego składnika z materiału

DEGRADATION PROCESS OF GLYCOLIDE AND ϵ -CAPROLACTONE COPOLYMERS INVESTIGATED BY HIGH RESOLUTION NMR AND ESI-MS

JOANNA JAWORSKA*, JANUSZ KASPERCZYK*,
 PIOTR DOBRZYŃSKI*, SUMING LI**, GRAŻYNA ADAMUS*

*CENTRE OF POLYMER CHEMISTRY,
 34 SKŁODOWSKIEJ- CURIE ST., 41-800 ZABRZE, POLAND
 **CENTRE DE RECHERCHE SUR LES BIOPOLYMERS ARTIFICIELS,
 FACULTE DE PHARMACIE,
 15 AVENUE CHARLES FLAHAULT, BP 14 491,
 34093 MONTPELLIER CEDEX 05, FRANCE

Abstract

The study presents the results of hydrolytic degradation of resorbable copolymers of glycolide and ϵ -caprolactone. Degradation products were examined by NMR spectroscopy and ESI-MS mass spectrometry. High resolution NMR spectroscopy allows to observe total microstructure of the copolymer chains with statistics distribution of comonomer sequences, whereas using ESI-MS only oligomers up to 2000 m/z may be observed but it is possible to describe strictly the units distribution and chemical structures of oligomers. Thus, these two techniques can be complementary.

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),183-186]

Introduction

In biodegradable systems therapeutic agents are incorporated into a matrix composed of a polymer that will undergo controlled degradation within biological environment. Modeling of drug release from biodegradable systems requires consideration of the relative rates of polymer degradation and drug diffusion. It's of vital importance to have defined microstructure of devices that drugs are released from. It influences on the way of degradation- way of releasing particular drugs. Knowing how the polymer microstructure changes during degradation will let us design biodegradable systems properly- systems which will be well

polimerowego. Istotna jest znajomość mikrostruktury użytego polimeru, z którego następuje uwalnianie leku, gdyż mikrostruktura łańcuchów polimerowych bezpośrednio wpływa na proces degradacji matrycy a przez to również na proces uwalniania leku. Znając przebieg zmian mikrostruktury w czasie procesu degradacji można właściwie projektować strukturę polimerowych systemów biodegradowalnych- systemów w pełni zsynchronizowanych z zaplanowanym czasem uwalniania leku.

Metody

Kopolimery glikolidu z kaprolaktonem otrzymano i degradowano zgodnie z opisem zawartym we wcześniejszej pracy [1]. Kopolimerom nadano postać folii, stosując znane techniki. W takiej postaci prowadzono degradację w roztworze buforu fosforanowego pH=7,4 w temperaturze 37°C przez 26 tygodni. Otrzymane produkty degradacji charakteryzowano technikami NMR (13-C i 1-H) a także GPC, DSC, X-ray, CZE, ESI-MS. Badano również spadek masy i chłonięcie wody.

Analizy ESI-MS wykonywano na aparacie Finnigan LCQ

Dyskusja

Otrzymano kopolimery glikolidu z kaprolaktonem o różnej mikrostrukturze łańcucha (diblokowej, semiblokowej, statystycznej) różniące się ponadto zawartością jednostek komonomerycznych. Stosowano cyrkonowe i cynowe inicjatory reakcji. Temperatura reakcji wynosiła od 100°-150°C. Za pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego badano zmiany następujących wielkości w trakcie procesu degradacji: średnią długość bloków, stopień bezładności oraz zawartość sekwencji o odpowiedniej długości zbudowanych z jednostek komonomerycznych [1-2].

Proces degradacji analizowano dla dwóch wybranych próbek o tych samych zawartościach jednostek komonomerycznych GG/Cap=50/50, ale o różnej mikrostrukturze łańcucha.

Na podstawie analizy ESI-MS można opisać zmiany w mikrostrukturze łańcucha podczas procesu degradacji.

Na RYS.3 przedstawiono pełne widmo ESI-MS dla kopolimeru o strukturze blokowej wraz z wybranym zakresem 1030-1320 m/z (jony ujemne). Na widmie widoczne są zarejestrowane sygnały, którym przypisano struktury chemiczne: $\text{HO}[-(\text{CH}_2)_5-\text{COO}]_m[-\text{CH}_2-\text{COO}]_n\text{Z}$; w skrócie: $\text{HO}[\text{C}_m-\text{G}_n]\text{Z}$.

Na widmie ESI-MS (w obszarze do 2000 m/z) zarejestrowano sygnały jako funkcję intensywności oraz przypisano im różne struktury oligomerów. Można zauważyć zmiany w mikrostrukturze oligomerów podczas pro-

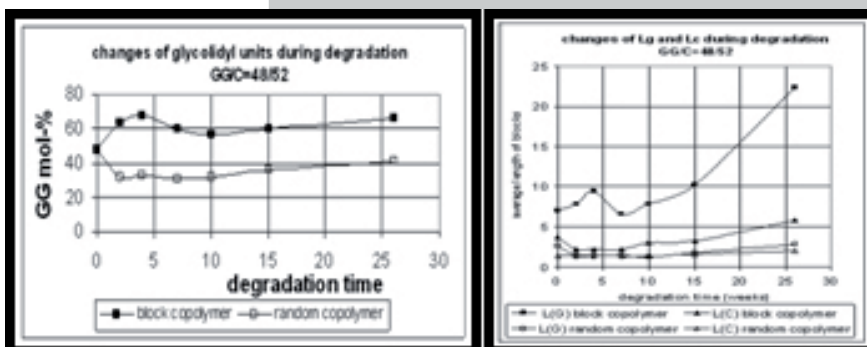
connected with desired time of drug release.

Materials and methods

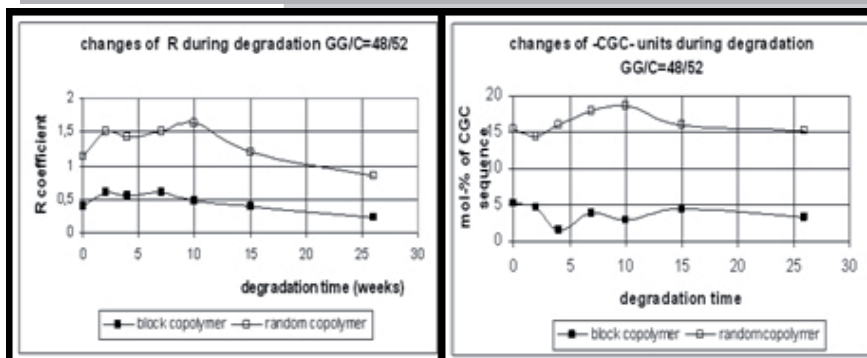
Copolymers of glycolide and caprolactone were obtained and left to degrade according to [1]. The copolymers were manufactured in a form of foil by solvent casting. The resulting form of copolymers was submitted to degradation in phosphate buffer pH=7,4 at 37 °C for 26 weeks. The resulting copolymers and degradation process were characterized by NMR (C-13 and H-1) GPC, DSC, X-ray diffraction, CZE, ESI-MS water uptake profiles and weight loss profiles. Electrospray mass spectrometric analyses were performed using a Finnigan LCQ ion trap mass spectrometer (Finnigan, San Jose, CA, USA). Degradation of foils was performed in phosphate buffer at 37°C [1]

Results and discussion

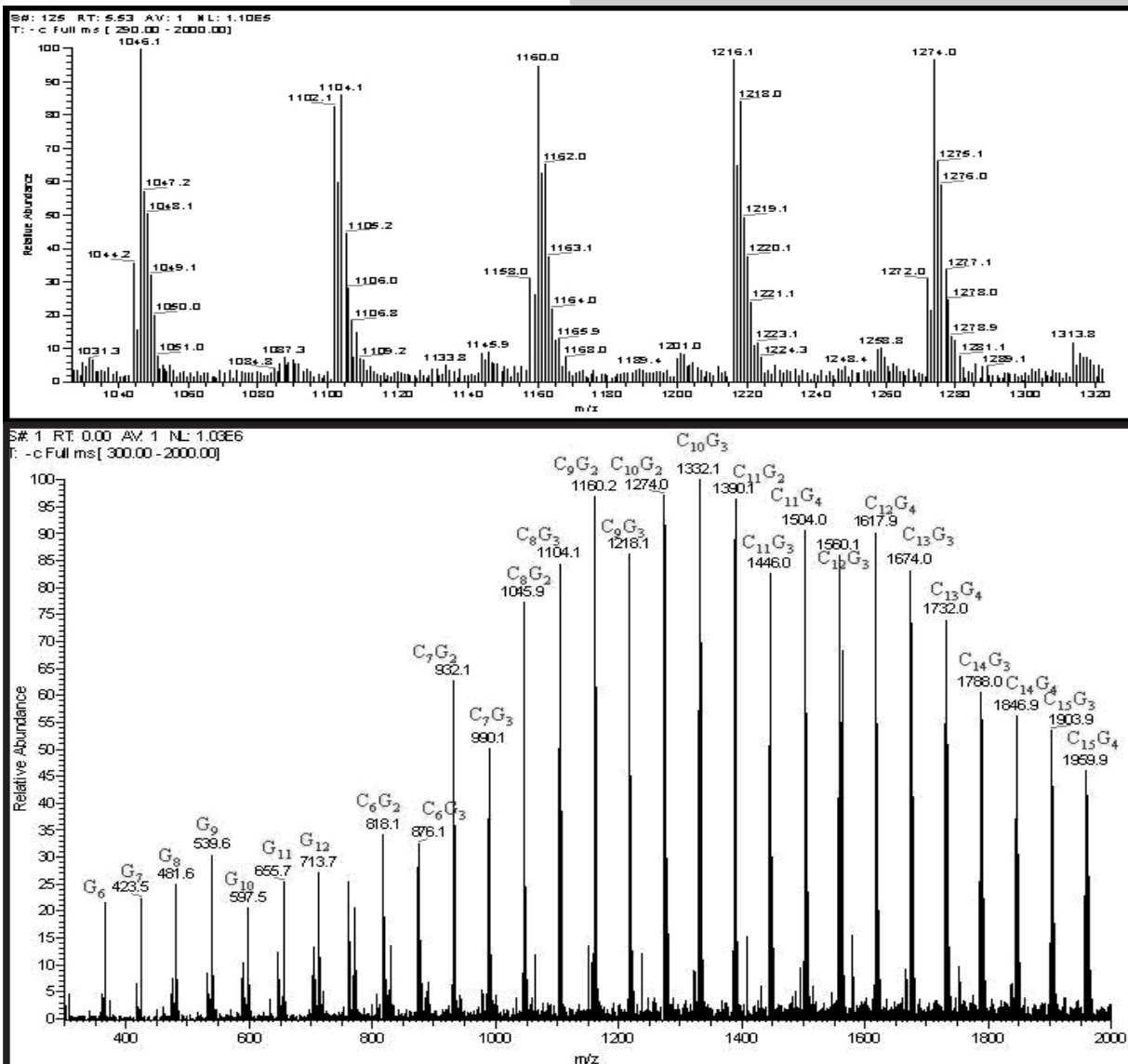
Copolymers samples with various chain microstructure (diblock, semiblocks and random) were obtained changing the feed mole fraction of comonomers and using zirconium and tin initiators of copolymerization and various conditions of reaction (temperature, solvent). Variation of the average lengths of blocks, degree of randomness (R) and contents of short, middle and longer sequences of corresponding co-monomeric units were monitored using high resolution NMR spectroscopy [1-2].



RYS.1. Zmiana udziału jednostki glikolidylowej (lewy) oraz średniej długości bloków (prawy) podczas degradacji analizowanych kopolimerów.
FIG.1. FIG.1. Changes of glycolidyl units (left) and average lengths of lactidyl and glycolidyl blocks during degradation (right).



RYS.2. Zmiana stopnia bezładności (lewy) oraz zawartości sekwencji -CGC- (prawy) podczas degradacji analizowanych kopolimerów.
FIG.2. FIG.2. Changes of degree of randomness (left) and CGC units (right) during degradation.



RYS.3. Widmo ESI-MS kopolimeru blokowego.
FIG.3. ESI-MS spectrum of block copolymer.

cesu degradacji. W przypadku kopolimeru blokowego w 7 i 10 tygodniu zauważono szybką degradację sekwencji mieszanych zbudowanych z jednostek \underline{C} i jednostek \underline{G} (jednostka \underline{Cap} : $-(\text{CH}_2)_5-\text{COO}-$, jednostka \underline{G} : $-\text{CH}_2-\text{COO}-$). Po całkowitej degradacji sekwencji mieszanych, na widmie ESI-MS obserwowano sygnały odpowiadające tylko i wyłącznie sekwencjom zbudowanym z jednostek \underline{G} . (15 tydzień degradacji). Jest to zgodne z wnioskami wyciągniętymi na podstawie analizy techniką NMR i dyfrakcji rentgenowskiej, gdzie stwierdzono mały udział procesów transestryfikacji, wysoką średnią długość bloków glikolidylowych. Ponadto, na widmie rentgenowskim dla kopolimeru blokowego zauważono dwa intensywne sygnały odpowiadające krystalicznemu obszarowi PGA. Wskazuje to na to, iż kopolimer blokowy zawiera sekwencje zbudowane tylko z jednostek \underline{G} skupione w obszarach o wysokiej krystaliczności. Dostęp wody do tych obszarów jest utrudniony, w związku z czym takie sekwencje pozostają w łańcuchu przez długi czas i ulegają degradacji bardzo późno.

W przypadku kopolimeru statystycznego sekwencje zbudowane z jednostek mieszanych \underline{Cap} oraz \underline{G} są widoczne na widmie ESI-MS zarówno na początku degradacji jak również po upływie dłuższego czasu (nawet w 26 tygodniu

Degradation mechanism was monitored for two samples with the same initial content of comonomeric units GG/Cap = 50/50 but with various chain microstructure.

On the basis of ESI-MS spectra it is possible to describe changes in the chain microstructure during degradation.

FIGURE 3 presents ESI-MS spectra together with spectral expansions in the range m/z 1030-1320 acquired in negative-ion mode for block copolymer. The negative ESI mass spectr of this oligomers consist of numerous ions with general chemical structure: $\text{HO}-[(-\text{CH}_2)_5-\text{COO}]_m-[-\text{CH}_2-\text{COO}]_n\text{Z}$; what is abbreviated as: $\text{HO}-[\text{C}_m-\text{G}_n]\text{Z}$. Different types of oligocopolymers are observed in whole region of recorded spectra (up to 2000 m/z) as a function of intensity. Changes of the chain microstructure during degradation can be noticeable.

In the case of block copolymer (**blockCOP**) rapid degradation of short mixed sequences (containing \underline{C} as well as \underline{G} units) is noticeable in 7th and 10th week of degradation. After total degradation of mixed sequences polymer chain start to release long sequences built only of \underline{G} unit (15th week of degradation). This is in good connection with results obtained on the basis of NMR and X-ray diffraction spectra[1]: low appearance of transesterification processes,

degradacji). Oczywiście łańcuch kopolimeru statystyczne-
go zawiera dużą ilość sekwencji zbudowanych z obydwu
jednostek monomerów - dużo więcej, niż w przypadku ko-
polimeru blokowego. Jednakże podczas procesu degradacji
sekwencji mieszanych zbudowanych z jednostek C_{ap} oraz
 G na widmie ESI-MS pojawiają się równocześnie sygnały,
odpowiadające sekwencjom zbudowanym wyłącznie z jed-
nostek G , (inaczej niż w przypadku kopolimeru blokowego,
gdzie degradacji ulegały najpierw sekwencje mieszane a
następnie sekwencje zbudowane z jednostek G). Jest to
zgodne z wnioskami wyciągniętymi na podstawie analizy
techniką NMR i dyfrakcji rentgenowskiej [1], gdzie stwier-
dzono duży udział procesów transestryfikacyjnych, niską
średnią długość bloków glikolidyloowych (dwa razy niższą
wartość w porównaniu z kopolimerem blokowym). Ponadto,
na widmie rentgenowskim dla kopolimeru statystycznego
również obserwuje się dwa sygnały odpowiadające kry-
stalicznemu obszarowi PGA, jednak o znacznie niższej
intensywności, niż w przypadku kopolimeru blokowego.
Mikrostruktura łańcucha kopolimeru statystycznego, rzeczy-
wiście wykazuje dużo mniejsze uporządkowanie. Sekwencje
zbudowane tylko z jednostek G są skupione w obszarach
o dużo niższej krystaliczności, niż w przypadku kopolimeru
blokowego.

Wnioski

Metody wysoko rozdzielczego NMR i spektrometrii
masowej ESI-MS są bardzo przydatnymi technikami w
analizowaniu procesu hydrolytycznej degradacji kopolime-
rów. W pracy przedstawiono różnice w przebiegu procesu
degradacji na podstawie obserwowanych różnic w mikro-
strukturze łańcuchów wybranych kopolimerów. Na podsta-
wie widm NMR oraz ESI-MS zaobserwowano duże różnice
w procesie degradacji kopolimeru blokowego i kopolimeru
statystycznego. Hydrolytyczna degradacja kopolimeru o
wyższym współczynniku bezładności przebiega w szybszym
tempie, niż dla kopolimeru o strukturze blokowej. Fragmenty
łańcucha zawierające krótkie sekwencje powstałe w wyni-
ku procesów transestryfikacji ulegają degradacji bardzo
szybko. Jednakże, nieco dłuższe fragmenty zawierające
przemienne segmenty mogą być bardziej stabilne, aniżeli
bloki homopolimerowe zbudowane z jednego rodzaju jed-
nostek monomerycznych. Dłuższe bloki obecne w łańcuchu
kopolimerowym tworzą uporządkowane obszary o strukturze
krystalicznej. Konsekwencją tego faktu jest utrudniony czy
też zablokowany dostęp wody do wspomnianych obszarów.
W związku z czym proces degradacji dla tych obszarów
zachodzi znacznie wolniej.

Podziękowania

Joint French-Polish CNRS- PASC. Grant No 18256 and
Project PBZ-KBN-070/T09/2001/6/ 2003-2006

Regionalny Fundusz Stypendiów Doktoranckich (EFS-
2.6 ZPORR No. Z/2.24/II/2.6/17/04 RFSD).

high average length of glycolidyl blocks. Besides, **blockCop**
exhibits two intense peaks on X-ray diffraction spectrum due
to PGA. It all suggests that chain of **blockCop** consists of
long sequences containing only G units concentrated in
crystal domains. Water penetration is limited in this area
thus, these oligomers remain in the chain for a long period
of time and are released very late.

In the case of random copolymer (**randomCop**) mixed
sequences are released evenly. These sequences are still
observed in 26th week of degradation, what suggests that
copolymer chain of **randomCop** contains plenty of such
structures- much more than **blockCop**. Besides, during
degradation of short and mixed sequences we can observe
that long sequences containing only G units are also re-
leased from the chain. This is in good connection with results
obtained on the basis of NMR and X-ray diffraction spectra
[1]: significant appearance of transesterification processes,
low average length of glycolidyl blocks (two times lower than
in the case of **blockCop**). Besides, **randomCop** exhibits
also two peaks on X-ray diffraction spectrum due to PGA,
but they are much lower than that observed in the case of
blockCop. Microstructure of **randomCop** is, indeed, less
organised than microstructure of **blockCop**. Sequences
containing only G units are concentrated in domains, which
are not as crystal as in the case of **blockCop**.

Conclusions

The high resolution NMR and ESI-MS are useful tools in
monitoring of hydrolytic degradation of copolyester chains.
The clear differences in degradation mechanism were
observed according to various microstructures of copoly-
ester chain. On the basis of NMR and ESI-MS spectra we
observed completely different way of degradation process
for random and block polyester copolymers. The hydrolytic
degradation of the copolymer chains with higher degree of
randomness proceeds faster than block copolymer chains.
The fragments of chains containing short highly transester-
ified random sequences are removed first. However the
longer alternating segments may be more stable than
homopolymer blocks. Longer blocks in copolymer chain
provoke formation of ordered domains and in consequence
possibility of the penetration of water molecules decrease
and slower hydrolytic degradation of such fragments of
copolymer chain is observed.

Acknowledgements

Joint French-Polish CNRS- PASC. Grant No 18256 and
Project PBZ-KBN-070/T09/2001/6/ 2003-2006

RFSD Stipend Fund (EFS-2.6 ZPORR No. Z/2.24/
II/2.6/17/04 RFSD)

Piśmiennictwo

[1] Li, S.; Dobrzynski, P.; Kasperczyk, J.; Bero, M.;
Braud, C.; Vert, M.: Structure-property relationships of co-
polymers obtained by ring-opening polymerization of glycolide
and ϵ -caprolactone. Part 2. Influence of composition and chain
microstructure on hydrolytic degradation, *Biomacromolecules*, 6,
(2005), 489-497

References

[2] Dobrzynski, P.; Li, S.; Kasperczyk, J.; Bero, M.; Gasc,
F.; Vert, M.: Structure-property relationships of copolymers ob-
tained by ring-opening polymerization of glycolide and ϵ -caprolac-
tone. Part 1. Synthesis and characterization, *Biomacromolecules*,
6, (2005), 483-488.
[3] J.Kasperczyk "Copolymerization of glycolide with ϵ -caprolactone
Part I" *Macromol. Chem. and Physics* 903, 200, (1999).