



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie

Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej
Katedra Inżynierii Polimerów i Biomateriałów
mgr Malwina Julita Niedźwiedź

**Amfifilowe i hybrydowe sieci polimerowe zawierające
fibrynogen i pochodne katecholi**

**Amphiphilic and hybrid polymer networks containing
fibrinogen and catechol derivatives**

Rozprawa doktorska

Promotor: prof. dr hab. inż. Mirosława El Fray

Promotor pomocniczy: dr Gokhan Demirci

Szczecin, 2024 rok



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny
w Szczecinie



Szkoła
Doktorska

ROZPRAWA DOKTORSKA

PODZIĘKOWANIA

„Niczego w życiu nie należy się bać, wystarczy to tylko
zrozumieć” Maria Curie-Skłodowska

Zainspirowana tym słowami chciałabym podziękować wszystkim tym, którzy pomagali mi zrozumieć zawiłości świata nauki. Szczególne podziękowania należą się:

Pani prof. dr hab. inż. Mirosławie El Fray mojej promotorce za wskazanie interesującego obszaru badań, wsparcie, cenne uwagi i pomoc na każdym etapie realizacji pracy doktorskiej,

Panu dr. Gokhanowi Demirci mojemu promotorowi pomocniczemu za opiekę naukową i poświęcony czas,

Panu dr. inż. Krzysztofowi Gorącemu za zapoznanie mnie z interesującymi technikami badawczymi i ciekawe dyskusje naukowe,

Pracownikom z Katedry Inżynierii Polimerów i Biomateriałów ZUT za przyjazną atmosferę pracy naukowej i wszelkie wskazówki,

Koleżankom i Kolegom z Katedry Fizykochemii Nanomateriałów za wsparcie i zrozumienie.

Chciałabym również podziękować Narodowemu Centrum Nauki za sfinansowanie badań prezentowanych w niniejszej pracy, wykonanych w ramach projektu badawczego OPUS17 pt. *Hybrid and elastomeric polymer networks: synthesis, structure and properties*, UMO-2019/33/B/ST5/01445.

Streszczenie

W niniejszej rozprawie doktorskiej opisano otrzymywanie hybrydowych sieci polimerowych oraz ich składników. Założono, że wykorzystując hydrofobowy komponent na bazie roślinnych kwasów tłuszczowych i hydrofilowe białko, otrzymana hybrydowa sieć polimerowa będzie posiadała właściwości amfifilowe. Ponadto, sprawdzono wpływ katecholu na właściwości adhezyjne sieci polimerowych.

W ramach części badawczej opisano syntezy telechelicznego makromonomeru z wykorzystaniem kilku katalizatorów oraz zestawiono ich właściwości, jak i otrzymanego na jego bazie poliuretanu. Następnie wybrany makromonomer wykorzystano w dalszych badaniach. Przeprowadzono szczegółowe badania kinetyki fotosieciowania z wykorzystaniem dwóch fotoinicjatorów I rodzaju. Zbadano wpływ czynników, takich jak stężenia fotoinicjatora, intensywność i obecność tlenu na kinetykę fotopolimeryzacji.

Dzięki zastosowaniu mieszaniny rozpuszczalników otrzymano hybrydowe sieci polimerowe, jak i te o polepszonych właściwościach adhezyjnych dzięki zastosowaniu katecholu. Badanie kąta zwilżania z wykorzystaniem dwóch rozpuszczalników: wody i diiodometanu, przeprowadzone metodą osadzania kropli udowodniło amfifilowy charakter otrzymanych układów hybrydowych. Ponadto badanie to ukazało, że na powierzchni zachodzi zjawisko reorganizacji struktury sieci polimerowej. Analiza DSC wykazała przejścia szkliste poniżej temperatury pokojowej oraz doskonałą biokompatybilność składników sieci polimerowej.

Otrzymane materiały wykazały dużą elastyczność oraz niskie moduły zbliżone do właściwości mechanicznych tkanek miękkich, co w połączeniu z brakiem cytotoksyczności wskazuje na ich potencjalną przydatność do zastosowań w inżynierii tkanek miękkich. Ponadto badanie testu odrywania od powierzchni hydrofilowej filmu zawierającego katechol wykazało, iż wymagane jest zastosowanie większej siły odrywania w porównaniu do polimeru bez katecholu.

Otrzymane hybrydowe sieci polimerowe poddano działaniu proteazy. Degradacja enzymatyczna ujawniła, iż dodatek składników biologicznych, takich jak fibrynogen i katechol przyspiesza proces hydrolizy. Dodatkowo proteaza przyspieszała degradację samego poliuretanu względem degradacji w obecności samego buforu.

Słowa kluczowe: biomateriały, amfifilowość, sieci polimerowe, fotopolimeryzacja

Abstract

In this doctoral dissertation, the synthesis of hybrid polymer networks and their components is described. It was assumed that by employing a hydrophobic component based on plant-derived fatty acids and a hydrophilic protein, the resulting hybrid polymer network would exhibit amphiphilic properties. Additionally, the influence of catechol on the adhesive properties of the polymer networks was investigated. In the experimental section, the synthesis of a telechelic macromonomer using various catalysts is described, followed by a comparison of their properties.

The experimental section describes the syntheses of a telechelic macromonomer using several catalyst and summarises their properties, as well as those of the polyurethane obtained on its basis. The selected macromonomer was subsequently used in further studies. A detailed kinetic analysis of the photocrosslinking process was conducted using two Type I photoinitiators, with an investigation into the effects of photoinitiator concentration, light intensity, and oxygen presence on the photopolymerization kinetics.

Through the application of a co-solvent method, hybrid polymer networks were obtained, including those with enhanced adhesive properties attributed to the incorporation of catechol. The amphiphilic nature of the resulting hybrid systems was confirmed through contact angle measurements using water and diiodomethane, employing the droplet deposition method. Furthermore, this analysis revealed surface reorganization phenomena within the polymer network structure. Differential scanning calorimetry (DSC) demonstrated glass transitions below room temperature, indicating excellent compatibility between the polymer network components.

The materials produced exhibited significant flexibility and low moduli, closely resembling the mechanical properties of soft tissues, which combined with the lack of cytotoxicity, indicates their potential suitability for soft tissue engineering applications. Furthermore, peel tests conducted on hydrophilic surfaces of catechol-containing films revealed a higher detachment force compared to polymers without catechol.

The hybrid polymer networks were subjected to protease treatment, and enzymatic degradation studies indicated that the inclusion of biological components, such as fibrinogen and catechol, accelerated the degradation process. Additionally, the protease expedited the degradation of polyurethane compared to its degradation in buffer alone.

keywords: biomaterials, amphiphilicity, polymer networks, photopolymerization

Spis treści

1	Wprowadzenie	11
2	Część literaturowa	14
2.1	Polimery naturalne	14
2.1.1	Kwasy tłuszczowe	14
2.1.2	Fibrynogen.....	15
2.2	Hybrydowe sieci polimerowe	17
2.2.1	Fotopolimeryzacja	19
2.3	Biomateriały.....	22
2.3.1	Biokompatybilność.....	22
2.3.2	Biodegradowalność	23
2.3.3	Wstrzykiwalność	24
2.3.4	Właściwości mechaniczne.....	26
2.3.5	Bioadhezja	26
2.3.6	Amfifilowość	28
2.3.7	Podsumowanie.....	28
3	Cel, hipotezy i zakres pracy.....	29
4	Część eksperymentalna.....	32
4.1	Materiały	32
4.2	Synteza bimetalicznego katalizatora magnezowo-tytanowego	33
4.3	Synteza makromonomeru	33
4.4	Synteza PEG-yłowanego fibrynogenu (komponent B)	35
4.5	Synteza N-metakrylowanej-L-DOPA (komponent C).....	36
4.6	Otrzymywanie kompozycji fotosieciowalnych.....	37
4.7	Fotopolimeryzacja	38
4.8	Metody badawcze	39
4.8.1	Spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera (FTIR)	39
4.8.2	Spektroskopia rezonansu magnetycznego jąder atomowych (^1H i ^{13}C NMR).....	39
4.8.3	Oznaczanie lepkości	39
4.8.4	Chromatografia żelowa (GPC)	39
4.8.5	Wyznaczanie liczby jodowej (LJ)	39
4.8.6	Fotokolorymetria różnicowa UV-DSC.....	40
4.8.7	Mikroskop sił atomowych (AFM).....	40

4.8.8	Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)	41
4.8.9	Frakcja żelowa	41
4.8.10	Pomiar kąta zwilżania	41
4.8.11	Termiczna analiza dynamicznych właściwości mechanicznych (DMTA)	41
4.8.12	Właściwości mechaniczne	42
4.8.13	Test odrywania	42
4.8.14	Degradacja sieci polimerowych	42
4.8.15	Rentgenowska mikrotomografia komputerowa	43
4.8.16	Dyfrakcja promieniowania Roentgena (XRD)	43
4.8.17	Mikroskop fluorescencyjny	43
4.8.18	Badania cytotoksyczności	44
5	Wyniki i dyskusja	45
5.1	Charakterystyka makromonomerów otrzymanych z wykorzystaniem nietoksycznych katalizatorów	45
5.1.1	Struktura chemiczna	47
5.1.2	Masy molowe i lepkość makromonomerów	49
5.1.3	Badania cytotoksyczności	50
5.2	Kinetyka fotosieciowania na przykładzie wybranego makromonomeru ...	51
5.3	Wytwarzanie hydrofobowych sieci polimerowych na podstawie wybranego prekursora (komponent A)	65
5.3.1	Analiza powierzchni A za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM) ..	66
5.3.2	Degradacja hydrofobowych sieci estrowo-uretanowych	66
5.4	Synteza i struktura PEG-yłowanego fibrynogenu (komponentu B)	70
5.5	Synteza i struktura N-metakrylowanej-L-DOPA (komponent C)	73
5.6	Modyfikacja makromonomeru estrowo-uretanowego grupami katecholowymi	75
5.6.1	Ocena budowy chemicznej metodą spektroskopii FT-IR	75
5.6.2	Analiza powierzchni AC za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM)	76
5.6.3	Oznaczenie zawartości frakcji żelowej	77
5.6.4	Zwilżalność powierzchni sieci polimerowych	78
5.6.5	Analiza właściwości termicznych metodą DSC	80
5.6.6	Analiza właściwości termomechanicznych metodą DMTA	81
5.6.7	Właściwości mechaniczne	82

5.6.8	Ocena adhezji materiałów metodą odrywania.....	84
5.6.9	Ocena obecności grup katecholowych metodą mikroskopii fluorescencyjnej.....	87
5.7	Charakterystyka amfifilowych układów na podstawie komponentów A i B	88
5.7.1	Spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera (FT-IR).....	88
5.7.2	Analiza powierzchni układu AB za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM)	89
5.7.3	Zawartość frakcji żelowej.....	90
5.7.4	Zwilżalność powierzchni sieci polimerowych	91
5.7.5	Degradacja hybrydowych sieci polimerowych.....	93
5.7.6	Analiza termiczna metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC)	97
5.7.7	Analiza właściwości termomechanicznych metodą DMTA	98
5.7.8	Właściwości mechaniczne sieci polimerowych A+B.....	100
5.8	Amfifilowe układy hybrydowe zawierające pochodne kwasu tłuszczowego, fibrynogen i ugrupowania katecholowe (A:B:C).....	103
5.8.1	Analiza budowy chemicznej metodą spektroskopii w podczerwieni (FT-IR)	103
5.8.2	Analiza powierzchni układu ABC za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM)	104
5.8.3	Oznaczenie zawartości frakcji żelowej.....	105
5.8.4	Zwilżalność powierzchni sieci polimerowych	106
5.8.5	Degradacja hybrydowych sieci polimerowych o polepszonej adhezji	107
5.8.6	Analiza termiczna metodą DSC	111
5.8.7	Analiza właściwości termomechanicznych metodą DMTA	112
5.8.8	Właściwości mechaniczne	114
6	Podsumowanie i wnioski	117
7	Literatura	118
8	Dorobek naukowy	138

Wykaz skrótów:

AcCl	chlorek akryoilu
AFM	mikroskop sił atomowych
Arg	arginina
Asp	kwask asparaginowy
BiHex	tris(2-etyloheksanian) bizmutu
BiNDE	neodekanaan bizmutu
C	stopień konwersji
CDCl ₃	deuterowany chloroform
C _{max}	końcowy stopień konwersji
CNBr	bromocyjan
C _u	stopień konwersji przy maksymalnej szybkości reakcji
D	ubytek masy po degradacji
DABCO	1,4-diazabicyklo [2.2.2]oktan
DBTDL	dilaurynian dibutylocyny
DCM	dichlorometan
DLA	dimer kwasu linoleinowego
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	dimetylosulfotlenek
DSC	różnicowa kalorymetria skaningowa
E'	moduł zachowawczy
E''	moduł stratności
EMD	odległości Wassersteina
E _a	energia aktywacji
<i>f</i>	średnia liczba cząsteczek rdzenia na jedną cząsteczkę makromonomeru, obliczona na podstawie ¹ H-NMR
FDA	Agencja Żywności i Leków (Food and Drugs Administration)
FTIR	spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera
GF	frakcja żelowa
Gly	glicyna
GPC	chromatografia żelowa
HEMA	metakrylan 2-hydroksyetylenu
I _f	wartość integracji sygnału przesunięcia <i>f</i> ppm
IPDI	diizocyjanian izoforonowy
k	stała szybkości reakcji
komponent A	telecheliczny makromonomer na bazie kwasów tłuszczowych, zawierający ugrupowania estrowe i uretanowe
komponent B	PEG-ylowany fibrynogen
komponent C	metakrylowana-L-DOPA

L-DOPA	3,4-dihydroksy-L-fenylolalana
LJ	liczba jodowa
m_0	masa materiału przed degradacją
m_d	masa materiału po wysuszeniu
Mg-Ti	wodorosześciobutoksy-o-tytanian magnezu
M_n	liczbowo średnia masa cząsteczkowa
MOF	sieci metaliczno-organiczne z ang. <i>Metal-Organic Frameworks</i>
m, n	cząstkowe rzędy reakcji autokatalitycznej
M_w	wagowo średnia masa cząsteczkowa
NMR	rezonans magnetyczny jąder atomowych
O2022	Omnirad 2022
O819	Omnirad 819
P	stopień pęcznienia po degradacji-chłonność wody
PBS	bufor fosforanowy
PDMS	polidimetylosiloksan
PEG	poli(glikol etylenowy)
PEG-DA	diakrylan poli(glikolu etylenowego)
PGA	poli(kwas glikolowy)
PLA	poli(kwas mlekowy)
PS	polistyren
PVA	polialkohol winylowy
R_{max}	maksymalna szybkość reakcji fotopolimeryzacji
SBF	symulowany płyn fizjologiczny
SDS-PAGE	elektroforeza białek w żelu poliakrylamidowym w warunkach denaturujących
SEM	skaningowa mikroskopia elektronowa
SFA	aparatu sił powierzchniowych (z ang. <i>Surface Force Apparatus</i>)
$\tan \delta$	tangens kąta fazowego
TEA	trietyloamina
T_g	temperatura zeszklenia
XRD	dyfrakcja rentgenowska
α	stopień konwersji
ΔC_p	zmiana ciepła właściwego

1 Wprowadzenie

Rosnące wymagania wobec materiałów stanowią istotne wyzwania dla naukowców, co prowadzi do nieustannych prac nad nowymi materiałami oraz modyfikacjami już istniejących. W sektorze motoryzacyjnym, w szczególności intensyfikuje się potrzeba opracowania materiałów charakteryzujących się wyjątkową lekkością, bez utraty wytrzymałości, co wynika z rosnącego zapotrzebowania na pojazdy o mniejszym zużyciu paliwa i niższej emisji CO₂. Przemysł budowlany coraz większą wagę przywiązuje do aspektów zrównoważonego rozwoju, w tym do zwiększenia energooszczędności i odporności na ekstremalne warunki atmosferyczne. Z kolei przemysł opakowaniowy kładzie nacisk na wydłużenie trwałości produktów zamkniętych w opakowaniu oraz zmniejszenia wpływu opakowania na środowisko, między innymi poprzez szukanie nowych surowców pochodzących ze źródeł odnawialnych.

Coraz większa uwaga poświęcana ekologicznym aspektom tworzyw sztucznych skutkuje wzrostem zainteresowania naukowców polimerami pochodzenia naturalnego, takimi jak pochodne kwasów tłuszczowych czy polisacharydy, które zaliczają się do grupy surowców odnawialnych. Wykorzystywanie polimerów pochodzenia naturalnego pozwala nie tylko na uniezależnienie przemysłu tworzyw sztucznych od wyczerpywalnych zasobów petrochemicznych, ale również ma kluczowe znaczenie na ostatnim etapie cyklu życia produktu (z ang. *end of life*). Dzięki podatności tych polimerów na różne procesy degradacji możliwa jest redukcja ilości odpadów „plastikowych” trafiających na wysypiska. Dodatkowo, biopolimery cechują się niską toksycznością, czyniąc końcowy produkt bezpieczniejszym dla środowiska i zdrowia ludzkiego. Wiele z nich (m.in. polilaktyd, skrobia, chitozan, alginian) wykazuje dodatkowo właściwości barierowe przed wilgocią, tlenem i innymi gazami, co jest istotne przy produkcji opakowań dla żywności.

Ponadto biopolimery odgrywają istotną rolę, szczególnie w zastosowaniach medycznych, gdzie ze względu na swoją naturę zapewniają biokompatybilność, biodegradowalność, a nawet inherentną bioaktywność wyrobów medycznych. Chitozan, otrzymywany z chityny budującej pancerze niektórych organizmów (morskich, takich jak skorupiaki, i owadów, a także znajdujący się w ścianie komórkowej grzybów), posiada unikalne właściwości, takie jak zdolność do hamowania wzrostu bakterii i promowanie gojenia ran, co czyni go kluczowym składnikiem opatrunków leczniczych [1–5]. Z kolei fibrynogen, będący składnikiem krwi posiada zdolność do stymulowania procesów regeneracyjnych tkanek, jest wykorzystywany do produkcji hydrożeli i implantów medycznych. W ten sposób biopolimery nie tylko poprawiają skuteczność terapii medycznych, ale także przyczyniają się do szybszego i skuteczniejszego procesu gojenia ran, co ma istotne znaczenie dla poprawy jakości życia pacjentów.

Struktura materiałów pochodzenia biologicznego oraz funkcjonowanie organizmów były doskonalone przez tysiące lat ewolucji. Nic więc dziwnego, że inżynierowie od lat czerpią inspirację z natury. Doskonałym przykładem biomimetyki jest taśma adhezyjna naśladująca spód stóp gekona. Zauważono, że posiadają one doskonałą zdolność przywierania do różnorodnych powierzchni, dzięki nanoszczotkom na spodzie stóp. Te nanometryczne struktury włókniste zwiększają adhezję między powierzchniami dzięki siłom kapilarnym i oddziaływaniom van der Waalsa [6][7].

Innym fascynującym morskim zwierzęciem posiadającym nadzwyczajne właściwości adhezyjne jest omulek, którego białka posiadają doskonałe właściwości adhezyjne w środowisku wodnym. Początkowo są wydzielane jako białkowe płyny, które następnie twardnieją *in situ*, tworząc lepiącą się stopę, która zakotwicza małże do podłoża, na którym żyją. Włączenie takich ugrupowań katecholowych do struktury materiału stanowi przykład biomimetycznej adhezji do mokrych powierzchni za pomocą kowalencyjnych i niekowalencyjnych oddziaływań [8]. Łącząc opisane powyżej inspirowane naturą rozwiązania, otrzymano taśmę pozwalającą na odwracalne łączenie różnych powierzchni w każdym środowisku. Bazę i chropowatość powierzchni (filary) wykonano z powszechnie znanego elastomeru, polidimetylosiloksanu (PDMS), stosując elektrolitografię wykorzystywaną najczęściej do produkcji zminiaturyzowanych układów elektrycznych. Następnie poprzez powlekanie zanurzeniowe w roztworze poli(dopamino metakryloamidu-co-metoksyehylo akrylanu) w etanolu naniesiono katechol na hydrofobową powierzchnię PDMS [9].

Inną często pożądaną cechą materiałów wysoko wyspecjalizowanych jest amfifilowość, czyli zdolność do oddziaływania zarówno z powierzchniami hydrofilowymi, jak i hydrofobowymi. W naturze ta właściwość pozwala na utrzymanie struktury błony komórkowej, zbudowanej z fosfolipidów. Amfifilowa budowa fosfolipidu to hydrofilowa „głowa” zbudowana zwykle z polarnych grup fosforanowych połączonych z alkoholami (np. choliną) oraz hydrofobowy „ogon” zbudowany głównie z niepolarnych kwasów tłuszczowych. W zastosowaniach medycznych cecha ta jest szczególnie pożądana w materiałach stosowanych jako nośniki leków. Dzięki dwoistej naturze, umożliwiają one zarówno enkapsulację i transport leków, jak i interakcję z różnorodnym środowiskiem biologicznym, co znacząco zwiększa efektywność terapii. Najczęściej stosowanym systemem amfifilowym są liposomy, powstające w wyniku samoorganizacji. Głównie są stosowane w leczeniu nowotworów, gdzie pomagają w precyzyjnym dostarczaniu leku do guza, minimalizując toksyczność substancji czynnej poza celem (np. lek Doxil®) oraz w leczeniu pacjentów z ciężkimi infekcjami lub stanami obniżonej odporności (np. AmBisome®). W 2023 r. sam globalny rynek liposomalnej doksorubicyny był wyceniany na 1238,29 miliardów USD [10].

Materiały łączące często tak różnorodne właściwości mogą być uzyskane poprzez tworzenie kompozytów, nanokompozytów, kopolimerów, hybrydowych materiałów i sieci polimerowych. Hybrydowy charakter takich materiałów pozwala na precyzyjne projektowanie właściwości poprzez dobór rodzaju i udziałów ich składników (składu chemicznego), stosunku hydrofobowości do hydrofilowości, sposobu sieciowania, gęstości usieciowania itp. Materiały hybrydowe pozwalają na integrację cech, które byłyby trudne do uzyskania w przypadku tradycyjnych materiałów, co czyni je idealnym wyborem dla nowoczesnych zastosowań inżynierskich i technologicznych. Wszystko to powoduje, iż mają znacząco przewagę nad tradycyjnymi materiałami jednoskładnikowymi, które często nie posiadają wszystkich kluczowych cech.

W medycynie, hybrydowe sieci polimerowe są szeroko badane pod kątem zastosowania w zaawansowanych systemach dostarczania leków (z ang. *drug delivery systems*). Układy takie zwykle tworzone są przez połączenie naturalnych polimerów takich jak chitozan i żelatyna z syntetycznymi polimerami takimi jak poli(glikol etylenowy) (PEG).

Takie połączenia pozwalają na uzyskanie materiału łączącego cechy polimerów naturalnych (biokompatybilności i biodegradowalności) z wytrzymałością mechaniczną polimerów syntetycznych [11].

Niniejsza rozprawa poświęcona jest nieopisanym dotychczas w literaturze, amfifilowym i hybrydowym sieciom polimerowym otrzymywanym na drodze fotosieciowania. Omówiono układy hybrydowe bazujące na syntetycznej pochodnej kwasu tłuszczowego i naturalnym fibrynogenie oraz układów hybrydowych o polepszonych właściwościach adhezyjnych zawierających katechol. Celem pracy jest zbadanie potencjału tych nowatorskich materiałów w kontekście zastosowań jako biomateriały oraz zrozumienie zależności między strukturą, a właściwościami nowych sieci polimerowych.

W literaturowej części pracy zebrano ogólne informacje dotyczące hybrydowych sieci polimerowych i biomateriałów, zwracając szczególną uwagę na cechy, takie jak amfifilowość oraz biodegradowalność. Podkreślono szczególne znaczenie kwasów tłuszczowych, białek i katecholi w zawansowanych zastosowaniach medycznych.

2 Część literaturowa

2.1 Polimery naturalne

Biopolimery, czyli polimery pochodzenia naturalnego, jako pierwsze zostały wykorzystane w zastosowaniach medycznych, znacznie wyprzedzając wykorzystanie polimerów syntetycznych, które po raz pierwszy pojawiły się w latach 60. XX wieku [12]. Historia zastosowania polimerów naturalnych sięga czasów starożytnych. Pierwsze udokumentowane wykorzystanie polimerów miało miejsce około 2450 r. p.n.e. w starożytnych Chinach do produkcji tkanin z jedwabiu [13]. Natomiast około 1600 r. p.n.e. mieszkańcy Ameryki Środkowej stosowali gumę naturalną do wyrobu obuwia i innych przedmiotów użytkowych [14].

W ciągu wieków biopolimery znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach. W XIX wieku, dzięki rozwojowi chemii, możliwa stała się bardziej zaawansowana ich synteza i modyfikacja. Biopolimery oferują szereg zalet wynikających z ich pochodzenia, takich jak: biokompatybilność, niska toksyczność oraz podatność na degradację.

Wśród polimerów naturalnych można wyróżnić trzy główne grupy: polisacharydy, poliamidy (białka i peptydy) i polinukleotydy (kwas nukleinowy) [12]. Obecnie ze względu na aspekty ekologiczne, biopolimery cieszą się coraz większym powodzeniem.

Szczególnie interesującą grupą pod kątem zastosowań medycznych ze względu na różnorodne funkcje, strukturę i zdolność do interakcji z innymi cząsteczkami biologicznymi są białka. Niektóre z nich (np. transferryna, hormony wzrostu (GH), erytropoetyna, albumina, hemoglobina, cytokiny, akwapory) potrafią stymulować i kontrolować wzrost komórek oraz regulować transport substancji w organizmie, co sprawia, że są doskonałymi kandydatami do wykorzystania w terapiach celowanych i medycynie regeneracyjnej. Ponadto ze względu na ich zróżnicowaną strukturę i możliwość funkcjonalizacji umożliwiają projektowanie biomateriałów o różnorodnych właściwościach fizycznych i chemicznych [15][16].

2.1.1 Kwasy tłuszczowe

Kwasy tłuszczowe w postaci trójglicerydów występują w nasionach roślin oleistych, takich jak rzepak, kukurydza, soja, len czy słonecznik. W organizmach żywych odgrywają kluczową rolę w szlaku biosyntezy fosfolipidów, czyli podstawowych składników błony komórkowej. Dodatkowo pełnią funkcję rezerwy tłuszczowej, gromadząc energię potrzebną do funkcjonowania komórek [17].

Jako substancje pochodzenia naturalnego, kwasy tłuszczowe wykazują biokompatybilność w kontakcie z komórkami. Niestety ich nierozpuszczalność w roztworach wodnych, znacząco wpływa na ograniczone wykorzystanie ich w zastosowaniach medycznych [18].

Kwasy tłuszczowe w roztworach wodnych mogą samoorganizować się w różne struktury, takie jak micle [18], pęcherzyki [19], stożki [20] i rurki [21] w obecności amin lub kationów, co potencjalnie czyni te układy interesującymi w kontekście syntezy materiałów jako nośniki leków. Tym bardziej, że takie układy mogą reagować na warunki

otoczenia, takie jak pH [22], temperatura i światło UV. Ponadto, w myśl zasad zielonej chemii, mogą stanowić „zielony” surowiec do syntezy polimerów medycznych i nie tylko.

Szeroko dostępne komercyjnie pochodne kwasów tłuszczowych występują w formie kwasów dimerowych i dioli. Dwufunkcyjność tych substancji sprawia, że są doskonałymi surowcami do otrzymywania poliestrów i poliuretanów. Difunkcyjne pochodne są otrzymywane w procesach dimeryzacji kwasów tłuszczowych przy wykorzystaniu katalizatora na bazie modyfikowanych montmorylitów w temperaturach powyżej 200 °C.

Jednymi z częściej wybieranych w zastosowaniach medycznych materiałów są poliuretany. Sposoby wykorzystania ich w przemyśle medycznym są niemalże nieograniczone. Ponadto ich podatność na modyfikacje zwiększa ich przydatność do zastosowań biomedycznych.

Poliuretany obejmują dużą grupę polimerów, których wspólną cechą jest obecność wiązań uretanowych wzdłuż długich łańcuchów molekularnych. Ogólnie rzecz biorąc, wiązania uretanowe powstają w wyniku reakcji izocyjanianów i alkoholi. Podczas przygotowywania i utwardzania poliuretanów, oprócz tworzenia wiązań uretanowych, zachodzi wiele innych reakcji, które prowadzą do powstawania różnych wiązań, takich jak alofaniańowe, biuretowe, acylomocznikowe lub izocyjanuranowe, a wiązania te mogą prowadzić do dalszego rozgałęziania lub sieciowania, wpływając na wszystkie właściwości fizyczne, chemiczne i mechaniczne, a także biokompatybilność powstałych polimerów [23]. Zastosowanie substratu pochodzenia naturalnego stanowi dodatkowy atut. Grupa badawcza prof. Mirosławy El Fray z powodzeniem przeprowadziła badania w zakresie wykorzystania kwasów tłuszczowych (dimerów cząsteczek kwasu linolowego) do syntezy wielu biomateriałów, udowadniając ich biokompatybilność *in vitro* i *in vivo* [24–27]. Dodatkowo, materiały te wykazują dobre właściwości mechaniczne, które można dostosować od miękkich i elastycznych do sztywnych materiałów, modyfikując segmenty w kopolimerach poliestrowych lub poliuretanowych.

2.1.2 Fibrynogen

Fibrynogen jest rozpuszczalnym w wodzie białkiem osocza krwi, które odgrywa kluczową rolę w procesie krzepnięcia i gojenia ran. Pod wpływem trombiny (enzym), przekształca się w fibrynę, tworząc sieć długich włókien stabilizującą skrzep krwi i tworzącą macierz dla komórek biorących udział w procesie naprawczym uszkodzonej tkanki. Ta glikoproteina składa się z trzech par łańcuchów polipeptydowych, połączonych wiązaniami disiarczkowymi.

Co więcej, zmodyfikowane materiały białkowe oparte na fibrynogenie, jednym z głównych białek wchodzących w skład macierzy pozakomórkowej wraz z fibronektyną [28,29], są bardzo często wybierane do produkcji biomateriałów. Fibrynogen zawiera sekwencje aminokwasów specyficznych dla przebudowy komórkowej, w tym sekwencję arginina-glicyna-kwas asparaginowy (Arg-Gly-Asp) (sekwencja tripletowa RGD), wspierającą adhezję komórek. Dodatkowo, białko to jest podatne na działanie proteaz, enzymów katalizujących hydrolizę wiązań peptydowych. W celu stworzenia wysoce biofunkcjonalnych materiałów fibrynogen jest zwykle modyfikowany cząsteczkami poli(glikolu etylenowego) (PEG) [30,31]. Diakrylowany PEG selektywnie reaguje z wolnymi tiolami cząsteczki fibrynogenu. Tak otrzymane hydrożele PEG-ylowanego

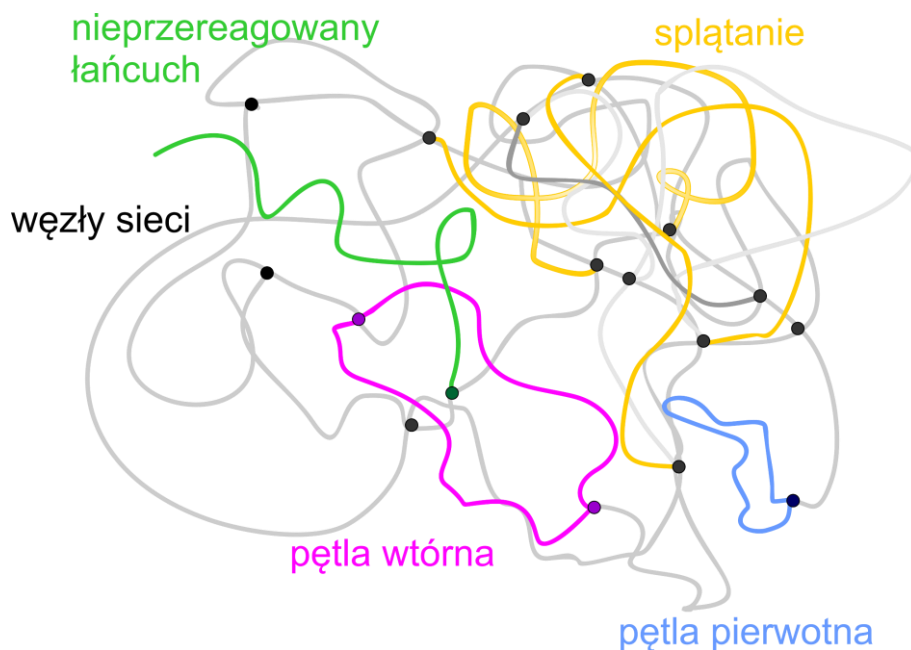
fibrynogenu są szeroko stosowane w leczeniu ran jako opatrunki, do regeneracji tkanek w postaci skafoldów oraz w systemach dostarczania leków[32,33].

PEG-ylacja utrudnia degradację enzymatyczną białka poprzez osłabienie miejsc podatnych na działanie proteaz. Co więcej, łańcuchy poli(glikolu etylenowego) utrudniają dostęp enzymów powodujących degradację struktury białka poprzez tworzenie fizycznej bariery. Dzięki temu fibrynogen dłużej zachowuje aktywność biologiczną, tak kluczową z punktu widzenia medycznych zastosowań [34]. Ponadto modyfikacja fibrynogenu poli(glikolem etylenowym) może zwiększać stabilność termiczną, co znacznie ułatwia prace z wrażliwymi na denaturację białkami [35].

2.2 Hybrydowe sieci polimerowe

W odpowiedzi na rosnące wyzwania w dziedzinie materiałów, coraz większe zainteresowanie naukowców budzą badania nad hybrydowymi sieciami polimerowymi. Ogólnie rzecz ujmując, sieci polimerowe stanowią jedną z trzech głównych klas polimerów, obok polimerów liniowych i rozgałęzionych. Charakteryzują się one trójwymiarową strukturą, w której łańcuchy polimerowe są połączone poprzez wiązania chemiczne (węzły sieci), tworząc złożoną, trójwymiarową strukturę. Charakteryzuje się ona niezwykle wytrzymałością, elastycznością oraz odpornością na rozciąganie, ścieranie i działanie substancji chemicznych.

Struktura sieci polimerowej jest stabilizowana przez wiązania chemiczne, jak i fizyczne. Sieci chemiczne, takie jak żywice epoksydowe, charakteryzują się trwałymi wiązaniami kowalencyjnymi, które zapewniają wysoką stabilność strukturalną [36,37]. Natomiast sieci fizyczne są stabilizowane między innymi przez oddziaływania wodorowe, van der Waalsa, elektrostatyczne, jonowe. Przykładami sieci fizycznych są hydrożele i elastomery termoplastyczne [38]. Wiele właściwości sieci polimerowych (elastyczność, porowatość, zdolność do pęcznienia) ma pochodzenie topologiczne.



Rysunek 1 Schemat sieci polimerowej

Zdecydowana większość sieci polimerowych jest amorficzna lub semikrystaliczna (zawiera domeny amorficzne i krystaliczne). W skali submikronowej (10–100 nm) topologia sieci polimerowej charakteryzuje się niejednorodnością w gęstości rozmieszczenia węzłów; jest to skutkiem fluktuacji stężenia podczas formowania sieci [39]. W zakresie długości od 1 do 10 nm przeważają cechy makromolekularne takie jak zwisające i nieprzereagowane łańcuchy, węzły, splątania oraz pętle (Rysunek 1). Pętle to struktury cykliczne, najprostsze (pierwotne –wewnątrzłańcuchowe); powstają, gdy oba końce jednego łańcucha są przyłączone do tego samego węzła. Natomiast pętlą wtórną nazywamy dwa łańcuchy połączone z tymi samymi dwoma węzłami. Obecność pętli pierwotnej może obniżać gęstość sieci, a nawet prowadzić do pogorszenia wytrzymałości mechanicznej materiału. Na

poziomie molekularnym cechy sieci w znacznym stopniu zależą od struktury chemicznej. Niemniej jednak, funkcjonalność rozgałęzień stanowi istotny element topologii.

Z medycznego punktu widzenia, sieć polimerowa posiada inną ważną cechę, a mianowicie pozwala na umieszczenie substancji o charakterze terapeutycznym (takich jak leki i komórki) wewnątrz sieci i na ich powolne uwalnianie. Dlatego też, rozmiar przestrzeni jest bardzo ważny, a w zależności od rodzaju umieszczonych w ich wnętrzu terapeutyków optymalna jest różna wielkość np. komórki kostne osteoblasty i chondrocyty preferują rozmiar porów 290–405 μm , a kardiomiocyty 10–100 μm [40,41]. Ponadto duże pory mogą ułatwiać penetrację substancji tj. leku wewnątrz struktury polimeru, co jest kluczowe w systemach dostarczania leków. Natomiast sieci polimerowe o większym stopniu usieciowania (czyli z większą liczbą węzłów w strukturze) zwykle wykazują się większą wytrzymałością mechaniczną i stabilnością struktury. Na stabilność sieci polimerowej można wpłynąć poprzez modyfikację warunków syntezy, strukturę chemiczną i rozmiar monomerów oraz substancje pomocnicze.

Hybrydowy materiał definiuje się jako połączenie dwóch lub więcej materiałów o wyraźnie różnych cechach. Najczęściej stosuje się hybrydy organiczno-nieorganiczne. Doskonałym ich przykładem są struktury, w których jony metali są połączone z organicznymi ligandami tworząc porowate materiały typu MOF (z ang. *Metal-Organic Frameworks*). Są one szeroko stosowane w katalizie, do adsorpcji gazów jak i magazynowania wodoru [42]. Innymi często wykorzystywanymi w elektronice i optoelektronice materiałami są polimery łączone z tlenkami metali co w efekcie pozwala uzyskać cienkie warstwy o właściwościach elektrycznych i optycznych lepszych w porównaniu z czystymi składnikami hybrydy [43]. Innym wspomnianym już w tej pracy materiałem są nanokompozyty tworzone przez nanoskalowe cząstki nieorganiczne równomiernie rozproszone lub osadzone w matrycy polimerowej. W zastosowaniach medycznych najczęściej stosuje się substancje nieorganiczne zapewniające właściwości antybakteryjne oraz poprawę właściwości mechanicznych, takie jak srebro i złoto [44–46].

W przypadku hybrydowych sieci polimerowych, będących tematem niniejszej pracy, łączy się co najmniej dwa rodzaje polimerów, z których jeden jest najczęściej pochodzenia naturalnego, a drugi syntetyczny. Zarówno struktura chemiczna, jak i topologia sieci polimerowej determinuje jej właściwości. Rodzaj i proporcje składników chemicznych pozwalają na kontrolowanie bioaktywności, podatności na degradację, cytotoksyczności, a topologia określająca sposób połączenia węzłów i łańcuchów sieci ma bezpośredni wpływ na właściwości, takie jak elastyczność, zdolność do pęcznienia oraz porowatość.

Sieci polimerowe można otrzymać na wiele sposobów np. poprzez sieciowanie z dodatkiem środków sieciujących, które stworzą węzły sieci. Przykładem mogą być kleje tkankowe na bazie fibrynogenu, trombiny i chlorku wapna [47]. Innym sposobem jest zastosowanie wysokiej temperatury, która powoduje tworzenie się wiązań między łańcuchami polimerowymi. Kolejnym czynnikiem powodującym sieciowanie może być wykorzystanie promieniowania gamma, a nawet promieniowania UV. Natomiast w przypadku promieniowania UV (fotosieciowania) kompozycja fotosieciowalna musi zawierać fotoinicjator. W zastosowaniach medycznych coraz większego znaczenia nabierają metody pozwalające na otrzymanie materiału *in situ in vivo* takie jak: fotopolimeryzacja [48].

2.2.1 Fotopolimeryzacja

Fotopolimeryzacja (fotoutwardzanie, utwardzanie światłem UV, fotosieciowanie) jest jedną z powszechnie stosowanych metod wytwarzania materiałów polimerowych, obejmujących cienkie warstwy wykorzystywane w przemyśle powłok i klejów, a także w zaawansowanych technologicznie zastosowaniach (druk 3D, inżynieria tkankowa, optoelektronika, stomatologia) [49,50]. Utwardzanie UV jest szczególnie korzystne ze względu na niskie zużycie energii, szybki czas utwardzania (często w ciągu kilku sekund) oraz niską temperaturę reakcji. Ponadto, gdy w fotopolimeryzacji zastosuje się nietoksyczne i ekologiczne monomery lub prekursory, cały proces staje się zrównoważony i przyjazny dla środowiska.

Mechanizm fotopolimeryzacji nie różni się od mechanizmu polimeryzacji rodnikowej. W pierwszym etapie inicjacji cząsteczka inicjatora (fotoinicjatora) ulega rozpadowi i powstają rodniki inicjujące polimeryzację. Przebieg tego etapu zależy od rodzaju fotoinicjatora. Dzieli się je ze względu na sposób generowania rodników po osiągnięciu stanu wzbudzonego. Fotoinicjatory I rodzaju po stanie wzbudzonym ulegają rozpadowi homolitycznemu, tworząc rodniki, gdyż energia zaabsorbowanego kwantu światła była wyższa od energii wiązania w fotoinicjatorze. W przypadku fotoinicjatorów II rodzaju, energia dostępna z kwantów światła jest niższa od energii wiązania (tym samym niewystarczająca do zajścia rozpadu homolitycznego), wtedy do wytworzenia rodników niezbędna jest dodatkowo reakcja z koinicjatorem. W drugim etapie (propagacja) następuje wzrost łańcucha polimeru, na tym etapie następuje splątanie i sieciowanie łańcuchów polimeru. Reakcja ta trwa tak długo, aż wszystkie reaktywne grupy zostaną zużyte lub może nastąpić rekombinacja rodników, dysproporcjonowanie lub przeniesienie łańcucha (etap terminacji).

Oprócz wielu zalet wspomnianych powyżej, fotopolimeryzacja ma również pewne ograniczenia. Zalicza się do nich przede wszystkim głębokość penetracji światła przez materiał oraz inhibicję tlenową, które są kluczowymi czynnikami ograniczającymi potencjalne zastosowanie metody [51,52]. Dyfuzja tlenu w głąb materiału powoduje spadek szybkości reakcji i potencjalnie może prowadzić do niepełnego utwardzenia materiału (niskiej konwersji). Dyfuzję tlenu można minimalizować poprzez stosowanie dodatków lub zastosowanie innych technik [53]. Dlatego fotopolimeryzacja jest stosowana do przygotowania cienkich warstw, głównie w przemyśle powłok [54,55] i klejów [56] oraz w zaawansowanych zastosowaniach technologicznych (elektromechanice, wypełniaczach dentystycznych, medycynie regeneracyjnej) [57–60].

Struktura monomeru jest najważniejszym czynnikiem wpływającym na kinetykę fotosieciowania, a tym samym na końcowe właściwości powstałej sieci. Znaczenie mają nie tylko grupy reagujące i towarzyszące im ewentualne zawady steryczne, ale i grupy funkcyjne. Obecność grup funkcyjnych takich jak uretanowe, znacznie przyspiesza proces fotopolimeryzacji i prowadzi do wyższej konwersji [61]. Dzieje się tak, gdyż obecne w sieci polimerowej wiązania wodorowe formują się jeszcze przed rozpoczętym procesem fotosieciowania skutkując wstępną asocjacją cząsteczek.

Co więcej, wiązania wodorowe zwiększają lepkość i mogą prowadzić do ograniczenia dyfuzji tlenu (redukując efekt inhibicji tlenowej) [62]. Tlen cząsteczkowy ma

zdolność reagowania z aktywnymi rodnikami, w wyniku czego powstają stabilne rodniki. Skutkuje to niepełnym utwardzeniem i lepką powierzchnią, co z kolei wpływa na właściwości utwardzonych materiałów. Dlatego obecność grup funkcyjnych zdolnych do tworzenia oddziaływań wodorowych, a tym samym stabilizacji struktury, skutkuje kompozycjami fotosieciowalnymi, które są bardziej odporne na wpływ inhibicji tlenowej, ze względu na wysoką szybkość reakcji na pierwszym etapie procesu fotopolimeryzacji, co ogranicza dyfuzję tlenu [61].

Długość monomeru jest jednym z kluczowych czynników wpływających na wartość maksymalnej konwersji, gdyż wpływa na dyfuzję segmentalną. Długi łańcuch upraszcza dyfuzję segmentalną reaktywnych grup funkcyjnych umieszczonych na końcach łańcucha (terminalnie), zwiększając tym samym szansę na ich reakcję. Ponadto, wielokrotnie rozgałęziona struktura monomerów może skutkować powstaniem wielu spletań w sieci polimerowej.

Lepkość kompozycji fotoutwardzalnej również ma znaczący wpływ na kinetykę fotosieciowania, a przede wszystkim na etap terminacji. Wyższa początkowa lepkość, a tym samym akumulacja wolnych rodników i szybkie przyspieszenie polimeryzacji na wczesnym etapie prowadzą do szybkiego wzrostu lepkości do wartości utrudniających dyfuzję, a tym samym znaczącego spowolnienia reakcji i terminacji. Na przykład, twardość, szybkość utwardzania i konwersja podczas fotopolimeryzacji akrylanowych żywic poliuretanowych wzrasta wraz ze spadkiem masy molowej monomeru (w tym przypadku poliolu). Dzieje się tak głównie dlatego, że kompozycje oparte na monomerach o krótszych łańcuchach mają większą reaktywność ze względu na wyższe względne stężenie podwójnych wiązań akrylanowych w układzie, tworząc bardziej wytrzymałe mechanicznie sieci polimerowe [63].

Nieodłącznym elementem kompozycji fotosieciowalnej jest fotoinicjator, czyli związek chemiczny zdolny do generowania rodników pod wpływem promieniowania UV. Można wyróżnić dwa rodzaje fotoinicjatorów w oparciu o ścieżkę generowania wolnych rodników po osiągnięciu stanu wzbudzonego [64]. Szybkość inicjacji i generowanie większej liczby rodników na początku reakcji są przyspieszane przez wyższe stężenie inicjatora, co wydłuża okres, w którym układ zachowuje mobilność. Dodatkowo, szybki wzrost lepkości pomaga zmniejszyć mobilność makrorodników, ograniczając terminację. Dlatego możemy osiągnąć wyższą maksymalną szybkość reakcji przy wyższych stężeniach inicjatora. Z drugiej strony, wraz z dalszym wzrostem jego stężenia, obserwuje się odwrotną tendencję. Powyżej pewnego stężenia fotoinicjatora, czas indukcji maleje, początkowa wartość przyspieszenia reakcji rośnie (maksymalna wartość drugiej pochodnej szybkości po czasie), maksymalna szybkość reakcji jest osiągana przy niższym współczynniku konwersji, a całkowity czas reakcji maleje [65,66].

Ponadto, warunki procesu, takie jak temperatura, atmosfera i natężenie światła również wpływają na kinetykę fotopolimeryzacji. Wzrost natężenia promieniowania i temperatury prowadzi do zwiększenia szybkości reakcji i konwersji wiązań podwójnych. Wysoka intensywność promieniowania rzędu dziesiątek mW/cm^2 lub więcej prowadzi do wzrostu mobilności monomeru ze względu na wzrost temperatury.

Podczas fotopolimeryzacji, właściwości układu ulegają znacznie szybszym zmianom niż w przypadku reakcji inicjowanej termicznie. Układ, który ma postać cieczy przekształca się w szklisty usieciowany polimer bardzo szybko, często w czasie krótszym niż jedna sekunda. W wyniku tak szybkich zmian właściwości dochodzi do nietypowego zachowania makrocząsteczek. Kinetyka reakcji jest zależna od dyfuzji, a układ charakteryzuje się wymuszonymi stanami nierównowagowymi (gradienty stężenia, temperatury i intensywności promieniowania). Powstała sieć jest odpowiedzialna za efekt autokatalityczny, którego powstanie spowalnia zakończenie, powodując przyspieszenie polimeryzacji. Prout i Tompkins przedstawili pierwsze równanie kinetyczne dla reakcji autokatalitycznych w stanie stałym [67]. Sestak i Berggen później rozszerzyli ten wzór, a Kamal po raz pierwszy użył go w nauce o polimerach do opisanie sieciowania żywic poliestrowych [68][69]. Równanie Sestaka-Berggena dla warunków izotermicznych (Równanie 1 i 2) pozwala na określenie częściowych rzędów reakcji i pozornej stałej szybkości reakcji. Model ten można również zastosować do układów n-tego rzędu. Reakcja autokatalityczna przebiega zgodnie z zależnością empiryczną przedstawioną poniżej:

$$\frac{d\alpha}{dt} = k * \alpha^m (1 - \alpha)^n \quad (1)$$

$$k = Z e^{\frac{-E\alpha}{RT}} \quad (2)$$

gdzie:

da/dt – szybkość reakcji (1/sek.)

k – stała szybkości reakcji (1/sek.)

α - stopień konwersji

m, n – cząstkowe rzędy reakcji

$E\alpha$ – Energia aktywacji (J/mol)

Z – współczynnik częstotliwości (1/sek.)

T – Temperatura absolutna (K)

R – stała gazowa (8.314 J/mol*K)

Ten model kinetyczny może być zastosowany w celu oceny stałej szybkości (k) i cząstkowych rzędów reakcji (m, n). Równanie Avramiego pozwala na ocenę czasu, po którym układ osiągnął 50% konwersji podwójnego wiązania węgiel-węgiel ($t_{1/2}$). Ogólna postać równania w warunkach izotermicznych znajduje się poniżej (Równanie 3):

$$\ln[-\ln(1 - \alpha)] = \ln[k] + p * \ln [t] \quad (3)$$

gdzie:

α – stopień konwersji

k – stała szybkości reakcji (1/sek.)

p – rzędowość reakcji Avramiego (zwykle przyjmuje wartość 4)

t – czas (sek.)

2.3 Biomateriały

Mimo że drewno czy metal były już od czasów starożytnych wykorzystywane jako substytuty chorych lub uszkodzonych narządów, to dziedzina biomateriałów zaczęła nabierać kształtu dopiero w ostatnim ćwierćwieczu XX wieku, w dużej mierze za sprawą postępu w przemyśle materiałów polimerowych. Ten okres przyniósł nie tylko rozwój nowych biomateriałów, ale także innowacyjne podejście do projektowania i inżynierii tkankowej. Nowoczesne biomateriały to już nie tylko substancje zastępujące i/lub wzmacniające struktury biologiczne. Obecnie biomateriał definiuje się jako „materiał, którego zadaniem jest współistnienie z układami biologicznymi, przeznaczony do leczenia, diagnozowania, korygowania lub częściowego lub całkowitego zastępowania tkanek, narządów lub pełnienia ich funkcji w organizmie”.

Ważnym aspektem projektowania biomateriałów jest uwzględnienie celu ich zastosowania. Kryteria projektowe będą różne, w zależności od tego, czy biomateriał ma pełnić funkcję skafoldu, łatki, opatrunku, czy też być stosowany w systemach uwalniania leków. Istnieją jednak pewne właściwości, które należy uwzględnić: biokompatybilność, właściwości antybakteryjne, biodegradowalność, możliwość wstrzykiwania, właściwości mechaniczne, bioadhezję i amfifilowość.

2.3.1 Biokompatybilność

Biokompatybilność materiału to jego zdolność do współpracy z organizmem ludzkim w sposób zgodny z zamierzoną funkcją i zastosowaniem oraz do zapewnienia kontrolowanych i pożądaných interakcji. Biokompatybilny materiał powinien być odporny na krzepnięcie krwi i kolonizację bakteryjną, a jeśli jest immunogenny, w zależności od zastosowania (nie) powinien skutkować nasileniem procesu przebudowy. Na przykład, aktywacja odpowiedzi immunologicznej gospodarza, w taki sposób, że preferencyjnie rekrutowane są naprawcze makrofagi M2 zamiast cytotoksycznych makrofagów M1, jest ogólnie uważana za korzystną cechę biomateriałów w przypadku materiałów mających pozostać w organizmie tylko na czas regeneracji uszkodzonych komórek, tkanek, narządów [70]. Reakcja tkanki na implant zależy od niezliczonych czynników, począwszy od chemicznych, fizycznych i biologicznych właściwości materiałów, a skończywszy na kształcie i strukturze implantu [71].

Klasyfikacja wyrobów medycznych w kontekście biokompatybilności opiera się głównie na zamierzonym czasie stosowania wyrobu. Podstawowy podział czasu kontaktu implant-organizm obejmuje trzy podstawowe okresy. I klasa ryzyka jest przeznaczona do kontaktu krótkiego trwającego 1 do 24 godzin (chwilowy). Przykładami wyrobów medycznych klasyfikowanych w tej klasie są bandaże i plastry. Wyroby II klasy, czyli średniego ryzyka, mogą być stosowane maksymalnie do 30 dni. Typowymi wyrobami w tej klasie są cewniki. Wyroby wysokiego ryzyka (klasa III) obejmują materiały przeznaczone do kontaktu długotrwałego trwającego powyżej 30 dni [72,73].

Wytrzymałość mechaniczna biomateriału jest zależna bezpośrednio od planowanego czasu stosowania. Na przykład cewnik może być wymieniany co 3 dni, płytka kostna musi spełniać swoją funkcję przez 6 miesięcy lub dłużej, zaś płatek zastawki serca musi zginać się 60 razy na minutę bez rozerwania przez całe życie pacjenta (minimum 10 lat). Natomiast

staw biodrowy nie może ulec uszkodzeniu pod wpływem dużych obciążeń przez ponad 10 lat.

2.3.2 Biodegradowalność

Biodegradowalność odnosi się do procesu, w ramach którego wszczepiony materiał ulega rozpadowi. Ogólnie rzecz biorąc, proces degradacji obejmuje szereg reakcji prowadzących do przzerwania łańcucha polimeru. W konsekwencji masa cząsteczkowa polimeru zmniejsza się, tworząc oligomery i monomery o niższej masie cząsteczkowej, co ostatecznie prowadzi do zaniku polimeru. Jest to szerokie pojęcie obejmujące różne procesy i mechanizmy degradacji: termicznej, mechanicznej i fotodegradacji, a najczęstsze sposoby degradacji w środowisku *in vivo* o znaczeniu terapeutycznym (w zastosowaniach medycznych) to degradacja hydrolityczna i enzymatyczna. Termin „biodegradacja” jest powszechnie stosowany, gdy degradacja obejmuje procesy biologiczne, takie jak działanie płynów ustrojowych, aktywność komórkową i reakcje enzymatyczne.

Warunki środowiska biologicznego w dużym stopniu determinują zatem tempo degradacji polimeru. Na przykład, degradacja wszczepionego biomateriału polimerowego może przebiegać szybciej w środowisku o silnym stanie zapalnym, ze względu na nadmierną aktywność biologiczną i biochemiczną. Czynniki takie jak pH i temperatura lokalnego środowiska biologicznego, stężenia enzymów oraz infiltracja/rekrutacja komórek w miejscu wszczepienia implantu wpływają na szybkość degradacji polimeru.

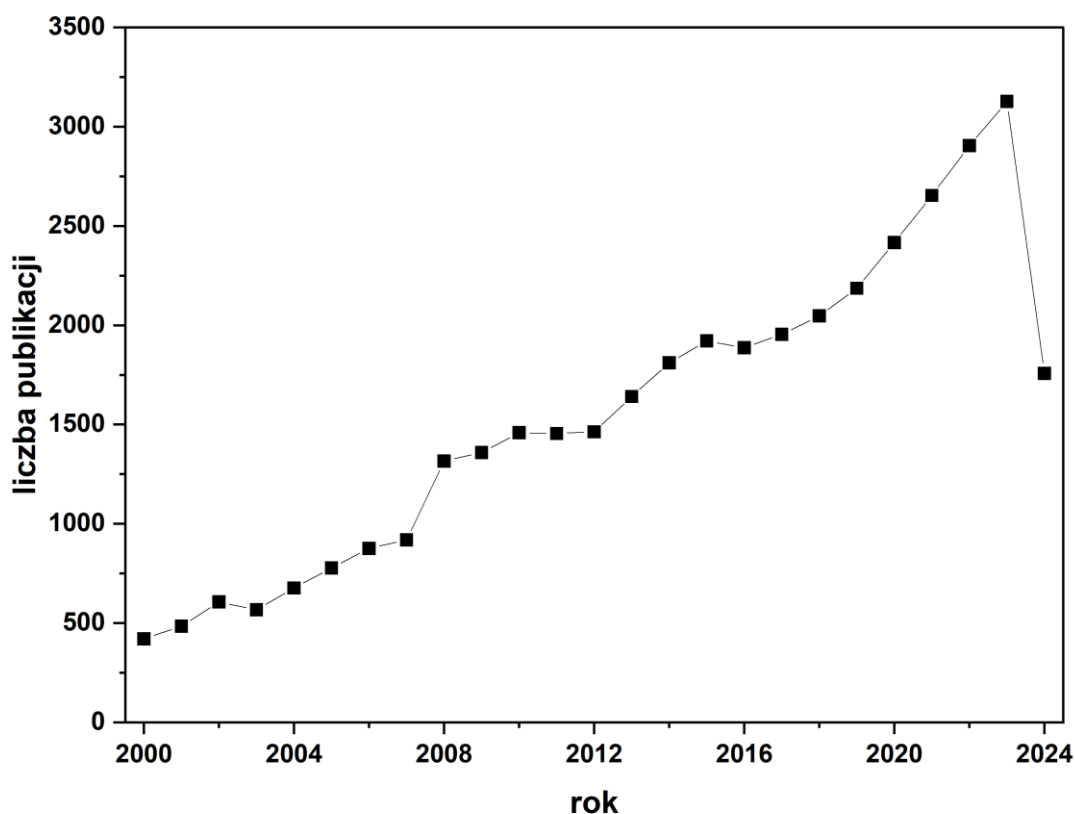
Ponadto, amorficzne polimery zwykle degradują szybciej niż polimery semikrystaliczne. Podobnie, polimery o wysokiej temperaturze zeszklenia (T_g) ulegają degradacji w wolniejszym tempie w porównaniu do polimerów o niższej temperaturze zeszklenia. Biodegradacja jest procesem nieodwracalnym, wieloetapowym oraz dynamicznym, ponieważ właściwości polimeru zmieniają się wraz z degradacją. Na przykład, krystaliczność poli(kwasu L-mlekowego) lub L-PLA wzrasta podczas degradacji, ze względu na szybsze tempo degradacji w obszarach amorficznych niż krystalicznych polimeru. Powoduje to zmniejszenie szybkości degradacji w czasie, ze względu na zwiększoną krystaliczność polimeru. Z drugiej strony, wytwarzanie kwasowych monomerów (np. kwasu mlekowego) może obniżyć pH i spowodować automatycznie przyspieszoną degradację estrów poli(α -hydroksylowych).

Projektując biomateriał, należy wziąć pod uwagę szybkość degradacji, gdyż musi być ona zgodna z procesem gojenia i regeneracji. Dobierając odpowiednio gęstość wiązań sieciujących, mechanizmy sieciowania i rodzaj składników, można kontrolować szybkości degradacji materiałów [71,74].

Degradacji hydrolitycznej ulegają polimery, które mają w swojej strukturze labilne hydrolitycznie wiązania chemiczne. Do grup funkcyjnych podatnych na hydrolizę należą estry, ortoestry, bezwodniki, węglany, amidy, uretany, ureazy [75]. Natomiast degradacja enzymatyczna jest procesem dwuetapowym. Pierwszy etap obejmuje adsorpcję enzymu na powierzchni substratu, a drugi etap obejmuje hydrolizę wiązań (np. estrowego w przypadku poliestrów). Degradacja enzymatyczna może zachodzić na drodze różnych mechanizmów: erozji powierzchniowej (*surface erosion*) lub w masie (*bulk degradation*), w zależności od lokalizacji i stabilności działającego enzymu. Jednak ze względu na ograniczoną penetrację wody dla większości polimerów hydrofobowych, erozja powierzchniowa jest dominującym

mechanizmem degradacji, a kinetyka procesu jest podobna do hydrolitycznej erozji powierzchniowej. W przypadku polimerów hydrofilowych umożliwiającą dyfuzję enzymu do wnętrza polimeru, w degradacji pośredniczy również mechanizm erozji powierzchniowej, jeśli szybkość enzymatycznego rozszczepiania wiązań polimerowych jest szybsza niż szybkość dyfuzji enzymu [76].

Biodegradowalne biomateriały stają się coraz ważniejsze, o czym może świadczyć liczba publikacji zawierających informacje na temat biodegradowalnych biomateriałów i/lub polimerów, co obrazuje wykres na Rysunek 2. W ostatnich trzech dekadach nastąpiła znacząca zmiana trendu w dziedzinie biomateriałów, przechodząc z biostabilnych na biodegradowalne [77]. Wiele stałych urządzeń protetycznych wykorzystywanych do tymczasowych zastosowań terapeutycznych, zostaje zastąpiona przez urządzenia biodegradowalne. Istnieje kilka kluczowych powodów, dla których zastosowanie materiałów biodegradowalnych jest coraz częściej wdrażane w medycynie. Jednym z głównych czynników jest problem z długotrwałą biokompatybilnością wielu implantów, który zmusza pacjentów i lekarzy do przeprowadzania operacji mających na celu wymianę i rewizję implantu [78,79]. Ponadto takie rozwiązania mają na celu wspierać procesy regeneracji uszkodzonych tkanek organizmu.



Rysunek 2 Dane z bazy Scopus dotyczące liczby opublikowanych artykułów naukowych za okres 2000–2023, słowo kluczowe „biodegradable biomaterials or polymer” (w tytule, abstrakcie). Źródło: opracowanie własne na podstawie danych z bazy Scopus, stan na czerwiec 2024

2.3.3 Wstrzykiwalność

Postęp technologiczny w obrazowaniu diagnostycznym oraz technice i oprzyrządowaniu chirurgicznym doprowadził do znaczącego rozwoju operacji i zabiegów

mało inwazyjnych (takich jak operacje laparoskopowe) [80]. Procedury te wykazują znaczącą przewagę nad tradycyjnymi technikami chirurgicznymi, obejmującą skrócenie czasu rekonwalescencji po zabiegu i zmniejszenie ryzyka powikłań. Jednakże wymagają stosowania materiałów, które w łatwy sposób można zaaplikować poprzez niewielki otwór zamiast rozległego zabiegu chirurgicznego [81,82]. Jednakże rozwój laparoskopii i rozszerzenie gamy zabiegów możliwych do przeprowadzenia w sposób mało inwazyjny wymaga dalszych badań nad szeroką gamą materiałów iniekcyjnych, które mogą służyć do naprawy tkanek, dostarczania leków, terapii komórkowej itp. Obecnie systemy iniekcyjne stosowane są w celu dostarczania cząsteczek takich jak leki (antybiotyki, anestetyki), biomolekuły (fibryna), wypełniacze (nanocząstki krzemionki) lub geny (DNA, siRNA) [83].

Szczególnie interesujące są materiały, które mogą być wstrzykiwane jako ciecz, a następnie sieciowane *in situ* [84] pod wpływem różnych bodźców, takich jak światło, temperatura lub pH. Podczas gdy najbardziej popularne są materiały oparte na hydrożelach, utwardzalne materiały elastomerowe mogą być dobrze dostosowane do konkretnych zadań, takich jak naprawa mięśnia sercowego po zawale lub naprawa przepukliny [85,86].

Przyjmuje się, że hydrożel, który może być zaaplikowany przez cienką igłę (~27G) jest określany jako wstrzykiwalny, ponieważ umożliwia bezpieczną aplikację w minimalnie inwazyjny sposób. Aplikację hydrożelu można przeprowadzić na dwa sposoby: w pierwszym żelowanie hydrożelu (za pomocą temperatury, chemikaliów, sieciowania indukowanego światłem itp.) [87,88] jest: inicjowana, ale nie zakończona przed przejściem hydrożelu przez igłę; w drugim jest inicjowana po dostarczeniu do pożądanego miejsca. Czas polimeryzacji powinien mieścić się w zakresie rzędu minut do dziesiątek minut, aby zagwarantować, że hydrożel zostanie dostarczony i skutecznie zlokalizowany w miejscu wstrzyknięcia, bez możliwości przemieszczenia się [70,89].

Klasyfikacji materiałów wstrzykiwalnych można dokonać ze względu na mechanizm sieciowania (rodzaj czynnika powodującego zmianę stanu skupienia) i do czynników tych zalicza się temperaturę (termoutwardzalne), światło (fotosieciowalne), zmianę pH czy wpływ substancji chemicznych.

Wstrzykiwalne kompozytowe hydrozele termoczułe są stosowane w regeneracji guzów kości. W zależności od temperatury ciała pacjenta, hydrozele β -glicerofosforanu sodu i cząstek węgla wykazują przejścia fazowe zol-żel, dzięki czemu powstają wypełnienia nieregularnych ubytków kostnych [90].

Współczesne wypełniacze dentystyczne będące mieszkanką akryli z cząsteczkami ceramicznymi lub cementami zwykle są utwardzane z wykorzystaniem światła, dzięki czemu czas polimeryzacji jest krótki i trwa od kilku do kilkudziesięciu sekund [91].

Klej tkankowy na bazie fibrynogenu utwardza się pod wpływem czynników chemicznych. Jego działanie odwzorowuje ostatnią fazę krzepnięcia krwi, tj. przekształcenia fibrynogenu w fibrynę. Klej składa się z dwóch składników, które są umieszczone w oddzielnych strzykawkach. W jednej strzykawce znajduje się głównie fibrynogen, a w drugiej mieszanina trombiny i chlorku wapnia. Po zmieszaniu obu roztworów trombina przekształca fibrynogen w monomery fibryny, a mieszanina żeluje w wyniku tworzenia wiązań wodorowych. Natomiast obecność jonów wapnia stabilizuje wiązania krzyżowe

monomerów fibryny zwiększając tym samym wytrzymałość struktury na rozciąganie [47,92].

2.3.4 Właściwości mechaniczne

Kolejne istotne kryterium, które należy wziąć pod uwagę projektując biomateriał to właściwości mechaniczne. Konieczne jest określenie, czy biomateriał spełnia wymagania mechaniczne, którym będzie poddany po aplikacji, a także czy może on kolidować z normalnym mechanicznym funkcjonowaniem otaczającej tkanki. Wymagania mechaniczne i eksploatacyjne stawiane biomateriałom i urządzeniom wynikają z fizycznych właściwości materiału.

Ponadto materiały zapewniające jedynie mechaniczne wsparcie, jak np. siateczki wszywane po operacji przepukliny czy też siateczki poliestrowe stosowane w celu zapobiegania rozrostu mięśnia sercowego po zawale są o wiele sztywniejsze niż otaczające je tkanka i mają na celu wzmocnienie obszaru, natomiast materiały, które są wszczepiane w celach terapeutycznych zwykle mają właściwości zbliżone do właściwości tkanki [93].

Właściwości mechaniczne biomateriałów można podzielić ze względu na właściwości tkanek na dwie główne kategorie: tkanki miękkie i twarde. Tkanki miękkie do których zalicza się skórę, mięśnie czy naczynia krwionośne oraz różne narządy, składają się z wielu warstw włókien osadzonych w macierzy pozakomórkowej. Charakteryzują się one dużą elastycznością, ale niską wytrzymałością na rozciąganie, co pozwala im na adaptację do dynamicznych zmian zachodzących w organizmie. Typowa wartość modułu sprężystości dla tkanek miękkich mieści się w zakresie 0,1 do 10 MPa.

Tabela 1 Właściwości mechaniczne tkanek [85][94][95][96][97]

Rodzaj tkanki		Moduł sprężystości [MPa]
Miękka	serce	0,2–0,3 (pod koniec rozkurczu)
	skóra	0,4–1
	ściana brzucha	0,1 –10
	tętnica	1 –12
	więzadło	70–350
	ścięgno	300–2 000
Twarda	kość	3 000–80 000
	ząb	5 000–120 000

2.3.5 Bioadhezja

Adhezja jest zjawiskiem polegającym na przyleganiu różnych ciał stałych lub cieczy do siebie w wyniku oddziaływań międzycząsteczkowych, takich jak siły van der Waalsa, oddziaływania elektrostatyczne, chemiczne (np. wiązania wodorowe, kowalencyjne). Przykładem może być przyleganie kleju do kartki papieru czy kropli wody do szyby.

Natomiast bioadhezja może być zdefiniowana jako przyleganie syntetycznych lub biologicznych makrocząsteczek do komórek i tkanek. Wiązanie adhezyjne może powstawać pomiędzy warstwą komórek nabłonka, ciągłą warstwą śluzu lub kombinacją tych dwóch z materiałem. Jest to cecha wymagana dla klejów tkankowych, uszczelniaczy i środków hemostatycznych, natomiast niezwykle ceniona również dla rusztowań przestrzennych

(skafoldów), łątek itp., gdyż pozwala na ich aplikację bez konieczności wszywania, a tym samym naruszania tkanki. Wśród syntetycznych związków wykazujących się dobrą bioadhezją warto wyróżnić di-akrylan poli(glikolu etylenowego) (PEGDA) [98], metakrylan N,N-dimetyloaminoetylu-co-metakrylan metylu (NDMEM) [99], metakrylan żelatyny (GelMA) [100], kwas taninowy (TA) [101], które z powodzeniem wprowadzono w procesach chemicznych lub fizycznych do struktury skafoldów i łątek.

2.3.5.1 Katechole

Inspirując się naturą, badacze zwrócili uwagę na organizmy morskie, takie jak małże i ślimaki, które wykazują doskonałą przyczepnością w środowisku wodnym. Kluczowym związkiem adhezyjnym małży (omułków) jest 3,4-dihydroksyfenyloalanina (DOPA), która w swojej strukturze chemicznej zawiera jednostki katecholowe [9,102–104], posiadające zdolność do oddziaływania z wieloma różnymi powierzchniami.

Podwodna adhezja omułków jest osiągnięta poprzez zakłócenie warstwy hydratacyjnej za pomocą kationowej lizyny i hydrofobowych reszt w białkach stóp omułków, umożliwiając w ten sposób grupom katecholowym wiązanie się z odsłoniętą powierzchnią [105,106]. Badania wykonane przez Michael V. Rapp i innych z wykorzystaniem aparatu sił powierzchniowych (SFA–Surface Force Apparatus) wykazały, że synergistyczny efekt grup aminowych i katecholowych zwiększa moką adhezję omułków, ponieważ aminy zakłócają międzyfazową warstwę hydratacyjną poprzez usuwanie uwodnionych kationów z powierzchni mineralnej lub wody morskiej [107]. Ponadto hydrofobowe łańcuchy boczne również odgrywają kluczową rolę w osiągnięciu niezawodnej adhezji na mokro [108].

Polimery zawierające liczne grupy katecholowe mają silne powinowactwo do wiązania z różnymi biomolekułami, takimi jak geny, białka, fosfolipidy i macierze zewnątrzkomórkowe poprzez niekwalencyjne interakcje [109,110]. Dodatkowo związki te zwykle wykazują inne pożądane w zastosowaniach medycznych właściwości fizykochemiczne, takie jak aktywność przeciwutleniająca i przeciwnowotworowa, dobra biokompatybilność, odwracalne wiązanie kowalencyjne z boronianami i jonami metali oraz wspomniane już właściwości bioadhezji [111]. Dlatego też coraz częściej proponowane są jako nośniki leków czy w inżynierii tkankowej.

W ostatnich latach opracowano wiele materiałów inspirowanych naturalną adhezją. Zawierające katechol biomateriały bazowały zarówno na naturalnych, jak i syntetycznych polimerach: jedwabiu [112], żelatynie [113], celulozie [114], poli(glikolu etylenowym) [115], poli(kwasie mlekowym) [116]. Liczne badania wykazały, że mokre hydrożele adhezyjne można opracować poprzez celowe projektowanie złożonych sieci i staranny dobór ich składników. Jednak ze względu na złożone zależności między strukturą a właściwościami w projektowaniu hydrożeli, do uzyskania silnej adhezji na mokro wymagają one wytrzymałej i wodoodpornej sieci.

Kluczowe **grupy funkcyjne** uczestniczące w adhezji to przede wszystkim omawiane już grupy katecholowe. Istotną rolę odgrywają również **grupy hydroksylowe(-OH)**, które dzięki swojej polarności umożliwiają substancjom posiadającym je w swojej strukturze tworzenie wiązań wodorowych z grupami na powierzchni tkanek. **Grupy karboksylowe (-COOH)** oprócz zdolności do tworzenia wiązań wodorowych mogą tworzyć wiązania

kowalencyjne. Szczególnie istotną rolę w przypadku bioadhezji odgrywają **grupy aminowe (-NH₂)**, które poza możliwością tworzenia wiązań wodorowych, wykazują oddziaływania elektrostatyczne. Natomiast **grupa eterowa (-O-)** obecna w wielu polimerach syntetycznych (np. poli(glikol etylenowy), poli(tlenek etylenu)) wpływa na właściwości hydrofilowe materiału w efekcie poprawiając bioadhezję (interakcje z wodnym środowiskiem i białkami).

2.3.6 Amfifilowość

Kolejną ważną cechą uwzględnianą podczas projektowania biomateriałów jest amfifilowość, czyli zdolność do oddziaływania zarówno z substancjami hydrofilowymi (takimi jak tkanki i komórki), jak i hydrofobowymi (większość polimerów syntetycznych).

Cechę tę w naturalnym środowisku posiadają niektóre białka, co wynika z ich struktury, mianowicie w budowie chemicznej zawierają fragmenty hydrofobowe – niepolarne (aminokwasy takie jak: alanina, metionina, glicyna, leucyna) i hydrofilowe – polarne (łańcuchy zbudowane z cysteiny, kwas asparaginowy, argininy) [117,118]. Takie białka często tworzą błony komórkowe, fragmenty hydrofobowe wnikają w warstwę lipidową błony, a hydrofilowe są zwrócone na zewnątrz i wewnątrz komórki, umożliwiając integrację z wodą i innymi substancjami.

Dlatego też, najprostszym sposobem na utworzenie materiału amfifilowego jest połączenie łańcucha hydrofobowego (np. kwasu tłuszczowego) z substancją, która z natury jest hydrofilowa, jak białko (np. rozpuszczalny we krwi fibrynogen) [118].

Przykładem takiego układu jest połączenie lizyny i kwasów tłuszczowych, której potencjalne zastosowanie w systemach dostarczania leków zostało udowodnione [17]. Innym z takich układów jest opracowany przez zespół Aleny Matelová system oparty na kwasie hialuronowym i aromatycznych kwasach tłuszczowych. W tej pracy również wykazano potencjalne zastosowanie tych układów do dostarczania leków poprzez enkapsulację leków hydrofobowych [119].

Dzięki zdolności do oddziaływania z różnymi substancjami, materiały amfifilowe są wykorzystywane jako nośniki leków, zwiększając ich rozpuszczalność oraz skuteczność ich dostarczania. Co więcej, poprzez modyfikację można zaprojektować je tak, by rozpoznawały i wiązały się z określonymi receptorami na powierzchni komórek, dzięki czemu są doskonałymi matrycami w terapiach celowanych np. przy leczeniu chorób nowotworowych [120][121].

2.3.7 Podsumowanie

Podsumowując, materiały wykorzystywane w zaawansowanych zastosowaniach biomedycznych wymagają ciągłych modyfikacji ze względu na coraz większe wymagania i szersze zastosowanie. Wraz z rozwojem technologii i poszerzaniem się wiedzy, pojawiają się nowe wyzwania takie jak bardziej skomplikowane procedury medyczne, np. procedury laparoskopowe lub wykorzystujące roboty, a tym samym zwiększające się wymagania dotyczące bezpieczeństwa pacjenta i bardziej wyrafinowane zastosowania terapeutyczne oraz kliniczne.

3 Cel, hipotezy i zakres pracy

Z przeprowadzonego przeglądu literatury wynika, że rosnące wymagania stawiane nowoczesnym materiałom powodują znaczące wyzwanie dla naukowców i inżynierów, prowadząc do intensywnych prac nad modyfikacją istniejących materiałów, jak i otrzymywaniem nowych. Tradycyjne jednoskładnikowe polimery i związki często nie spełniają już wyrafinowanych wymagań. Dlatego hybrydowe układy bazujące na polimerach naturalnych i syntetycznych (polimerowo-polimerowe), których właściwości można precyzyjnie zaprojektować poprzez dobór ich składników (naturalnych i syntetycznych), stosunku hydrofobowości do hydrofilowości, strategii sieciowania, gęstości usieciowania itp. stanowią potencjalne rozwiązanie tego problemu. Szczególnie interesujące wydaje się być wykorzystanie surowców z odnawialnych źródeł (biopolimerów) oraz inspirowanie się rozwiązaniami istniejącymi w naturze.

Biorąc pod uwagę powyższe, założono, że głównym celem pracy będzie **otrzymanie sieci polimerowych (hybryd zbudowanych ze związków pochodzenia naturalnego i syntetycznego) o właściwościach amfifilowych i adhezyjnych oraz poznanie zależności między strukturą a ich właściwościami.**

Przedstawione badania opierały się na trzech kluczowych hipotezach, a każda z nich dotyczyła innego składnika kompozycji.

Pierwsza z hipotez zakładała, że przy zastosowaniu **nowych nietoksycznych katalizatorów:** cynkowego, magnezowego i bizmutowego, zastępując klasyczne katalizatory cynowe, można uzyskać **wyższą wydajność reakcji i lepszą kontrolę procesu** syntezy nowych prekursorów do wytwarzania elastomerowego (**hydrofobowego i syntetycznego**) składnika sieci.

Zastosowanie **hydrofilowych PEG-yłowanych łańcuchów naturalnego biopolimeru, fibrynogenu** zawierających struktury **wrażliwe na proteazy umożliwi degradację** hybrydowych sieci polimerowych. Ponadto, zmienny udział składnika białkowego pozwoli na projektowanie materiałów o pożądanym czasie degradacji.

Natomiast włączenie biomimetycznych **adhezyjnych ugrupowań katecholowych poprawi właściwości adhezyjne w stosunku do mokrych powierzchni** (w tym do komórek/tkanek) i powinny one również stabilizować sieci hybrydowe.

Zgodnie z założeniami pracy, przeprowadzono syntezy prekursorów estrowo-uretanowych zawierających fragmenty hydrofobowych pochodnych kwasów tłuszczowych (określanych dalej w pracy jako komponent A wytwarzanych układów hybrydowych) z kilkoma wyselekcjonowanymi na podstawie literatury katalizatorami bazującymi na bizmucie, cynku oraz magnezie. Następnie, dla wybranego katalizatora wykazującego obiecujące pod kątem zastosowań medycznych właściwości przeprowadzono dalsze prace badawcze. Wykonano badania procesu fotosieciowania metodą UV-DSC oraz testy cytotoksyczności zapewniające bezpieczne wykorzystanie w zastosowaniach medycznych.

Kolejnymi etapami pracy były syntezy dwóch pozostałych komponentów, tj. PEG-yłowanego fibrynogenu (komponent B) i N-metakrylowanej DOPA (komponent C), które przeprowadzono zgodnie z opisami literaturowymi [30,122–124], dokonując jednak

własnych modyfikacji w syntezie pierwszego z nich, co pozwoliło na skrócenie procesu syntezy.

Na podstawie otrzymanych makromonomerów (komponent A), PEG-yłowanego fibrynogenu (komponent B) i N-metakrylowanej DOPA (komponent C) wytworzono hybrydowe sieci polimerowe. W tym celu przetestowano różne warunki otrzymywania hybryd i zbadano ich wpływ na właściwości otrzymanych materiałów. Wykonano badania mające na celu scharakteryzowanie budowy chemicznej prekursorów (FT-IR, NMR) i ich właściwości reologicznych oraz dokonano oceny właściwości mechanicznych otrzymanych materiałów oraz oceniono ich podatność na degradację enzymatyczną i hydrolityczną.

Założenia i Cel Badań

Otrzymywanie sieci polimerowych (hybryd zbudowanych ze związków pochodzenia naturalnego i syntetycznego) o właściwościach amfifilowych i adhezyjnych



Materiały

Hydrofobowy poliestr
poliol, nietoksyczne
katalizatory

PEG oraz fibrynogen w
celu otrzymania
hydrofilowego
składnika sieci
polimerowej
zawierającego białko

3,4-L-fenyloalanina
(DOPA- właściwości
adhezyjne)



Otrzymywanie sieci polimerowej

Wpływ warunków takich jak atmosfera, stężenie i rodzaj fotoinicjator na wybrane właściwości



Analiza właściwości otrzymanych materiałów

Budowa chemiczna i podstawowe
właściwości fizykochemiczne:

FT-IR
GPC
GF

Właściwości termiczne i
mechaniczne:

DMTA
Statyczna próba rozciągania

Właściwości funkcjonalne:

Cytotoksyczność
Degradacja hydrolityczna i enzymatyczna

4 Część eksperymentalna

Część eksperymentalna przedstawiona jest w ośmiu podpunktach, które zawierają informacje dotyczące wykorzystywanych surowców, sposobu otrzymywania poszczególnych składników kompozycji, układów wieloskładnikowych jak i sposobu otrzymywania sieci polimerowych wytwarzanych metodą fotopolimeryzacji.

4.1 Materiały

Poniższe zestawienie obejmuje surowce główne i pomocnicze używane w pracy badawczej:

- 3,4-dihydroksy-L-fenylolalana (L-DOPA) (Sigma Aldrich, Polska),
- acetyloacetonian cynku (II) (ZnAc) (Sigma Aldrich, Polska),
- ATTO 643-amine (GmbH, Siegen, Niemcy),
- ATTO-TEC (GmbH, Siegen, Niemcy),
- azydek sodu (Sigma Aldrich, Polska),
- bromocyjan (CNBr) (Sigma Aldrich, Polska),
- bufor fosforanowy (PBS) (Eurochem, Polska),
- chlorek akryolilu (Sigma Aldrich, Polska),
- chlorek metakryoilu (Sigma Aldrich, Polska),
- chlorowodorek tris(2-karboksyetylo) fosfiny (TCEP.HCl) (Merck KGaA, Niemcy),
- cykloheksan (Chempur, Polska)
- dietylny eter (Sigma Aldrich, Polska),
- diizocyjanian izofofonowy, 98% (Merck KGaA, Niemcy),
- dilaurynian dibutylocyny (DBTDL), 95% (Sigma Aldrich, Polska),
- dimetylosulfotlenek (DMSO) (Sigma Aldrich, Polska),
- etanol, (Chempur, Polska),
- fenotiazyny (PTZ) (Sigma Aldrich, Polska),
- fibroblasty mysie z linii L929 (Sigma Aldrich, Polska),
- fibrynogen (SEGENS, Francja),
- jodek potasu (KI) (Chempur, Polska),
- kwas octowy lodowaty (Sigma Aldrich, Polska),
- metakrylan 2-hydroksyetylenowy (HEMA), 97% (Merck KGaA, Niemcy),
- mocznik (Merck KGaA, Niemcy),
- n-butanol (Eurochem BGD, Polska),
- neodekanian bizmutu (BiNDE), (Sigma Aldrich, Polska),
- odczynnik Wijsa (Fluka Analytica, Niemcy),
- octan etylu (EtOAc) (Chempur, Polska),
- fotoinicjatory: Omnirad 750, Omnirad 784, Omnirad 819, Omnirad 2022, Omnirad 2100, Omnirad TPO (IGM resins, Holandia),
- poliestrowy polioli (Priplast 1838, Cargill Bioindustrial),
- poli(glikol etylenowy)(Mn=4 000 g/mol, Merck KGaA, Niemcy),
- siarczan (VI) magnezu (Chempur, Polska),
- skrobia (Chempur, Polska),
- tetraboran sodu (Boraks) (Alfa Aesar, Niemcy),

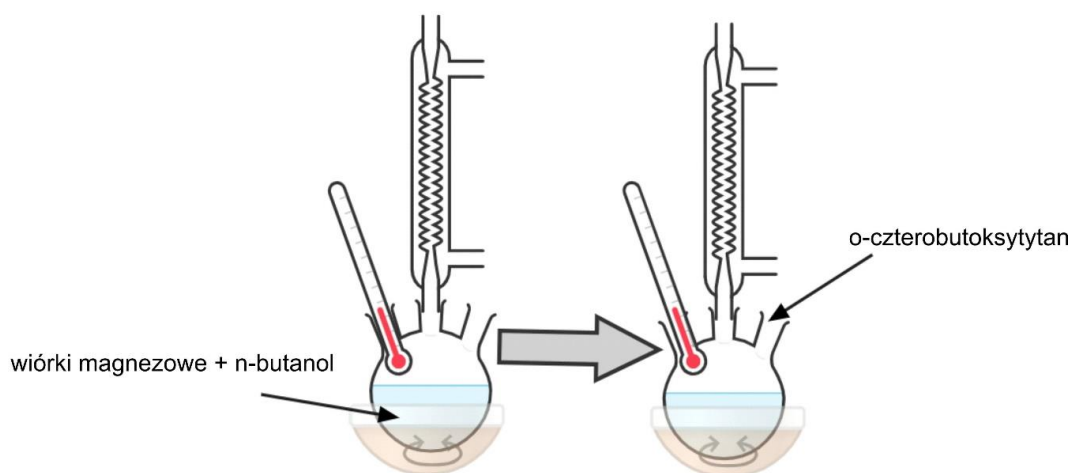
- tiosiarczan (VI) sodu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (Chempur, Polska),
- toluen (Stanlab, Polska),
- trietyloamina (TEA) (Sigma Aldrich, Polska),
- tris(2-etyloheksanian) bizmutu (BiHex) (Alfa Aesar, Niemcy),
- trypsyna (Sigma Aldrich, Polska),
- węglan sodu (Chempur, Polska),
- żel krzemionkowy, (Merck KGaA, Niemcy).

Poliestrowy polioliol (Priplast 1838) był przed syntezą osuszany na wyparce w podwyższonej temperaturze pod obniżonym ciśnieniem. Metakrylan 2-hydroksyetylenu został użyty po destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem. Poli(glikol etylenowy) został osuszony przed syntezą poprzez destylację azeotropową w toluenie.

Wszystkie pozostałe odczynniki zostały użyte w takiej postaci, w jakiej je otrzymano.

4.2 Synteza bimetalicznego katalizatora magnezowo-tytanowego

Syntezę katalizatora magnezowo-tytanowego wykonano zgodnie z procedurą opracowaną przez prof. Ryszarda Ukielskiego [125]. W 100 ml kolbie okrągłodennej umieszczono 0,141 g czystych wiórków magnezowych i dodano 30 ml n-butanolu, a następnie ogrzewano pod chłodnicą zwrotną 4–6 godzin w temperaturze 117°C . Następnie wprowadzono 3,6 g o-czterobutoksytytanu i kontynuowano reakcję przez kolejną godzinę (Rysunek 3). Po zakończeniu reakcji, mieszaninę pozostawiono do ostygnięcia po czym odwirowano osad, a otrzymany 13% roztwór $\text{Mg}[\text{HTi}(\text{OC}_4\text{H}_9)_4]_2$ w butanolu przechowywano w butelkach z ciemnego szkła, nad powierzchnią którego umieszczono argon [126].



Rysunek 3 Schemat syntez katalizatora wodorosześciobutoksy-o-tytanian magnezu

4.3 Synteza makromonomeru

Syntezę makromonomeru (określanego w pracy jako komponent A) przeprowadzono z wykorzystaniem nowych nietoksycznych katalizatorów w dwuetapowej reakcji w oparciu o wcześniejsze prace [127], z dwiema podstawowymi modyfikacjami:

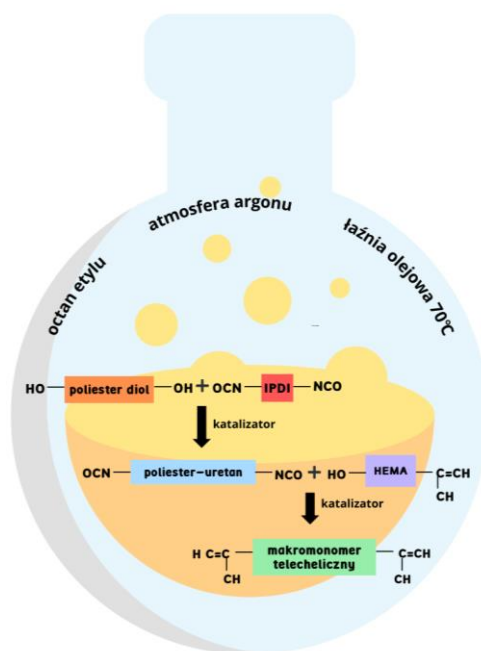
- zmiana rozpuszczalnika z toksycznego dichlorometanu na octan etylu,

- zmiana temperatury prowadzenia reakcji z 35°C na 70°C.

W pierwszym etapie do kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml wprowadzono 25 ml octanu etylu i odgazowano układ trzema cyklami argon/pompa. Następnie do kolby umieszczonej w łaźni lodowej dodano odpowiednią ilość katalizatora (2 lub 4 mol% w stosunku na grupę hydroksylową polioliu poliestrowego) oraz 6,5 ml (0,052 mmol) IPDI. W tym samym czasie 25 g (0,013 mmol) polioliu poliestrowego rozpuszczono w 25 ml EtOAc. Następnie rozpuszczony polioliol dodawano za pomocą wkraplacza do lodowatej mieszaniny. Po zakończeniu dodawania, kolbę przeniesiono do łaźni olejowej i kontynuowano reakcję w temperaturze 70°C (Rysunek 4). Postęp reakcji monitorowano, śledząc stosunek absorbancji metodą FT-IR przy długości fali 2262 cm⁻¹ (A₂₂₆₂), która odpowiada drganiom N = C = O w grupach izocyjanianowych IPDI, do absorbancji przy 1526 cm⁻¹ (A₁₅₂₆), która odpowiada drganiom zginającym N-H utworzonych wiązań uretanowych. Pierwszy etap został uznany za zakończony, gdy stosunek NCO/NH ustabilizował się, zwykle w przedziale od 3 do 5, zapewniając całkowitą konwersję grup -OH.

W drugim etapie dodano 6 mg (0,03 mmol) fenotiazyny (inhibitora polimeryzacji), drugą porcję katalizatora (taki sam mol% jak w pierwszym etapie) i 6,6 ml (0,054 mmol) metakrylanu 2-hydroksyetylu (HEMA), jednocześnie zabezpieczając reakcje przed światłem. W dalszym ciągu reakcję monitorowano za pomocą FT-IR. Reakcję uznawano za zakończoną w momencie przereagowania wszystkich grup -OH w reakcji z grupami NCO, co określono poprzez osiągnięcie wartości zerowej w obliczeniach stosunku absorbancji pasma 2262 cm⁻¹ (A₂₂₆₂) do pasma 1526 cm⁻¹ (A₁₅₂₆). Reakcję zakończono poprzez wyjęcie kolby z łaźni olejowej i schłodzenie do temperatury pokojowej w atmosferze powietrza. Produkt został następnie trzykrotnie wytrącony w czterokrotnym nadmiarze lodowatego metanolu, a pozostały rozpuszczalnik odparowano pod obniżonym ciśnieniem w temperaturze 50°C. Otrzymany produkt był przezroczystą, bardzo lepłą, żółtawą cieczą. Powyżej opisana procedura została przeprowadzona dla wszystkich katalizatorów. Serie makromonomerów zsyntezowanych z różnymi katalizatorami oznaczono następującymi skrótami: PrDBTDL, PrBiNDE, PrBiHex, PrZnAc, PrMg-Ti, gdzie Pr oznacza Priplast, a kolejne litery odnoszą się do katalizatorów: dilaurynian dibutylocyny (DBTDL), neodekanian bizmutu (BiNDE), tris(2-etyloheksanian) bizmutu (BiHex), acetyloacetonian cynku (II) (ZnAc), wodorosześciobutoksy-o-tytanian magnezu (Mg-Ti).

Reakcje prowadzono w środowisku bezwodnym, bez dostępu powietrza (w atmosferze argonu), a w celu zachowania szczelności aparatury zastosowano gumowe septy oraz strzykawki.



Rysunek 4 Schemat syntezy telechelicznego makromonomeru

4.4 Synteza PEG-yłowanego fibrynogenu (komponent B)

W celu przeprowadzenia syntezy komponentu B (PEG-yłowanego fibrynogenu) przeprowadzono najpierw diakrylację PEG.

W celu zwiększenia wydajności reakcji diakrylacji osuszono PEG poprzez przeprowadzenie destylacji azeotropowej. W 1 litrowej kolbie rozpuszczono 50 g PEG w 200 mL toluenu. Kolbę ogrzewano w płaszczu grzejnym do 170°C. Ogrzewanie kontynuowano do momentu zebrania 180 ml toluenu przez pułapkę Deana-Starka (Rysunek 5). Następnie mieszaninę schłodzono do temperatury pokojowej, a wysuszony PEG zamknięto i przechowywano pod wyciągiem do czasu dalszego użycia. Za pomocą spektroskopii w podczerwieni potwierdzono usunięcie wilgoci, o czym świadczył zanik pasma przy 3320 cm^{-1} związanego z wilgotnością.



Rysunek 5 Destylacja azeotropowa PEG

Diakrylację PEG przeprowadzono następująco: 15 g wysuszonego PEG rozpuszczono w 20 ml toluenu w temperaturze 50°C w atmosferze argonu. Następnie kolbę reakcyjną schłodzono poniżej 50°C i dodano 8,59 ml trietyloaminy (stosunek molowy PEG:TEA 1,0:4,4). Kolejno, 4,55 ml chlorku akryloilu (stosunek molowy PEG:AcCl 1,0:4,0) dodawano kroplami w celu zainicjowania reakcji. Proces reakcji kontynuowano przez noc, mieszając w ciemności w temperaturze pokojowej. Powstały białozółty roztwór przefiltrowano przez kolumnę z tlenkiem glinu. Do roztworu toluenu dodano węglan sodu i mieszano przez 2 h. Po tym czasie węglan sodu usunięto przez filtrację, a następnie toluen usunięto przez odparowanie na wyparce. Produkt reakcji rozpuszczono w minimalnej ilości dichlorometanu i wytrącano przez dodanie kroplami do zimnego eteru dietylowego. Następnie roztwór przefiltrowano, a osad przemyto eterem dietylowym i wysuszono w suszarce próżniowej w temperaturze 50°C.

PEG-yłowanie fibrynogenu przeprowadzono na podstawie opisu Dror Seliktar [122] z pominięciem pierwszego kroku (reakcji z CNBr). Reakcja z CNBr ma na celu częściową degradację białka i rozluźnienie łańcuchów w celu ułatwienia dostępu do wiązań disiarczkowych w białku. Za pomocą metod elektroforezy białka w żelu poliakrylamidowym w warunkach denaturujących (SDS PAGE) i spektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera (FTIR) potwierdzono, iż wydłużenie czasu reakcji między fibrynogenem a chlorowodorkiem tris(2-karboksyetylo) fosfiny mającej podobne działanie do CNBr pozwala na uzyskanie PEG-yłowanego fibrynogenu z podobną wydajnością (72% wyznaczone za pomocą FT-IR i 88% za pomocą metody SDS-PAGE PEG-yłowanego fibrynogenu).

Procedura otrzymania komponentu B (PEG-yłowanego fibrynogenu) była następująca. Chlorowodorek tris(2-karboksyetylo) fosfiny (TCEP HCl) dodano do 7 mg/ml roztworu fibrynogenu w 50 mM PBS z 8 M mocznikiem (stosunek molowy 68:1 TCEP do fibrynogenu). Roztwór mieszano przez około 2 godziny w temperaturze pokojowej (25°C) w ciemności. Po tym czasie dodano roztwór diakrylowanego-PEG (PEG-DA) (250–300 mg/ml) w 50 mM PBS i 8 M moczniku i reakcję kontynuowano przez noc w ciemności w temperaturze pokojowej. Stosunek molowy PEG-DA do fibrynogenu wynosi 145:1 (liniowy PEG-DA o masie molowej 4 kDa). Końcowy PEG-yłowany produkt białkowy wytrącano w 5-krotnym nadmiarze acetonu w temperaturze pokojowej przez 20 minut, mieszając. Następnie roztwór białka odwirowano przez 20 minut przy 5000 obr/min, a uzyskany osad ponownie rozpuszczono w PBS zawierającym 8 M mocznik do stężenia białka 20 mg/ml. Roztwór PEG-yłowanego białka był następnie dializowany w PBS zawierającym 0,1% (v/v) lodowatego kwasu octowego w temperaturze 4°C przez 2 dni z dwukrotną zmianą PBS (Spectrum, 12-14 kDa MW cutoff). Następnie roztwór zamrożono i podano liofilizacji.

4.5 Synteza N-metakrylowanej-L-DOPA (komponent C)

Sfunkcjonalizowanie DOPA w celu otrzymania pochodnej metakrylowej podatnej na fotopolimeryzację przeprowadzono zgodnie z opisem literaturowym wg Bruce P. Lee i innych [128]. W kolbie w ultraczystej wodzie rozpuszczono 3,87 g (0,0192mol) Na₂B₄O₇ (boraksu), następnie odgazowano układ reakcyjny i prowadzono reakcję w atmosferze gazu obojętnego (argonu). Następnie do kolby wprowadzono 2 g (0,01mol) 3,4-dihydroksy-L-fenyloalaniny (L-DOPA) i mieszano do rozpuszczenia. Etap ten miał na celu zabezpieczenie kluczowych grup hydroksylowych odpowiedzialnych za właściwości adhezyjne katecholu.

Kolejno dodano węglan sodu, a kolbę umieszczono w lodowej łaźni wodnej i wkroplono chlorek metakryloilu. Podczas reakcji utrzymywano pH powyżej 9 za pomocą roztworu węglanu sodu (4 g/50 ml). Reakcję prowadzono przez 3h. W celu zakończenia reakcji mieszaninę zakwaszono za pomocą stężonego kwasu chlorowodorowego do pH 2. Następnie mieszaninę ekstrahowano trzykrotnie w octanie etylu, po czym przemyto kwasem solnym, dodano bezwodnego siarczanu (VI) magnezu w celu pozbycia się resztek wody i pozostawiono na noc. Następnie siarczan magnezu został przesączony, a roztwór odparowany na wyparce. Jasnobrązowe ciało stałe rozpuszczono w mieszaninie dichlorometanu i metanolu (stosunek objętościowy 95:5) i poddano dalszemu oczyszczaniu poprzez przepuszczenie przez kolumnę z żelą krzemionkowym. Następnie ponownie odparowano rozpuszczalnik i otrzymano białe, lepkie ciało stałe z wydajnością około 40%.

4.6 Otrzymywanie kompozycji fotosieciowalnych

Na pierwszym etapie prac, podczas których skupiono się na wyborze katalizatora do syntezy telechelicznego makromonomeru, proces fotopolimeryzacji prowadzono dla kompozycji zawierającej makromonomer (około 25 g) oraz fotoinicjator Omnirad 819 o stężeniu 2% wag. W celu zapewnienia homogeniczności mieszaniny składniki te rozpuszczono w octanie etylu, a następnie rozpuszczalnik odparowano na wyparce przy obniżonym ciśnieniu i podwyższonej temperaturze (50°C).

Następnie, w celu zbadania kinetyki fotosieciowania i doboru fotoinicjatora przygotowano kompozycje zawierające fotoinicjator: Omnirad 819 (O819) lub Omnirad 2022 (O2022) o stężeniach 0,5 i 2% wag (te układy sieciujące przebadano na UV-DSC). Natomiast na etapie wyboru fotoinicjatorów do badań UV-DSC otrzymano sześć kompozycji makromonomeru PrZnAc_4 z 6 fotoinicjatorami I typu (Omnirad 750, Omnirad 784, Omnirad 2100, Omnirad TPO) oraz dwa wybrane do badań kinetyki (Omnirad 819 i Omnirad 2022), o stężeniu 2% wag.

Kompozycje hybrydowe zostały przygotowane następująco: rozpuszczono około 20 g makromonomeru (komponentu A), następnie różne proporcje PEG-yłowanego fibrynogenu (komponent B) i metakrylowanej- L-DOPA (komponent C) zmieszano w mieszaninie rozpuszczalników EtOAc:DMSO (w stosunku objętościowym 95:5). Następnie dodano 1% wag. fotoinicjatora Omnirad 2022 w stosunku do całkowitej masy składników. Kolejno rozpuszczalnik odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem po uzyskaniu jednorodnej mieszaniny. Kompozycje hybrydowe wykonano w proporcjach prezentowanych w Tabeli 2, ponadto w celu analizy wpływu dodatku katecholu otrzymano układy zawierające jedynie komponent A i C.

Tabela 2 Skład procentowy otrzymanych kompozycji

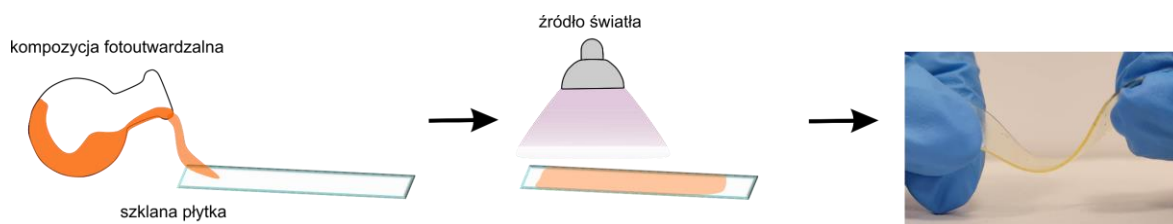
Komponent A	Komponent B	Komponent C
95%	5%	0%
90%	10%	0%
95%	0%	5%
90%	0%	10%
90%	5%	5%
85%	5%	10%

Wszystkie kompozycje otrzymywano i przetrzymywano w bursztynowej kolbie, dokładając wszelkich starań przed zabezpieczeniem kompozycji przed niepożądanym działaniem światła widzialnego.

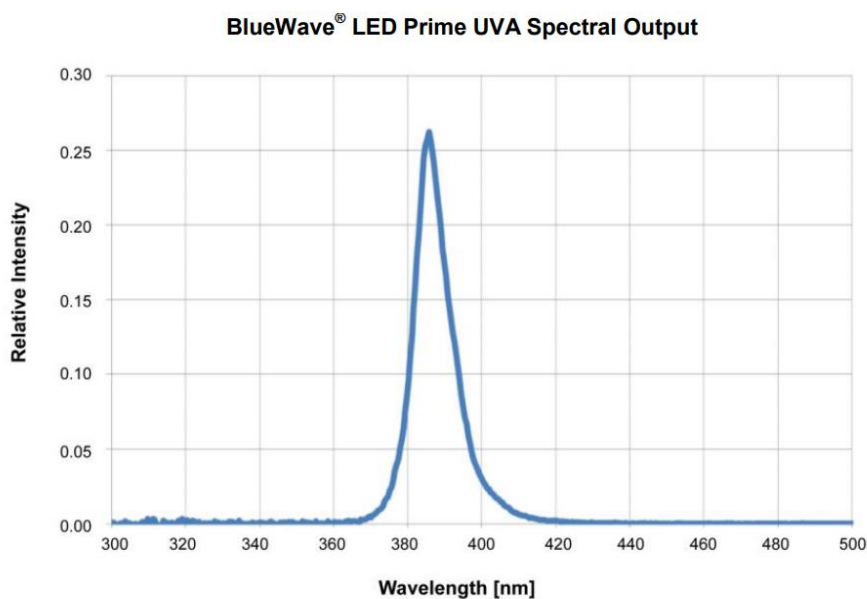
4.7 Fotopolimeryzacja

Fotopolimeryzacja kompozycji była prowadzona przy wykorzystaniu źródła światła DYMAX BlueWave LED Prime UVA (USA) o wąskim zakresie widmowym i maksymalnej intensywności przy długości fali λ_{max} 385 nm (Rysunek 7). Na szklaną płytkę wylewano uprzednio przygotowane kompozycje zgodnie z opisem zamieszczonym w 4.6 i tworzone folie o grubości 1 mm za pomocą stalowego aplikatora. Końcówka światłowodu znajdowała się na stałej wysokości 11 cm, a intensywność promieniowania wynosiła 20 mW/cm² (ustalana każdorazowo za pomocą radiometru AktiPrint (Technigraf GmbH)). Fotosieciowanie dla komponentu A prowadzono w atmosferze powietrza oraz argonu (w komorze rękawicowej). Natomiast dla układów hybrydowych polimeryzację prowadzono wyłącznie w atmosferze powietrza (Rysunek 6).

Czas ekspozycji wynosił 150 sek. dla każdego naświetlanego okręgu (2,25 cm²) i był przeprowadzany stopniowo na całej płytce (10 cm × 20 cm).



Rysunek 6 Schemat fotosieciowania



Rysunek 7 Widmo DYMAX BlueWave LED Prime UVA (Źródło: karta producenta)

4.8 Metody badawcze

4.8.1 Spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera (FTIR)

Widma spektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera wykonano z wykorzystaniem spektrometru BRUKER ALPHA Platinum (Niemcy) w temperaturze pokojowej ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$, rezolucja 2 cm^{-1} , 32 skany). Płynne próbki pobierane w trakcie syntezy były badane za pomocą przystawki transmisyjnej poprzez naniesienie cienkiej warstwy mieszaniny reakcyjnej pomiędzy płytki z chlorku sodu. Natomiast komponenty sieci polimerowej, jak i usieciowane filmy wykonano z wykorzystaniem przystawki odbiciowej ATR z kryształem diamentowym.

4.8.2 Spektroskopia rezonansu magnetycznego jąder atomowych (^1H i ^{13}C NMR)

Widma NMR zarejestrowano przy użyciu aparatu Bruker DPX HD-400 MHz w temperaturze 25°C . Próbkę do badań przygotowywano poprzez rozpuszczenie ok. 20 mg materiału w CDCl_3 z wyjątkiem widma DOPA i jej pochodnych, które rozpuszczono w $d\text{-DMSO}$. Wszystkie widma oznaczono w odniesieniu do tetrametylosilanu. Obróbkę danych przeprowadzono w programie MestReNova.

4.8.3 Oznaczanie lepkości

Lepkość dynamiczną makromonomerów oceniono przy użyciu reometru DV3TRV (Brookeld AMETEK, USA). Parametry pomiaru były następujące: głowica pomiarowa w układzie stożek-płytkę o średnicy $f=40\text{ mm}$, odległość między stożkiem a płytką $h=1\text{ mm}$, odkształcenie 30%, stała szybkość ścinania $0,200\text{s}^{-1}$ i w temperaturze 25 i 37°C .

4.8.4 Chromatografia żelowa (GPC)

Chromatografię żelową (GPC) wykorzystano do określenia średnich mas molowych (M_n i M_w) oraz rozkładu mas molowych, $\bar{D}$ (M_w/M_n) otrzymanych makromonomerów. Pomiar wykonano za pomocą urządzenia firmy Wyatt (Niemcy) składającego się z kolumny ochronnej i czterech kolumn Perfect Separation Solutions (PSS) (50 , 100 , 1000 i $100\,000\text{ Å}$), refraktometru różnicowego (RI) Dn 2010 WGE Dr Bures oraz detektorów wielokątowego rozpraszania światła (LS) Wyatt MALLS DAWN HELEOS. Do kalibracji sprzętu użyto 8 różnych liniowych wzorców polistyrenu (o masach cząsteczkowych: 970 , 1990 , 5030 , $10\,680$, $19\,760$, $34\,800$, $70\,950$ i $126\,700\text{ g/mol}$ (Polymer Laboratories and Solutions LLC, USA)). Fazę ruchomą stanowił tetrahydrofuran o szybkości przepływu 1 ml/min w temperaturze 35°C . Do gromadzenia danych i obliczeń masy cząsteczkowej wykorzystano oprogramowanie PSS WinGPC Unity.

4.8.5 Wyznaczanie liczby jodowej (LJ)

Masa molowa (M_z) makromonomeru została wyznaczona również na podstawie wartości liczby jodowej zgodnie z ISO 3961 i przy użyciu równania (4) zgodnie z wcześniejszą pracą [127].

$$M_z = \frac{50760 + f * M_1 L I_1}{L I_2} \quad (4)$$

gdzie:

M_z – masa molowa

f – średnia liczba cząsteczek rdzenia na jedną cząsteczkę makromonomeru, obliczona na podstawie $^1\text{H-NMR}$

M_1 – masa molowa surowca (Priplast 1838)

LI_1 – zawartość jodu w surowcu (Priplast 1838)

LI_2 – zawartość jodu w monomerze

4.8.6 Fotokolorymetria różnicowa UV-DSC

Badanie UV-DSC przeprowadzono przy użyciu aparatu Q2500 DSC (TA Instruments, New Castle, DE, USA) wyposażonego w przystawkę optyczną OmniCure 2000 Spot UV Curing System (Kanada) (z wysokociśnieniowym 200-watowym krótkim łukiem rtęciowym). W celu uzyskania kompozycji fotosieciowalnych zmieszano makromonomery z 0,5, 1 i 2% wag. fotoinicjatorów Omnirad 819 i Omnirad 2022. Badaniu poddano próbki o masie ~5 mg umieszczone w aluminiowych tyglach bez zamknięcia w celu umożliwienia naświetlania kompozycji. Pomiary przeprowadzono przy wykorzystaniu filtra 365 z OmniCure o maksymalnej intensywności przy długości fali 365 nm (pozwalającego na sieciowanie przy wąskiej długości fali) w dwóch atmosferach (obojętnego argonu i powietrze, przy natężeniu przepływu gazu 20 mL/min) w temperaturze 37°C. Próbki były naświetlane przy dwóch różnych intensywnościach, odpowiednio 20 i 50 mW/cm². Maksymalną konwersję ($C_{\max}$) obliczono na podstawie równania (5):

$$C_{\max} = \frac{M \cdot \Delta H}{\Delta H_p \cdot n} \quad (5)$$

Gdzie:

M – masa molowa monomeru;

ΔH – entalpia (J/g);

n – liczba grup metakrylanowych w cząsteczce-2;

ΔH_p – teoretyczne molowe ciepło polimeryzacji (J/mol grup metakrylanowych).

Przyjęto, że wartość ΔH_p dla grup metakrylanowych wynosi 58,6 kJ/mol [129]. Doświadczalnie wyznaczone wartości ciepła polimeryzacji monomerów metakrylanowych mieszczą się w zakresie od 45 do 60 kJ/mol [130–132].

Wyniki analizowano za pomocą programu TRIOS, stosując dwa modele izotermiczne dedykowane układom autokatalitycznym, tj. model Sestak-Berggena i Avrami. Wszystkie eksperymenty zostały powtórzone co najmniej dwa razy, aby zapewnić powtarzalność danych.

4.8.7 Mikroskop sił atomowych (AFM)

Mikroskop sił atomowych (AFM) posłużył do oceny powierzchni otrzymanych filmów. Film polimerowy umieszczano na krążkach AFM (SPI), pomiar wykonywano stosując urządzenie Nanoscope V Multimode 8 firmy Bruker z wykorzystaniem sondy AFM ScanAsyst-Air.

4.8.8 Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)

W celu zbadania właściwości termicznych otrzymanych makromonomerów i sieci polimerowych przeprowadzono badania metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) przy użyciu kalorymetru Q2500 DSC (TA Instruments, New Castle, Delaware, USA). Materiały odważono (~5 mg) do aluminiowych tygli i hermetycznie zamknięto przed analizą. Program pomiarowy składał się z następujących segmentów: chłodzenie do -90°C, a następnie ogrzewanie do 120°C poprzedzone 3-minutową izotermą. Szybkość ogrzewania i chłodzenia wynosiła 5°C min⁻¹. Dane zostały przeanalizowane przy użyciu oprogramowania TRIOS.

4.8.9 Frakcja żelowa

W celu oceny frakcji żelowej fotoutwardzalnych sieci elastomerowych próbki umieszczane w celulozowych gilzach i poddawano 6-godzinnej ekstrakcji w octanie etylu w aparacie Soxhlet (Behr Labor-Technik, Niemcy). Próbkę ważono przed ekstrakcją (W_{initial}) i po suszeniu (pod zmniejszonym ciśnieniem do uzyskania stałej masy) (W_{final}). Frakcję żelową (GF) obliczono zgodnie z równaniem (6):

$$\text{Frakcja żelowa (\%)} = \frac{W_{\text{final}}}{W_{\text{initial}}} \cdot 100\% \quad (6)$$

4.8.10 Pomiar kąta zwilżania

Badanie kąta zwilżania sieci polimerowych było przeprowadzone metodą osadzonej kropli dla dwóch rozpuszczalników: hydrofilowej wody oraz hydrofobowego diiodometanu w celu zbadania charakteru amfifilowego materiałów, przy zastosowaniu aparatu Drop Shape Analyzer Krüss DSA 100 (Niemcy). Objętość kropli wynosiła 2 µL, a prędkość osadzania 110 µL/min. Pomiar był prowadzony przez 2 minuty (obraz był rejestrowany 5 klatek/sek.). Miało to na celu zarejestrowanie reorganizacji struktury. Dlatego porównywano kąty zwilżania po 3 i 120 sekundach pomiaru. Każdy wynik stanowi średnią z 10 pomiarów wykonanych w różnych miejscach filmu.

Ponadto badania prowadzono dla obu powierzchni próbki „górnej” (będącej w kontakcie z powietrzem w trakcie fotosieciowania) oraz „dolnej” (która podczas sieciowania miała kontakt ze szklaną płytką) (Rysunek 6).

4.8.11 Termiczna analiza dynamicznych właściwości mechanicznych (DMTA)

Badania metodą termicznej analizy dynamicznych właściwości mechanicznych (DMTA) przeprowadzono przy użyciu aparatu DMTA Q800 (TA Instruments) w trybie odkształcenie-zginanie przy częstotliwości drgań 1 Hz i z amplitudą 1 mm. Próbkę mocowane na obydwu końcach były badane w tym samym zakresie temperaturowym jak na DSC (od -90°C do 120°C) z szybkością grzania wynoszącą 3°C/min. Wyniki przedstawiono w postaci krzywych przebiegu zmian modułu zachowawczego (E'), modułu stratności (E'') i współczynnika stratności mechanicznej – tangensa kąta strat mechanicznych ($\tan \delta$) w funkcji temperatury. Wyznaczono temperatury zeszklenia z maksimum pików z krzywych

E'' i $\tan \delta$. Dodatkowo porównano właściwości mechaniczne w temperaturze 37°C, istotnej z punktu widzenia potencjalnych zastosowań medycznych.

4.8.12 Właściwości mechaniczne

Badania mechaniczne usieciowanych filmów wykonano metodą quasi-statycznego rozciągania na maszynie wytrzymałościowej Instron 3366 (Wielka Brytania) wyposażonej w głowicę pomiarową siły o obciążalności 500 N, przy prędkości przesuwu trawersy 25 mm/min [133]. Prędkość ta została wybrana z zakresu 10–50 mm/min, typowego dla badań rozciągania miękkiej tkanki łącznej [134]. Badaniu poddano prostokątne próbki o wymiarach: 10 mm szerokości, 60 mm długości i 0,5 mm grubości, odległość między szczękami wynosiła 25 mm. Analiza zmian właściwości mechanicznych dotyczyła takich parametrów jak: wytrzymałość do zerwania (σ_{br}), wydłużenie do zerwania (ϵ_{br}) i moduł sprężystości przy rozciąganiu (E). Moduł został obliczony odpowiednio przy wydłużeniu 2%–3% i 5%–6%.

4.8.13 Test odrywania

Do oceny właściwości adhezyjnych przeprowadzono test T-odrywania pod kątem 90° na powierzchniach hydrofobowej (polistyren) i hydrofilowej (polialkohol winylowy-PVA) zgodnie z normą ASTM D2861. Przed rozpoczęciem testów obie powierzchnie zostały starannie przygotowane, aby zapewnić ich czystość od wszelkich zanieczyszczeń. Próbki poddano testowi T-odrywania przy użyciu maszyny wytrzymałościowej Instron 3366 (Wielka Brytania), który mierzy siłę potrzebną do oddzielenia sklejonnych powierzchni.

4.8.14 Degradacja sieci polimerowych

Stabilność otrzymanych sieci została zbadana poprzez przeprowadzenie testów degradacji hydrolitycznej i enzymatycznej. Proces degradacji prowadzono w 24-dołkowych, polistyrenowych płytkach, które umieszczano na wytrząsarce (częstotliwość wytrząsania 20/min) w inkubatorze (37°C). Próbki o średnicy 6 mm zanurzone były w roztworze o objętości 2 ml. Bufor SBF został przygotowany zgodnie z protokołem przygotowanym przez Uniwersytet w Kyoto [135]. Degradację hydrolityczną prowadzono w roztworze SBF z dodatkiem 0,1% azydku sodu. Natomiast degradację enzymatyczną prowadzono w buforze, który oprócz azydku sodu zawierał enzym trypsynę o stężeniu 1 mg/ml. Na każdy punkt pomiarowy składały się 3 próbki.

Proces degradacji hydrolitycznej prowadzono przez 7 tygodni. Próbki do kontroli pobierano co 7 dni. Bufor zmieniano każdorazowo przy pobraniu próbek.

Degradację enzymatyczną prowadzono przez 21 dni. Próbki do kontroli pobierano co 72 godziny oraz po pierwszych 24 godzinach (w sumie 8 punktów kontrolnych). Bufor zmieniano każdorazowo przy pobraniu próbek. Po wyjęciu próbek z buforów wkładano je na kilka sekund do 0,5 M NaCl w celu pozbycia się zaadsorbowanych na powierzchni próbek resztek białka, a następnie w celu pozbycia się soli, próbki wkładano do wody. Następnie próbki osuszano z wody za pomocą bibulek i ważono (m_w). Następnie próbki umieszczano w suszarce próżniowej na 7 dni (do suchej masy) i ważono (m_d). Następnie próbki przechowywano w eksykatorze.

Wagi próbek (m_0 – masa przed degradacją, m_w – masa po wyjęciu z medium, m_d – masa po wysuszeniu) wykorzystano do wyznaczenia ubytku masy (D) i stopnia pęcznienia (P). Wartości wyliczono na podstawie poniższych wzorów (7,8):

$$D = \frac{m_0 - m_d}{m_0} \times 100\% \quad (7)$$

$$P = \frac{m_w - m_d}{m_d} \times 100\% \quad (8)$$

Ponadto krążki po degradacji przebadano za pomocą FT-IR zgodnie z metodologią opisaną powyżej (4.8.1).

4.8.15 Rentgenowska mikrotomografia komputerowa

Obrazy mikro-CT, ukazujące topografię powierzchni, wykorzystano do celu oceny degradacji próbek. Pomiary wykonano przy użyciu mikrokomputerowego tomografu Bruker Skyscan 1272 (Niemcy). Parametry akwizycji zostały skonfigurowane w następujący sposób: prąd 150 μ A; napięcie 50 kV; uśrednianie ramki 4; filtr Cu 0,10 mm; rozmiar piksela 2,25 μ m; obrót 360° z krokiem 0,1°. Po akwizycji przeprowadzono rekonstrukcję przy użyciu oprogramowania NRecon, wersja 1.7.0.4, z silnikiem rekonstrukcji InstaRecon, wersja 2.0.2.6.

4.8.16 Dyfrakcja promieniowania Roentgena (XRD)

Informacje krystalograficzne uzyskano za pomocą dyfrakcji rentgenowskiej (XRD), wykonanej przy użyciu dyfraktometru rentgenowskiego AERIS PANalytical z promieniowaniem Cu-K α oraz programu HighScore. Zakres skanowania wynosił od 7 do 90°.

4.8.17 Mikroskop fluorescencyjny

Mikroskop fluorescencyjny posłużył do obserwacji katecholu na powierzchni usieciowanych sieci polimerowych zawierających L-DOPA. Obserwacje mikroskopowe fluorescencji katecholamin w utwardzonych filmach przeprowadzono za pomocą zmodyfikowanej metody opisanej w [108]. Ze względu na wysoką autofluorescencję uzyskanych materiałów, zastosowanie metody takiej jak z wykorzystaniem estru kwasu boronowego [136] do potwierdzania obecności grup katecholowych, było niemożliwe. Dlatego też, opracowano alternatywną metodę, aby potwierdzić zarówno obecność jednostek katecholowych na powierzchni usieciowanych filmów, jak i ich funkcjonalność oraz reaktywność.

Zastosowano barwienie aminy sfunkcjonalizowanej barwnikiem dalekoczerwonym (ATTO 643-amine, ATTO-TEC GmbH, Siegen, Niemcy), ze względu na jego hydrofilowy charakter oraz wysoką wydajność kwantową. Pierwotna amina może reagować z katecholem na drodze reakcji Michaela lub poprzez tworzenie zasady Schiffa [137]. Usieciowane filmy sieci polimerowych (około 16 mm x 7 mm, 3 na grupę) inkubowano w 1,5 ml 10 mM buforu TRIS (pH=9) z 20 μ g/ml ATTO 643-amine (przygotowane z roztworu barwnika 4 mg/ml w DMSO) przez noc w temperaturze 37°C. Jako kontrolę, równolegle inkubowano próbki bez barwnika. Po barwieniu próbki płukano trzykrotnie w PBS i obrazowano w kanale fluorescencji Cy5 (Ex: 620, Em: 700) mikroskopu odwróconego Leica DMi8 (obiektyw

Leica HC PL FLUOTAR 10x/0.32 DRY i kamera Leica DEC7000 GT 1920x1440). Zbierano dwa lub trzy pola widzenia na próbkę. Analizę obrazów przeprowadzono przy użyciu ekosystemu naukowego Pythona, w tym bibliotek `aicsimageio` [138], `dask` [139], `napari` [140], `matplotlib` [141] i `numpy` [142]. Różnice między próbkami oceniano ilościowo, porównując histogramy za pomocą odległości Wassersteina przy użyciu biblioteki Pythona `scipy` [143]. Kod Pythona i przykładowy notebook są dostępne pod adresem: https://github.com/psobolewskiPhD/Fluorescence_L-DOPA_Assay.

4.8.18 Badania cytotoksyczności

Cytotoksyczność materiałów została zbadana zgodnie z normą ISO10993-5 [144]. Test biogodności komórkowej *in vitro* został przeprowadzony metodą kontaktu pośredniego. Paski fotoutwardzonych filmów o powierzchni 3 cm² (30x10x0,5 mm) pocięto na mniejsze kawałki, umieszczono w dołku 24-dołkowej płytki i inkubowano w 1 ml kompletnej pożywki wzrostowej (Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), zawierającej 10% płodowej surowicy bydlęcej (FBS), 2 mM L-glutaminy, 100 U/ml penicyliny i 100 µg/ml streptomycyny) przez 24 godziny w inkubatorze CO₂ do hodowli komórek w temperaturze 37°C. Zastosowano następujące kontrole – kontrola negatywna: komercyjny, nietoksyczny poli(ε-kaprolakton) (PCL, Capa™ 6430), kontrola pozytywna (toksyczna): rękawica nitrylowa (Mercator Nitrylex Classic, Kraków, Polska), kontrola pozorowana: pożywka w pustym dołku.

Równolegle, 10×10³ komórek L929 (pasaż 10-25) umieszczono w dołkach w 96-dołkowej płytce w pełnej pożywce wzrostowej. Po inkubacji przez 24 godziny w inkubatorze CO₂ do hodowli komórkowej w temperaturze 37°C, pożywkę na płytce z komórkami odsysano i zastępowano 100 µl ekstraktu z danej próbki (5–6 powtórzeń technicznych, 2 próbki na materiał). Następnie płytki umieszczono z powrotem w inkubatorze do hodowli komórkowej na kolejne 24 godziny hodowli.

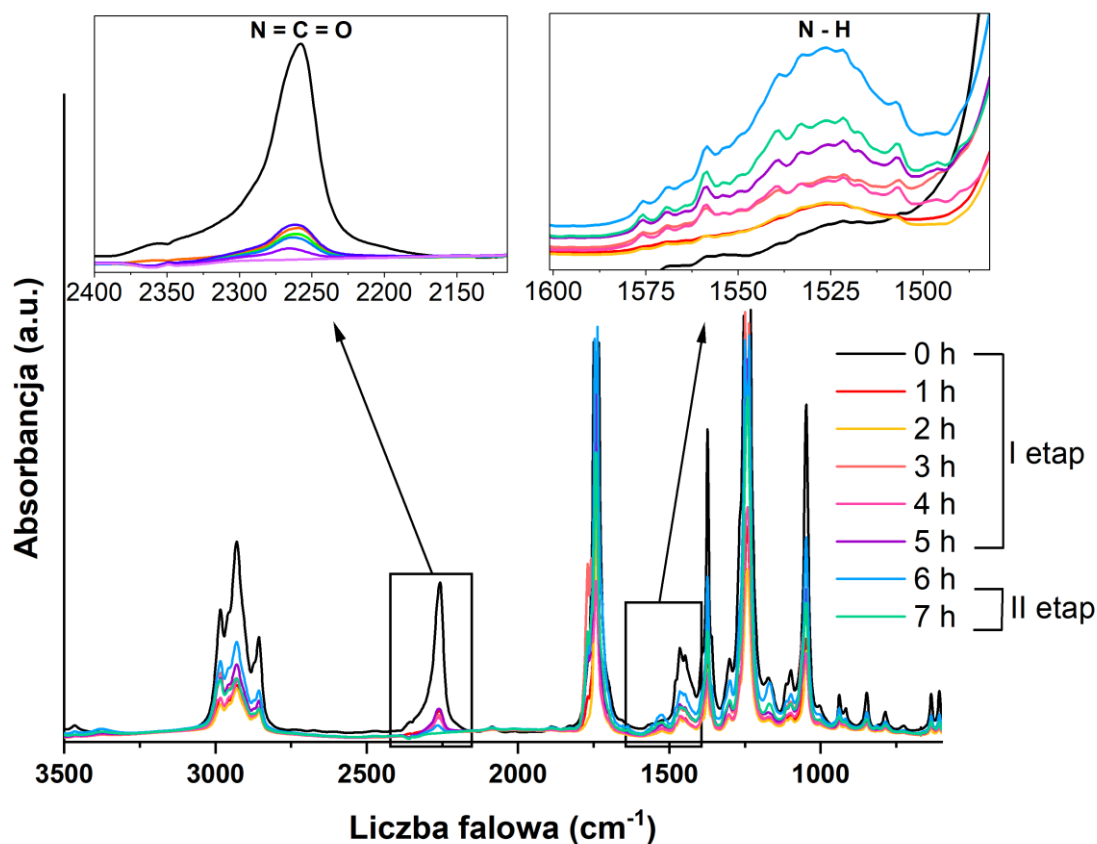
Żywotność komórek oceniano za pomocą mikroskopii świetlnej (Delta Optical IB-100, Mińsk Mazowiecki, Polska) i testu żywotności resazuryny [145]. Do każdej studzienki (jak również do ślepych studzienek z pożywką, ale bez komórek) dodano 20 µl roztworu resazuryny (0,15 mg/ml w roztworze soli fizjologicznej buforowanej fosforanami), a następnie inkubowano przez 4 godziny w inkubatorze do hodowli komórkowej w temperaturze 37°C. Sygnał fluorescencji mierzono następnie za pomocą wielofunkcyjnego czytnika płytek (Biotek Synergy HTX, Winooski, VT, USA): wzbudzenie 540 nm, emisja 590 nm. Intensywność fluorescencji (jednostki arbitralne) ślepej próby została odjęta od wszystkich zmierzonych próbek/kontroli, a żywotność komórek została wyrażona jako procent ekstraktu pozorowanego.

5 Wyniki i dyskusja

5.1 Charakterystyka makromonomerów otrzymanych z wykorzystaniem nietoksycznych katalizatorów

Podstawowym składnikiem (komponentem A) układów hybrydowych był opisany już w literaturze makromonomer estrowo-uretanowy, do syntezy którego użyto znany z toksycznego działania katalizator cynowy (dilaurynian dibutylocyny – DBTDL) [146,147] oraz dichlorometan (DCM). Przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej badania miały na celu otrzymanie produktu w sposób bardziej przyjazny środowisku poprzez wykorzystanie nietoksycznych katalizatorów oraz octanu etylu (EtOAc), jako rozpuszczalnika znajdującego się na liście zielonych rozpuszczalników Pfizer [148]. Syntezy wykonano z wykorzystaniem nowych nietoksycznych katalizatorów: acetyloacetonian cynku (II) (ZnAc), tris(2-etyloheksanian) bizmutu (BiHex), neodekanian bizmutu (BiNDE), wodorosześciobutoksy-o-tytanian magnezu (Mg-Ti), dodatkowo zmieniono temperaturę i rozpuszczalnik. Niezmienne pozostały jedynie substraty. Szczegóły zostały opisane w podrozdziale 4.3.

Postęp reakcji dla wszystkich katalizatorów monitorowano za pomocą spektroskopii FT-IR. Przykładowy przebieg syntezy z wykorzystaniem 2% molowych katalizatora BiHex znajduje się na Rysunek 8. Dane dotyczące innych katalizatorów znajdują się w artykułach [149,150].



Rysunek 8 Widma spektroskopii FT-IR wykorzystane do monitorowania postępu reakcji z użyciem 2 mol% BiHex.

W celu wyznaczenia końca pierwszego etapu reakcji monitorowano stosunek absorpcji pasma przy liczbie falowej o długości 2262 cm^{-1} (A_{2262}), która odpowiada drganiom $\text{N}=\text{C}=\text{O}$ w grupach izocyjanianowych IPDI, do absorpcji pasma przy 1526 cm^{-1} (A_{1526}), która odpowiada drganiom zginającym N-H tworzących się wiązań uretanowych w wyniku reakcji grupy hydroksylowej polioliu z grupami izocyjanianowymi IPDI. Pierwszy etap został uznany za zakończony, gdy stosunek NCO/NH ustabilizował się, zwykle w przedziale od 3 do 5, zapewniając całkowitą konwersję grup $-\text{OH}$. Ponadto, wraz z przebiegiem reakcji obserwowano wyraźny spadek intensywności pasma około 3500 cm^{-1} odpowiadającego drganiom grupy hydroksylowej w polioliu, potwierdzając prawidłowy przebieg reakcji. W analogiczny sposób wyznaczano koniec drugiego etapu, w którym to reakcja przebiegała ponownie między grupami hydroksylowymi (tym razem pochodzącymi od dodanej na tym etapie HEMA) a pozostałymi grupami $\text{N}=\text{C}=\text{O}$ pochodzącymi od difunkcyjnego izocyjanianu (IPDI). Zastosowanie katalizatora BiHex i warunków prowadzenia reakcji pozwoliło na otrzymanie makromonomeru o pożądanej strukturze chemicznej w krótszym czasie, tj. w ciągu 7 godzin w porównaniu do publikacji [127], gdzie przy wykorzystaniu katalizatora cynowego i organicznego (DBTDL i DABCO) czas reakcji wynosił około 24 godziny z podobną wydajnością reakcji (Tabela 3). Najprawdopodobniej duży wpływ na skrócony czas reakcji miała podwyższona temperatura (z 35 do 70°C), natomiast podwyższenie temperatury było możliwe dzięki zastosowaniu octanu etylu jako rozpuszczalnika, który ma o wiele wyższą temperaturę wrzenia.

Podsumowanie warunków reakcji, czasów oraz wydajności znajduje się w Tabeli 3. Zaobserwowano wyraźne różnice między katalizatorami oraz stężeniami używanymi w reakcjach. Większa ilość katalizatora zgodnie z oczekiwaniami skutkowałą skróceniem czasu reakcji, dla wszystkich katalizatorów, z wyjątkiem BiHex.

Źródła tych różnic (między katalizatorami, jak i dla BiHex) należy doszukiwać się w mechanizmach działania tychże katalizatorów. Zgodnie z obecnym stanem wiedzy, katalizatorom metalicznym przypisuje się jeden z dwóch mechanizmów działania. Dobrze poznany i opisany katalizator cynowy (DBTDL) zachowuje się jak kwas Lewisa, którego mechanizm polega na oddziaływaniu z grupami $\text{N}=\text{C}=\text{O}$ – w tym przypadku pochodzącymi z IPDI zwiększając ich elektrofilowość. Ponadto, DBTDL jest kwasem Lewisa o pK_a 11 i dlatego można oczekiwać, że ten katalizator będzie bardziej aktywny przy wyższych stężeniach, co skróci czas reakcji. Dlatego też obserwujemy tak znaczącą zmianę czasu reakcji. Natomiast aktywność katalityczna obu katalizatorów bizmutowych i cynkowego opiera się na mechanizmie insercyjnym. W tym przypadku katalizatory wymieniają swoje ligandy z alkoholem – w tym przypadku poliolem poliestrowym – lub oddziałują z wodorem z $-\text{OH}$ w alkoholu (tutaj poliol poliestrowy) [151,152]. Z tego powodu istotną rolę odgrywają w tych przypadkach efekty steryczne. Tłumaczy to różnice między katalizatorami bizmutowymi (BiHex i BiNDE). Oba katalizatory mają 3 ligandy, natomiast BiHex ma krótsze ligandy (8 w porównaniu do 10 węgli), co wyjaśnia krótszy czas reakcji.

Wzrost całkowitego czasu reakcji (z 7 do 26 godzin) zaobserwowano po zwiększeniu stężenia katalizatora BiHex do 4 mol%. Dłuższy czas reakcji w II etapie dla PrBiHex o stężeniu 4 mol% może również wynikać z reakcji ubocznej objawiającej się tworzeniem wiązań allofanianowych. Efekt tworzenia się allofanianowych wiązań sieciujących podczas drugiego etapu spowodował wydłużenie czasu reakcji. BiHex jest stosowany jako

katalizator takiego właśnie sieciowania poprzez wiązania allofanianowe w syntezie poliuretanu w patencie [153]. Dodatkowo, reakcje takie są odwracalne, a dysocjacja otrzymanych allofanianów zachodzi szybko [154], dlatego nie zaobserwowano grup allofanianowych w końcowej strukturze (spektroskopii ^1H - i ^{13}C NMR).

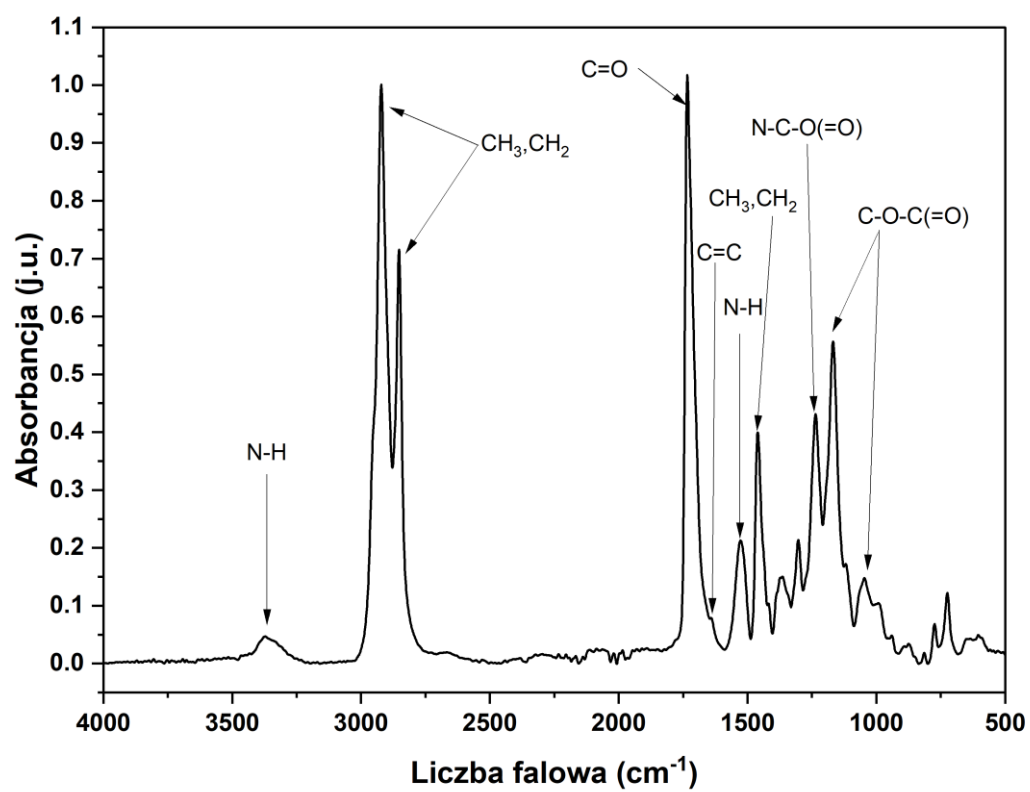
Tabela 3 Podsumowanie parametrów reakcji

Material	Stężenie katalizatora na etap [mol%]	I etap [godziny]	(A_{2262})/(A_{1525}) po I etapie	II etap [godziny]	Całkowity czas [godziny]	Wydajność reakcji [%]
PrDBTDL_2	2	7,0	3,96	12,0	19,0	66
PrBiNDE_2	2	8,0	3,81	17,0	25,0	64
PrBiHex_2	2	5,0	4,11	2,0	7,0	65
PrZnAc_2	2	10,0	5,72	15,0	25,0	62
PrDBTDL_4	4	3,0	4,07	1,5	4,5	68
PrBiNDE_4	4	5,0	3,22	13,3	18,3	66
PrBiHex_4	4	8,0	3,49	18,0	26,0	70
PrZnAc_4	4	6,5	4,67	14,5	21,0	68
PrMg-Ti_0.1	0,1	11	10,43	47,5	58,5	53
PrMg-Ti_0.25	0,25	4,5	6,53	23,5	28,0	67
PrMg-Ti_0.5	0,5	3,5	5,21	5,5	9,0	57
PrMg-Ti_1	1	0,7	4,91	3,3	4,0	63

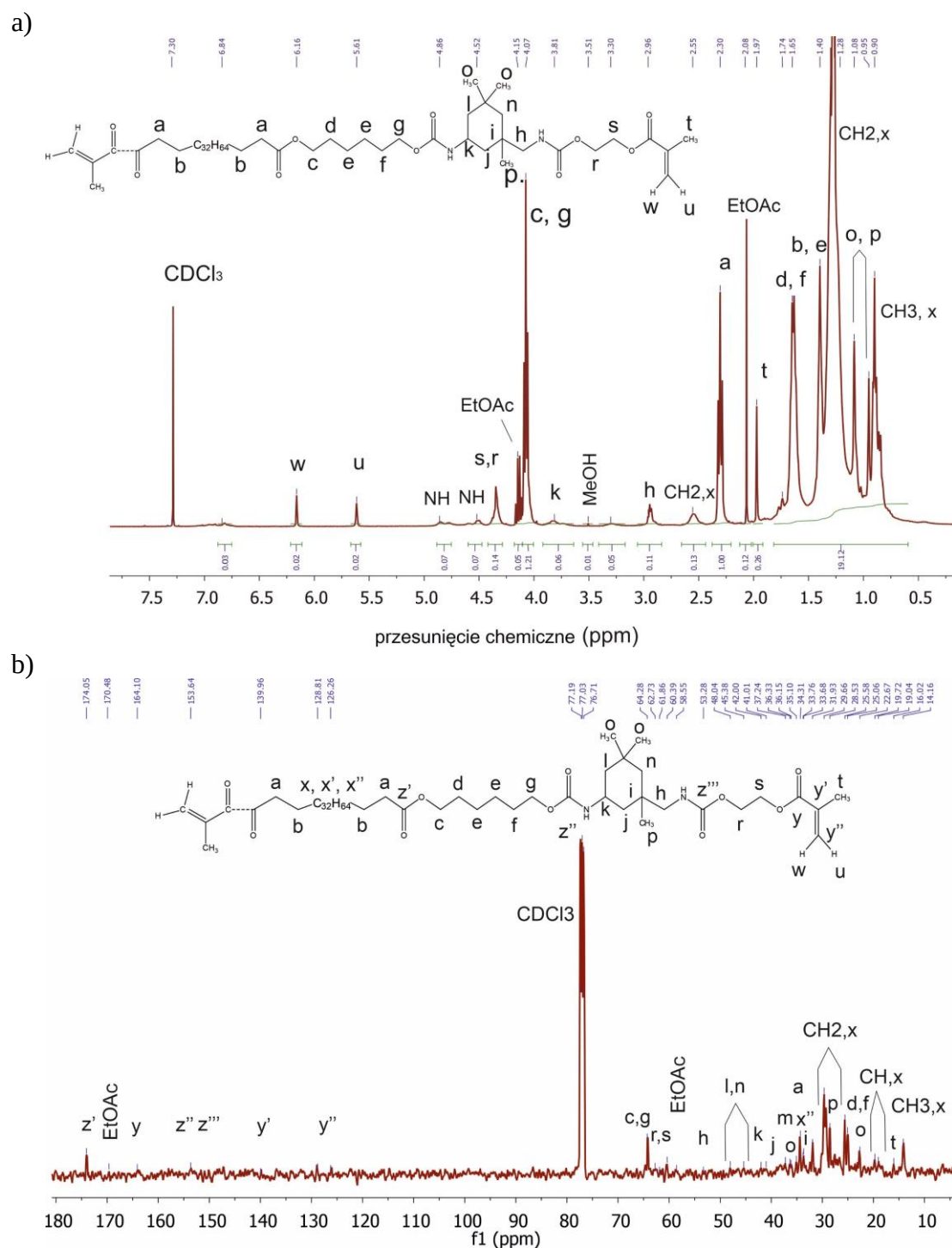
5.1.1 Struktura chemiczna

Struktura chemiczna makromonomerów została zbadana za pomocą spektroskopii FT-IR i NMR. Na Rysunek 9 przedstawiono widmo w podczerwieni przykładowego makromonomeru otrzymanego przy wykorzystaniu 4% molowych katalizatora ZnAc (PrZnAc_4). Analiza widm potwierdziła terminalną funkcjonalizację (metakrylowanie), na co wskazuje obecność pasm przy 1642 cm^{-1} i 940 cm^{-1} , które odpowiadają drganiom rozciągającym C=C.

Szerokie pasmo przy 3372 cm^{-1} pochodzi od drgań N-H oraz tlenu z grupy karbonylowej. Pasma około 1527 cm^{-1} przypisuje się drganiom zginającym N-H i rozciągającym C-N. Pasma 1461 i 1419 cm^{-1} również można przypisać drganiom zginającym N-H. Intensywne pasmo przy ok. 1732 cm^{-1} jest charakterystyczne dla drgań rozciągających C=O w wiązaniach estrowych polioliu poliestrowego, uretanu i grup metakrylowych. Ponadto pasma związane z obecnością grup estrowych obserwuje się przy 1303 i w zakresie $1236\text{--}1046\text{ cm}^{-1}$, są one związane z drganiami C-O-C, C-O i O-C-C. Natomiast pasma w zakresie $2858\text{--}2936\text{ cm}^{-1}$ i 1364 cm^{-1} są charakterystyczne dla drgań rozciągających C-H w łańcuchu alifatycznym. Przykładowe widmo protonowego i węglowego rezonansu magnetycznego wraz ze szczegółową analizą znajduje się na Rysunek 10, natomiast pozostałe można znaleźć w jednej z prac poświęconej katalizatorom [149,150].



Rysunek 9 Widmo makromonomeru estrowo-uretanowego (PrZnAc₄), wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami



Rysunek 10 Widmo a) ^1H NMR i b) ^{13}C NMR makromonomeru estrowo-uretanowego (PrZnAc₄), wraz z przypisanymi charakterystycznymi sygnałami

5.1.2 Masy molowe i lepkość makromonomerów

Wyniki analizy metodą chromatografii żelowej (GPC) przedstawiono w Tabeli 4. Wszystkie makromonomery wykazały zwiększenie masy cząsteczkowej oraz zmniejszenie dyspersji w porównaniu z wyjściowym poliolem poliestrowym, Priplastem 1838. W przypadku reakcji przeprowadzonych z mniejszą ilością katalizatora, najwyższą średnią

masę cząsteczkową, M_w (~13 000 g/mol), osiągnięto stosując BiHex. Natomiast dla reakcji z 4 mol% katalizatora, najwyższą wartość M_w , również około 13 000 g/mol, uzyskano przy użyciu ZnAc. Wartość dyspersyjności mas molowych wszystkich uzyskanych makromonomerów była zbliżona i wynosiła około 1,75. Ponadto, kształty chromatogramów dla wszystkich makromonomerów były podobne, z niewielkimi obserwowanymi przesunięciami. Istotnie, otrzymane makromonomery nie wykazywały istotnych różnic w wartościach M_w w porównaniu z tymi uzyskanymi w literaturze [127], pomimo zmiany warunków reakcji (katalizatora i rozpuszczalnika). Wyniki pomiarów lepkości dynamicznej zostały przedstawione w Tabeli 4. Wszystkie makromonomery wykazały wyraźny wzrost lepkości w porównaniu z Priplastem 1838, co potwierdza przyłączenie IPDI i HEMA do cząsteczki, a tym samym udaną syntezę. Obecność ugrupowań uretanowych i estrowych powoduje wzrost lepkości ze względu na tworzące się międzycząsteczkowe wiązania wodorowe. Zgodnie z oczekiwaniami, dane te w dużej mierze korelowały z wynikami mas molowych.

Tabela 4 Lepkość dynamiczna i wyniki GPC dla polioliu poliestrowego (Priplast P1838) i zsyntetyzowanych makromonomerów

Material	Stężenie katalizatora [mol%]	$\bar{M}_n$ [g/mol]	$\bar{M}_w$ [g/mol]	$\bar{D} [\bar{M}_w/\bar{M}_n]$	Lepkość [Pa*s]
Priplast 1838 (P1838)	-	3 700	7 800	2.12	19
PrDBTDL_2	2	8 100	11 600	1.64	396
PrBiNDE_2	2	9 400	11 700	1.58	420
PrBiHex_2	2	8 300	12 400	1.77	496
PrZnAc_2	2	8 500	12 500	1.78	400
PrDBTDL_4	4	9 000	13 400	1.76	513
PrBiNDE_4	4	8 000	11 800	1.75	325
PrBiHex_4	4	7 500	10 700	1.72	362
PrZnAc_4	4	8 900	13 800	1.77	543
PrMg-Ti_0.1	0,1	10000	17 500	1.74	172
PrMg-Ti_0.25	0,25	8200	14 100	1.71	162
PrMg-Ti_0.5	0,5	8200	13 000	1.58	136
PrMg-Ti_1	1	7500	11 400	1.53	119

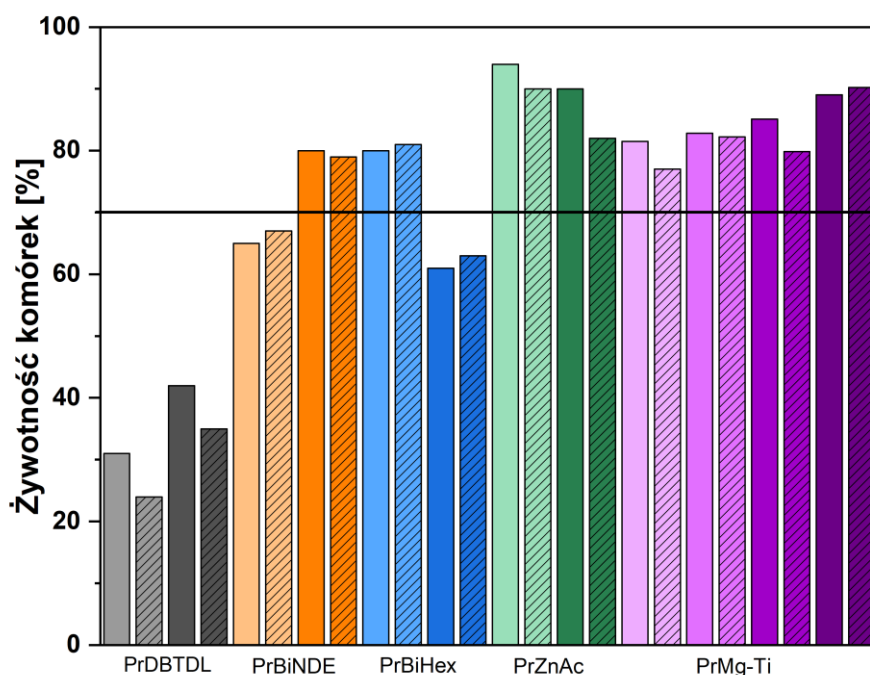
5.1.3 Badania cytotoksyczności

W celu wyboru sposobu syntezy komponentu A przeprowadzono fotopolimeryzację kompozycji składających się z makromonomerów zsyntezowanych w opisany powyżej sposób i 2% wag. fotoinicjatora Omnirad 819. Polimeryzację prowadzono w atmosferze powietrza oraz argonu. Otrzymane filmy poddano badaniu cytotoksyczności. Wyniki testów metodą pośredniego kontaktu przedstawione na Rysunek 11 potwierdzają niską toksyczność materiałów otrzymanych przy wykorzystaniu nietoksycznych katalizatorów (BiNDE, BiHex, ZnAc, Mg-Ti) bez względu na stężenie katalizatora. Najwyższe wartości żywotności komórkowej otrzymano dla katalizatora cynowego (powyżej 90%). Co ważne, we wszystkich przypadkach morfologia komórek była prawidłowa.

Ponadto przeprowadzony eksperyment wykazał, że fotopolimeryzacja materiałów zarówno w atmosferze powietrza, jak i w atmosferze gazu obojętnego (argonie-

zakreskowane słupki) nie wpłynęło istotnie na cytotoksyczność, co wskazuje na niewielki wpływ inhibicji tlenowej. Niską toksyczność sieci polimerowej i nieprzereagowanego makromonomeru oraz znaczący wpływ toksyczności resztkowego katalizatora na toksyczność końcowego materiału potwierdza fakt, iż pomimo znacząco niższych wyników frakcji żelowej dla materiałów z serii PrMg-Ti (40%–76%) uzyskano wysokie wartości żywotności komórkowej (~80%) [150].

Ponadto wszystkie otrzymane sieci polimerowe (tj. na bazie makromonomerów zsyntezowanych z różnymi katalizatorami) wykazywały wysoką elastyczność, wydłużenie wynosiło około 120%, spełniając wymagania stawiane biomateriałom do zastosowań w inżynierii tkanek miękkich [85,155,156].



Rysunek 11 Żywotność komórkowa sieci polimerowych otrzymanych z wykorzystaniem różnych katalizatorów i różnych stężeń. Słupki zakreskowane przedstawiają wyniki dla próbek utwardzanych w atmosferze argonu, natomiast niezakreskowane atmosferę powietrza. Odcień jaśniejszy odpowiada niższemu stężeniu katalizatora

5.2 Kinetyka fotosieciowania na przykładzie wybranego makromonomeru

W celu wyboru fotoinicjatora oraz zbadania wpływu jego stężenia, atmosfery sieciowania oraz intensywności światła przeprowadzono badania przy wykorzystaniu aparatu DSC z przystawką optyczną z filtrem UV. Zbadano kinetykę fotosieciowania za pomocą modeli izotermicznych Sestak–Berggen oraz Avrami.

Fotoinicjator wybrano na podstawie wstępnych badań. Mianowicie wybrany makromonomer (PrZnAc_4, opisany szczegółowo w rozdziale powyżej) zmieszano w stosunku masowym 2% z jednym z 6 fotoinicjatorów: Omnirad 750, 784, 819, 2022, 2100 i TPO, a następnie kompozycje utwardzono w atmosferze obojętnej (argon) i utleniającej (powietrze) zgodnie z wcześniej opisaną procedurą. Usieciowane materiały poddano badaniom cytotoksyczności oraz określono frakcję żelową w celu oceny wpływu rodzaju katalizatora i warunków sieciowania na toksyczność i stopień usieciowania sieci

polimerowych. Wyniki umieszczone w Tabeli 5 jednoznacznie wskazują na wysoką zawartość frakcji żelowej (GF). Wartości GF wynoszą ponad 80% dla większości filmów z wyjątkiem sieci polimerowej otrzymanej z wykorzystaniem fotoinicjatora Omnirad 784. Żywotność komórkowa dla tych samych sieci jest najniższa i wynosi około 20%. Biokompatybilność sieci oceniono również na podstawie zdjęć mikroskopowych komórek. Najlepsze wyniki uzyskano dla Omniradu 2022 (GF ~86%, żywotność komórek po kontakcie z ekstraktami z filmów sieciowanych w powietrzu wynosiła 91%) i wykorzystywanego już na wcześniejszym etapie Omniradu 819 (GF ~87%, żywotność komórek po kontakcie z ekstraktami z filmów sieciowanych w powietrzu wynosiła 87%).

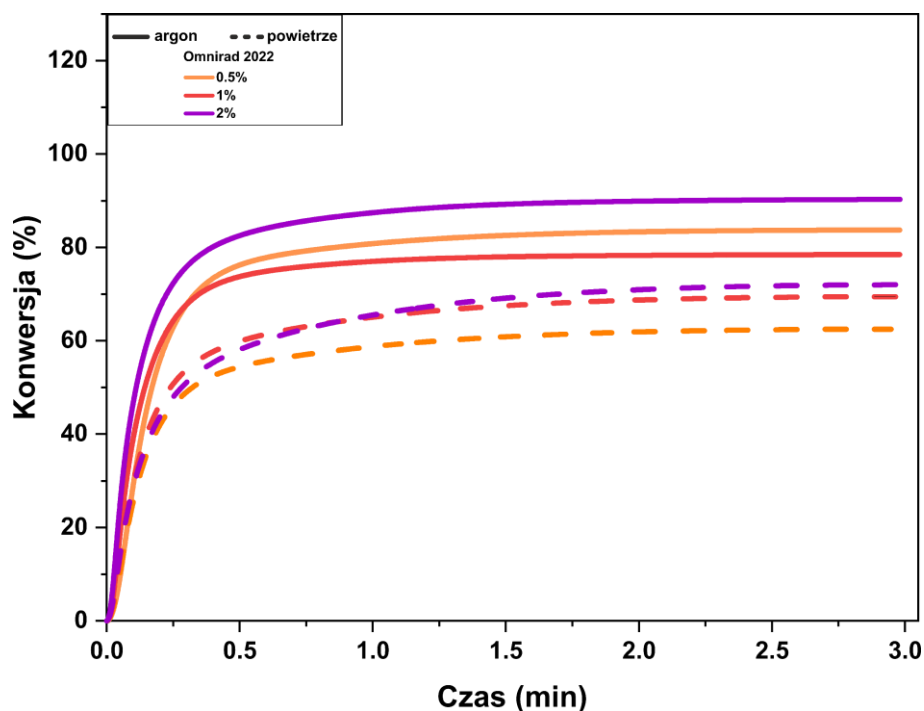
Tabela 5 Frakcja żelowa i żywotność komórkowa sieci polimerowych otrzymanych z wykorzystaniem różnych fotoinicjatorów

Omnirad	Atmosfera sieciowania	Frakcja żelowa (GF)	Żywotność komórkowa
750	powietrze	85	88
	argon	92	82
784	powietrze	72	22
	argon	77	19
819	powietrze	87	87
	argon	90	90
2022	powietrze	87	91
	argon	86	82
2100	powietrze	86	80
	argon	86	62
TPO	powietrze	87	80
	argon	90	77

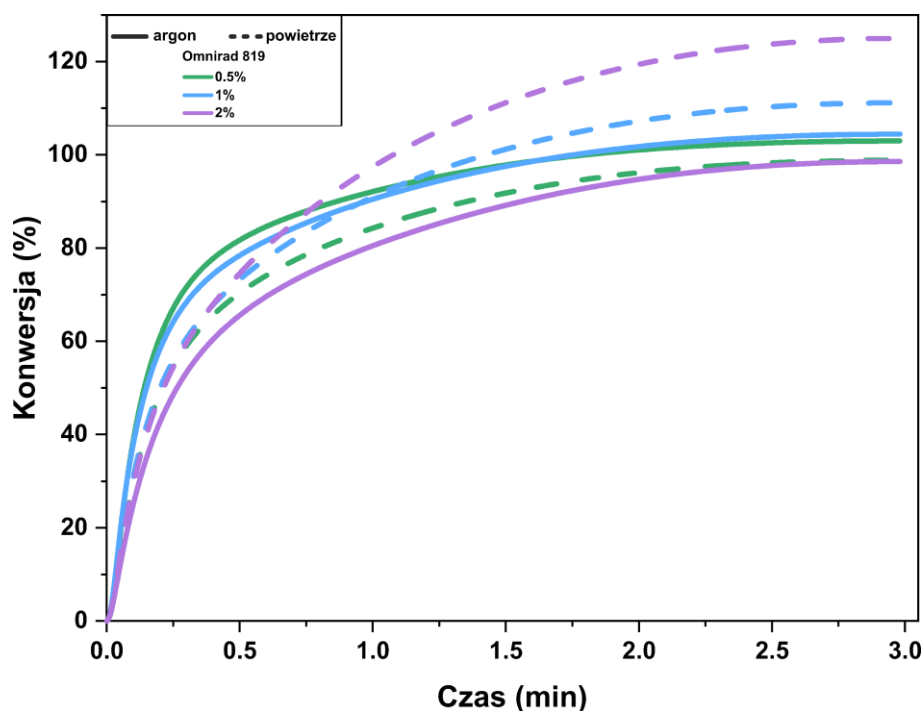
Za pomocą foto-DSC zbadano wpływ stężenia fotoinicjatorów Omnirad 2022 i Omnirad 819, rodzaju atmosfery i natężenia światła UV na konwersję makromonomerów i szybkość reakcji, a wyniki opublikowano w pracy [157]. W pracy tej przedstawiono badania przeprowadzone przy wykorzystaniu filtra o długości fali 365 nm i zastosowanej intensywności promieniowania $/\text{cm}^2$ i $50 \text{ mW}/\text{cm}^2$.

Rysunek 12 przedstawia zmiany konwersji w funkcji czasu dla kompozycji zawierających makromonomer i zmienną ilość fotoinicjatorów Omnirad 2022 (Rysunek 12a) i Omnirad 819 (Rysunek 12b) sieciowanych przy intensywności promieniowania $20 \text{ mW}/\text{cm}^2$. Niektóre z obliczonych maksymalnych konwersji przekraczają 100%, co wynika z przyjętej przybliżonej wartości ciepła polimeryzacji. W literaturze wyznaczone eksperymentalnie wartości ciepła polimeryzacji monomerów metakrylanowych wynoszą od 45 do $60 \text{ kJ}/\text{mol}$, w zależności od struktury monomeru [131,132,158]. Według danych literaturowych, wartości konwersji przekraczające 100% zostały odnotowane przez Andrzejewską (dla kompozycji z diakrylanem 2,2'-tiobisetanolu (TEDA), diakrylanem 2,2'-oksybisetanolu (OEDA))[159].

a)



b)



Rysunek 12 Konwersja monomeru w funkcji czasu dla różnych stężeń 0,5, 1 i 2% wag. fotoinicjatora a) Omnirad 2022 i b) Omnirad 819

Fotopolimeryzacja w obecności Omniradu 819 (Rysunek 12b) pozwoliła na uzyskanie wyższych konwersji w atmosferze powietrza w porównaniu z kompozycją zawierającą Omnirad 2022 (Rysunek 12a). Co ciekawe, w przypadku układów zawierających Omnirad 2022 można zaobserwować wyraźną różnicę między konwersją w atmosferze obojętnej (argon) a konwersją w utleniającej atmosferze powietrza. Znacznie niższą wartość konwersji w powietrzu można wyjaśnić jako wynik inhibicji tlenowej,

ponieważ tlen powoduje wygaszanie wzbudzonych stanów inicjatorów, zmniejszając w ten sposób wydajność inicjacji.

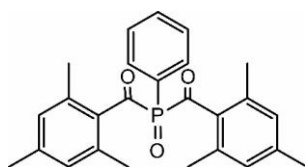
Dodatkowo, tlen reaguje z rodnikami propagującymi i pierwotnymi. W wyniku tych reakcji powstają mało reaktywne w stosunku do monomeru rodniki nadtlenkowe. Ponadto rodniki te z łatwością reagują z innymi rodnikami pierwotnymi i makrorodnikami w wyniku czego następuje zmniejszenie szybkości propagacji oraz zwiększenie szybkości terminacji. Przyczynia się to również do niekorzystnego skrócenia łańcucha kinetycznego. Natomiast obecność donorów atomu wodoru w układzie, pozwala na utworzenie nowego rodnika zdolnego do propagacji, poprzez przyłączenie atomu wodoru do rodnika ponadtlenkowego [160].

Odwrótny wpływ obecności tlenu na maksymalną konwersję ($C_{\max}$) zaobserwowano dla kompozycji z Omniradem 819, gdzie próbki sieciowane w powietrzu wykazywały wyższą (lub podobną przy 0,5% stężeniu fotoinicjatora) konwersję w porównaniu do próbek sieciowanych w argonie.

Materiały sieciowane z wykorzystaniem Omnirad 2022 wykazywały wyższe $C_{\max}$ wraz ze wzrostem stężenia fotoinicjatora, tj. 1 i 2 mol%, a zmiany te były niezależne od atmosfery sieciowania. W przypadku Omnirad 819 (Rysunek 12b) podobny trend obserwuje się tylko dla materiałów sieciowanych w atmosferze powietrza (im wyższe stężenie fotoinicjatora, tym wyższa konwersja).

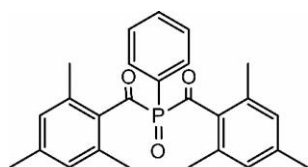
Obserwowane różnice można wyjaśnić, analizując struktury chemiczne fotoinicjatorów. Oba fotoinicjatory są fotoinicjatorami typu I. Oznacza to, że rodniki powstają w wyniku homolitycznego rozpadu stanu inicjatora wzbudzonego przez światło. Omnirad 819 to nazwa handlowa tlenku bis(2,4,6-trimetylobenzoilo)-fenylofosfiny, natomiast Omnirad 2022 to mieszanka zawierająca Omnirad 819 (do 25%) i dwa inne fotoinicjatory: TPO-L [fosfinian etylofenylo(2,4,6-trimetylobenzoilo)fenylo] i Omnirad 1173 (2-hydroksy-2-metylo-1-fenylopropanon), a ich struktury chemiczne przedstawiono na Rysunek 13.

a)

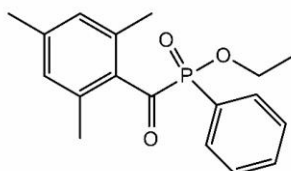


Omnirad 819

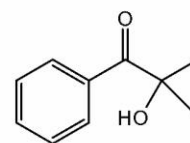
b)



Omnirad 819
10<25%



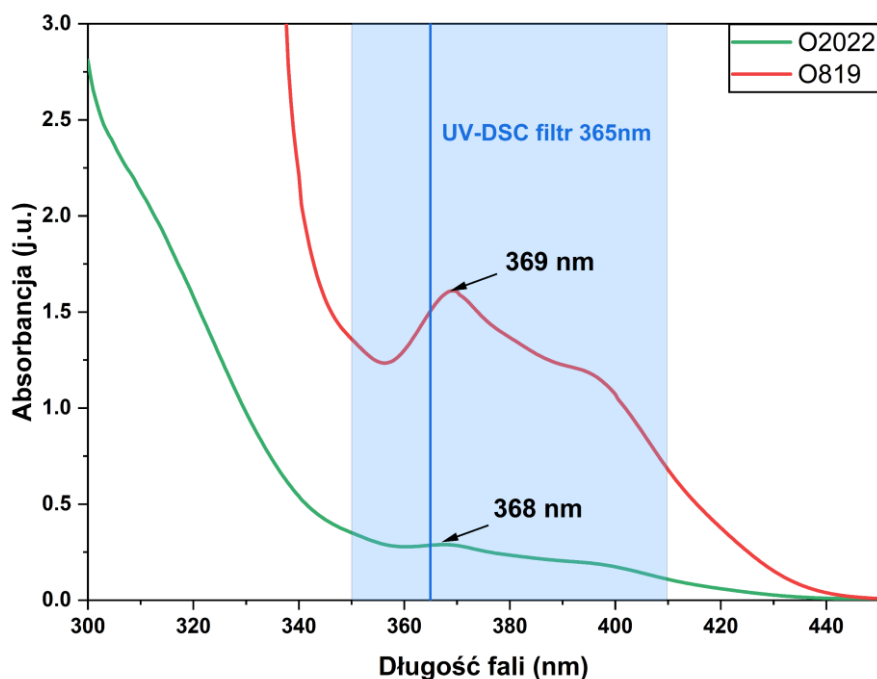
TPO-L
5<10%



Omnirad 1173
70<90%

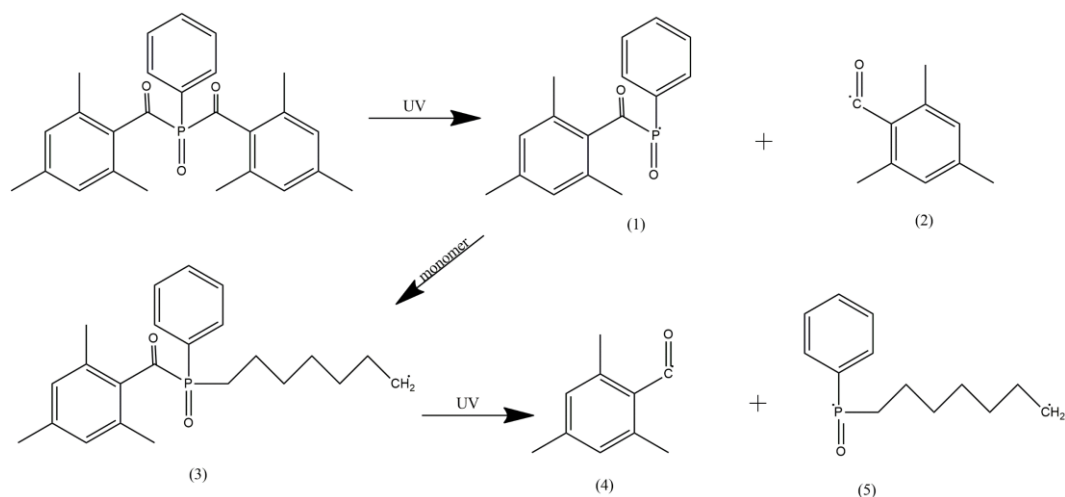
Rysunek 13 Struktura chemiczna a) Omnirad 819 i b) składników blendy Omnirad 2022, który jest mieszaniną Omnirad 819, TPO-L i Omnirad 1173

Zastosowane fotoinicjatory absorbują światło w zakresie długości fali 360 – 420 nm. Maksymalna adsorpcja Omnirad 819 w acetonitrylu, jak podaje producent, występuje przy 380 nm, natomiast przeprowadzone pomiary wykazały maksymalną absorbancję przy 369 nm (Rysunek 14). Maksimum adsorpcji Omnirad 2022, według producenta, znajduje się przy 370 nm, podczas gdy wyniki eksperymentalne wykazały maksimum przy 368 nm (Rysunek 14).



Rysunek 14 Widma fotoinicjatorów wykonane dla roztworów 0,1% w acetonitrylu (zgodnie z kartą katalogową)

Zarówno Omnirad 819, jak i TPO-L (składniki Omnirad 2022) są tlenkami fosfiny. Ich fotoliza (zilustrowana dla Omnirad 819 na Rysunek 15) prowadzi do powstania dwóch rodników – fosfinoilowego (1) i benzoilowego (2) [161]. Oba rodniki inicjują polimeryzację, ale rodniki fosfinowe są bardziej reaktywne wobec monomerów winylowych niż rodniki benzoilowe – stała szybkości inicjacji jest dla nich o 1–2 rzędy wielkości wyższa. Po przyłączeniu rodnika fosfinyłowego do monomeru/oligomeru (3), może nastąpić kolejny rozpad, skutkujący utworzeniem drugiego rodnika benzoilowego (4) i większego dirodnika (5).



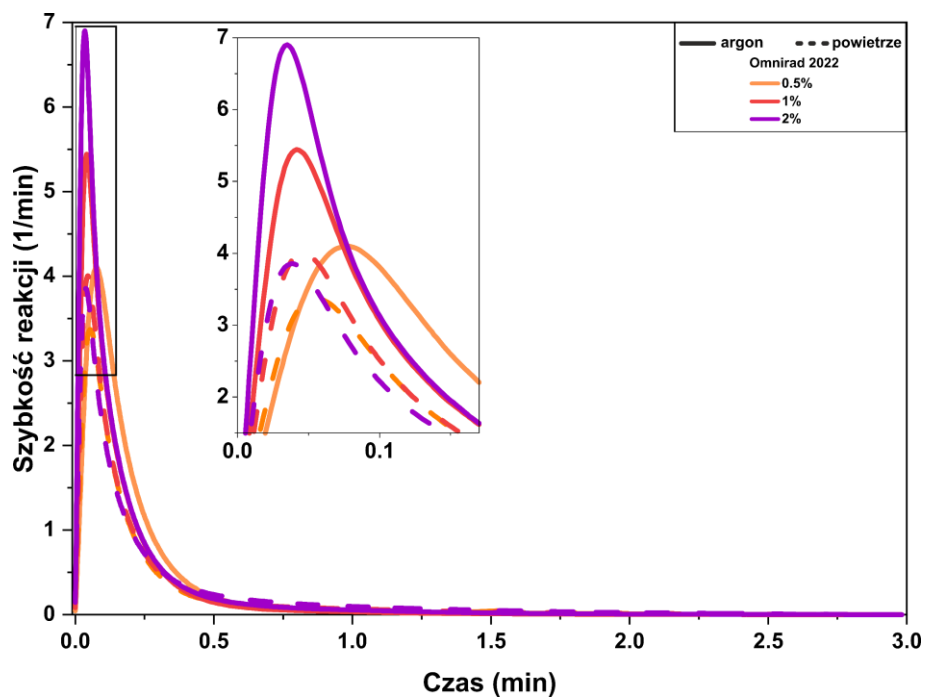
Rysunek 15 Dwuetapowa fotoliza Omnirad 819 [161]

Pomimo że kompozycje otrzymane z użyciem tego fotoinicjatora nie wykazują lepkości powierzchniowej, to niestety mają one ograniczoną głębokość utwardzania w porównaniu np. do TPO-L [162]. Aby osiągnąć równowagę między wysokim stopniem usieciowania powierzchni i głębszych warstw materiału, zwykle zaleca się stosowanie mieszanin Omnirad 819 z innymi fotoinicjatorami. Przykładem takiej blendy jest Omnirad 2022, zawierająca pochodną acetofenonu zawartą w Omnirad 1173. Dodatkową zaletą innych fotoinicjatorów fosfinowych (takich jak TPO-L) jest fakt, że jeden z powstających rodników ma strukturę liniową. Ten znacznie mniejszy przestrzennie rodnik pozbawiony pierścienia aromatycznego, znacznie łatwiej pokonuje przeszkody steryczne i dociera do wiązań podwójnych makromonomeru z większą wydajnością [64].

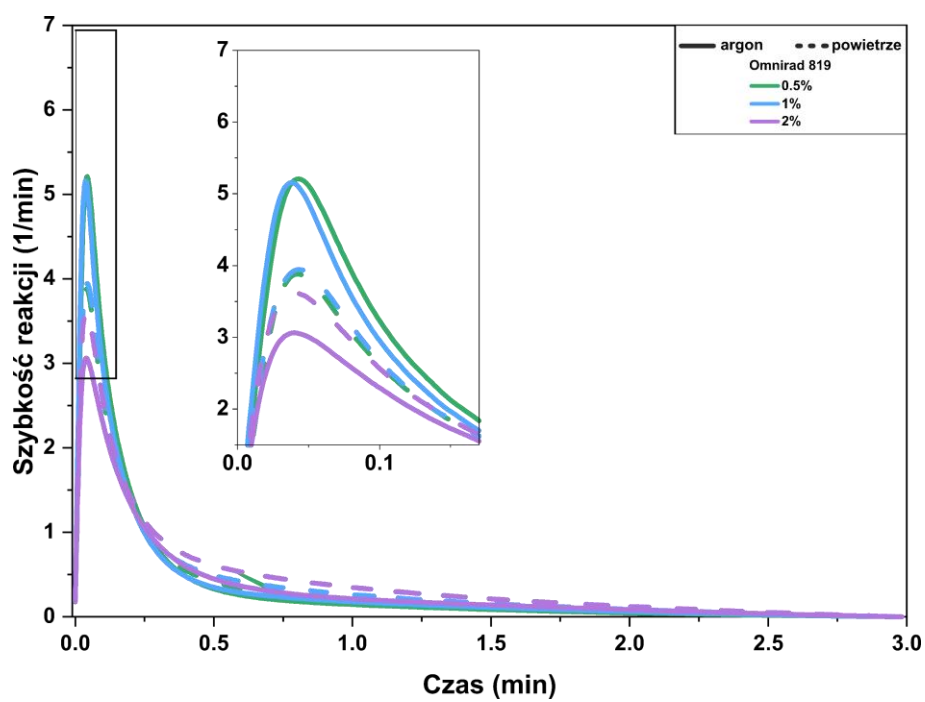
Porównując różnice w budowie chemicznej Omnirad 819 i Omnirad 2022, wyraźnie widać, że w przypadku tego drugiego, mieszanina trzech fotoinicjatorów: Omnirad 1173 (70<90%), TPO-L (5<10%) i Omnirad 819 (który stanowi tylko 10<25%), ma bezpośredni wpływ na wyższe C_{max} przy wyższej zawartości Omnirad 2022 w atmosferze obojętnej.

Co więcej, zwiększenie zawartości inicjatora w przypadku sieciowania w atmosferze argonu skutkuje najwyższą maksymalną szybkością reakcji, R_{max} , co przedstawiono na Rysunek 16. Wyższe stężenie fotoinicjatora Omnirad 2022 (Rysunek 16a) skutkuje wyższą szybkością inicjacji i generowaniem większej liczby rodników na początku reakcji, co przyspiesza propagację. Natomiast zastosowanie Omnirad 819 (Rysunek 16b) nie wykazało takiej korelacji.

a)

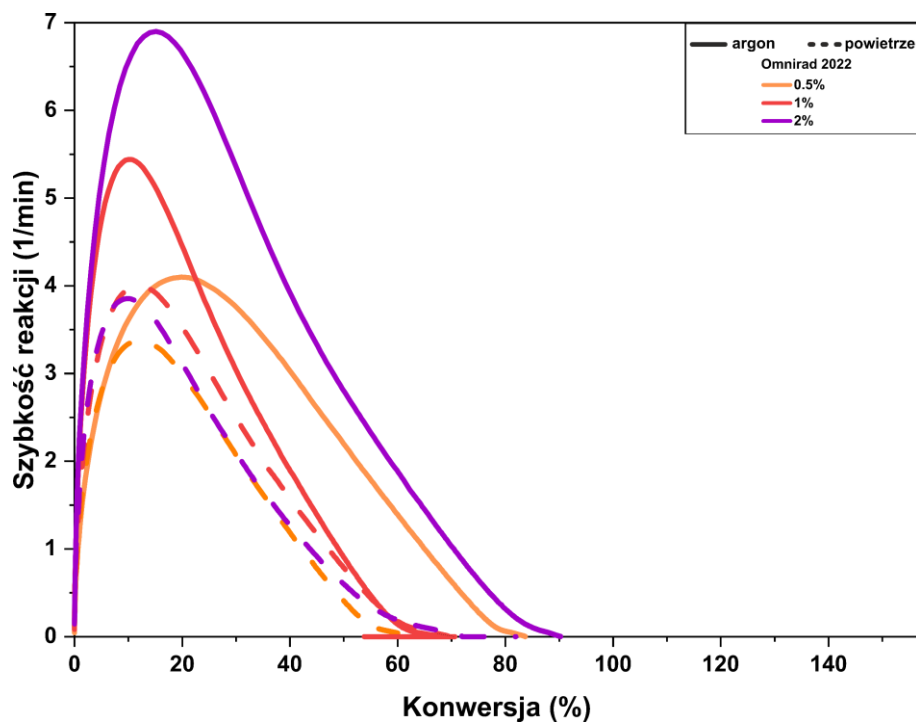


b)

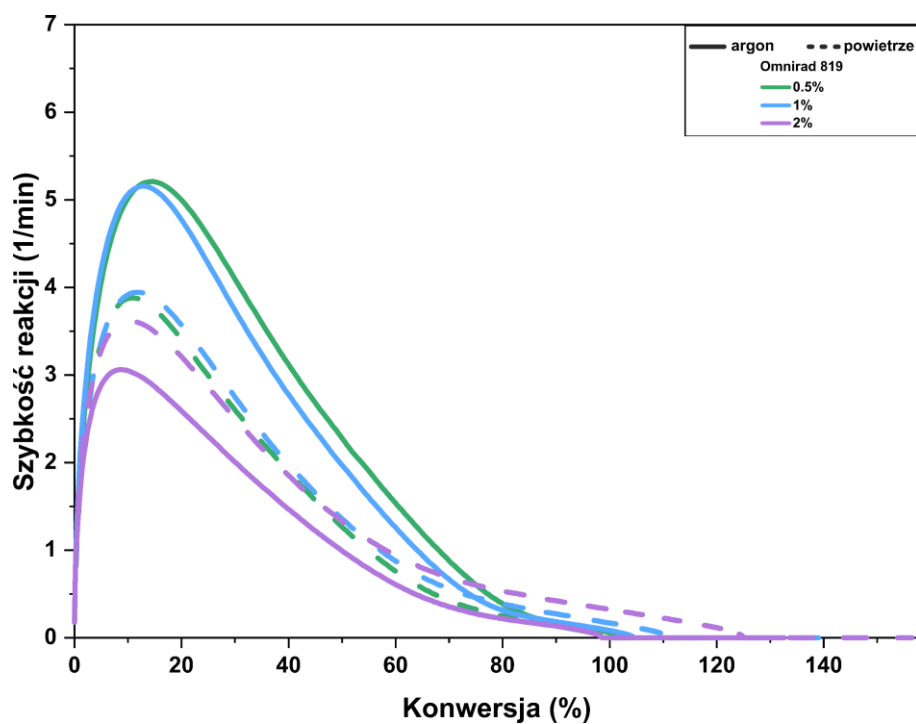


Rysunek 16 Szybkość reakcji w funkcji czasu dla różnych stężeń 0,5, 1 i 2% wag. fotoinicjatora a) Omnirad 2022 i b) Omnirad 819

a)



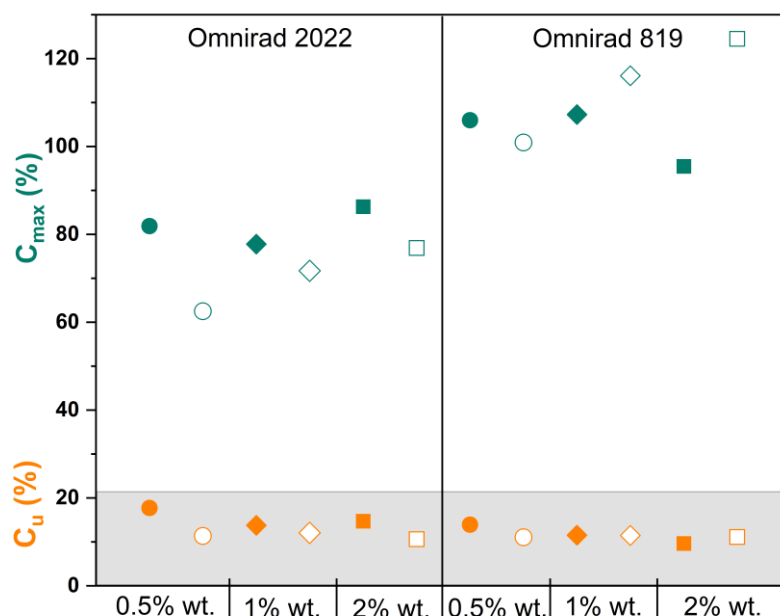
b)



Rysunek 17 Szybkość reakcji w funkcji konwersji dla różnych stężeń 0,5, 1 i 2% wag. fotoinicjatora a) Omnirad 2022 i b) Omnirad 819

Kształt wszystkich krzywych $R(C)$ (Rysunek 17) wskazuje na autokatalityczny przebieg reakcji, gdyż maksymalna szybkość reakcji ($R_{\max}$) jest osiągana bardzo szybko na początkowym etapie. Kompozycje z blendą fotoinicjatorów (Omnirad 2022) osiągają $R_{\max}$ przy niższych konwersjach (piki są węższe) niż dla kompozycji z Omniradem 819. Co więcej, wartości $R_{\max}$ różnią się znacząco dla układów z różnymi fotoinicjatorami. Wartości

$R_{\max}$ rosną wraz ze spadkiem stężenia fotoinicjatora Omnirad 819. Ponadto, wyższe wartości $R_{\max}$ są osiągane w atmosferze argonu, a różnica między atmosferami jest większa dla niższych stężeń fotoinicjatora, podczas gdy dla najwyższego stężenia (2 mol% Omnirad 819) wartości $R_{\max}$ są równe niezależnie od atmosfery. Natomiast, wartości $R_{\max}$ rosną wraz ze wzrostem stężenia Omnirad 2022, wpływ atmosfery jest istotny i niezależny od stężenia fotoinicjatora.

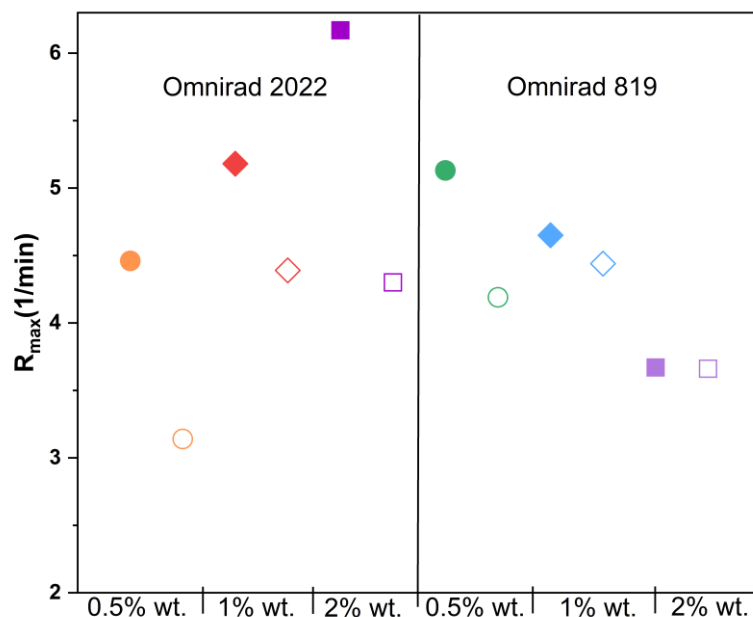


Rysunek 18 Wpływ warunków fotopolimeryzacji na wartość konwersji przy najwyższej szybkości reakcji (C_u , na szarym tle) i maksymalną konwersję ($C_{\max}$) dla reakcji w atmosferze argonu (symbole wypełnione) i powietrza (symbole puste)

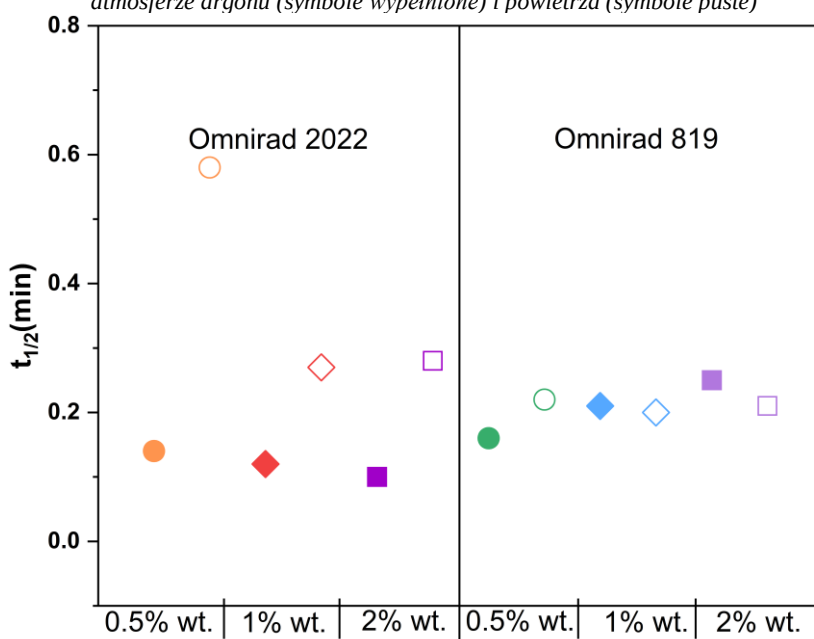
Maksymalna szybkość reakcji dla kompozycji zawierających Omnirad 2022 jest znacznie wyższa niż dla systemów z Omnirad 819. Może to wynikać z różnic w strukturach, a tym samym zakresu spektralnego fotoinicjatorów. W badaniu wykorzystano filtr 365 nm, maksimum absorpcji Omnirad 2022 jest bliższe tej wartości (według producenta: 370 nm, zmierzone na naszej aparaturze: 368 nm), podczas gdy maksimum absorpcji Omnirad 819 jest bardziej odległe (a z karty informacyjnej wynika, że przypada na 380 nm, zmierzone eksperymentalnie: 369 nm) (Rysunek 14). Prowadzi to również do wniosku, że wyższa szybkość reakcji skutkuje niższą maksymalną konwersją. Można to wyjaśnić analizując wartości rzędu reakcji, n (Tabela 6, Rysunek 21b). Wysokie wartości n (powyżej 2) wskazują na występowanie zjawiska terminacji z powodu wysokiej lepkości (ograniczona swobodna dyfuzja w układzie). Innymi słowy, dla układów, które osiągnęły wyższą maksymalną szybkość reakcji, obserwuje się wyższe wartości n . Gwałtowny wzrost lepkości układu, a tym samym ograniczenie swobodnej dyfuzji opisane przez n -ty rząd reakcji, spowodowało spowolnienie reakcji, a tym samym wywołało niższe maksymalne konwersje. Dodatkowo, porównanie konwersji przy maksymalnej szybkości reakcji (C_u) pokazuje nieco wyższe wartości dla układów zawierających Omnirad 2022 niż dla Omniradu 819.

Biorąc pod uwagę Rysunek 12a, Rysunek 16a, Rysunek 17a (układy z Omnirad 2022), można zauważyć, że wyższe stężenie fotoinicjatora skutkuje wyższymi wartościami szybkości reakcji. Można przypuszczać, że wynika to z większej liczby utworzonych rodników. Z drugiej strony, kompozycje zawierające Omnirad 819, jak pokazano na

Rysunek 12b, Rysunek 16, Rysunek 17b, wykazują jedynie niewielkie różnice między stężeniami 0,5% i 1% fotoinicjatora. Ponadto, zauważono nietypowe zjawiska przy wyższym stężeniu fotoinicjatora Omnirad 819 (2%), przy którym uzyskuje się znacząco niższą $R_{\max}$.



Rysunek 19 Wpływ warunków fotopolimeryzacji na maksymalną szybkość reakcji ($R_{\max}$) dla reakcji w atmosferze argonu (symbole wypełnione) i powietrza (symbole puste)



Rysunek 20 Wpływ warunków fotopolimeryzacji na czas potrzebny do osiągnięcia 50% konwersji ($t_{1/2}$) dla reakcji w atmosferze argonu (symbole wypełnione) i powietrza (symbole puste)

Na Rysunek 18, Rysunek 19 i Rysunek 20 widoczne są znaczące różnice między atmosferami fotosieciowania. Najwyższe maksymalne szybkości reakcji wynoszące 6,17 min^{-1} osiągnięto dla próbki zawierającej 2% wag. fotoinicjatora Omnirad 2022 sieciowanej w atmosferze argonu. Dla porównania, $R_{\max}$ dla tej samej kompozycji fotosieciowanej sieciowanej w atmosferze powietrza przyjmuje wartość 4,36 min^{-1} . Największy wpływ

inhibicji tlenowej obserwuje się dla kompozycji z Omnirad 2022. Dla układów z Omnirad 819, wpływ atmosfery jest o wiele mniej zauważalny, szczególnie przy wyższych stężeniach fotoinicjatora (Rysunek 16). W związku z tym można stwierdzić, że jeden lub oba z pozostałych związków chemicznych (TPO-L lub/i Omnirad 1173) z blendy Omnirad 2022 (patrz Rysunek 14) jest/są bardziej wrażliwe na cząsteczki tlenu.

Wyższe maksymalne konwersje uzyskano dla kompozycji z Omniradem 819. Różnice między tymi samymi kompozycjami utwardzanymi w powietrzu i argonie są niewielkie, z wyjątkiem najwyższego stężenia fotoinicjatora, gdzie zauważalnie wyższe wartości $C_{\max}$ uzyskano dla próbek sieciowanych w atmosferze bogatej w tlen. W przeciwieństwie do tego, maksymalne konwersje kompozycji z Omniradem 2022 zależą od obecności tlenu w atmosferze fotopolimeryzacji (wyższe $C_{\max}$ uzyskano dla kompozycji utwardzanych w argonie).

Inhibicja tlenowa wpływa na $t_{1/2}$ (Rysunek 20), ale głównie na układy utwardzane z wykorzystaniem fotoinicjatora Omnirad 2022. Co więcej, wzrost stężenia fotoinicjatora minimalizuje efekt inhibicji tlenowej, co jest związane z generowaniem większej liczby rodników. Podsumowując, systemy utwardzane za pomocą Omnirad 2022 są bardziej podatne na inhibicję tlenową podczas utwardzania światłem o natężeniu 20 mW/cm^2 niż te (Rysunek 21) utwardzane za pomocą Omnirad 819.

Parametry kinetyczne fotosieciowania przedstawiono w Tabeli 6 i na Rysunek 21. Stała szybkości k , jest zależna od reaktywności układu, rodzaju i stężenia inicjatora, atmosfery reakcji, natężenia światła oraz temperatury. Porównując wartości k dla badań wykonanych w tej samej temperaturze i atmosferze, można ocenić względną reaktywności fotoinicjatora. Jak wynika z Rysunek 21a, Omnirad 2022 jest bardziej reaktywny niż Omnirad 819, gdyż znacznie wyższe wartości k (od 0,68 do 0,38) uzyskano dla Omnirad 2022 w porównaniu do Omnirad 819 (od 0,26 do 0,11). Co zaskakujące, wzrost stężenia fotoinicjatora prowadzi do niższych wartości stałej szybkości reakcji. Wpływ atmosfery na stałą szybkości reakcji jest pomijalny.

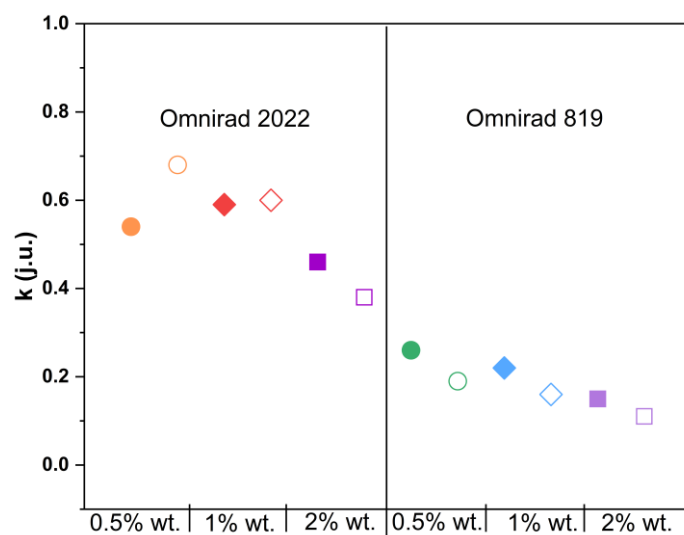
Wartości cząstkowego rzędu reakcji m przedstawione na Rysunek 21b informują o efekcie akceleracji. Wyższa wartość m wskazuje na silniejszy wpływ autoakceleracji na kinetykę fotopolimeryzacji, natomiast gdy przyjmuje wartość zero, oznacza to brak dopasowania do modelu autoakceleracji. Autoakceleracja jest indukowana przez zmniejszenie szybkości reakcji terminacji. Wartość cząstkowego rzędu reakcji, m dla wszystkich kompozycji jest większa niż zero, co potwierdza autokatalityczny przebieg reakcji oraz uzasadnia wybór modeli kinetycznych. Najwyższe wartości m obserwuje się dla Omnirad 2022 i najniższych stężeń fotoinicjatora, generalnie obserwuje się ten sam trend co w przypadku stałej szybkości reakcji.

Cząstkowy rząd reakcji n został szczegółowo omówiony już wcześniej w celu wyjaśnienia różnic w $C_{\max}$. Dla wszystkich układów osiągnięto wysokie wartości n powyżej 2 (z wyjątkiem wartości 1,73 znalezionej dla 2 % mas. roztworu Omnirad 819 w powietrzu). Podobnie jak w przypadku innych parametrów kinetycznych obliczonych na podstawie modelu Sestaka-Berggrena, inhibicja tlenowa jest obserwowana głównie dla Omnirad 2022 i niższych stężeń fotoinicjatorów (mniejsza liczba generowanych rodników)

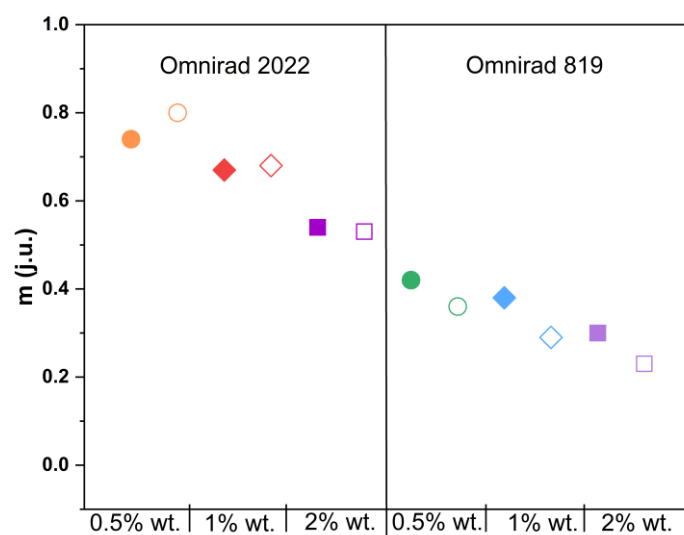
Tabela 6 Parametry kinetyczne

fotoinicjator	Stężenie fotoinicjatora [%wt.]	atmosfera	k	n	m
Omnirad 2022	0,5	argon	0,54±0,07	3,39±0,25	0,74±0,03
		powietrze	0,68±0,21	6,12±0,24	0,80±0,08
	1	argon	0,59±0,03	3,80±0,07	0,67±0,01
		powietrze	0,60±0,01	4,85±0,38	0,68±0,02
	2	argon	0,46±0,02	3,03±0,45	0,54±0,06
		powietrze	0,38±0,01	4,32±0,68	0,53±0,02
Omnirad 819	0,5	argon	0,26±0,00	2,43±0,20	0,42±0,00
		powietrze	0,19±0,02	2,55±0,06	0,36±0,01
	1	argon	0,22±0,03	2,73±0,36	0,38±0,02
		powietrze	0,16±0,01	2,11±0,24	0,29±0,02
	2	argon	0,15±0,05	2,42±0,09	0,30±0,05
		powietrze	0,11±0,01	1,73±0,02	0,23±0,03

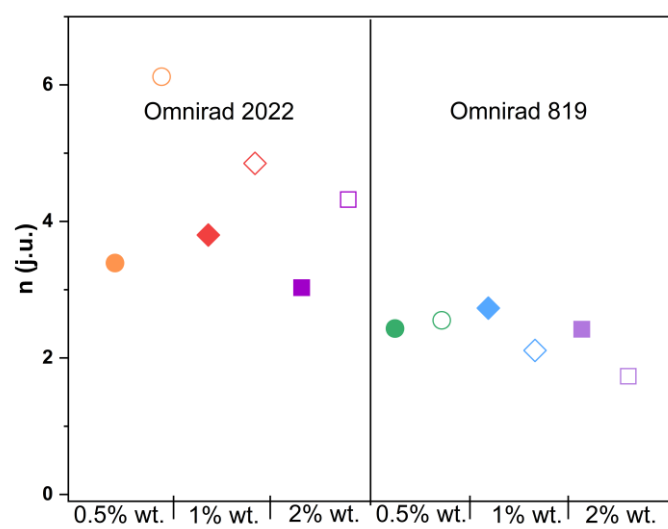
a)



b)



c)

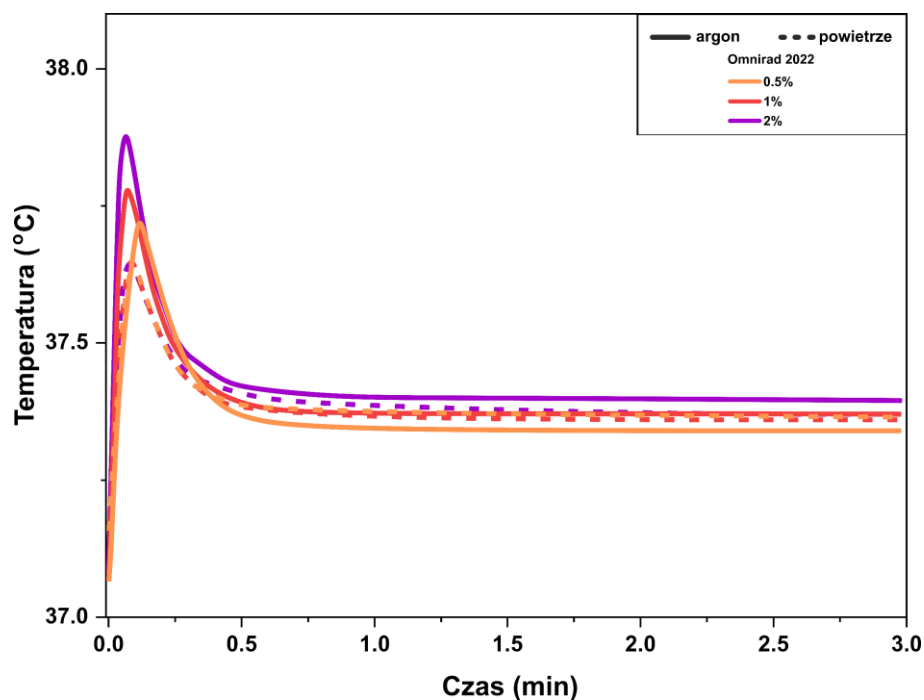


Rysunek 21 Wpływ natężenia światła na a) stałą szybkości k i cząstkowe rzędy reakcji b) n i c) m dla reakcji w atmosferze argonu (symbole wypełnione) i powietrza (symbole puste)

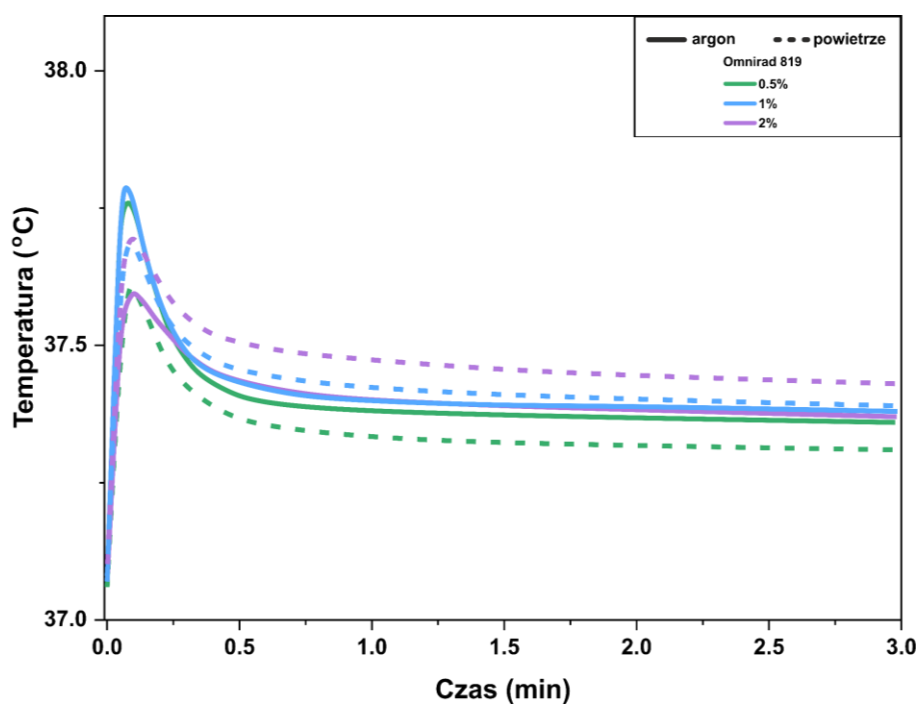
W przypadku wykorzystania materiałów w zastosowaniach medycznych i prowadzenia fotosieciowania *in situ in vivo* należy wziąć pod uwagę temperaturę towarzyszącą procesowi. Szczególnie duże znaczenia ma to w przypadku tkanek miękkich niezwykle podatnych na poparzenia. Fotosieciowaniu układów akrylowych zawsze towarzyszy uwalnianie energii w postaci ciepła (reakcja egzotermiczna), co powoduje znaczny wzrost temperatury nawet do 30–60°C (od temperatury pokojowej) [163–166]. Doskonałym przykładem takiego biomateriału są cementy kostne. Podczas polimeryzacji uwalniana energia cieplna może powodować martwice. W celu zapobiegania i minimalizowania ryzyka oparzeń stosuje się różne rozwiązania, takie jak stosowanie układów chłodzących, stopniowe aplikowanie i utwardzanie cementu, modyfikacja cementów w celu dodatku substancji obniżających temperaturę.

Przebieg temperatury w czasie fotosieciowania badanych układów przedstawiono na Rysunek 22. Maksymalny wzrost temperatury jest niewielki (maksymalnie z 37°C do 38,1°C), a przebieg krzywej przypomina kształtem przebieg wykresów $R(t)$. Maksymalna wartość osiągnięta jest na wczesnym etapie, po około 0,5 min temperatura spada do ~37,4°C. Można zatem stwierdzić, że natężenie promieniowania 20 mW/cm² jest bezpieczne, a efekt egzotermiczny nie powoduje znaczącego wzrostu temperatury niezależnie od stężenia fotoinicjatora, co jest ważne w zastosowaniach medycznych.

a)



b)



Rysunek 22 Profile temperaturowe systemów fotosieciowalnych z a) Omniradem 2022 i b) Omniradem 819 w funkcji czasu

5.3 Wytwarzanie hydrofobowych sieci polimerowych na podstawie wybranego prekursora (komponent A)

Biorąc pod uwagę uzyskanie zdecydowanie krótszego czasu reakcji syntezy makromonomerów z wykorzystaniem katalizatora w postaci octanu cynku (ZnAc),

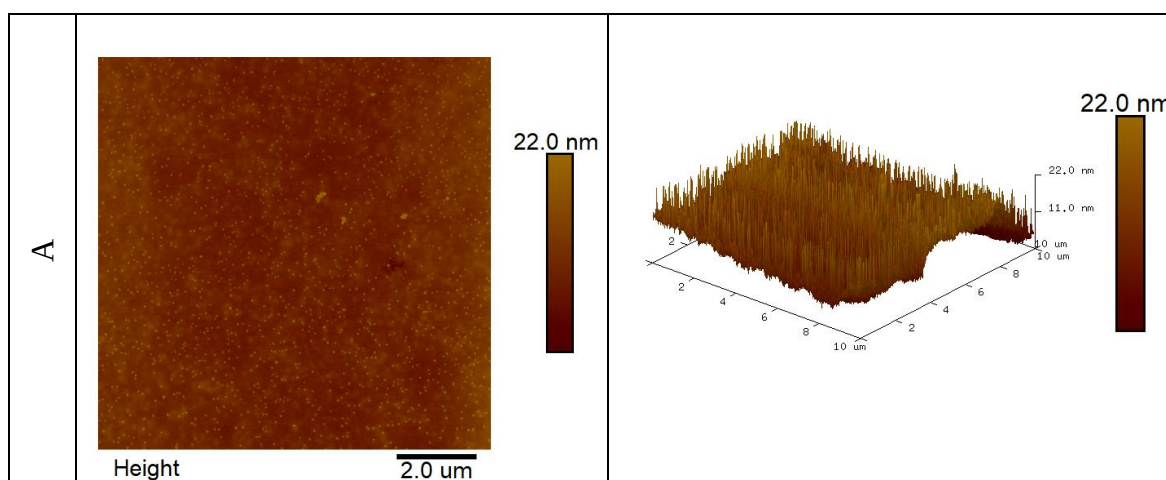
potwierdzoną badaniami nietoksyczność i korzystne parametry kinetyki fotopolimeryzacji opisane w rozdziale 5.2, wytworzono hydrofobowe sieci estrowo-uretanowe, stosując fotoinicjator Omnirad 2022 o stężeniu 1% wag., intensywność irradiancji 20 mW/cm² oraz atmosferę powietrza. Podstawowe parametry makromonomeru, nazywanego w dalszej części pracy komponentem A w układach hybrydowych zebrano w Tabeli 7.

Tabela 7 Zbiórce dane dotyczące komponentu A

$\bar{M}_n$ (GPC) [g/mol]	$\bar{M}_w$ (GPC) [g/mol]	$\bar{D} [\bar{M}_w / \bar{M}_n]$ (from GPC)	Masa molekularna (IV) [g/mol]	Lepkość dynamiczna 37°C [Pa*s]	Lepkość dynamiczna 25 °C [Pa*s]	T _g [°C]	Frakcja żelowa [%]
8063±272	13 525±328	1.67 ±0,05	5 426	170 ± 4	571 ± 17	-51,43±0,442	91±1

5.3.1 Analiza powierzchni A za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM)

Powierzchnia filmów zobrażowana za pomocą mikroskopii sił atomowych amorficznej sieci estrowo-uretanowej jest gładka i nie obserwuje się faz krystalicznych (Rysunek 23). Na jednorodnej powierzchni obserwuje się drobne zanieczyszczenia (jaśniejsze punkty), które powodują, iż na obrazie 3D obserwuje się chropowatość.



Rysunek 23 Zdjęcia 2D i 3D AFM estrowo-uretanowej sieci polimerowej

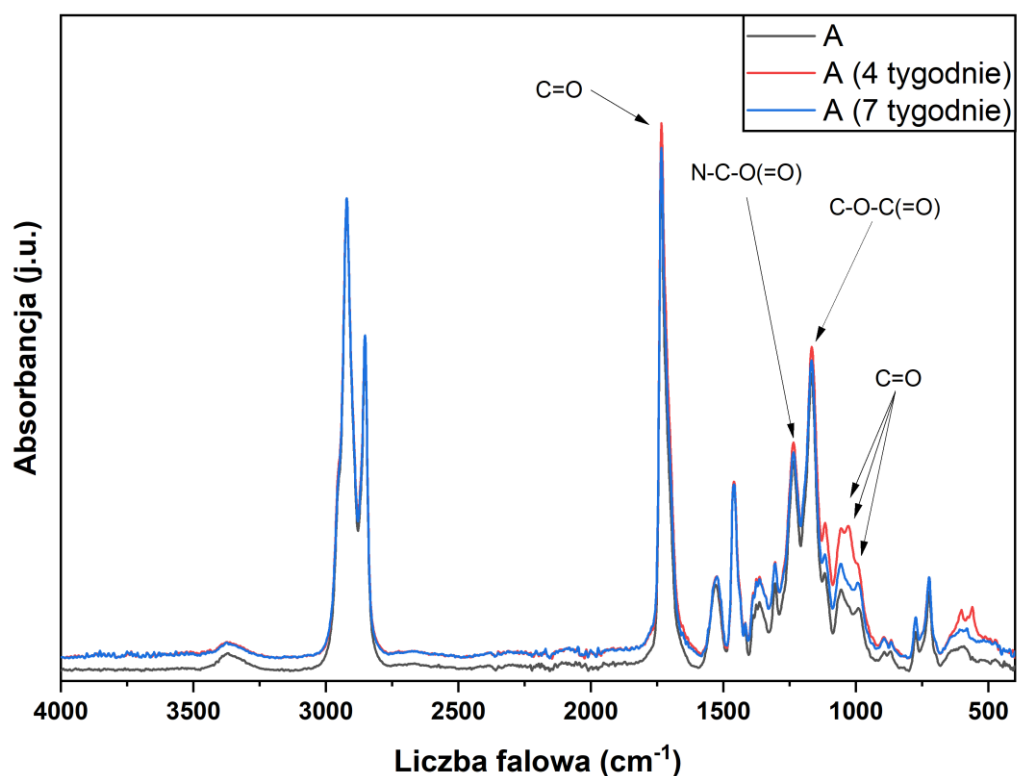
5.3.2 Degradacja hydrofobowych sieci estrowo-uretanowych

Otrzymane sieci polimerowe poddano serii badań mających na celu określenie ich profilu degradacji.

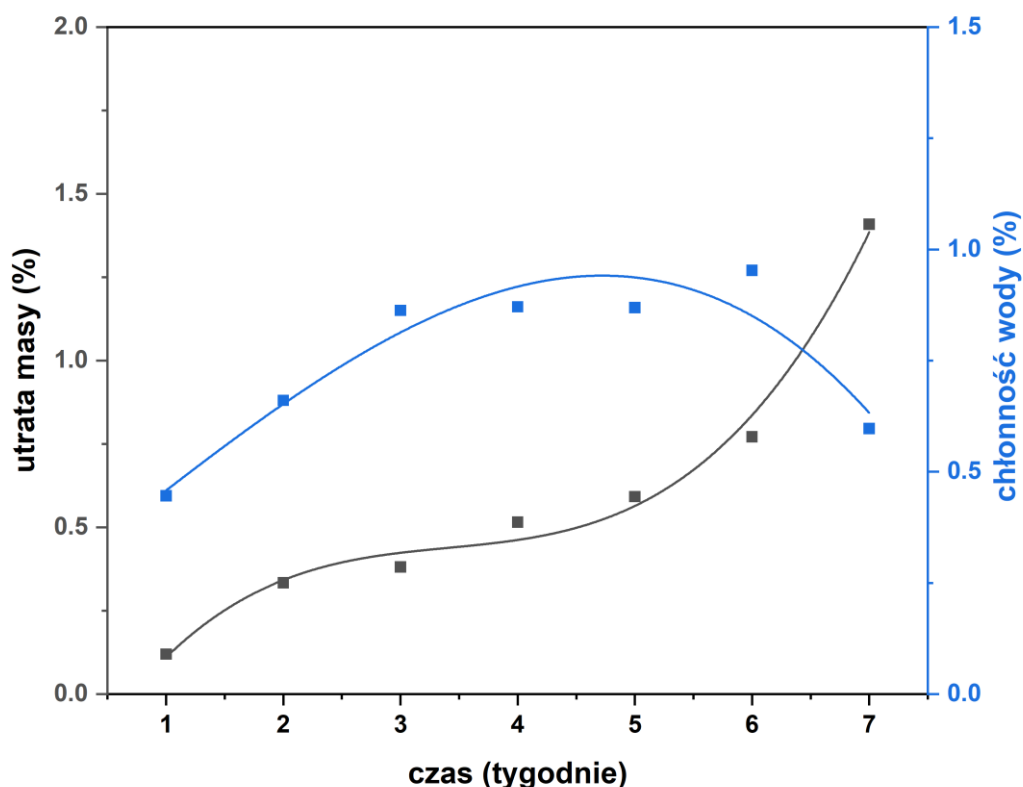
Degradacja hydrolityczna

Analiza widm ze spektroskopii FTIR hydrofobowej sieci estrowo-uretanowej (Rysunek 24) podczas degradacji hydrolitycznej nie wykazały znaczących różnic, co może wskazywać na względną stabilność struktury polimeru. Godne uwagi różnice w intensywności pasm są zauważalne w obszarze widma od 1250 do 980 cm⁻¹, gdzie wszystkie obserwowane pasma przypisuje się drganiom grupy funkcyjnej –wiązaniu uretanowemu (takich jak C-O, N-C(=O)-O, C-C-O, C-O-C). Wyniki te są zgodne z danymi literaturowymi, które potwierdzają podatność tylko wybranych grup funkcyjnych na degradację hydrolityczną, zwłaszcza wiązań uretanowych, które po hydrolizie ulegają rozkładowi do

alkoholu, aminy i dwutlenku węgla. Niewielkie zmiany w strukturze chemicznej badanych materiałów po degradacji hydrolitycznej w oparciu o FTIR są zgodne z utratą masy podczas degradacji, która wynosiła do 1% (Rysunek 25). Tak niewielką utratę masy można przypisać nieusieciowanej warstwie wierzchniej szybko zmytej z powierzchni polimeru. Wyniki te korelują z niezwykle niską chłonnością wody przez usieciowane filmy. Jest to wynikiem hydrofobowego charakteru materiału.



Rysunek 24 Zmiany w strukturze chemicznej w estrowo-uretanowej sieci polimerowej podczas degradacji hydrolitycznej



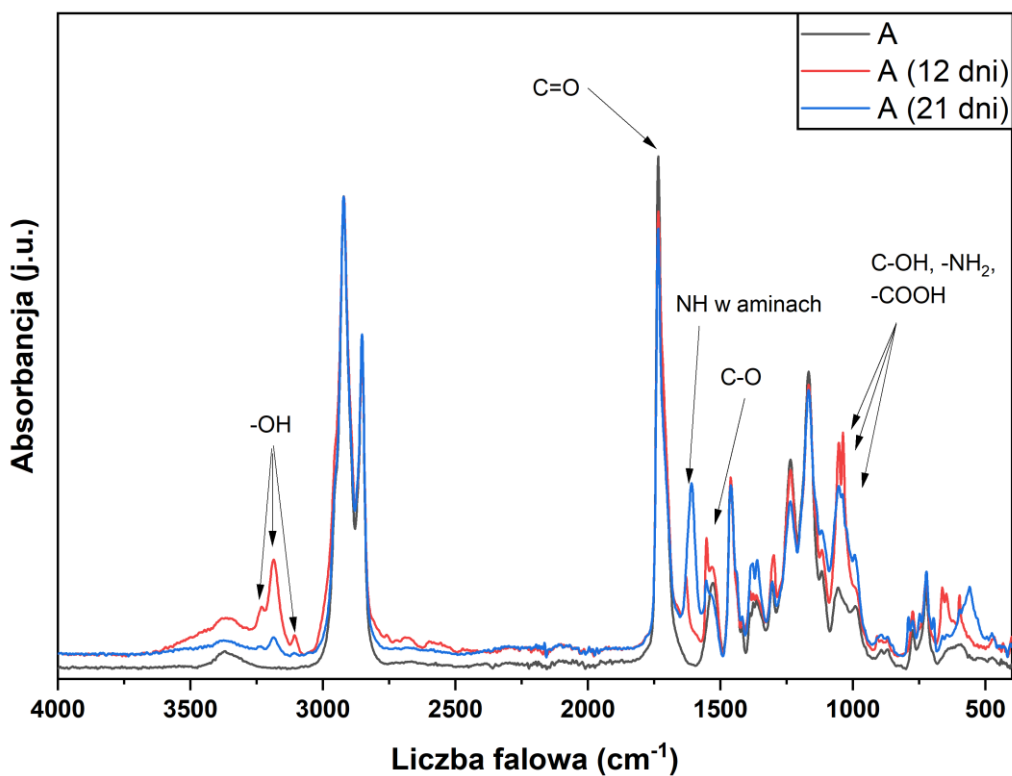
Rysunek 25 Ubytek masy i chłonność wody utwardzonych foli komponentu A podczas degradacji hydrolitycznej

Degradacja proteolityczna z wykorzystaniem trypsyny

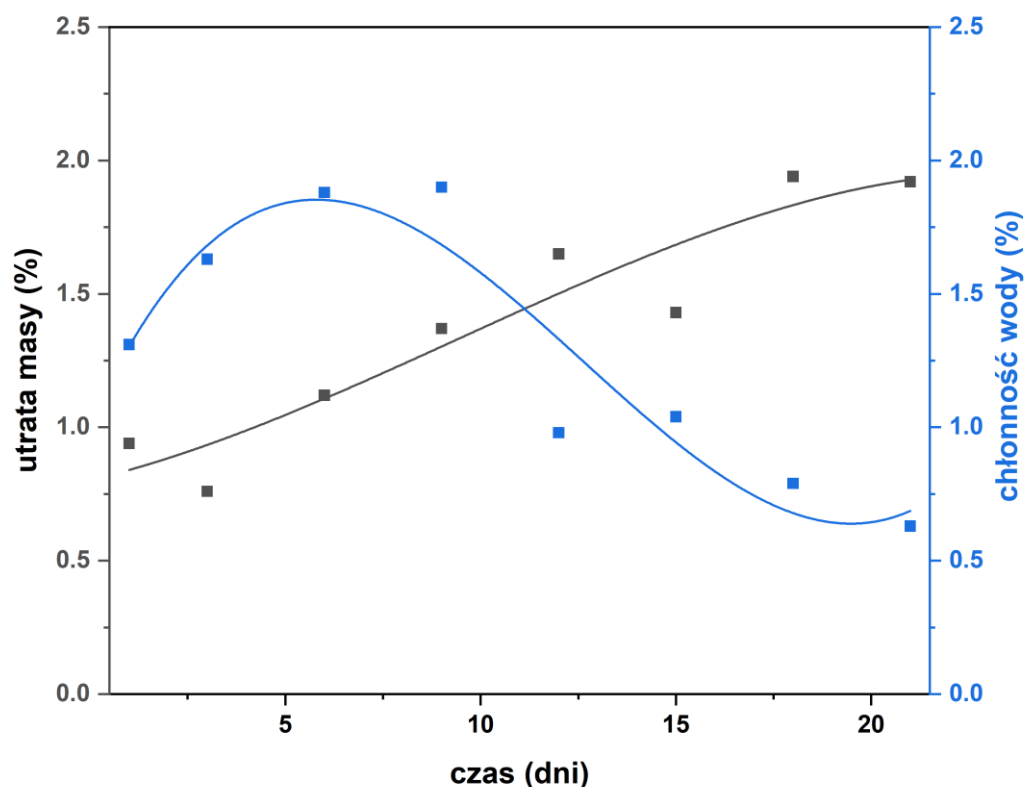
Na widmach FTIR (Rysunek 26) widoczne są znaczące różnice w zakresie $3500 - 3000\text{cm}^{-1}$ podczas degradacji proteolitycznej. W tym zakresie oprócz pasma przypisanego drganiom N-H w uretanie ($\sim 3369\text{ cm}^{-1}$) pojawiają się liczne pasma odpowiadające drganiu grupy hydroksylowej w alkoholach i kwasach karboksylowych ($3231, 3286, 3107\text{ cm}^{-1}$). Jest to efektem degradacji wiązania estrowego obecnego w strukturze polimeru, którego produktami degradacji są kwasy karboksylowe i alkohole. Ponadto obecność kwasów karboksylowych potwierdza obecność pasma około 1554 cm^{-1} będących wynikiem absorpcji drgania C-O. Natomiast obecność amin będących jednym z produktów degradacji wiązania uretanowego potwierdzają pasma około 1630 i 1609 cm^{-1} . Pasma przy 1053 i 1038 cm^{-1} potwierdzają obecność zarówno alkoholi, kwasów karboksylowych, jak i amin, gdyż odpowiadają drganiom rozciągającym C-O w $\text{CH}_2\text{-OH}$, C-N w R-NH_2 , oraz C-O w kwasach karboksylowych, jak i obecnych w polimerze wiązaniu estrowym.

Większe różnice w widmach po degradacji proteolitycznej mają swoje odzwierciedlenie w wynikach utraty masy i chłonności wody (Rysunek 27). Pomimo braku wiązań peptydowych obecność enzymu poskutkowała większą utratą masy i chłonnością wody niż w przypadku degradacji hydrolitycznej ($\sim 2\%$). Trypsyna, pomimo że jest enzymem proteolitycznym i powoduje rozkład wiązania peptydowego, może przyspieszać hydrolizę innych grup funkcyjnych takich jak wiązania estrowe i uretanowe, gdyż wiązanie peptydowe atakuje od strony karboksylowej występującej w obydwu tych przypadkach. W wyniku jej działania np. na białko, powstają na jednym końcu kwasy karboksylowe, a na drugim amina. Ponadto enzym ten może wpływać na właściwości powierzchniowe polimeru, zwiększając powierzchnię kontaktu polimeru z wodą.

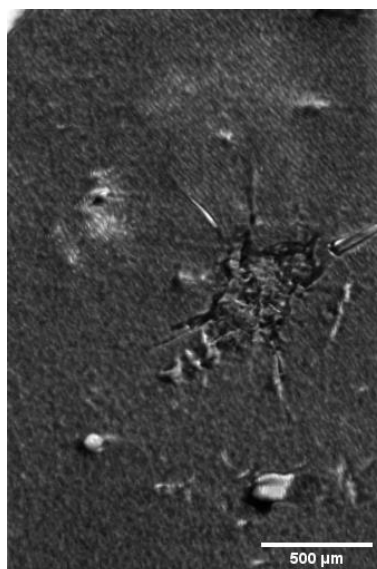
Zmiany morfologii powierzchni polimeru oceniono za pomocą mikrotomografii komputerowej. Rysunek 28 przedstawia powierzchnie polimeru estrowo-uretanowego po 21 dniach degradacji proteolitycznej, natomiast obrazy przedstawiające morfologie materiału po degradacji hydrolitycznej oraz przed degradacją są dostępne w publikacji [167]. Chropowatość powierzchni po degradacji hydrolitycznej uległa niewielkim zmianom, natomiast różnice te są o wiele bardziej zauważalne w przypadku próbki po degradacji enzymatycznej. Jest to wynik efektywniejszego działania enzymu, który rozszczepienia wiązania estrowe w strukturze komponentu A, prowadząc do powstawania większej liczby porów.



Rysunek 26 Zmiany w strukturze chemicznej w poliuretanie podczas degradacji proteolitycznej



Rysunek 27 Ubytek masy i chłonność wody utwardzonych foli komponentu A podczas degradacji proteolitycznej



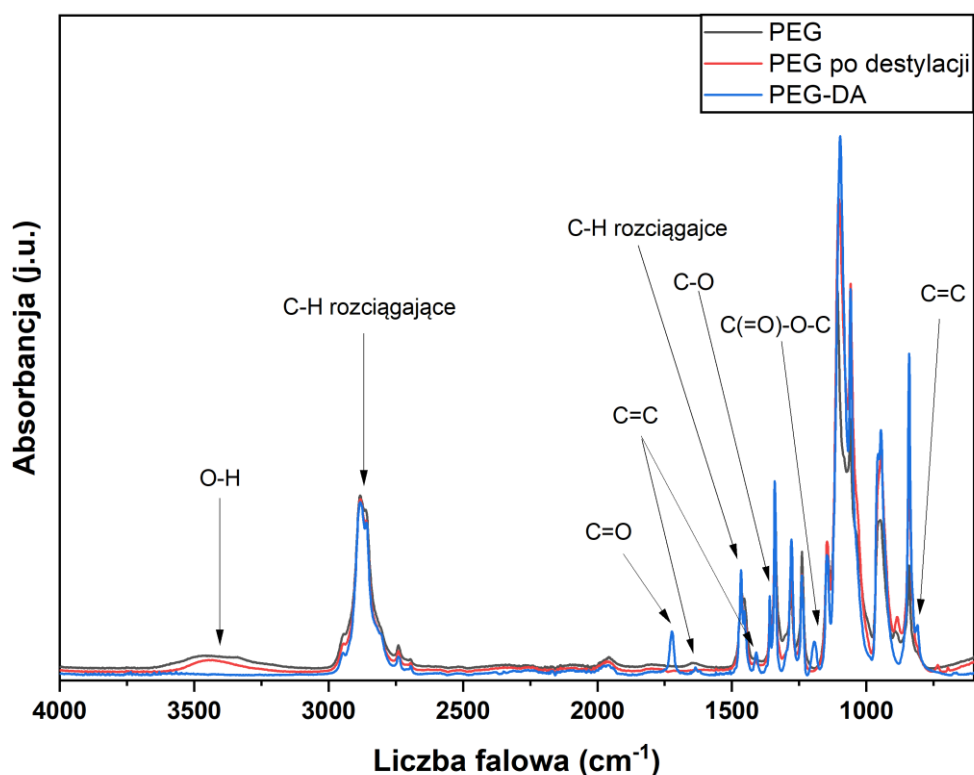
Rysunek 28 Zmiany morfologiczne w strukturze sieci polimerowej po 21 dniach degradacji proteolitycznej

5.4 Synteza i struktura PEG-yłowanego fibrynogenu (komponentu B)

Struktura chemiczna wyjściowego fibrynogenu oraz otrzymanego PEG-yłowanego fibrynogenu i produktów pośrednich zostały potwierdzone za pomocą spektroskopii FT-IR.

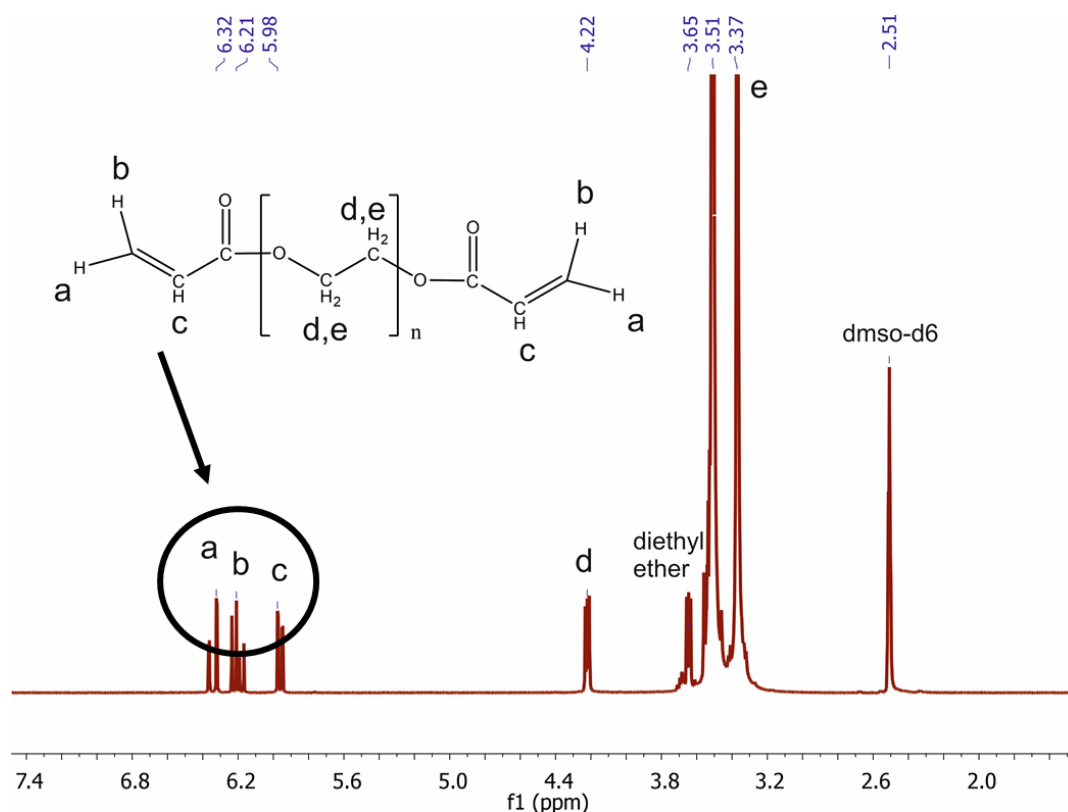
Proces PEG-ylacji fibrynogenu wymaga najpierw przeprowadzenia reakcji akrylowania PEGu. Widma przedstawione na Rysunek 29 potwierdzają skuteczność suszenia za pomocą destylacji azeotropowej, jak i otrzymanie diakrylowanego (PEG-DA).

Charakterystyczne szerokie pasmo w zakresie $3500-3200\text{cm}^{-1}$ odpowiadające drganiom grupy hydroksylowej jest widocznie węższe po suszeniu oraz całkowicie zanika po przeprowadzeniu diakrylacji, potwierdzając poprawne przeprowadzenie suszenia i modyfikacji PEG. Ponadto terminalną funkcjonalizację (akrylowanie PEG) potwierdza obecność pasm przy 1723 cm^{-1} odpowiadających drganiom $\text{C}=\text{O}$ w nowopowstałym wiązaniu estrowym oraz pasma 1642 , 1410 i 810 cm^{-1} odpowiadające drganiom $\text{C}=\text{C}$. Ponadto pasmo 1194 cm^{-1} również jest powiązane z drganiami grupy estrowej $\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{C}$. Pozostałe pasma w zakresie $1300-1160\text{ cm}^{-1}$ są charakterystyczne dla drgań $\text{C}-\text{O}$ również w grupach estrowych. Intensywne pasma w zakresie $1150-1085\text{ cm}^{-1}$ odpowiadają asymetrycznym drganiom rozciągającym $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ w łańcuchu PEG. Pasma w zakresie $2900-2700\text{ cm}^{-1}$ są charakterystyczne dla drgań $\text{C}-\text{H}$ w łańcuchu.



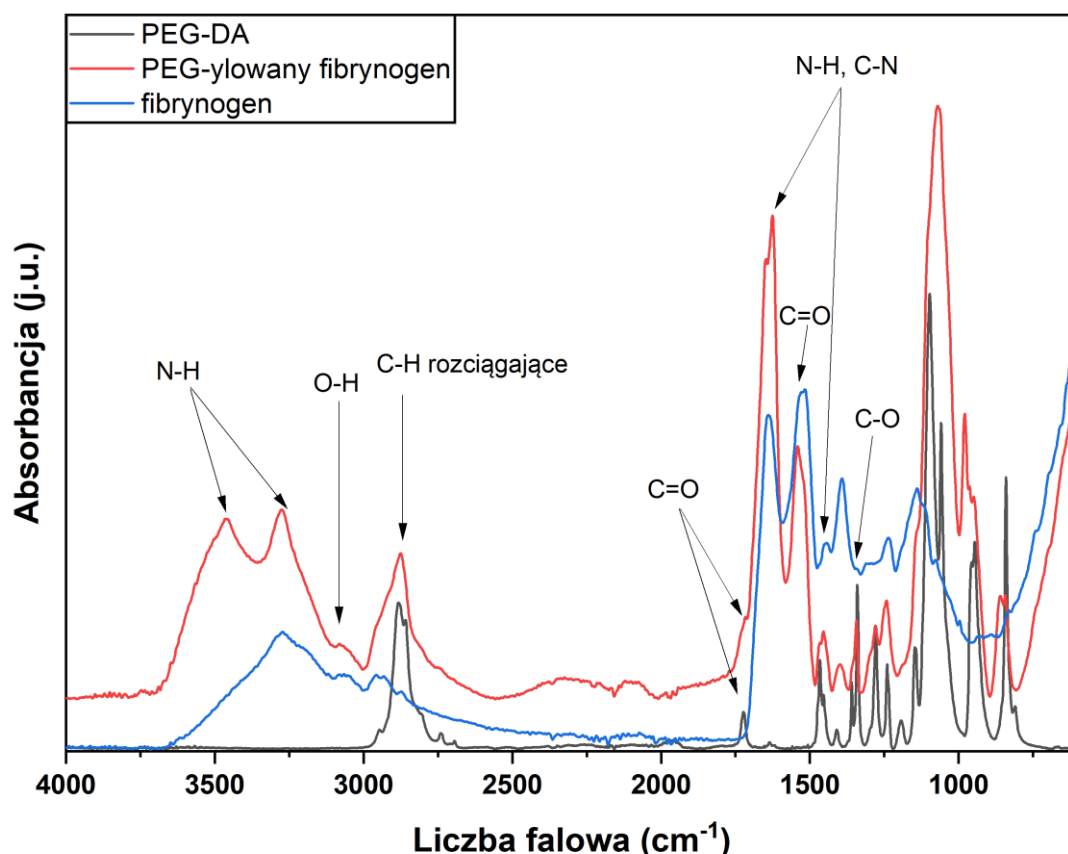
Rysunek 29 Widmo poli(glikol etylenowy) przed i po suszeniu oraz po diakrylacji, wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami

Dodatkowo struktura diakrylowanego-PEG została potwierdzona za pomocą NMR (Rysunek 30). Obecność sygnałów na widmie ^1H NMR przy 5,61, 6,16 i 6,40 ppm potwierdzają obecność grup $\text{C}=\text{C}$ z pochodzących z przyłączonego chlorku akryloilu, a tym samym otrzymanie pożądanego struktury.



Rysunek 30 Widmo NMR diakrylowanego-PEG wraz z przypisanymi sygnałami

Na Rysunek 31 przedstawiono widmo PEG-ylowanego fibrynogenu i wyjściowych substratów: fibrynogenu i PEG-DA. W zakresie 3600 do 3100 cm^{-1} obserwowalne są dwa szerokie pasma (3464 cm^{-1} i 3275 cm^{-1}), które można przypisać kolejno drganiom rozciągającym asymetrycznym i symetrycznym N-H, amid pierwszorzędowych przesuniętych wskutek powstających wiązań wodorowych. Ponadto drgania rozciągające N-H i O-H (z grup hydroksylowych pochodzących między innymi z aminokwasu-cysteina oraz z grup kwasowych w aminokwasie-kwas asparaginowy- fibrynogenu) nakładają się w tym zakresie, utrudniając ich bezpośrednie rozróżnienie. Natomiast słabe pasmo 3080 cm^{-1} należy przypisać drganiom rozciągającym O-H, które jednocześnie częściowo nakrywa się z drgania rozciągającymi C-H w zakresie 3000–2800 cm^{-1} . Ponadto pasmo odpowiadające drganiom C=O uległo przesunięciu z 1723 do 1716 cm^{-1} . Kolejne pasmo 1648 cm^{-1} można przypisać asymetrycznym drganiom zginającym N-H, a pasmo przy 1541 cm^{-1} symetrycznym drganiom zginającym oraz z rozciąganiem wiązań C-N w wiązaniu peptydowym. Natomiast pasmo przy 1626 cm^{-1} pochodzi od symetrycznych drgań zginających C=O. Pasma w zakresie 1300–1160 cm^{-1} są charakterystyczne dla drgań C-O, a intensywne pasma w zakresie 1150–1085 cm^{-1} odpowiadają asymetrycznym drganiom rozciągającymi C-O-C. Ponadto obserwuje się spadek intensywności pasma 810 cm^{-1} odpowiadającego drganiom wiązania podwójnego między węglami wskazując na przereagowanie ich z grupami tiolowymi białka.

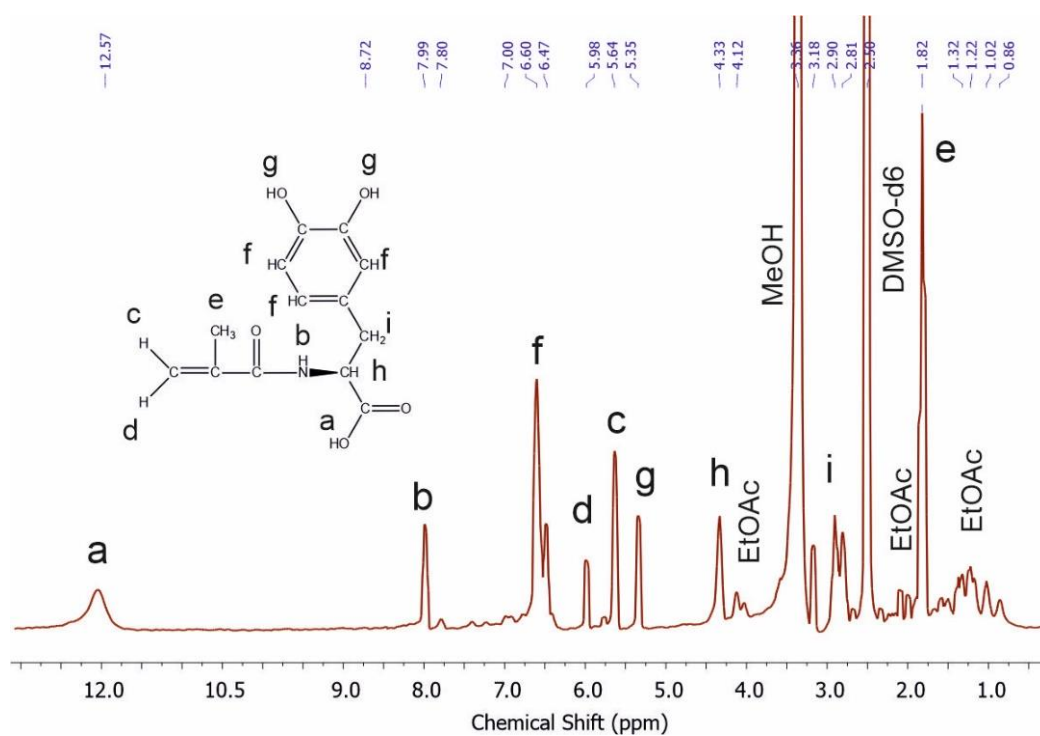


Rysunek 31 Widmo PEG-ylowanego fibrynogenu (komponentu B) i substratami do jego syntezy – diakrylowanego poli(glikolu etylenowego)(PEG-DA) i fibrynogenem, wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami

5.5 Synteza i struktura N-metakrylowanej-L-DOPA (komponent C)

Strukturę chemiczną produktu syntezy przeprowadzonej zgodnie z opisem literaturowym zamieszczonym w rozdziale 4.5 potwierdzono za pomocą spektroskopii NMR.

Widmo protonowe rezonansu magnetycznego jąder atomowych (^1H NMR) potwierdziło metakrylację L-DOPA poprzez obecność sygnałów takich jak: 7,99 ppm odpowiadających grupom N-H, które powstają podczas metakrylacji L-DOPA. Kolejnymi charakterystycznymi sygnałami są te opisane na widmie jako c i d, występujące przy wartościach δ 5,64 i 5,98 ppm, odpowiadające rezonansowi protonów grupy winylowej ($\text{CH}_2=$), potwierdzających obecność wiązania podwójnego w analizowanym związku. Ponadto sygnał przy przesunięciu chemicznym 5,35 ppm potwierdza skuteczne zabezpieczenie grupy katecholowej w trakcie syntezy, wskazując na rezonans protonów grup hydroksylowych. Inne charakterystyczne wiązania są pokazane na widmie wraz z przypisanymi sygnałami (Rysunek 32).



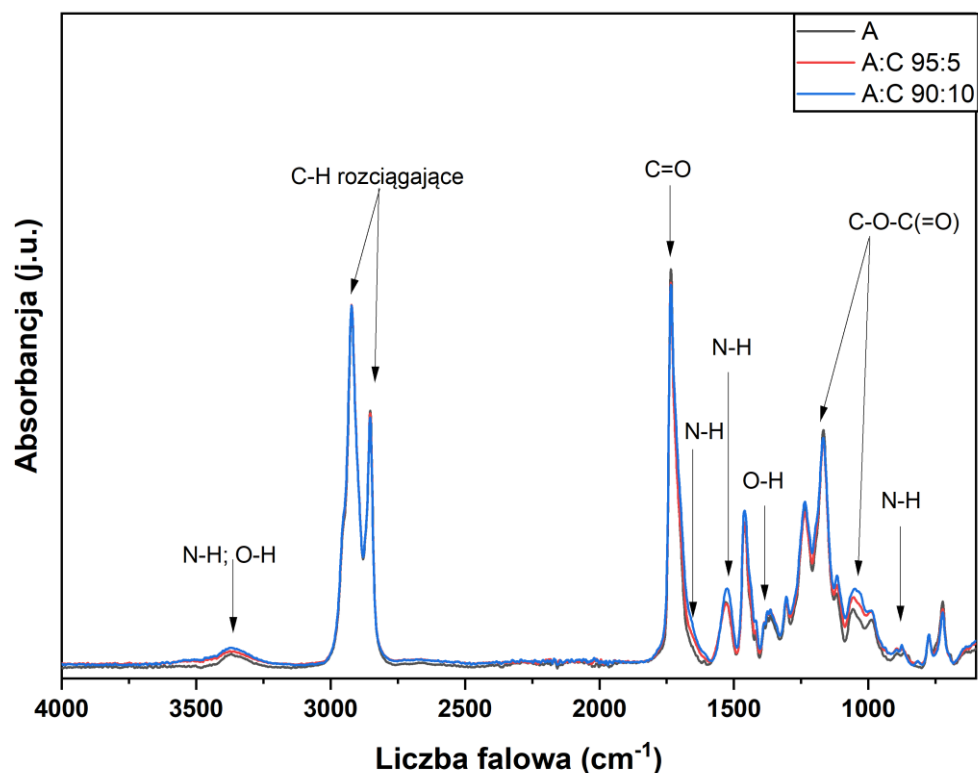
Rysunek 32 Widmo ^1H NMR metakrylowanej-L-DOPA, wraz z przypisanymi sygnałami.

5.6 Modyfikacja makromonomeru estrowo-uretanowego grupami katecholowymi

W celu dokonania oceny wpływu katecholu na właściwości sieci polimerowej zawierającej makromonomer estrowo-uretanowy jako główny składnik, zdecydowano o wytworzeniu sieci zawierającej 5 i 10% wagowych metakrylowanej-L-DOPA. Związki katecholowe znane są ze swoich właściwości adhezyjnych do bardzo wielu różnorodnych powierzchni, dlatego też spodziewano się zaobserwować ich wpływ głównie na wyniki testu odrywania 90° oraz kąta zwilżania.

5.6.1 Ocena budowy chemicznej metodą spektroskopii FT-IR

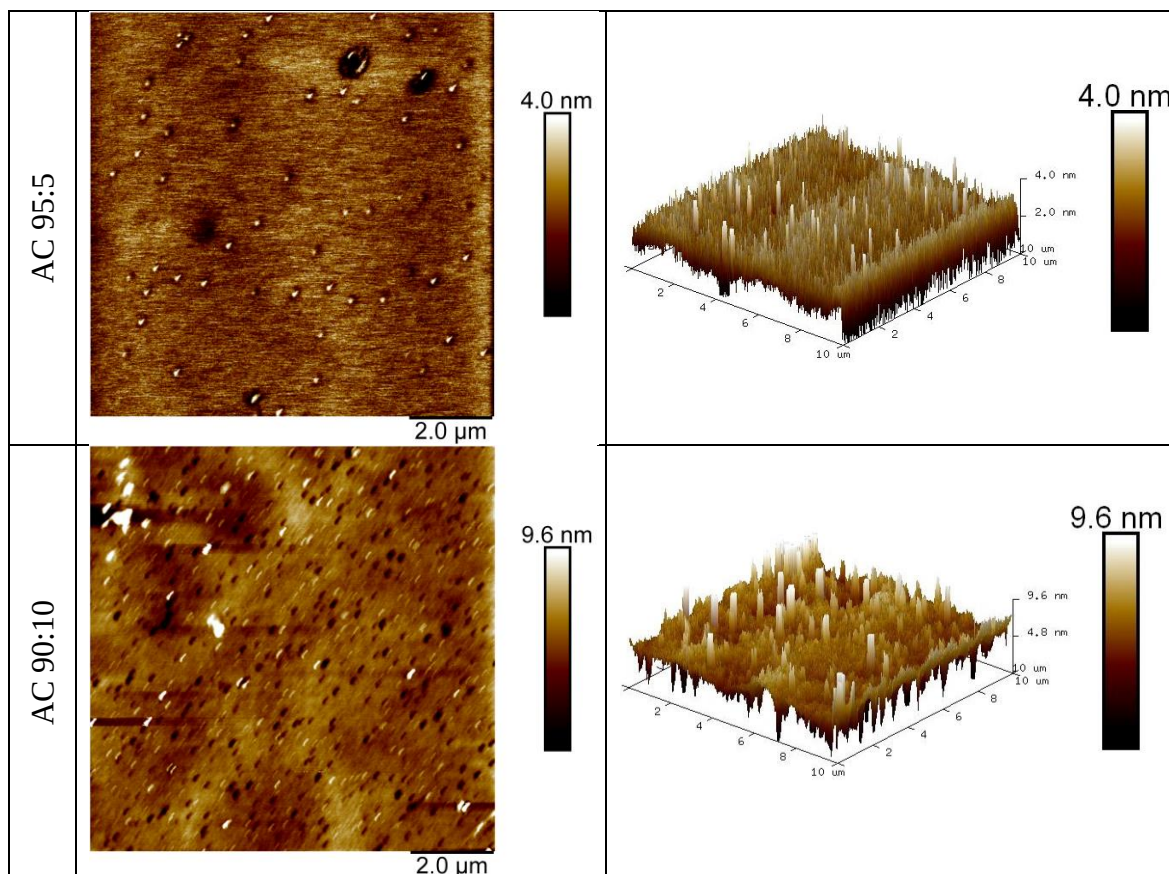
Struktura chemiczna otrzymanych sieci została przebadana za pomocą spektroskopii w podczerwieni. Na Rysunek 33 przedstawione są widma usieciowanych kompozycji AC oraz samego komponentu A jako referencji. Na rys. 33 można zaobserwować poszerzenie pasma 1735 cm^{-1} (przypisywanego drganiom rozciągającym C=O), a pasmo około 1640 cm^{-1} ma związek z obecnością drugorzędowego wiązania amidowego obecnego w L-DOPA. Wiązanie C=O w amidach pojawia się przy niższych liczbach falowych niż dla kwasów karboksylowych i estrów. Obecność amidu jest obserwowana również około 813 cm^{-1} , w tym zakresie pojawiają się drgania wachlarzowe grupy N-H poza płaszczyznę. Drugie pasmo amidowe znajduje się w tym samym regionie, w którym obserwuje się drganie N-H w uretanach, dlatego w przypadku układów AC obserwuje się jego przesunięcie z 1530 do 1525 cm^{-1} . Widoczny wzrost intensywności pasm dla układów AC obserwuje się w zakresie $900\text{--}1150\text{ cm}^{-1}$, w tym zakresie zachodzi absorpcja alkoholowych drgań rozciągających C-O, tak jak i drgania grupy estrowej obecnej w komponencie A. O obecności grup hydroksylowych w usieciowanych filmach AC informuje również wzrost intensywności pasm w zakresie $1420\text{--}1330\text{ cm}^{-1}$, gdzie występują drgania zginające w płaszczyźnie wiązania O-H sprzężone z drganiami wachlarzowymi C-H, w efekcie dając dwa pasma.



Rysunek 33 Widma utwardzonych filmów A oraz kompozycji AC wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami

5.6.2 Analiza powierzchni AC za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM)

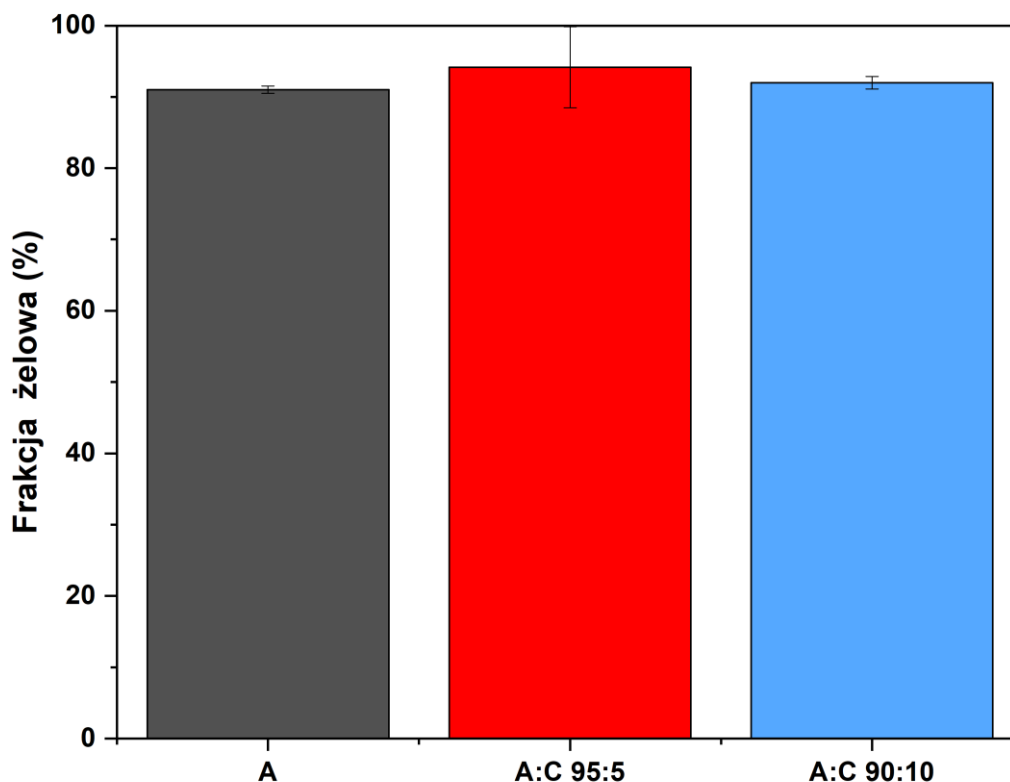
Na powierzchni filmów AC widoczne są jaśniejsze obszary, które należy przypisać obecności DOPA (Rysunek 34). Potwierdza to analiza porównawcza z opisanym wcześniej filmem A (Rysunek 23). Struktury te są rozmieszczone równomiernie na całej powierzchni próbki, a wraz z zwiększeniem zawartości składnika C z 5 do 10% wag. ilość powierzchniowo usytuowanych punktów jest zauważalnie większa. Badanie to potwierdza obecność oraz powierzchniowe rozmieszczenie DOPA.



Rysunek 34 Zdjęcia 2D i 3D AFM sieci polimerowych AC

5.6.3 Oznaczenie zawartości frakcji żelowej

Zawartość frakcji żelowej zarówno dla komponentu A, jak i sieci polimerowych zawierających katechol była wysoka i wynosiła powyżej 90%. Dodatek komponentu C (metakrylowanej-L-DOPA) nie wpłynął na uzyskane wartości frakcji żelowej, a różnica między nimi jest nieznaczna (Rysunek 35).



Rysunek 35 Zawartość frakcji żelowej w sieciach polimerowych z poprawionymi właściwościami adhezyjnymi A:C

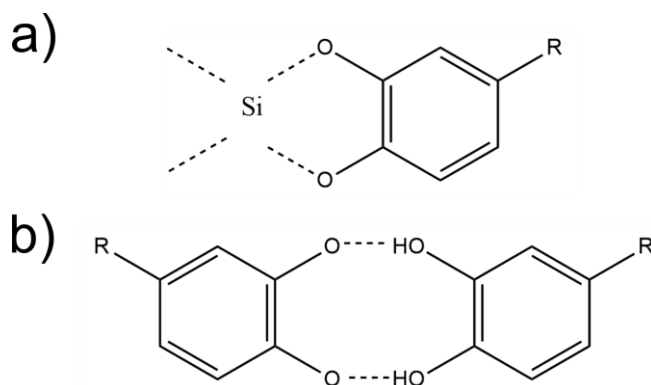
5.6.4 Zwilżalność powierzchni sieci polimerowych

Obserwacje kształtu osadzonej kropli prowadzono z obu stron próbki: górnej (mającej kontakt z atmosferą podczas fotosieciowania) i dolnej (mającej kontakt z płytą szklaną podczas fotosieciowania) przez 2 minuty w celu zarejestrowania ewentualnego zjawiska reorganizacji powierzchni. Wprowadzenie metakrylowanej L-DOPA (składnik C) spowodowało większą reorganizację powierzchni, która ma kontakt z powietrzem podczas sieciowania, natomiast nie wpłynęło znacząco na kąt zwilżania wodą od strony mającej kontakt z szkłem w czasie sieciowania (Rysunek 37). Przyczyny takiego zjawiska można upatrywać w mniejszej wilgotności powietrza niż szkła, z natury cechującego się znaczą hydrofilowością. Dlatego też można przypuszczać, że początek procesu reorganizacji miał miejsce jeszcze przed fotosieciowaniem i kontynuowany był po usieciowaniu, długo przed wykonaniem pomiaru kąta zwilżania.

L-DOPA jest znana ze swoich doskonałych właściwości adhezyjnych. Zgodnie z danymi literaturowymi, DOPA ma dwie formy chemiczne: utlenioną formę o-chinonu i nieutlenioną formę o-katecholu. Pomiary siły pojedynczej cząsteczki wykazały, że katechol jest odpowiedzialny za przyczepność do powierzchni nieorganicznych, podczas gdy chinon zapewnia przyczepność do powierzchni organicznych [168]. Katechole są przekształcane w chinony w warunkach lekko zasadowych lub w wyniku działania enzymów (oksydazy katecholowej) oraz poprzez autooksydację (spontaniczne utlenianie w warunkach tlenowych), fotooksydację [169].

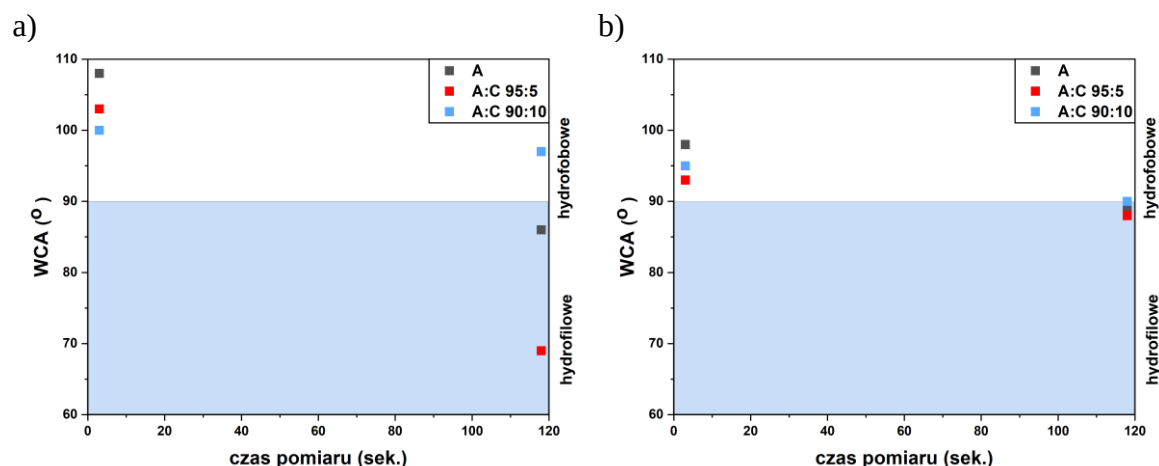
Katechole i chinony są dość reaktywne w stosunku do szerokiego zakresu grup chemicznych [168,170,171], z czego katechole tworzą głównie wiązania niekowalencyjne. Reagują z metalami, tlenkami (np. tlenek krzemu–szkło), tworząc silne i odwracalne wiązania koordynacyjne (Rysunek 36a). Stechiometria wiązania metal-katechol jest silnie zależna od pH [172]. Dodatkowo zarówno katechole, jak i chinony mają zdolność do tworzenia wiązań wodorowych (Rysunek 36b). W przeciwieństwie do katecholi, chinony są użyteczne ze względu na ich zdolność do tworzenia kowalencyjnych interakcji. Po utworzeniu są bardzo reaktywne i przyłączają się do powierzchni organicznych oraz reagują z materiałami organicznymi, tworząc silne nieodwracalne wiązania kowalencyjne. Chinony mogą na przykład samoczynnie sprzęgać się w kowalencyjnie usieciowane sieci poliDOPA. Co więcej, są one wysoce reaktywne wobec amin (i tioli) w reakcjach zasad Schifffa i addycji typu Michaela. Ponadto chinony są bardzo reaktywne i uczestniczą w reakcjach wtórnych z substancjami, takimi jak katechole lub aminy obecne w białkach, przyczyniając się do spoiwości białek.

Można zatem wnioskować, że doszło do reorganizacji struktury powierzchni od strony szkła (SiO_2) przed rozpoczęciem pomiaru. Obecny w polimerze katechol utworzył silne, odwracalne wiązania koordynacyjne z krzemem, co tłumaczy mniejsze zmiany wartości kąta zwilżania w czasie pomiaru.

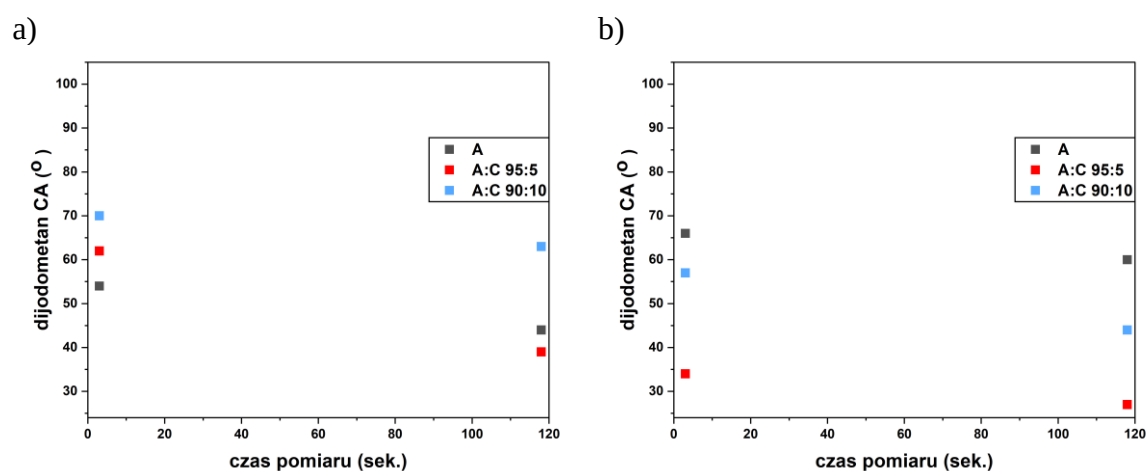


Rysunek 36 Dwa rodzaje oddziaływań L-DOPA z różnymi powierzchniami a) wiązanie koordynacyjne z metalem krzemu b) przykład wiązania wodorowego

Ponadto, znaczące różnice między stronami próbek zauważono również dla diiodometanu (Rysunek 38). W przypadku powierzchni, która w czasie sieciowania miała kontakt ze szkłem, filmy AC wykazują o wiele niższe wartości kąta zwilżania, okazując się bardziej hydrofobowe niż sam komponent A. Może to być efektem między innymi reorganizacji struktury, która rozpoczęła się po otrzymaniu filmu. Ponownie obserwuje się niższe wartości kąta zwilżania przy niższej zawartości katecholu. Przyczyny również można dopatrywać się w równomiernym rozłożeniu składnika w sieci polimerowej komponentu A. Większa zawartość może skutkować tworzeniem się agregatów, jak i samej zawartości składnika A zawierającego liczne wiązania estrowe i uretanowe zdolne do tworzenia wiązań wodorowych, jak i oddziaływań dipolowych, a więc minimalizowania energii międzyfazowej (zmniejszenia wartości kąta zwilżania).



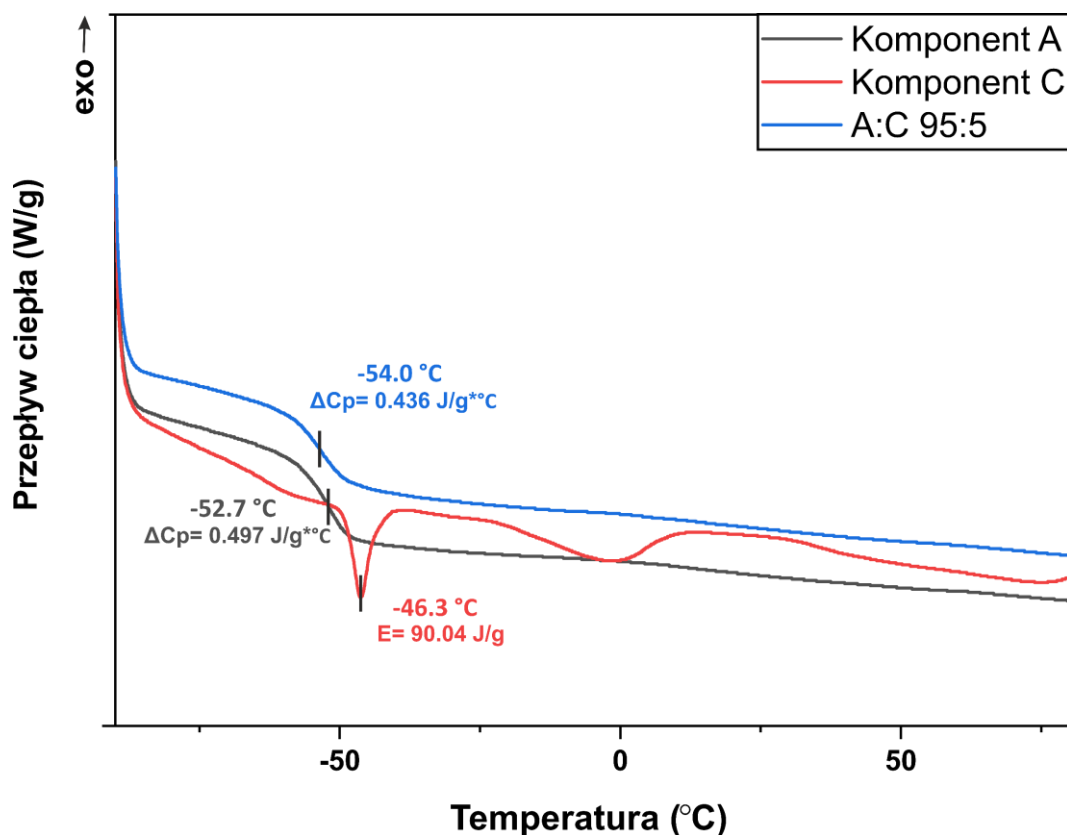
Rysunek 37 Zmiana kąta zwilżania wodą w funkcji czasu dla sieci polimerowych A:C a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania



Rysunek 38 Zmiana kąta zwilżania diiodometanem w funkcji czasu dla sieci polimerowych A:C a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania

5.6.5 Analiza właściwości termicznych metodą DSC

Analizy przemian fazowych dla kompozycji z dodatkiem komponentu C ujawniają niewielkie różnice między temperaturami przejścia szklistego składnika A i AC (Rysunek 39). Na termogramie, dla ułatwienia porównania, przedstawiono ponownie składnik A oraz składnik C (metakrylowana-L-DOPA), dla którego temperatura topnienia wyniosła -46,32°C, a entalpia 90,04 J/g. Na termogramie kompozycji dwuskładnikowej zaobserwowano tylko jedną temperaturę zeszklenia, która wyniosła -54,0°C (ΔC_p wynosi 0,436 J/g* °C) potwierdzając pełną kompatybilność składników A i C.



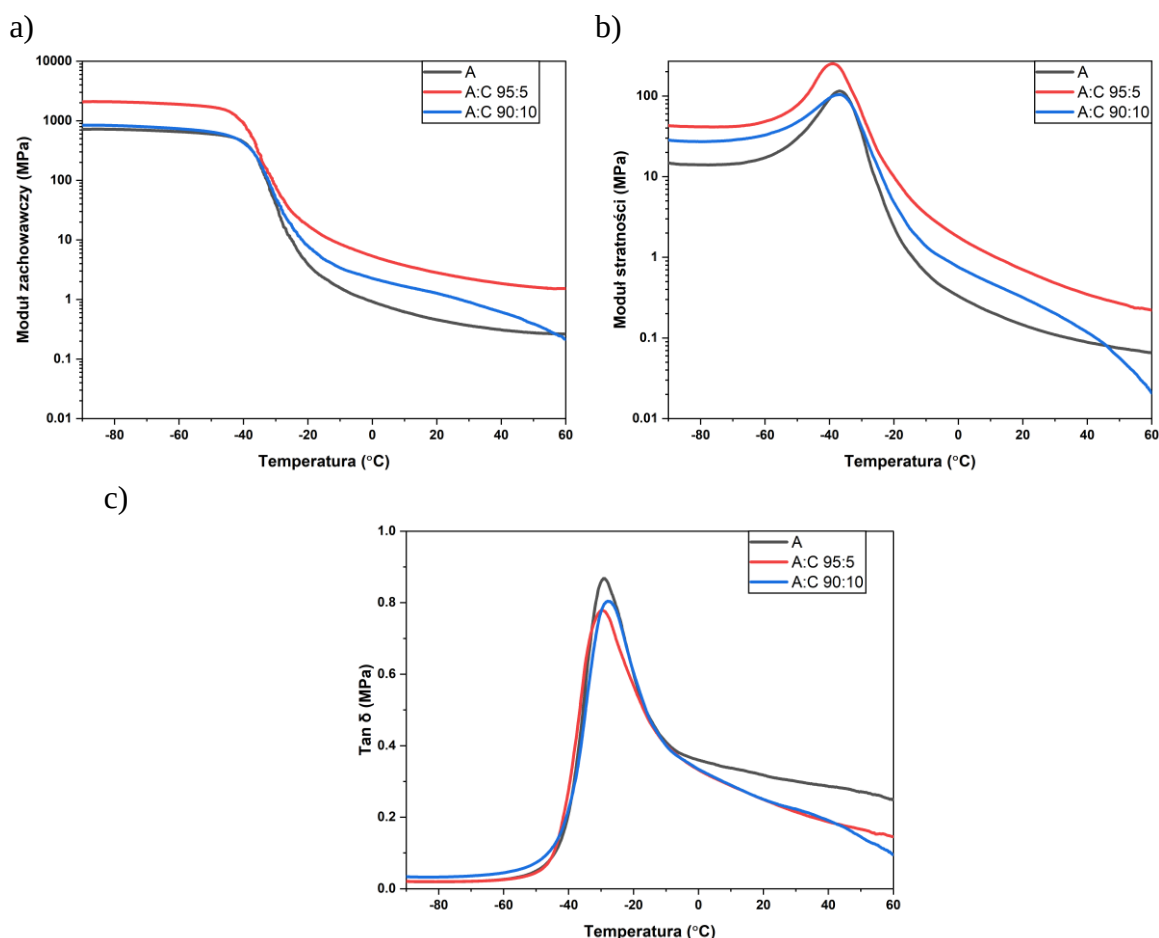
Rysunek 39 Termogramy DSC nieutwardzonych kompozycji AC.

5.6.6 Analiza właściwości termomechanicznych metodą DMTA

W celu analizy wpływu dodatku L-DOPA na właściwości polimeru przeprowadzono analizę termiczną dynamicznych właściwości mechanicznych (DMTA), wyniki przedstawione w postaci zależnych od temperatury zmian modułu zachowawczego (E'), modułu stratności (E'') i tangensa kąta fazowego ($\tan \delta$) znajdują się na Rysunek 40. Ustalono, że i w tym przypadku włączenie dodatkowego składnika (składnika C) ma znikomy wpływ na temperaturę zeszklenia (T_g). Wartości T_g uzyskane z modułu zachowawczego mieszczą się w zakresie od -37 do -39°C , podczas gdy te uzyskane na podstawie wartości modułu stratności wynoszą około -29°C , jak wyszczególniono w Tabeli 8. Niemniej jednak zidentyfikowano zauważalne rozbieżności w wartościach modułu stratności i modułu zachowawczego w temperaturze 37°C .

Znaczne rozbieżności w zachowaniu sprężystym są zauważalne w sztywności sieci polimerowej, jak wskazują wartości E' mieszczące się w zakresie od 723 do 910 MPa przy temperaturze -80°C . Natomiast w temperaturze dedykowanej do aplikacji medycznych (37°C) dla komponentu A, wartość E' wynosi 324 kPa, przy 5% zawartości komponentu C znacznie wzrasta do 1961 kPa, a przy dalszym wzroście do 10% spada do 687 kPa. Podobną tendencję obserwuje się dla wartości E'' w temperaturze 37°C , gdzie przy małej zawartości komponentu C w sieci polimerowej, moduł stratności wzrasta z 94 do 382 kPa, a dla 10% spada do 139 kPa. Najprawdopodobniej, niewielki dodatek takich małych cząsteczek adhezyjnych pozytywnie wpłynął na właściwości sieci polimerowej, natomiast wzrost zawartości tak silnie adhezyjnego katecholu spowodował znaczny wzrost oddziaływań wodorowych między licznymi grupami funkcyjnymi, powodując usztywnienie łańcuchów.

Obrazowanie przy wykorzystaniu mikroskopu fluorescencyjnego potwierdziło rozmieszczenie DOPA na powierzchni sieci (patrz rozdział 5.6.9). Niewielki dodatek składnika C nieznacznie wpływa na wartość $\tan \delta$ w 37°C – wartość zmniejsza się 290 dla komponentu A do około 200 kPa dla układu AC.



Rysunek 40 Analiza DMTA fotoutwardzalnych sieci polimerowych z dodatkiem DOPA: (a) moduł zachowawczy (E'), (b) moduł stratności (E'') i (c) tangens kąta fazowego ($\tan \delta$)

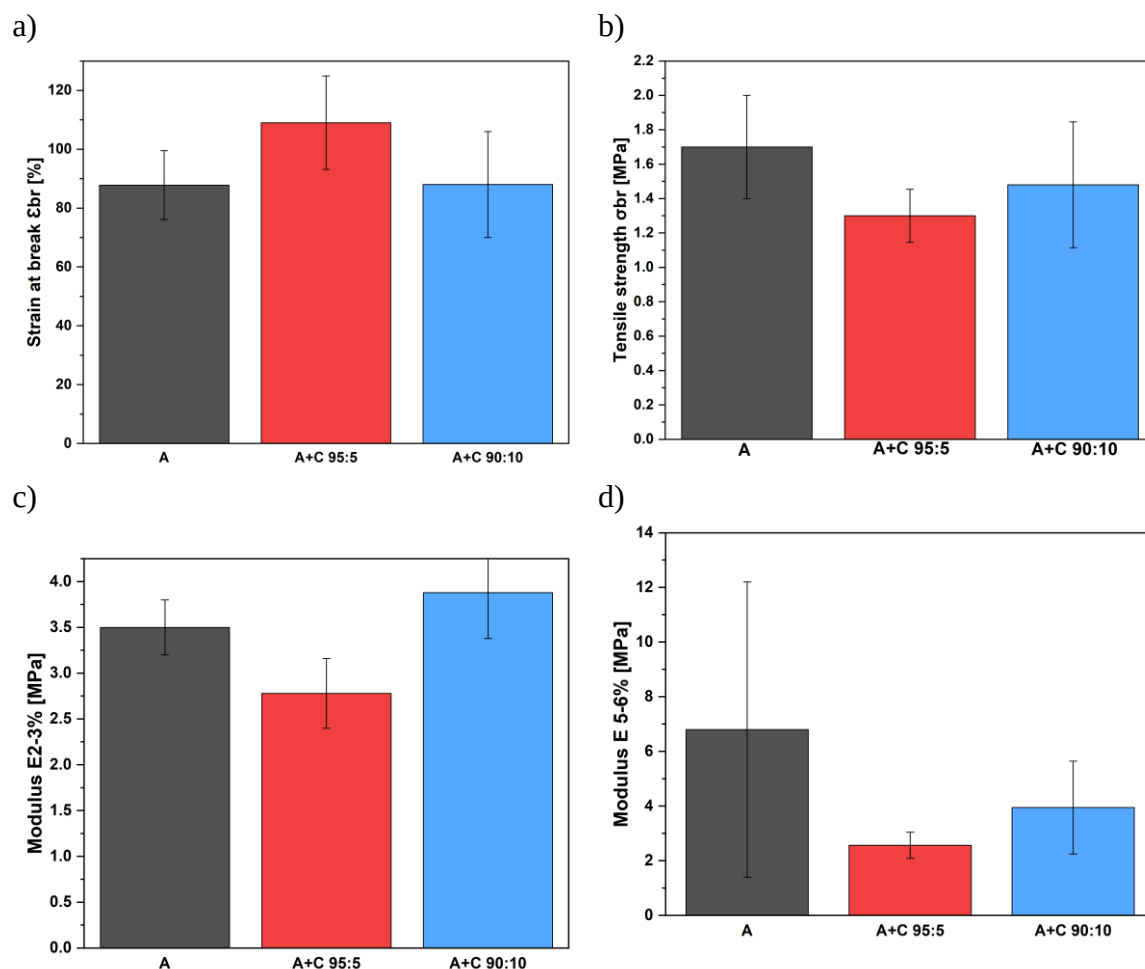
Tabela 8 Wyniki DMTA dla sieci polimerowych A:C

Materiał	T _g ($E''_{\max}$) [°C]	T _g ($\tan \delta_{\max}$) [°C]	E' w 37°C [MPa]	E'' w 37°C [MPa]	Tan δ w 37°C
składnik A	-36,9	-29,3	0,3238	0,0940	0,2905
AC 95:5	-39,0	-29,7	1,961	0,3822	0,1950
AC 90:10	-37,0	-28,0	0,6866	0,1386	0,2013

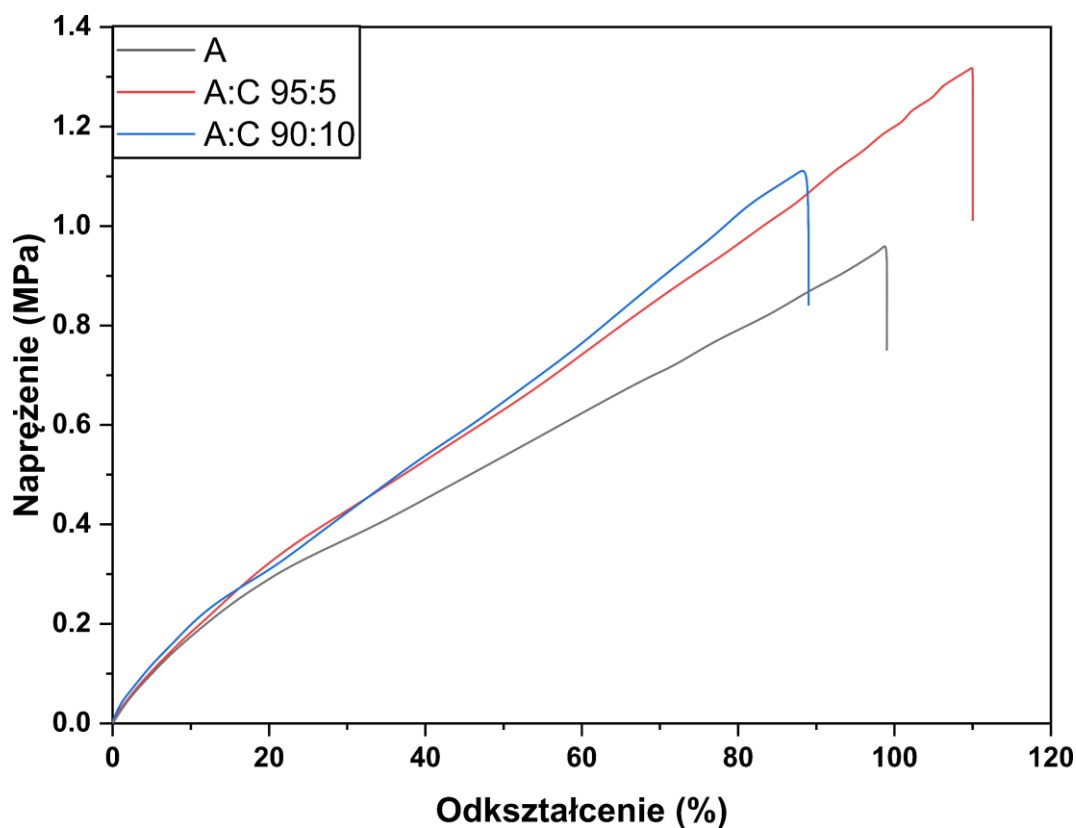
5.6.7 Właściwości mechaniczne

Wpływ zawartości komponentu C na wytrzymałość mechaniczną materiałów oceniono również za pomocą quasi-statycznego rozciągania do zerwania. Zawartość komponentu C nie wpłynęła znacząco na elastyczność filmów. Wytrzymałość na rozciąganie zmierzono do 1,4 MPa, wydłużenie do 90%, moduły przy 2–3% odkształceniu i 5–6% odkształceniu mieściły się w zakresie 2,5–4 MPa. Warto zauważyć, że mniejszy dodatek

komponentu C wpływa pozytywnie na właściwości mechaniczne. Właściwości filmów zawierających tylko komponent na bazie pochodnych kwasu tłuszczowego (komponent A), jak i tych zawierających 10% DOPA (A+C 90:10) są bardzo zbliżone (Rysunek 41, Rysunek 42). Wydłużenie przy zerwaniu dla sieci polimerowej zawierającej 5% składnika C wzrasta. Wartość wydłużenia dla sieci polimerowych A oraz A+C 90:10 wynosi około 90%, a dla A+C 95:5 około 110%. Wartości te są satysfakcjonujące pod kątem ewentualnego zastosowania tych materiałów w rekonstrukcji tkanek miękkich.



Rysunek 41 Właściwości mechaniczne utwardzonych folii zawierających DOPA: a) wytrzymałość na rozciąganie b) odkształcenie przy zerwaniu c) moduł przy 2–3% i d) moduł przy 5–6%



Rysunek 42 Reprezentatywne krzywe napężenie-odkształcenia uzyskane podczas próby rozciągania do zerwania utwardzonych folii zawierających DOPA

5.6.8 Ocena adhezji materiałów metodą odrywania

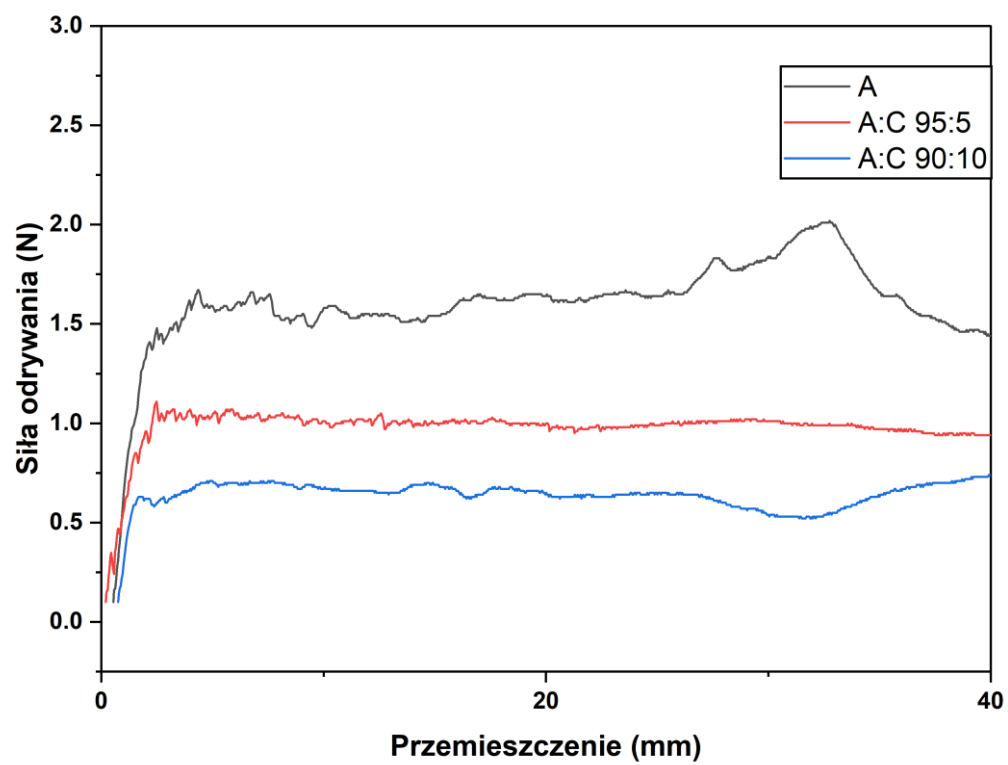
Siła adhezji jest głównie zależna od właściwości adhezyjnych i spójności struktury materiału (kohezji) [173]. Dlatego też, wartości siły odrywania stanowią reprezentatywną miarę adhezji zarówno do hydrofobowych powierzchni, takich jak polistyren, jak i hydrofilowych jak polialkohol winylowy. Jak wynika z Rysunek 43, najwyższą przyczepność materiału do powierzchni hydrofobowej (polistyrenu) wykazuje film na bazie samego komponentu A. Wynika to z hydrofobowego charakteru tego poliuretanu, otrzymanego na bazie roślinnych kwasów tłuszczowych. Długie łańcuchy nadają temu materiałowi charakter hydrofobowy. Ponadto ten poli(estro-uretan) zawiera w swojej strukturze wiązania zdolne do tworzenia wiązań wodorowych (uretanowe). Natomiast w przypadku adhezji do niepolarnego polistyrenu oddziaływania hydrofobowe i Van der Waalsa są kluczowe.

Dodatek hydrofilowego składnika o silnych właściwościach adhezyjnych, jakim jest L-DOPA do struktury powoduje zmniejszenie interakcji pomiędzy siecią polimerową a hydrofobowym podłożem (PS). W efekcie siła odrywania dla kompozycji zawierającej 5% L-DOPA spada z 1,5 N do 1 N, a dla 10% do 0,5 N. Powierzchnie hydrofobowe takie jak polistyren z natury odpychają materiały polarne. Materiały mogą tworzyć silną adhezję jedynie w przypadku posiadania podobnych właściwości powierzchniowych, które minimalizują energię powierzchniową na granicy faz.

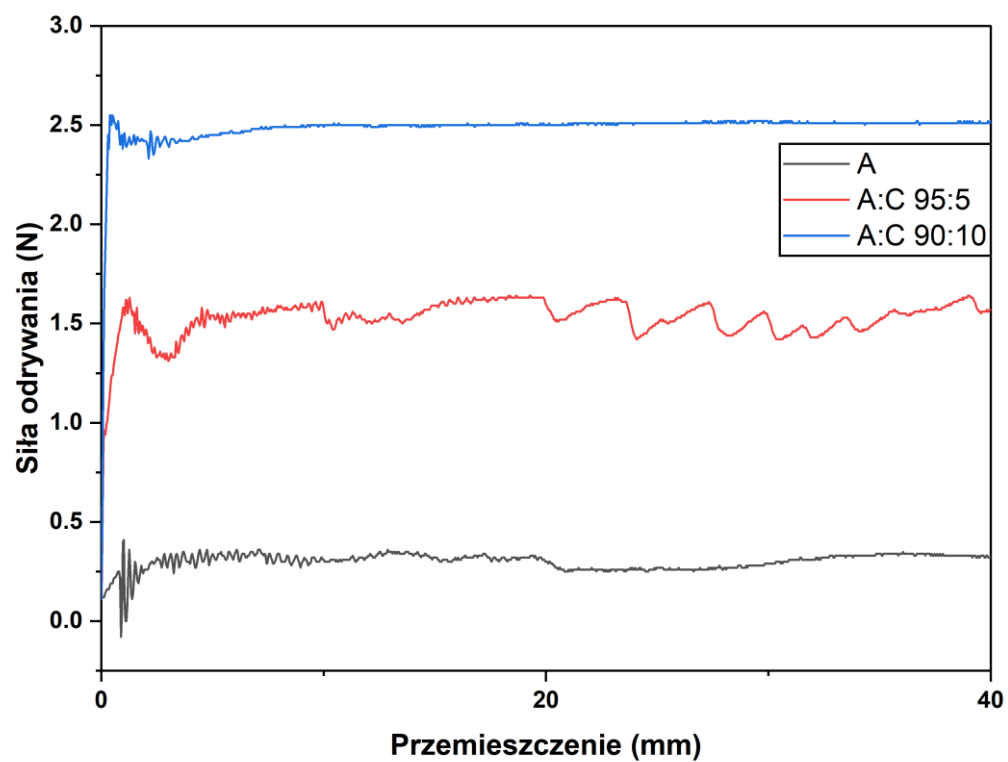
Odwrotną zależność obserwuje się w przypadku odrywania od powierzchni hydrofilowej (PVA). 10% udział L-DOPA skutkuje wzrostem siły odrywania do 2,5 N, a

5% do 1,5 N. Czyli 10% udział katecholi powoduje 10-krotny wzrost siły odrywania względem samego poli(estro-uretanu). Wyniki te potwierdzają hipotezę o wpływie jednostek katecholowych na właściwości adhezyjne zwierających je sieci polimerowych. Grupa katecholowa oddziałuje z grupami hydroksylowymi PVA między innymi poprzez wiązania wodorowe, prowadząc do wysokiej przyczepności.

a)



b)

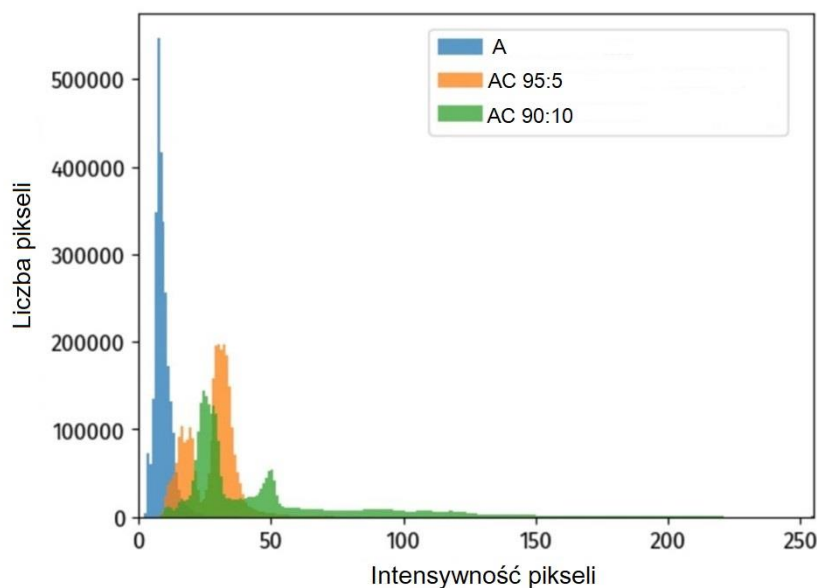


Rysunek 43 Test odrywania filmów od powierzchni a) hydrofobowej-polistyrenu i b) hydrofilowej polialkoholu winylowego

5.6.9 Ocena obecności grup katecholowych metodą mikroskopii fluorescencyjnej

Analiza zdjęć otrzymanych przy pomocy mikroskopu fluorescencyjnego pozwoliła na potwierdzenie obecności jednostek katecholowych pochodzących z L-DOPA na powierzchni utwardzonych sieci polimerowych. Próbki przed wykonaniem zdjęcia barwiono aminą sfunkcjonalizowaną barwnikiem (ATTO 643-amina). Obecne na powierzchni filmów reaktywne grupy katecholowe reagowały z wspomnianą aminą na drodze addycji Michaela lub poprzez tworzenie zasad Schiffa, skutkując zintensyfikowaniem efektu fluorescencji poprzez ten sam mechanizm, który odpowiada za proadhezyjną rolę katecholi [137]. Otrzymane wyniki potwierdzają znaczący wzrost emisji fluorescencji dla filmów zawierających L-DOPA (średnia fluorescencja na kanale Cy5 wynosiła 29 dla 5% i 31 dla 10% L-DOPA; 8 dla filmu zawierającego tylko komponent A), co wskazuje na obecność skoniugowanego barwnika. Różnicę między histogramami oceniono ilościowo za pomocą odległości Wassersteina (znanej również jako „earth mover’s distance” lub EMD), którą można uznać za energię potrzebną do przekształcenia jednego histogramu w inny. Uwzględnia ona zarówno liczbę pikseli, jak i różnicę intensywności (odległość, na jaką należy je przenieść). Zastosowany algorytm dynamicznego klastrowania grupuje dane histogramowe (uzyskane za pomocą bibliotek takich jak matplotlib lub NumPy), przy użyciu odległości Wassersteina (biblioteka ‘scipy’) jako miary podobieństwa między rozkładami danych. Ponadto algorytm dostosowywał sposób obliczania odległości w zależności od danych (wybierał odpowiednie przedziały histogramów). Następnie dane te były dynamicznie klastrowane (za pomocą funkcji pętli, która iteracyjnie aktualizowała klastry w miarę dodawania nowych danych).

Zgodnie z powyższym potwierdzono wzrost fluorescencji przy wyższej zawartości L-DOPA (Rysunek 44). Odległości Wassersteina dla filmów zawierających 5% L-DOPA i 10% L-DOPA były odpowiednio 2 i 2,8 razy większe w porównaniu do filmów poli(estrowo-uretanowych) (komponentu A). Ponadto, fluorescencja próbek A (bez L-DOPA) była podobna do fluorescencji próbek barwionych pozornie (bez barwnika), potwierdzając swoistość sygnału fluorescencji do biodostępności grup katecholowych L-DOPA. Ten test fluorescencyjny wskazuje na obecność jednostek katecholowych L-DOPA na powierzchni. Potwierdzono, iż większa zawartość L-DOPA skutkuje wyższą biodostępnością jednostek katecholowych L-DOPA na powierzchni utwardzonych folii.



Rysunek 44 Dynamiczne klastrowanie danych histogramowych w oparciu o adaptacyjne kwadratowe odległości Wassersteina

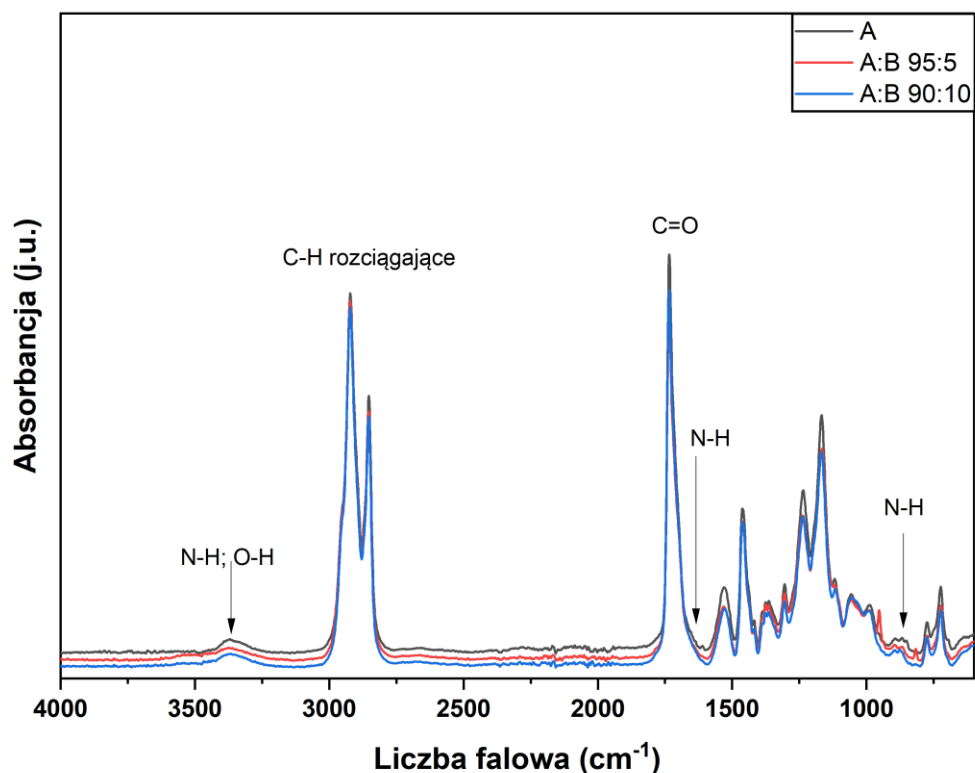
5.7 Charakterystyka amfifilowych układów na podstawie komponentów A i B

Otrzymane w stosunkach masowych 95:5 i 90:10 kompozycje hydrofobowego makromonomeru (komponent A) i hydrofilowego PEG-yłowanego fibrynogenu (komponent B) sieciowano z wykorzystaniem 1% wg. fotoinicjatora Omnirad 2022. Otrzymane hybrydowe sieci polimerowe poddano serii badań mających na celu określenie ich właściwości oraz ocenę wpływu obecności, jak i ilości obecnego składnika hydrofilowego na właściwości materiału.

5.7.1 Spektroskopia w podczerwieni z transformatą Fouriera (FT-IR)

Strukturę chemiczną usieciowanych hybryd potwierdzono za pomocą analizy widma FT-IR (Rysunek 45). Zarówno w hybrydowych sieciach polimerowych, jak i dla samego komponentu A obserwuje się szerokie pasmo około 3350 cm^{-1} , natomiast jest ono szersze w zakresie wyższych długości liczb falowych na widmach materiałów hybrydowych (dwuskładnikowych). W przypadku sieci A pasmo to należy przypisać do drgania wiązania N-H w grupach uretanowych makromonomeru. Natomiast w przypadku sieci B zawierającej białko, w tym zakresie obecne są również pasma N-H pochodzące od grup aminowych jak i pasma pochodzące od drgań rozciągających O-H w grupach hydroksylowych aminokwasów.

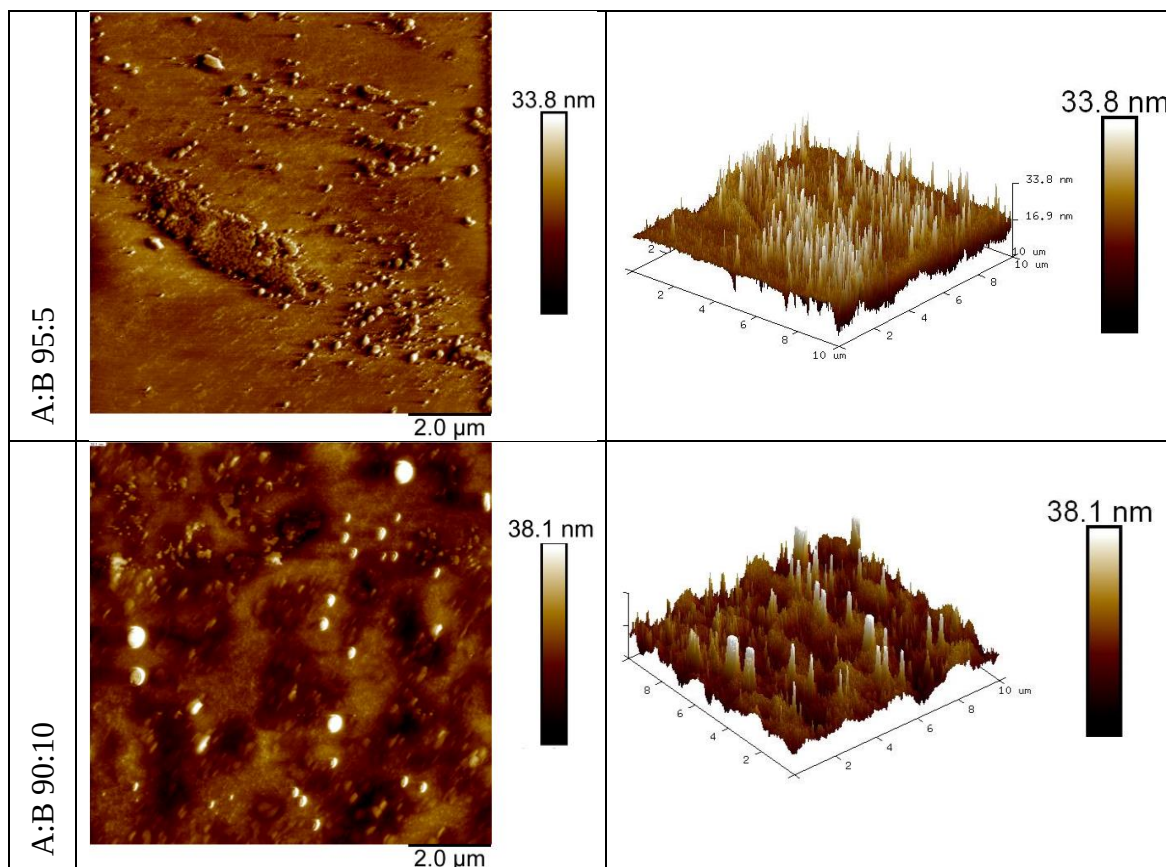
Kolejnym dowodem na utworzenie układu amfifilowego w wyniku przyłączenia PEGyłowanego fibrynogenu do struktury poliuretanu jest poszerzenie pasma 1735 cm^{-1} pochodzącego od drgań rozciągających C=O. Na zboczu ok. 1650 cm^{-1} pojawia się pasmo, które należy przypisać drganiom grupy amidowej. Ponadto pasmo około 700 cm^{-1} również pochodzi od drgań grupy amidowej, a dokładniej od drgania wachlarzowego N-H poza płaszczyznę.



Rysunek 45 Widma FT IR kompozycji A oraz układów hybrydowych A:B o różnym składzie wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami

5.7.2 Analiza powierzchni układu AB za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM)

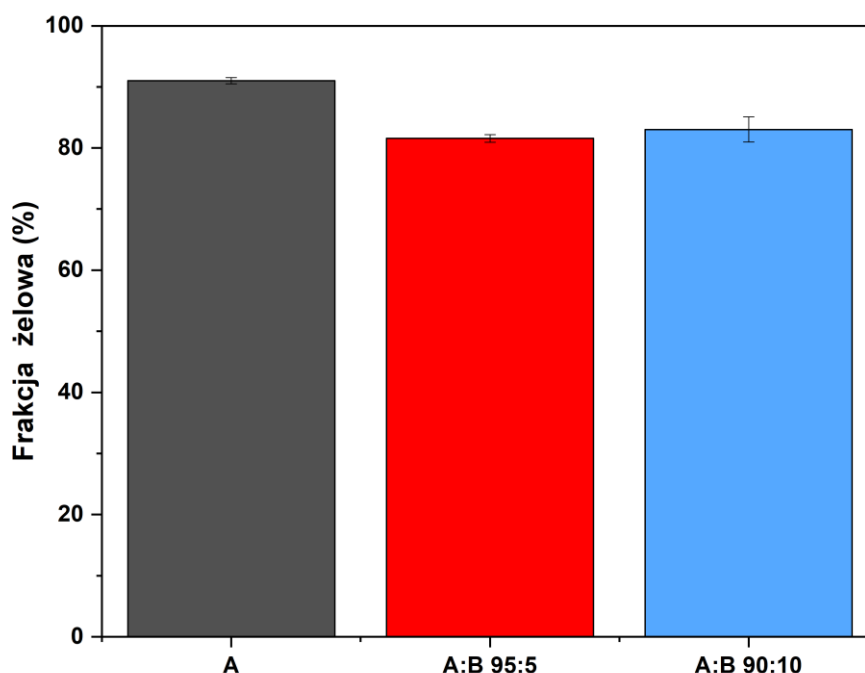
Analiza powierzchni hybrydowych sieci polimerowych AB ujawniła obecność dużych, obłych, podłużnie ułożonych struktur typowych dla białek (Rysunek 46). Ponadto znaczny wzrost w wysokości struktur powierzchniowych (około 35 nm dla AB, 6 nm dla AC) oraz ich rozmiarów wskazuje, że jest to fibrynogen, który ma znacznie większą masę niż DOPA obserwowana na powierzchniach AC.



Rysunek 46 Zdjęcia 2D i 3D AFM hybrydowych sieci polimerowych

5.7.3 Zawartość frakcji żelowej

Zawartość frakcji żelowej zarówno dla komponentu A, jak i dla układów hybrydowych jest wysoka i wynosi powyżej 80%. Najwyższe wyniki uzyskano dla sieci polimerowej zawierającej tylko komponent A (około 91%). Dodatek komponentu B obniżył jej wartość do około 82%, a różnica między układami hybrydowymi jest nieznaczna (Rysunek 47). Niższą wartość GF układów hybrydowych można przypisać przyłączeniu komponentu B (PEG-yłowanego fibrynogenu), który jest materiałem łatwo pęczniejącym i degradowanym. Ponadto można oczekiwać, że włączenie tego składnika zwiększy powierzchnię kontaktu z wolniej i w mniejszym stopniu pęczniejącym poli(estro-uretanem) (A), skutkując efektywniejszym wymywaniem rozpuszczalnych w zastosowanym octanie etylu nieprzereagowanych substancji. Ponadto warto zauważyć, że uzyskano wyższe wartości GF dla układów AC w porównaniu z układami AB, co może wynikać z o wiele mniejszej masy molowej L-DOPA niż PEG-yłowanego fibrynogenu. Wymycie niezwiązanej ze strukturą polimeru cząsteczek, każdej z tych substancji w obu układach powoduje znacznymi rozbieżnościami w masach. W przypadku układu AC będzie to niewielka różnica, gdyż masa metakrylowanej-L-DOPA to około 264 g/mol, natomiast w przypadku PEG-yłowanego fibrynogenu ponad 340 000 g/mol.



Rysunek 47 Zawartość frakcji żelowej w amfifilowych i hybrydowych sieciach polimerowych A:B

5.7.4 Zwilżalność powierzchni sieci polimerowych

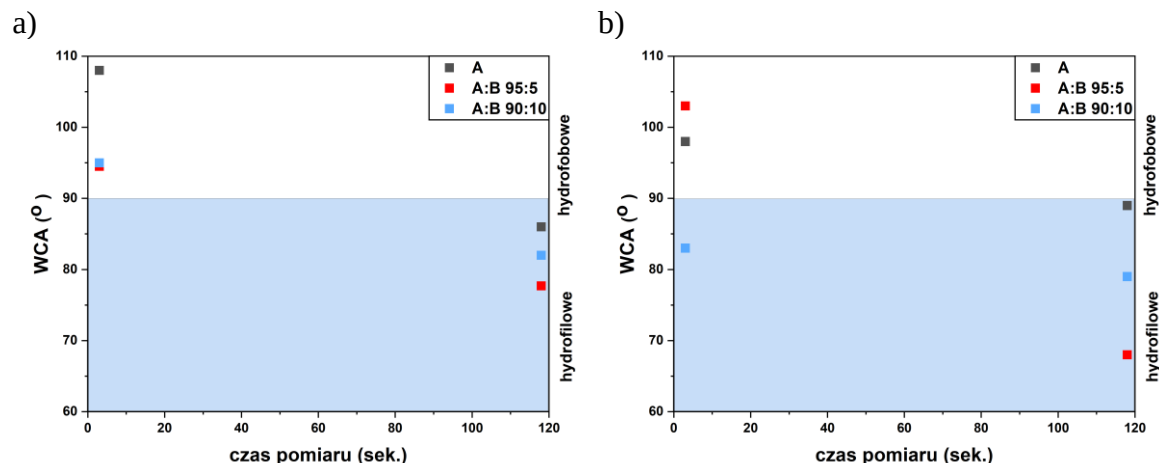
Wyniki pomiarów kąta zwilżania przedstawiono na Rysunek 48. Obserwacje kształtu osadzonej kropli prowadzono przez 2 minuty w celu zarejestrowania ewentualnego zjawiska reorganizacji powierzchni. Również i w tym wypadku zaobserwowano widoczne różnice między zwilżalnością powierzchni: górnej i dolnej. Dodatkowo, wprowadzenie PEG-ylowanego fibrynogenu prowadzi do zwiększenia hydrofilowości sieci polimerowych. Co ciekawe, mniejsza zawartość składnika B skutkuje obniżeniem wartości kąta zwilżania. Może być to efektem dominującego udziału licznych grup uretanowych i estrowych obecnych w komponencie A i zdolnych do wysokoenergetycznych oddziaływań dipolowych i wodorowych, które mają zdolność do minimalizowania energii międzyfazowej i tym samym zmniejszania wartości kąta zwilżania.

W celu potwierdzenia amfifilowego charakteru otrzymanych sieci polimerowych przeprowadzono pomiar z wykorzystaniem nieznacznie polarnej substancji o relatywnie wysokiej wartości napięcia powierzchniowego, jaką jest diiodometan (Rysunek 49). Wszystkie otrzymane filmy miały kąt zwilżania mniejszy niż 90°, co zapewniało powinowactwo do powierzchni hydrofobowej, a tym samym potwierdza amfifilowy charakter sieci polimerowej

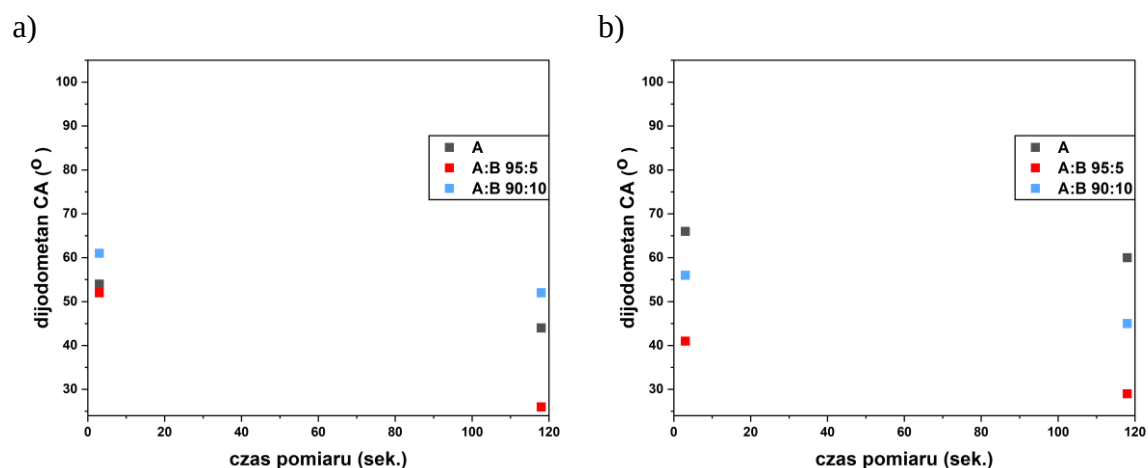
Sieć polimerowa zawierająca tylko składnik A (oparty na kwasie tłuszczowym) jest hydrofobowa ze względu na długie niepolarne łańcuchy. Powierzchnia sieci polimerowej, która miała kontakt z bardziej hydrofilowym szkłem podczas utwardzania, wykazuje bardziej hydrofilowy charakter w kontakcie z diiodometanem, nawet po 120 sekundach (powierzchnia górna 44°, dolna 60°).

Interesujące wyniki uzyskano dla sieci hybrydowych A:B. Struktura fibrynogenu pozwala mu oddziaływać zarówno z powierzchnią hydrofilową, jak i z taką, która chętniej

oddziałuje na zasadzie hydrofobowych interakcji poprzez różne fragmenty struktury chemicznej. Zgodnie z literaturą, kąt zwilżania fibrynogenu bydłowego diiodometanem wynosi około 40° , natomiast podczas zwilżania wodą około 70° [174] W związku z tym, sieci hybrydowe zawierające PEG-yłowany fibrynogen (składnik B) dają stosunkowo niski kąt zwilżania zarówno z wodą, jak i słabo polarnym diiodometanem.



Rysunek 48 Zmiana kąta zwilżania w funkcji czasu układów amfifilowych A:B a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania



Rysunek 49 Zmiana kąta zwilżania powierzchni diiodometanem w funkcji czasu dla układów amfifilowych A:B a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania

Tabela 9 Wartości kąta zwilżania diiodometanem układów amfifilowych A:B

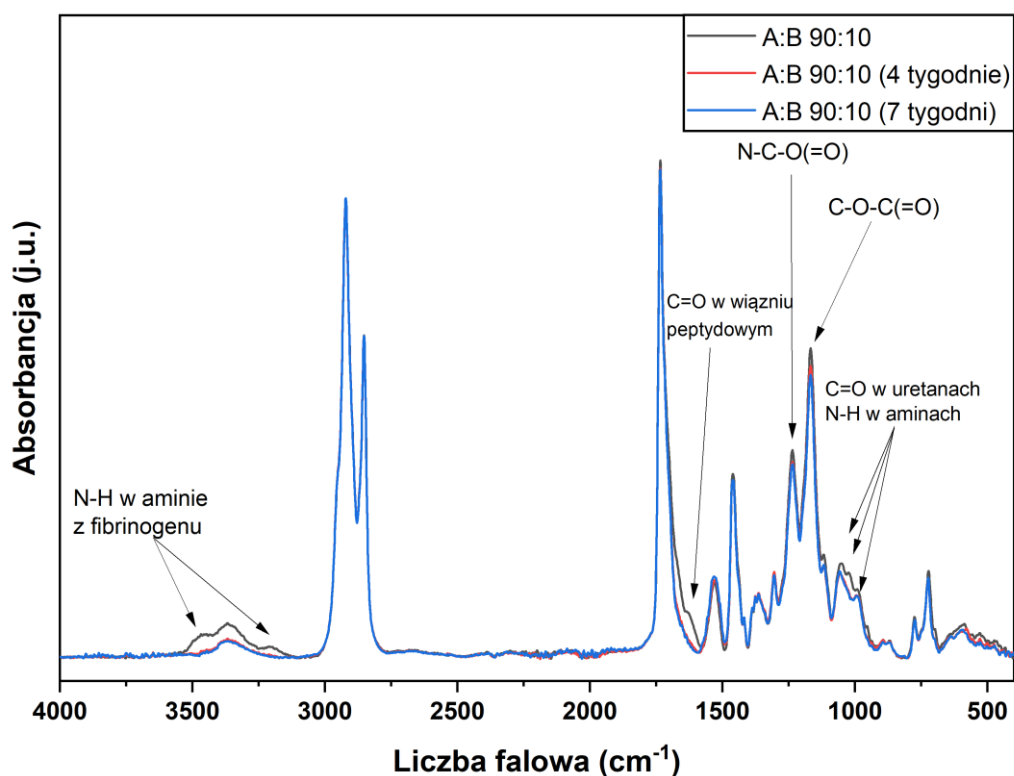
Materiał	strona	po 3 sek.	po 120 sek.	Δ
A	górna	54 ± 8	44 ± 4	10
	dolna	66 ± 4	60 ± 6	6
A:B 95:5	górna	52 ± 10	26 ± 2	26
	dolna	41 ± 7	29 ± 2	12
A:B 90:10	górna	61 ± 7	52 ± 11	9
	dolna	56 ± 4	45 ± 5	11

5.7.5 Degradacja hybrydowych sieci polimerowych

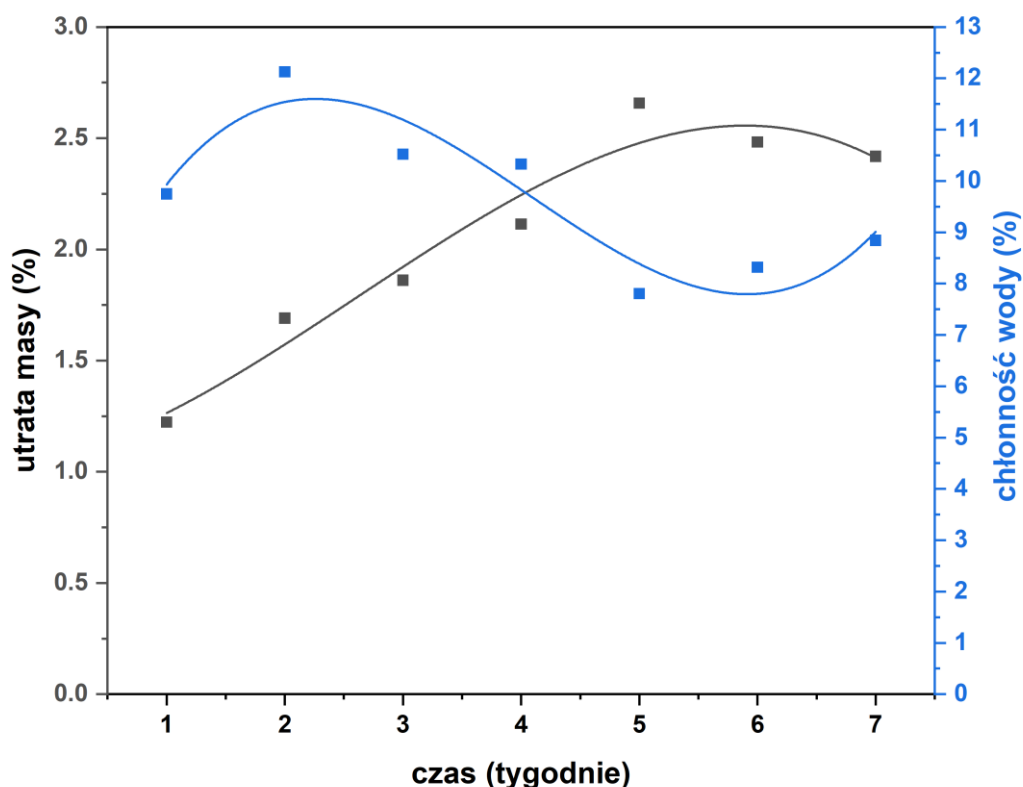
W niniejszym podrozdziale przedstawiono wyniki badań dotyczących degradacji hydrolitycznej i enzymatycznej z wykorzystaniem trypsyny, hybrydowej sieci polimerowej zawierającej 10% wag. PEG-yłowanego fibrynogenu.

Degradacja hydrolityczna

Analiza zmian struktury chemicznej za pomocą spektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera ujawniła zauważalne różnice w trzech obszarach widma (Rysunek 50). Przede wszystkim zanik pasma przy 1650 cm^{-1} już po 4 tygodniach sugeruje skuteczną degradację wiązania peptydowego. Co więcej, zmiany te potwierdza zanik pasm w zakresie $3500\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$, związanych z występowaniem wiązań wodorowych między grupami aminowymi (-NH) i karbonowymi (-C=O) w białku, co potwierdza wcześniejszą obserwację. Ponadto nieznaczne zmiany w intensywności pasm obserwuje się około 1000 cm^{-1} , odnoszą się one zarówno do drgań w wiązaniach uretanowych komponentu A, jak i aminowych obecnych w białku. Widoczne zmiany struktury przełożyły się na wyniki utraty masy (Rysunek 51). Wzrost utraty masy jest stały do około 5 tygodnia, następnie obserwuje się jego stabilizację (około 3%). Wyniki te korelują z chłonnością wody. Początkowo chłonność wynosiła około 10%, spadając do wartości około 7% w 5 tygodniu. Można by wnioskować, że łatwo dostępny powierzchniowo fibrynogen zdegradował w znacznym stopniu w ciągu 5 tygodni, dlatego też po tym czasie obserwuje się spowolnienie procesu.



Rysunek 50 Zmiany w strukturze chemicznej w hybrydowej sieci polimerowej AB 90:10 podczas degradacji hydrolitycznej



Rysunek 51 Ubytek masy i chłonność wody hybrydowych sieci polimerowych AB 90:10 podczas degradacji hydrolitycznej

Degradacja proteolityczna

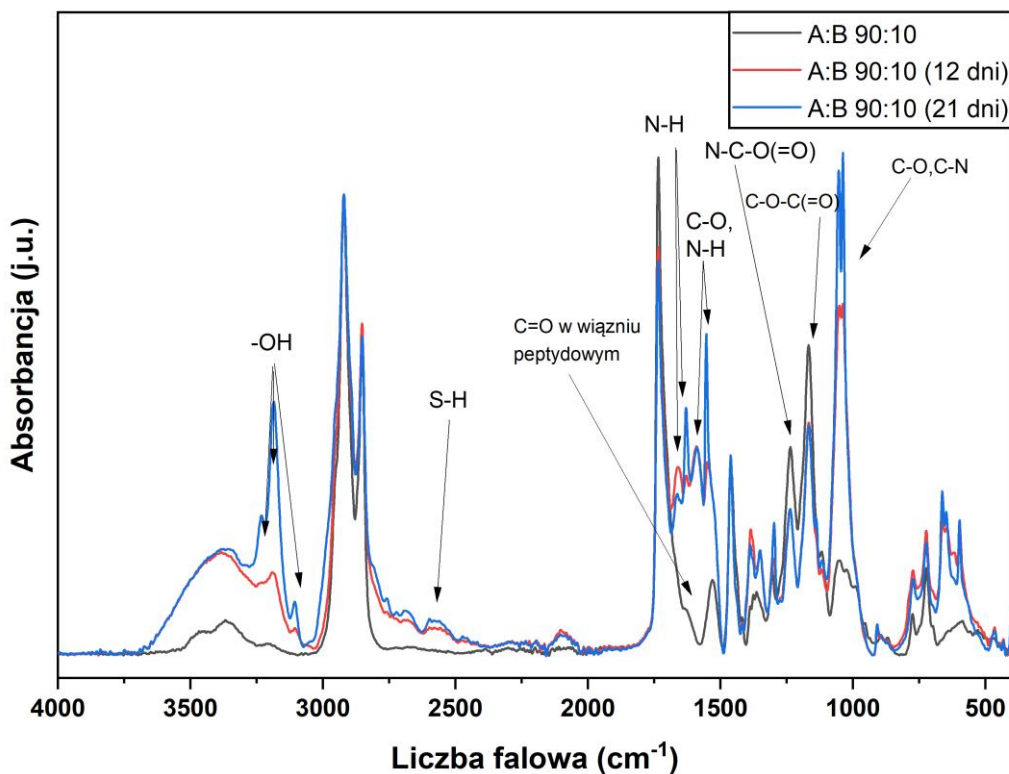
Widma spektroskopowe (Rysunek 52) ukazują liczne zmiany w budowie chemicznej hybrydowej sieci polimerowej w wyniku degradacji. Pasma w zakresie $3500\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ uległy znacznemu poszerzeniu (aż do 3700 cm^{-1}). W tym zakresie oprócz pasma przypisanego drganiom N-H w uretanie i grupach aminowych fibrynogenu pojawiły się nowe pasma odpowiadające drganiu grupy hydroksylowej w alkoholach i kwasach karboksylowych (3232 , 3185 , 3107 cm^{-1}) będących produktami degradacji zarówno fibrynogenu, jak i uretanu. Ponadto obserwuje się znaczący spadek intensywności pasm 1735 cm^{-1} pochodzący od drgania rozciągającego C=O w wiązaniach uretanowych i estrowych.

Kolejne duże różnice w widmie są obserwowalne w zakresie $1700\text{--}1560\text{ cm}^{-1}$, gdzie w czasie degradacji pojawiły się 3 nowe pasma świadczące o utworzeniu nowych produktów rozkładu, między innymi wiązania peptydowego (amin i kwasów karboksylowych). Pasma 1663 oraz 1630 cm^{-1} odpowiada drganiom nożycowym grupy NH w aminach I i II rzędowych, natomiast przy 1588 cm^{-1} pojawia się zarówno pasmo od drgań grupy aminowej jak i C-O w kwasach karboksylowych. Pasma przy 1054 i 1038 cm^{-1} również potwierdzają obecność produktów degradacji, gdyż odpowiadają drganiom rozciągającym C-O w alkoholach i kwasach karboksylowych oraz drganiom rozciągającym N-H w aminach. Zastosowana proteaza jest enzymem, który specyficznie trawi białka poprzez rozszczepienie wiązania peptydowego od strony karboksylowej aminokwasów (takich jak lizyna i arginina). Tak jak i na widmie, pojawienie się pasm około 2600 cm^{-1} świadczy o oderwaniu PEG od

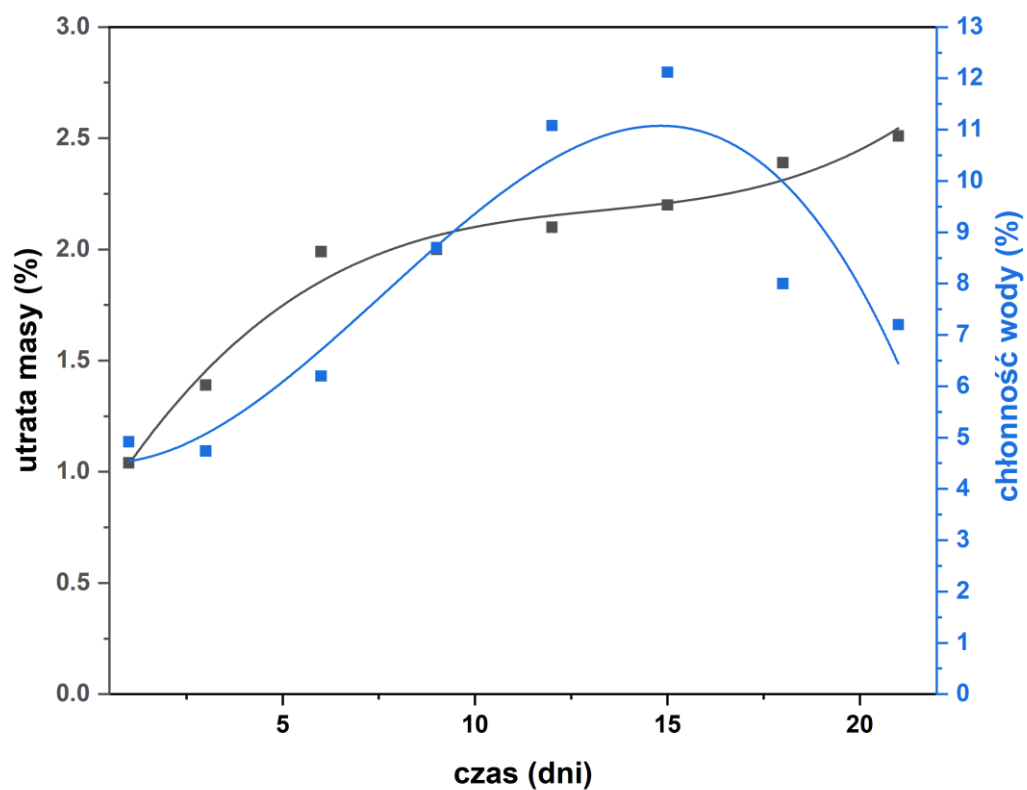
struktury fibrynogenu, gdyż odpowiada ono drganiu grupy tiolowej (SH), do której to przyłączany był PEG-DA.

Tak znaczące różnice w strukturze chemicznej mają swoje odzwierciedlenie w wynikach utraty masy i chłonności wody (Rysunek 53). Po 3 tygodniach uzyskano wyniki porównywalne do 7 tygodni degradacji hydrolytycznej (~2% utraty masy).

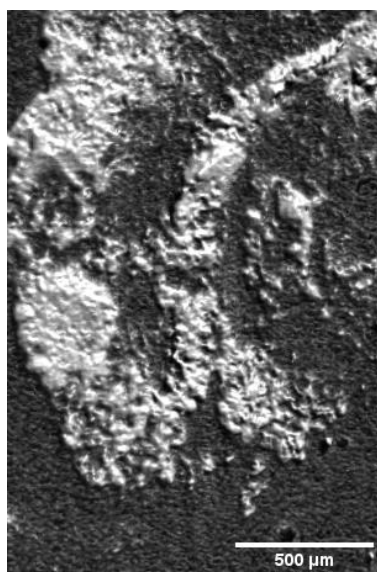
Analiza powierzchni za pomocą mikrotomografii komputerowej ujawniła nie tylko znaczący wzrost chropowatości, ale i obecność dużych jaśniejszych struktur, wrosniętych w strukturę sieci polimerowej (Rysunek 54). Badanie XRD wykazało, iż jest to hydroksyapatyt (Rysunek 55). Na dyfraktogramie próbki po degradacji widoczne są charakterystyczne dla hydroksyapatytu refleksy: 11° ($d = 8,16 \text{ \AA}$), 22° ($d = 4,08 \text{ \AA}$), 32° ($d = 2,81 \text{ \AA}$), i 66° ($d = 1,41 \text{ \AA}$), [175]. Pasma uzyskanych wzorów XRD zostały dopasowane do tych z karty charakterystyki hydroksyapatytu nr 01-073-9478 [176]. Obecność trwale związanego depozytu świadczy o bioaktywności materiału. Hydroksyapatyt tworzy rusztowanie, do którego przylegają komórki [177], tym samym ułatwiając procesy regeneracji.



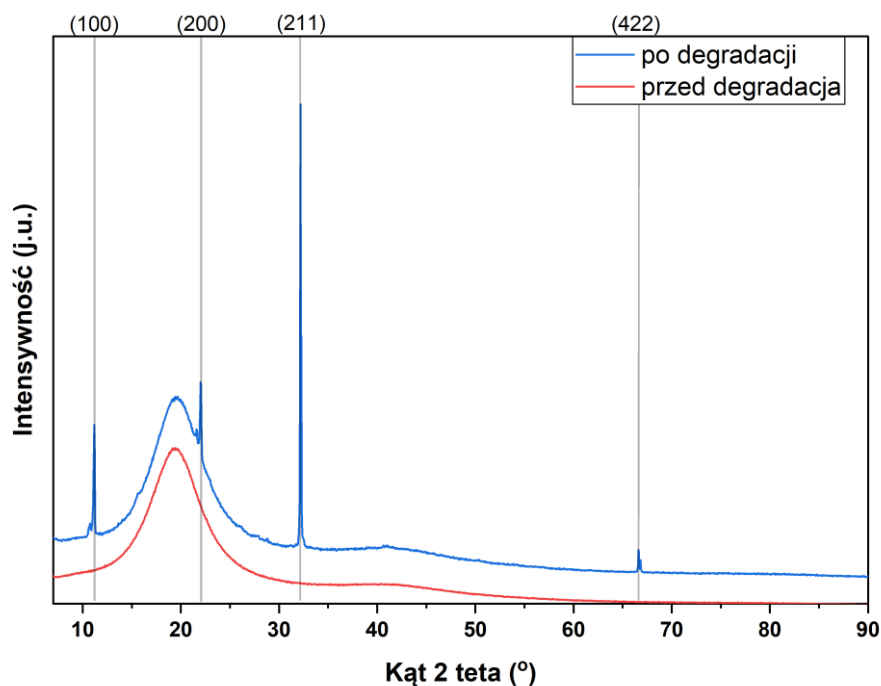
Rysunek 52 Zmiany w strukturze chemicznej w hybrydowej sieci polimerowej AB 90:10 podczas degradacji proteolitycznej



Rysunek 53 Ubytek masy i chłonność wody hybrydowych sieci polimerowych AB 90:10 podczas degradacji proteolitycznej



Rysunek 54 Zmiany morfologiczne w strukturze powierzchni hybrydowej sieci polimerowej (AB) po 21 dniach degradacji proteolitycznej



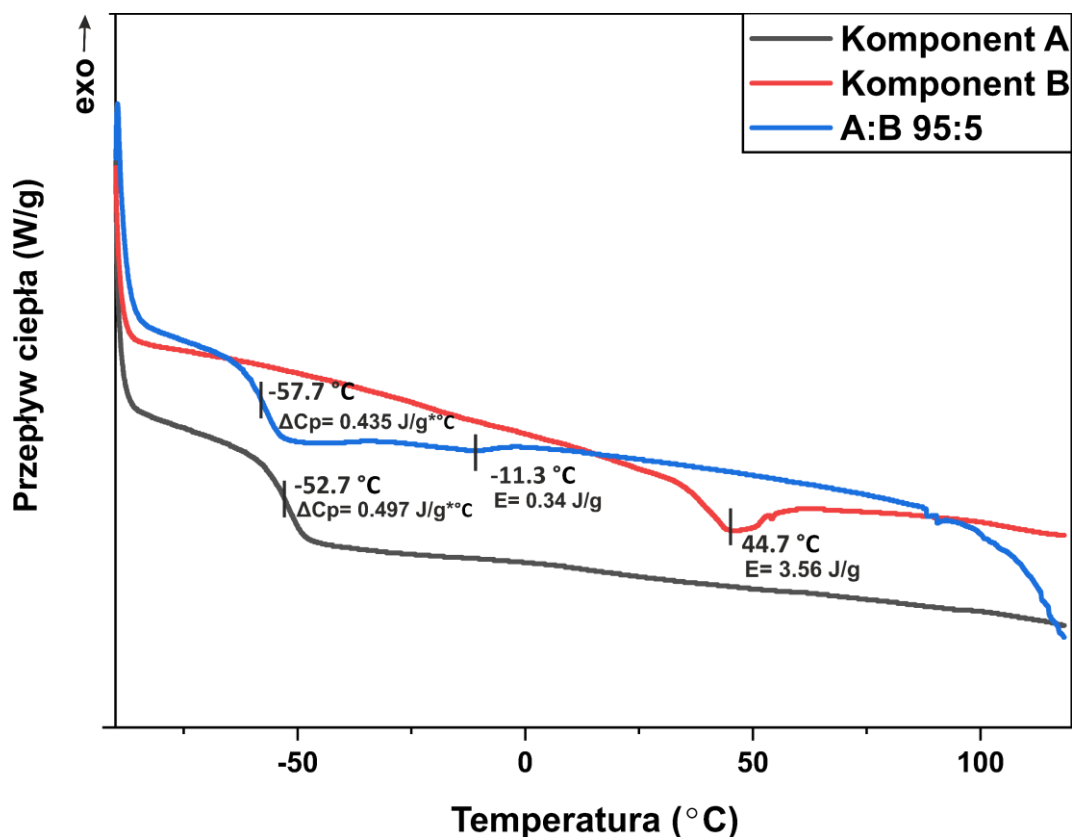
Rysunek 55 Dyfraktogramy filmu AB 90:10 przed i po 21 dniach degradacji proteolitycznej

5.7.6 Analiza termiczna metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC)

Badanie metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC) zostało przeprowadzone w celu określenia przejść fazowych otrzymanych kompozycji oraz zbadania wpływu zastosowanej modyfikacji. Temperatura zeszklenia składnika A wynosi $-52,7^{\circ}\text{C}$ przy zmianie ciepła właściwego wynoszącej $0,497 \text{ J/g}^{\circ}\text{C}$ (Rysunek 56). Na termogramie składnika B (PEG-ylowanego fibrynogenu) zaobserwowano temperaturę topnienia wynoszącą $44,7^{\circ}\text{C}$ z wartością entalpii $3,56 \text{ J/g}$, która jest o około 10°C niższa niż literaturowa temperatura topnienia czystego fibrynogenu [134,178]. Wynika to najprawdopodobniej z przyłączenia PEG do struktury, co potwierdza udaną PEG-ylację fibrynogenu.

Na termogramie układu hybrydowego A:B 95:5 można zaobserwować tylko jedno wyraźne przejście fazowe, będące przejściem szklistym przy $-57,7^{\circ}\text{C}$ oraz nieznaczną endotermę przy -10°C . Obecność tylko jednej wartości T_g , w dodatku przesuniętej w stosunku do wartości kompozycji wyjściowej oraz przesunięcie endotermy topnienia komponentu B potwierdza dobrą kompatybilność obydwu składników [30]. Ponadto, warto

zauważyć, że zmiany ciepła właściwego (ΔC_p) dla wszystkich materiałów były bardzo podobne: około $0,45 \text{ J/g}^\circ\text{C}$.



Rysunek 56 Termogramy DSC nieutwardzonych kompozycji

5.7.7 Analiza właściwości termomechanicznych metodą DMTA

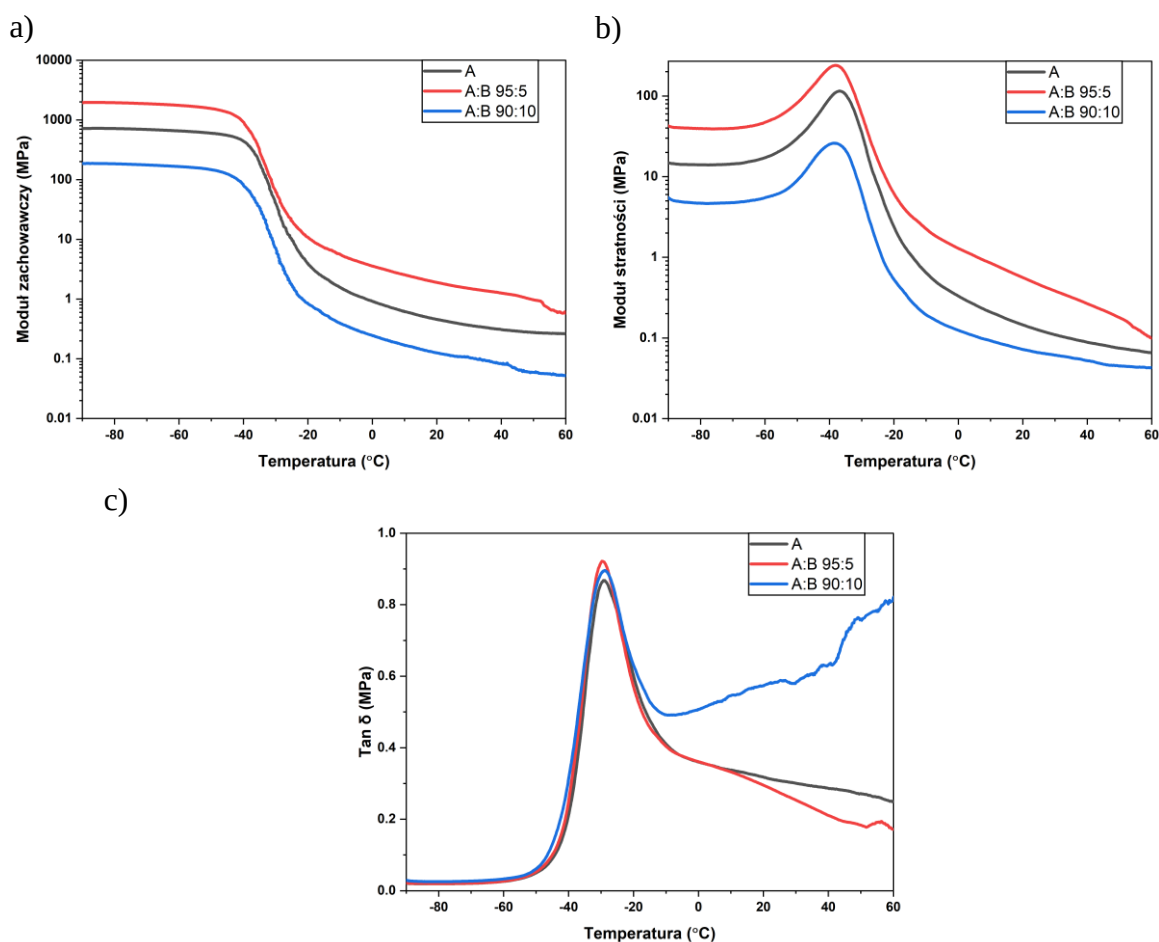
Właściwości hybrydowych sieci polimerowych zostały zbadane za pomocą DMTA. Wyniki przedstawiono w postaci zależnych od temperatury zmian modułu zachowawczego (E'), modułu stratności (E'') i tangensa kąta fazowego ($\tan \delta$) (Rysunek 57). Dodatek składnika B nieznacznie wpływa na temperaturę zeszklenia (T_g). Wartości T_g z modułu zachowawczego mieszczą się w zakresie -37 do -38°C , a na podstawie krzywej modułu stratności wartości te wynoszą -29 do -30°C (Tabela 10). Zaobserwowano jednak znaczące różnice w wartościach modułu stratności i modułu zachowawczego w temperaturze 37°C .

Wartości E' , reprezentujące zachowanie sprężyste, wykazują znaczne różnice w sztywności sieci polimerowej (w temperaturze -80°C od 1584 do 187 MPa). Wartość modułu stratności przy 37°C (dedykowana temperatura aplikacji) dla komponentu A wynosi 324 kPa i przy małej zawartości składnika B wzrasta do 769 kPa, ale przy zwiększeniu zawartości składnika B ulega obniżeniu do 90 kPa. Podobne zjawisko obserwuje się dla wartości E'' w temperaturze 37°C , gdzie wraz ze wzrostem zawartości składnika B (PEG-yłowanego fibrynogenu) w hybrydowej sieci polimerowej, wartość modułu stratności wynosi odpowiednio 94, 203, 55 kPa. Warto nadmienić, że w przypadku tkanek miękkich, wartości modułu sprężystości np. mięśnia sercowego pod koniec rozkurczu mieszczą się w zakresie 200–300 kPa [85], a dla ściany brzucha człowieka wynoszą 100–10 000 kPa. Dlatego otrzymane elastomerowe sieci polimerowe mogą być odpowiednie do zastosowań

w tkankach miękkich. Niewielki dodatek składnika B nie wpływa na $\tan \delta$ w temperaturze 37°C, ale wyższa zawartość (10%) powoduje podwojenie wartości (290 do 620 kPa).

Zmiany właściwości mechanicznych wraz ze zmieniającą się zawartością składnika B można wyjaśnić wzrostem interakcji molekularnych w sieci polimerowej poprzez zwiększenie zawartości grup funkcyjnych zdolnych między innymi do tworzenia wiązań wodorowych. Początkowo niewielkie ilości B nieznacznie zwiększają stopień oddziaływania, prowadząc do zwiększenia sztywności i rozpraszania energii. Jednak wyższa zawartość B zaburza strukturę sieci, powodując zmniejszenie sztywności i przesunięcie w kierunku bardziej elastycznego zachowania. Można to wyjaśnić jako równowagę między tworzeniem nowych oddziaływań w sieci, a zakłóceniem sieci spowodowanym wzrostem zawartości B. $\tan \delta$, który pozwala ocenić homogeniczność fazową układu pozostaje niezmienny przy niewielkich dodatkach PEG-ylowanego fibrynogenu, ale znacznie wzrasta przy wyższej zawartości B, co wskazuje na przesunięcie w kierunku bardziej dyssypatywnego zachowania.

Jednakże, należy zaznaczyć, że właściwości mechaniczne hybryd (zawierających składnik białkowy – komponent B) posiadają niższe wartości tak istotnych pod kątem zastosowania modułów niż układy o polepszonej adhezji (AC). Najprawdopodobniej wynika to z powierzchniowego usytuowania DOPY. 10% zawartość DOPA zwiększa maksymalne obciążenie, poprzez stabilizowanie struktury sieci polimerowej w głębszych warstwach.



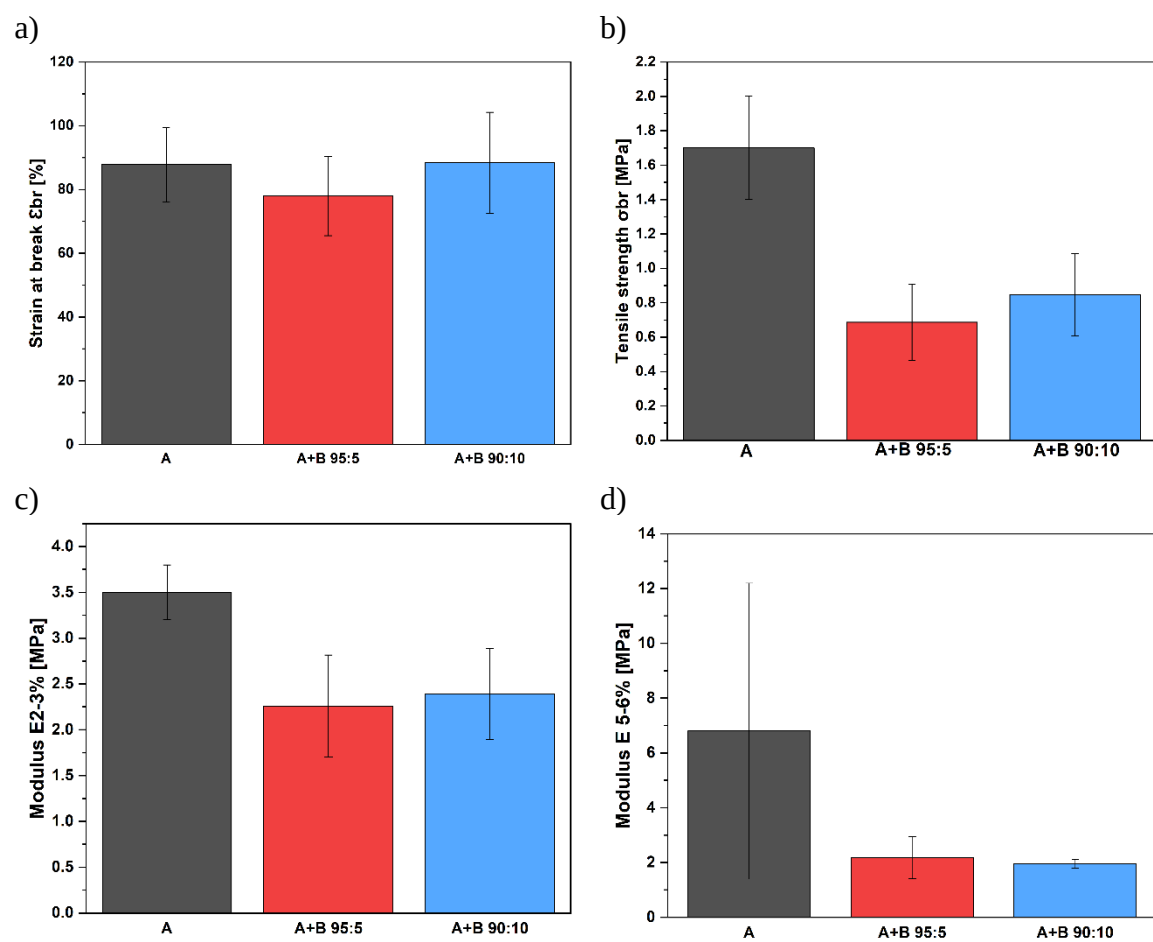
Rysunek 57 Analiza DMTA fotoutwardzalnych sieci polimerowych: (a) moduł zachowawczy (E'), (b) moduł stratności (E'') i (c) tangens kąta fazowego ($\tan \delta$)

Tabela 10 Wyniki DMTA dla sieci polimerowych A:B

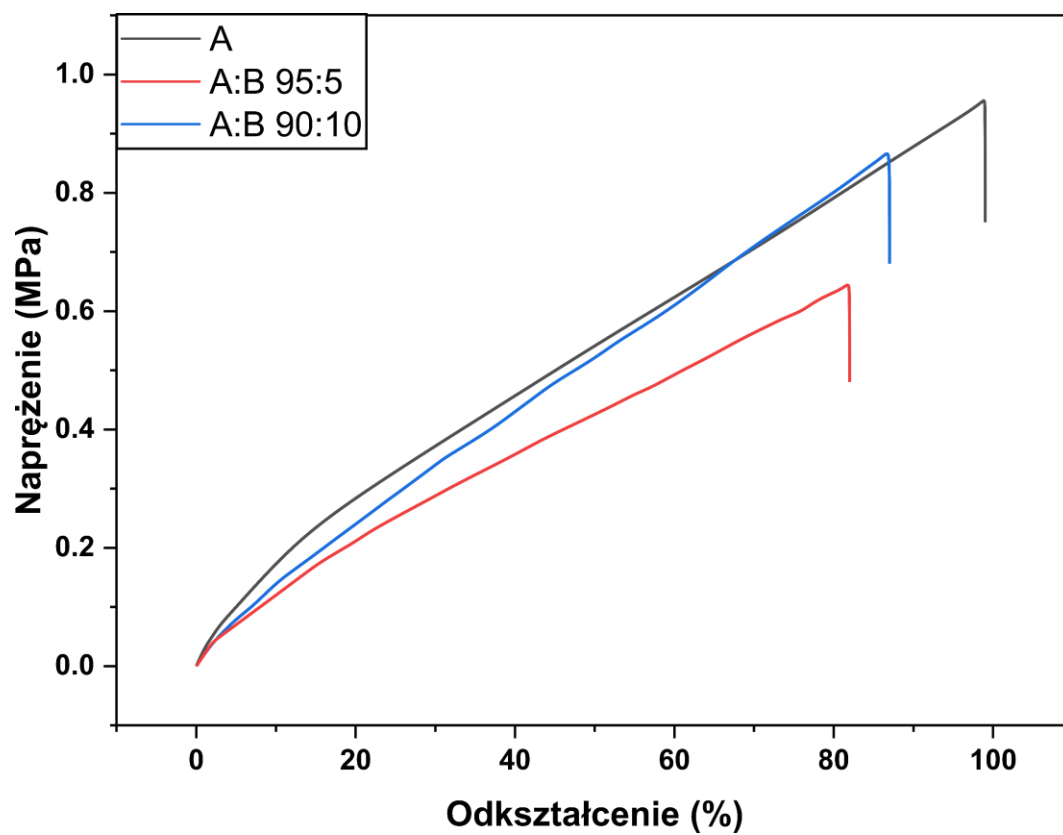
Materiał	T _g (E'' _{max}) [°C]	T _g (tan δ _{max}) [°C]	E' w 37°C [MPa]	E'' w 37°C [MPa]	Tan δ w 37°C
składnik A	-36,9	-29,3	0,3238	0,0940	0,2905
AB 95:5	-37,6	-30,2	0,7688	0,2035	0,2643
AB 90:10	-38,5	-28,8	0,0900	0,0554	0,6196

5.7.8 Właściwości mechaniczne sieci polimerowych A+B

Dodatkowo, właściwości mechaniczne zostały ocenione za pomocą testu wytrzymałości na rozciąganie. Wszystkie sieci polimerowe wykazują wysoką elastyczność. Wytrzymałość na rozciąganie wynosiła do 1,7 MPa, wydłużenie przy zerwaniu – 90%, zaś moduły przy 2–3% odkształceniu i 5–6% odkształceniu mieściły się w zakresie 2–6 MPa (Rysunek 58 i Rysunek 59). Różnice w odkształceniu przy zerwaniu są pomijalne, co ważne, wszystkie z nich znajdują się w zakresie typowym dla tkanek miękkich. Znaczące różnice zaobserwowano w wartościach wytrzymałości na rozciąganie. Dodatek składnika B zmniejsza dwukrotnie dla 10% i trzykrotnie dla 5% dodatku składnika B (Rysunek 58b). Średnia wytrzymałość na rozciąganie „tkanki miękkiej” mieści się w zakresie 0,3–100 MPa, dla serca np. 0,1–0,5 MPa [155,156]. Wyniki te sugerują, że otrzymane hybrydowe sieci polimerowe ze względu na swoje zbliżone właściwości mechaniczne mogą być odpowiednie do zastosowań w kontakcie szerokiego zakresu tkanek miękkich. Wartości modułów sieci hybrydowych są również niższe w porównaniu do usieciowanej folii tylko na bazie komponentu A. Moduł Younga dla tkanek miękkich mieści się w zakresie 0,1–3 MPa, podczas gdy dla serca wynosi 0,5–2 MPa. Większość hydrożeli ma zbyt niski moduł (0,001–0,1 MPa) [179,180], który można zwiększyć dokonując ich modyfikacji, np. dodając włókna. Jednak po dodaniu włókien kompozyt staje się sztywniejszy (moduł E wynosi 0,01–1 MPa). Z drugiej strony, polimery (elastomery, takie jak poliuretany) i kompozyty polimerowe, takie jak poli(e-kaprolakton) z hydrożelem, mają większą sztywność niż tkanki miękkie, z modułem w zakresie odpowiednio 0,1–10 i 0,1–100 MPa [23]. Dlatego tworzenie sieci hybrydowych wydaje się interesującym sposobem projektowania specjalnych materiałów do wymagających zastosowań, dzięki możliwości zmian udziału poszczególnych komponentów, co pozwala na uzyskanie pożądanych właściwości.



Rysunek 58 Właściwości mechaniczne utwardzonych folii: a) wytrzymałość na rozciąganie b) odkształcenie przy zerwaniu c) moduł przy 2–3% i d) moduł przy 5–6%



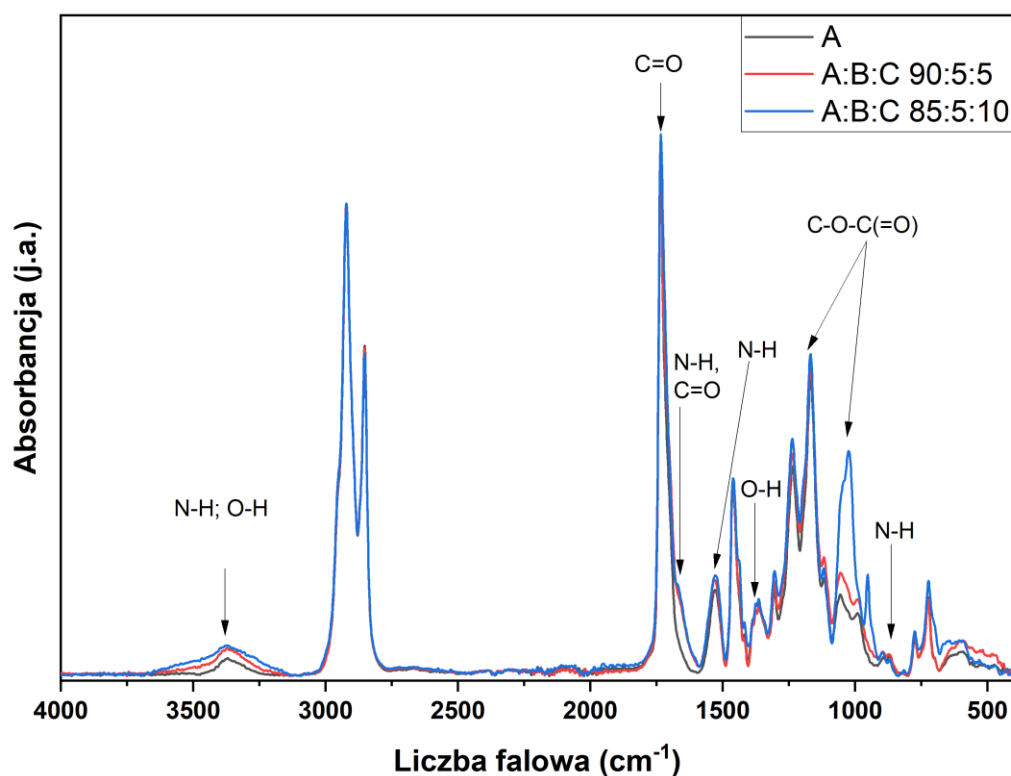
Rysunek 59 Reprezentatywne krzywe napężenie-odkształcenia uzyskane podczas próby rozciągania do zerwania hybrydowych sieci polimerowych

5.8 Amfifilowe układy hybrydowe zawierające pochodne kwasu tłuszczowego, fibrynogen i ugrupowania katecholowe (A:B:C)

Otrzymanie układów trójskładnikowych miało na celu uzyskanie materiału zarówno o poprawionej adhezji, jak i właściwościach amfifilowych. Amfifilowe i hybrydowe sieci polimerowe zawierające dodatek adhezyjny (grupy katecholowe) poddano serii badań mających na celu określenie ich właściwości, ocenę wpływu obecności, jak i ilości składników.

5.8.1 Analiza budowy chemicznej metodą spektroskopii w podczerwieni (FT-IR)

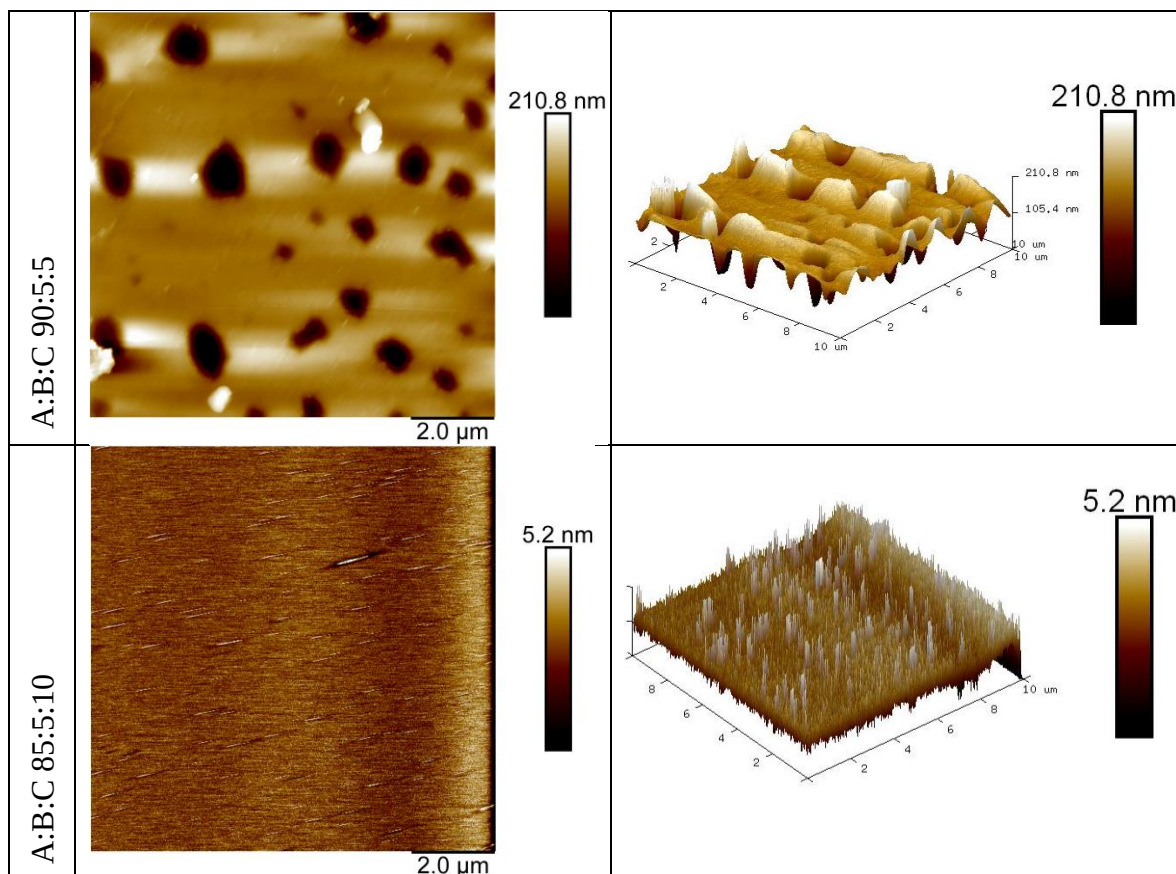
Analiza porównawcza widm dla materiału bazowego (komponent A) i układów trójskładnikowych została przedstawiona na Rysunek 60. Można zauważyć znaczące poszerzenia się pasma około 3370 cm^{-1} wraz z pojawieniem się PEG-yłowanego fibrynogenu i metakrylowanej-L-DOPA względem układu jednoskładnikowego, w strukturze którego w tym zakresie obserwuje się jedynie drgania pochodzące od wiązania uretanowego. Przy tej liczbie falowej obserwuje się drgania wiązań N-H również w amidach I i II rzędowych, jak i grup O-H w alkoholach i kwasach karboksylowych obecnych w strukturze fibrynogenu i DOPA. Ponadto obecność grup hydroksylowych potwierdza wzrost intensywności pasm w zakresie $1420\text{--}1330\text{ cm}^{-1}$, przypisywanych drganiom zginającym w płaszczyźnie wiązania O-H sprzężonego z drganiami wachlarzowymi C-H. Poszerzenie intensywnego pasma przy 1735 cm^{-1} pochodzącego od drgania C=O w estrach jest efektem obecności drgań C=O i N-H w amidach przy niższej długości fali, potwierdzając obecność wiązań peptydowych w strukturze sieci polimerowej. Wzrost intensywności pasm w zakresie $900\text{--}1150\text{ cm}^{-1}$ układów ABC, świadczy nie tylko o drganiach rozciągających C-O w estrach, uretanach, obecnych w strukturze A, ale i kwasach karboksylowych i alkoholach obecnych w strukturze PEG-yłowanego fibrynogenu i L-DOPA.



Rysunek 60 Widma utwardzonych filmów A oraz kompozycji ABC wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami

5.8.2 Analiza powierzchni układu ABC za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM)

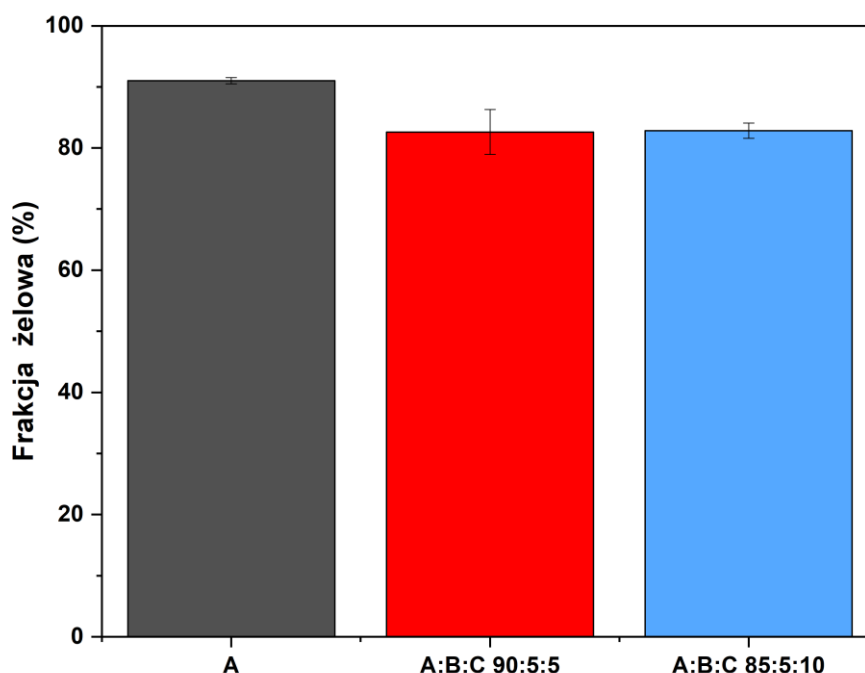
Powierzchnie hybrydowych sieci polimerowych ABC wykazują zróżnicowaną morfologię w zależności od zawartości składników (Rysunek 61). Na filmie ABC 90:5:5 wyraźnie obserwujemy obecny na powierzchni fibrynogen (długie podłużne wypukłe kształty), na których ciemnymi plamkami odznacza się DOPA. Wysokość tych struktur na powierzchni polimeru jest znacząca i wynosi nawet 210 nm. Natomiast w przypadku filmu, w którego składzie chemicznym znajduje się więcej DOPA niż fibrynogenu (ABC 85:5:10) na powierzchni nie jest widoczny fibrynogen, znakomitą większość powierzchni pokrywa aminokwas (składnik C), o czym świadczy również wysokość wystających ponad powierzchnie wąskich struktur wynosząca tak jak i w przypadku filmów AC około 5 nm. Analiza tych powierzchni sugeruje, że dla uzyskania materiału o większej adhezji korzystniejsze będzie otrzymanie materiału o procentowym składzie wagowym ABC 85:5:10.



Rysunek 61 Zdjęcia 2D i 3D AFM hybrydowych sieci polimerowych ABC

5.8.3 Oznaczenie zawartości frakcji żelowej

Zawartość frakcji żelowej przedstawionych poniżej hybrydowych sieci polimerowych ABC jest wysoka (około 83%) i niezależna od zawartości grup katecholowych (Rysunek 62). Ponownie najwyższy wynik uzyskano dla sieci polimerowej zawierającej tylko komponent A. Po uwzględnieniu prezentowanych we wcześniejszych rozdziałach wartości GF dla układów dwuskładnikowych, można stwierdzić, iż największy wpływ na zawartość frakcji żelowej ma obecność komponentu B (PEG-ylowanego fibrynogenu).



Rysunek 62 Zawartość frakcji żelowej w hybrydowych sieciach polimerowych A:B:C

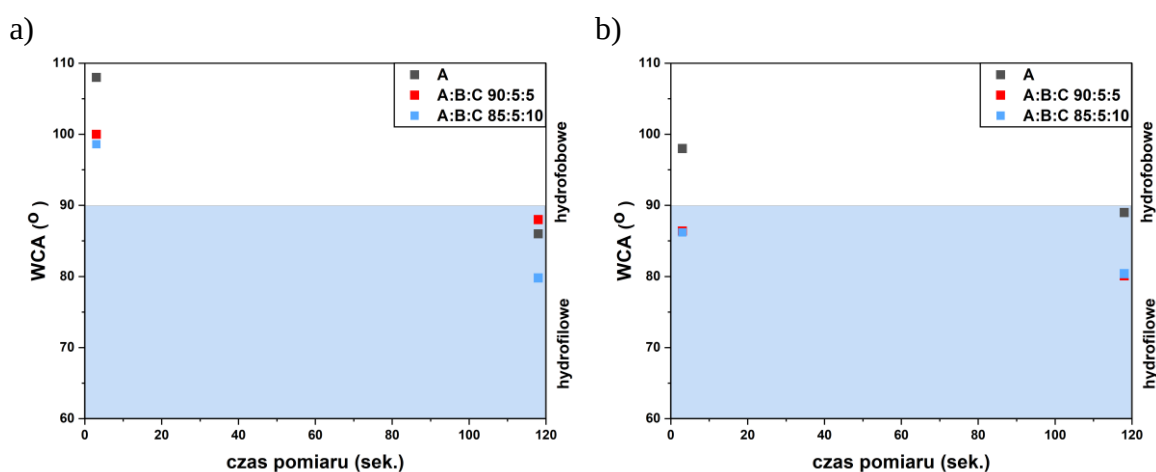
5.8.4 Zwilżalność powierzchni sieci polimerowych

Zwilżalność trójskładnikowych sieci polimerowych wydaje się być niemalże niezależna od zawartości składnika C. Ponownie obserwuje się większą reorganizację struktury powierzchni dla strony mającej kontakt z powietrzem w czasie fotosieciowania (Rysunek 63a). Wartość kąta zwilżania wodą dla powierzchni górnej sieci ABC 90:5:5 jest nieznacznie większa po 2 minutach niż dla sieci ABC 85:5:10. Natomiast, dla powierzchni dolnej, wartości dla obu hybryd są niemalże identyczne, co sugeruje, że dłuższy czas prowadzenia pomiaru po stronie górnej mógłby skutkować równie niskimi wartościami dla obu hybryd. Wartości kąta zwilżania dla obu układów są niższe niż dla samego komponentu A oraz układów AB i AC. Wartości kąta zwilżania wodą dla wszystkich materiałów jest niska i wynosi poniżej 90° , co wskazuje na hydrofilowy charakter powierzchni sieci polimerowych (Rysunek 63). Ten synergiczny efekt może być podobny do tego opisanego w części literaturowej, dzięki któremu omułki przylegają do różnorodnych powierzchni (synergiczny efekt grup katecholowych i aminowych). Mianowicie, ilość innych grup funkcyjnych, takich jak wiązania uretanowe, estrowe, karboksylowe i eterowe zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych, a nawet oddziaływań elektrostatycznych, ułatwia i wzmacnia działanie katecholu.

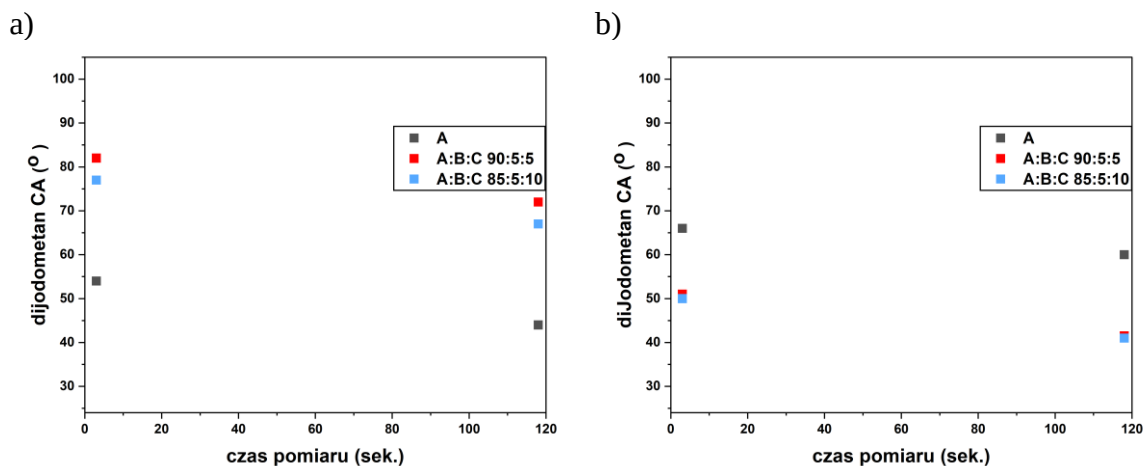
Analiza pomiarów z wykorzystaniem słabo polarnego diiodometanu ukazała tę samą tendencję (Rysunek 64). Powierzchnia dolna sieci polimerowych (mająca kontakt z hydrofilowym szkłem podczas fotosieciowania) charakteryzuje się mniejszą zmianą kąta zwilżania diiodometanem (reorganizacją). Jak można się było spodziewać, górna powierzchnia sieci polimerowej stworzonej przez komponent A, bazujący na kwasach tłuszczowych, jest bardziej hydrofobowa niż układów hybrydowych (komponent A: 44° , układy hybrydowe: $\sim 70^\circ$ po 2 min.). Natomiast po stronie dolnej jest odwrotnie –hybrydowe sieci polimerowe wykazują większe powinowactwo do mniej polarnego niż woda

rozpuszczalnika, który chętniej oddziałuje na zasadzie hydrofobowych interakcji. Kąt zwilżania (CA) wynosi około 41° , podczas gdy dla sieci polimerowej wytworzonej tylko z komponentu A aż 60° . Natomiast warto mieć na uwadze wspomniany przy analizie wpływ samego katecholu na kąt zwilżania, gdzie dłuższy czas na reorganizację doprowadziłby do podobnych wartości.

Ze względu na hydrofilowy charakter szkła nastąpiła reorganizacja, w której grupy funkcyjne z sieci polimerowej A takie jak karbonylowe, uretanowe i estrowe, przemieściły się ku powierzchni sieci polimerowej w celu oddziaływania ze szkłem i zmniejszenia napięcia powierzchniowego między powierzchniami. Natomiast w przypadku hybryd nastąpiło podobne zjawisko, ku powierzchni przemieściły się fragmenty białka, natomiast fibrynogen, ze względu na swoją naturę doskonale oddziałuje również z hydrofobowymi substancjami takimi jak diiodometan, dla którego jak wspomniano wcześniej kąt wynosi tylko 40° [174].



Rysunek 63 Zmiana kąta zwilżania w funkcji czasu hybrydowych sieci polimerowych A:B:C a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania



Rysunek 64 Zmiana kąta zwilżania diiodometanem w funkcji czasu hybrydowych sieci polimerowych A:B:C a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania

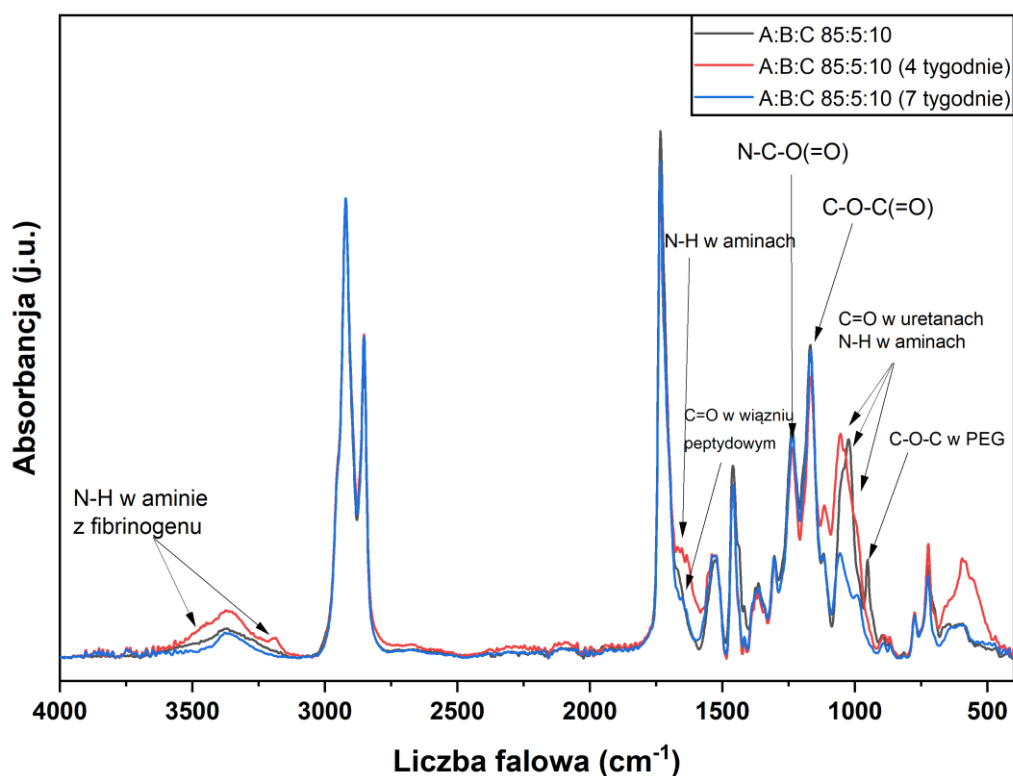
5.8.5 Degradacja hybrydowych sieci polimerowych o polepszonej adhezyjności

W niniejszym podrozdziale przedstawiono wyniki badań dotyczących degradacji hydrolitycznej i katalizowanej enzymami (lipazą i tripsyną) hybrydowej sieci polimerowej

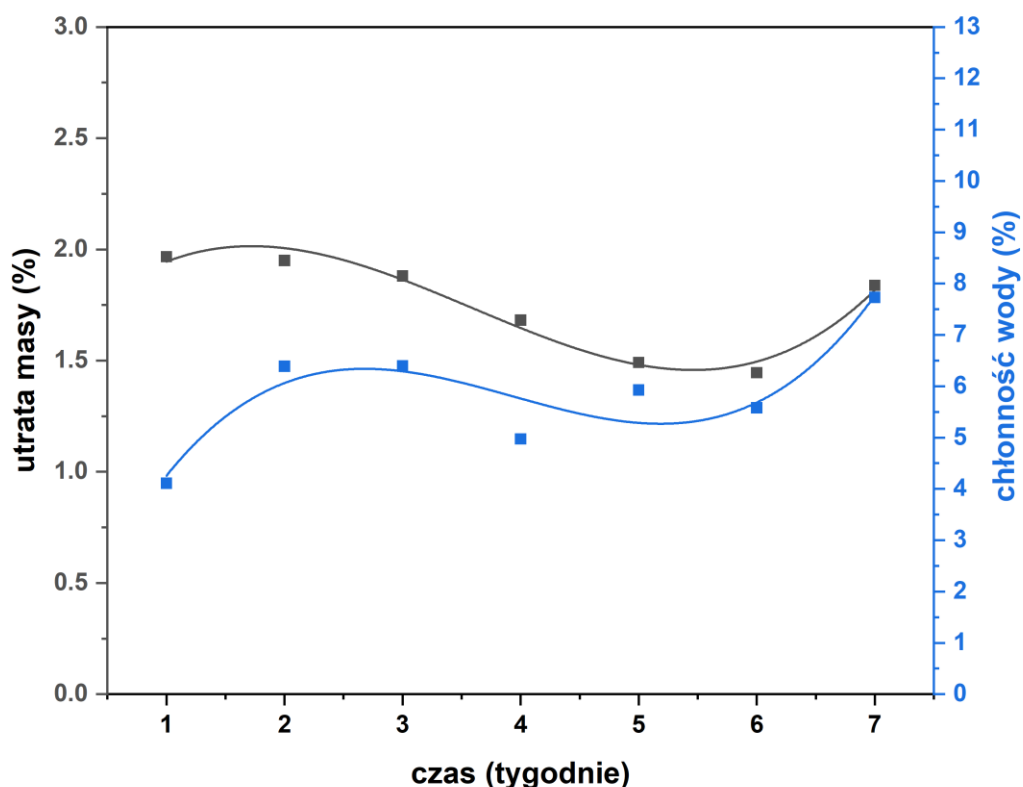
zawierającej 5% wag. PEG-yłowanego fibrynogenu oraz 10% wag. metakrylowanej adhezyjnej L-DOPA.

Degradacja hydrolityczna

Analiza widm ukazała tak jak i w przypadku układu AB zmiany w zakresie 3200–3500 cm^{-1} oraz 1650 cm^{-1} odpowiadające degradacji wiązania peptydowego (Rysunek 65). Znaczący wzrost intensywności pasm przypada na 4 tydzień degradacji. Na tym etapie eksperymentu ujawniają się znaczne różnice w intensywności pasm 1660 i 1530 cm^{-1} , które należy przypisać drganiom zginającym -NH, czyli produktom degradacji (aminom pierwszo- i drugorzędowym). Utrata masy przez cały eksperyment utrzymuje się na stałym poziomie około 2% (Rysunek 66).



Rysunek 65 Zmiany w strukturze chemicznej w hybrydowej sieci polimerowej ABC 85:5:10 podczas degradacji hydrolitycznej



Rysunek 66 Ubytek masy i chłonność wody hybrydowych sieci polimerowej o polepszonych właściwościach adhezyjnych ABC 85:5:10 podczas degradacji hydrolitycznej

Degradacja proteolityczna

Porównanie widm z postępu degradacji ukazało znaczące zmiany zachodzące w strukturze hybrydowej sieci polimerowej o polepszonej adhezji w tych samych 3 zakresach (Rysunek 67). Znaczący wzrost absorbancji pasm w zakresie $3500\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ jak i ich poszerzenie (aż do 3700 cm^{-1}) są efektem pojawienia się ugrupowań pochodzących od produktów degradacji, takich jak kwasy karboksylowe i alkohole. Kolejny zakres $1700\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ ujawnia obecność amin. Pasma około 1650 i 1630 cm^{-1} odpowiada drganiom nożycowym wiązania NH. Natomiast pasmo około 1552 cm^{-1} pojawiające się podczas degradacji należy przypisać drganiu rozciągającemu C-O w kwasach karboksylowych. Obecność kwasów karboksylowych i alkoholi potwierdza również pojawienie się pasm około 1054 i 1040 cm^{-1} odpowiadającym drganiu O-H w tychże.

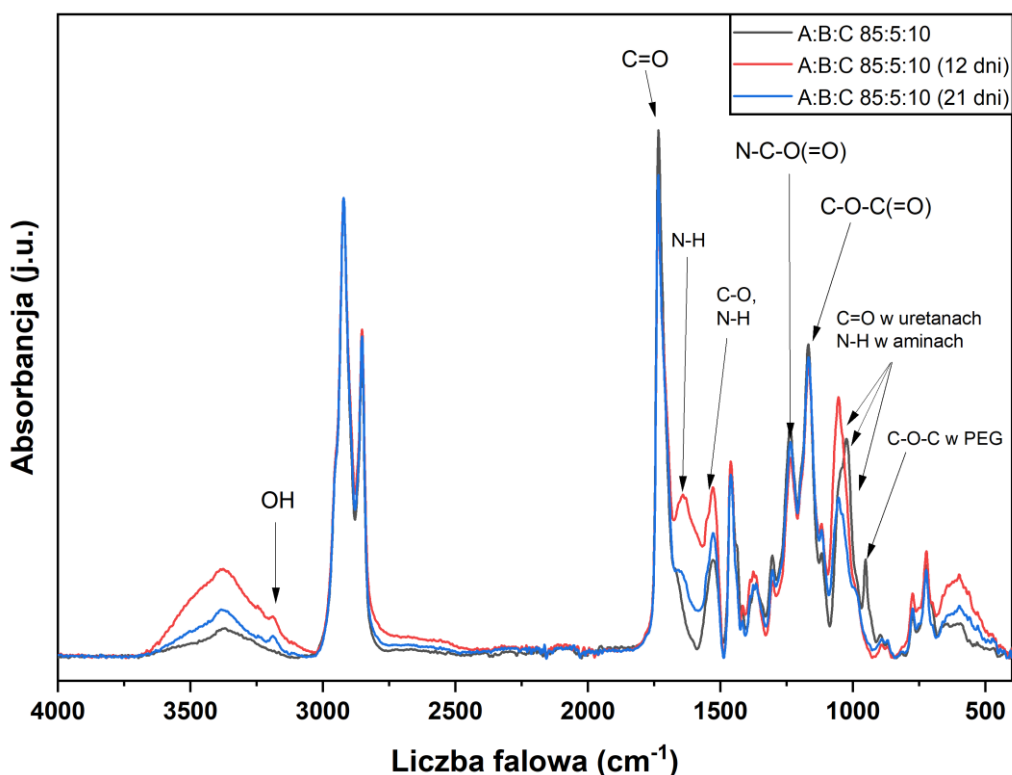
Ponadto, obecność pasm około 2600 cm^{-1} w polimerach po degradacji świadczy o oderwaniu PEG od struktury fibrynogenu, gdyż odpowiada ono drganiu grupy tiolowej (SH), do której to przyłączany był PEG-DA.

Analiza wyników utraty masy i chłonności wody przedstawiona na Rysunek 68 ukazała korelację tych wyników. Początkowa duża chłonność wody (do około 12%) koreluje z stosunkowo wolną utratą masy, świadcząc o obecności hydrofilowego białka i aminokwasów w strukturze sieci polimerowej, co potwierdzają również widma FTIR. Po około 15 dniach, następuje wymycie składników hydrofilowych, prowadząc do spadku chłonności wody przez sieć polimerową, jednocześnie skutkuje raptowną utratą masy ($\sim 4,6\%$). Następnie, chłonność wody utrzymuje się na niskim poziomie do końca

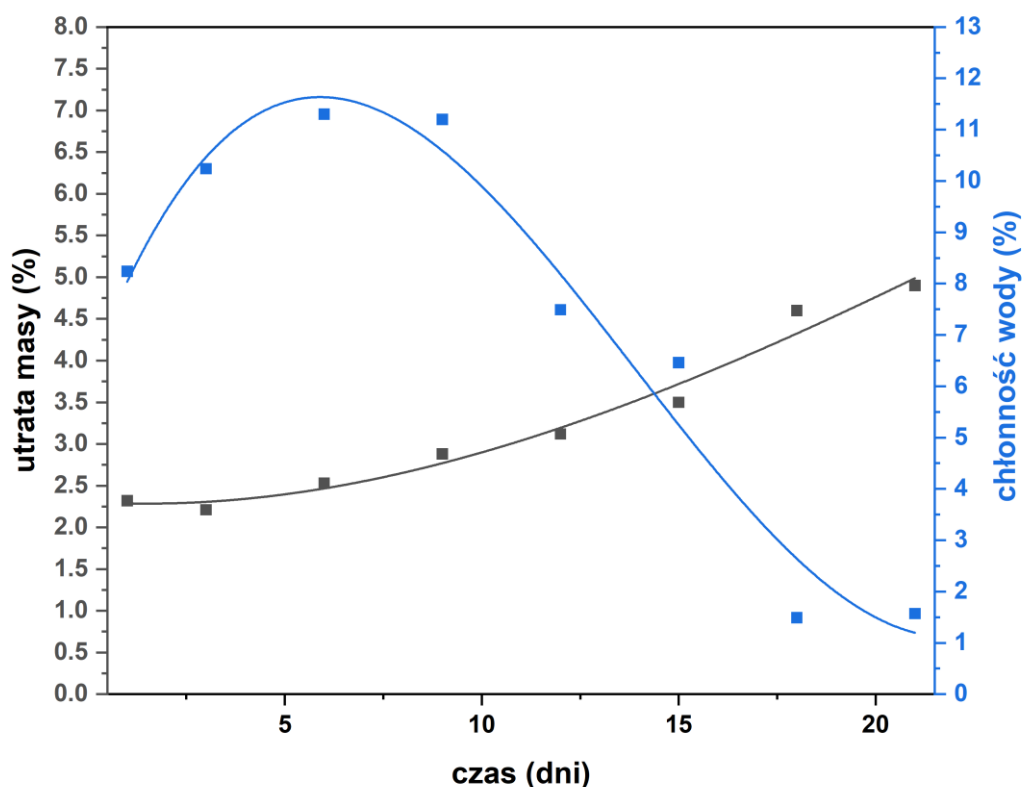
eksperymentu, sugerując, że początkowo dostępne powierzchniowo białko i katechol zostały w znaczącym stopniu zhydrolizowane. Ponadto, porównując te wyniki z prezentowanymi wcześniej dla układu zawierającego jedynie fibrynogen, można wnioskować, iż znajdująca się powierzchniowo DOPA ułatwia penetrację enzymu wraz z buforem w głąb sieci powodując szybszą degradację.

Powyższe wyniki zachodzącej degradacji potwierdza również wzrost chropowatości polimeru poddanego działaniu enzymu (Rysunek 69). Porównanie obrazów z mikrotomografii komputerowej polimeru przed, po degradacji hydrolitycznej i proteolitycznej wykazuje znaczące różnice w morfologii powierzchni próbek. Ponownie w porównaniu do materiału poddanego działaniu wyłącznie buforu zmiany są znacząco większe [167]. Co ciekawe, w przypadku układu ABC nie obserwuje się wrośniętego hydroksyapatytu, obecnego na powierzchni hybrydowych sieci polimerowych AB. Przyczyny należy doszukiwać się w obecności DOPA i jej znacznej obecności na powierzchni, co zostało zobrazowane za pomocą ATR, gdzie przy 10% zawartości składnika C pokrywa on niemalże całą powierzchnię (Rysunek 61), a obecne na Rysunek 46 wypukłe struktury przypisane białku są niewidoczne.

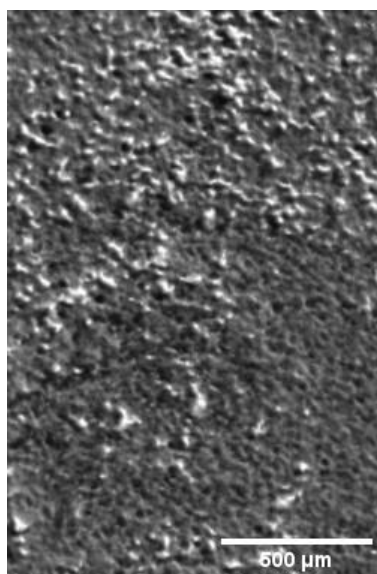
Pomimo braku obecności wrośniętego w strukturę sieci hydroksyapatytu to powierzchnia ta wykazuje się znaczącą chropowatością, która może mieć korzystny wpływ na bioadhezję większych komórek takich jak osteoblasty [181].



Rysunek 67 Zmiany w strukturze chemicznej w hybrydowej sieci polimerowej ABC 85:5:10 podczas degradacji proteolitycznej



Rysunek 68 Ubytek masy i chłonność wody hybrydowych sieci polimerowej o polepszonych właściwościach adhezyjnych ABC 85:5:10 podczas degradacji proteolitycznej

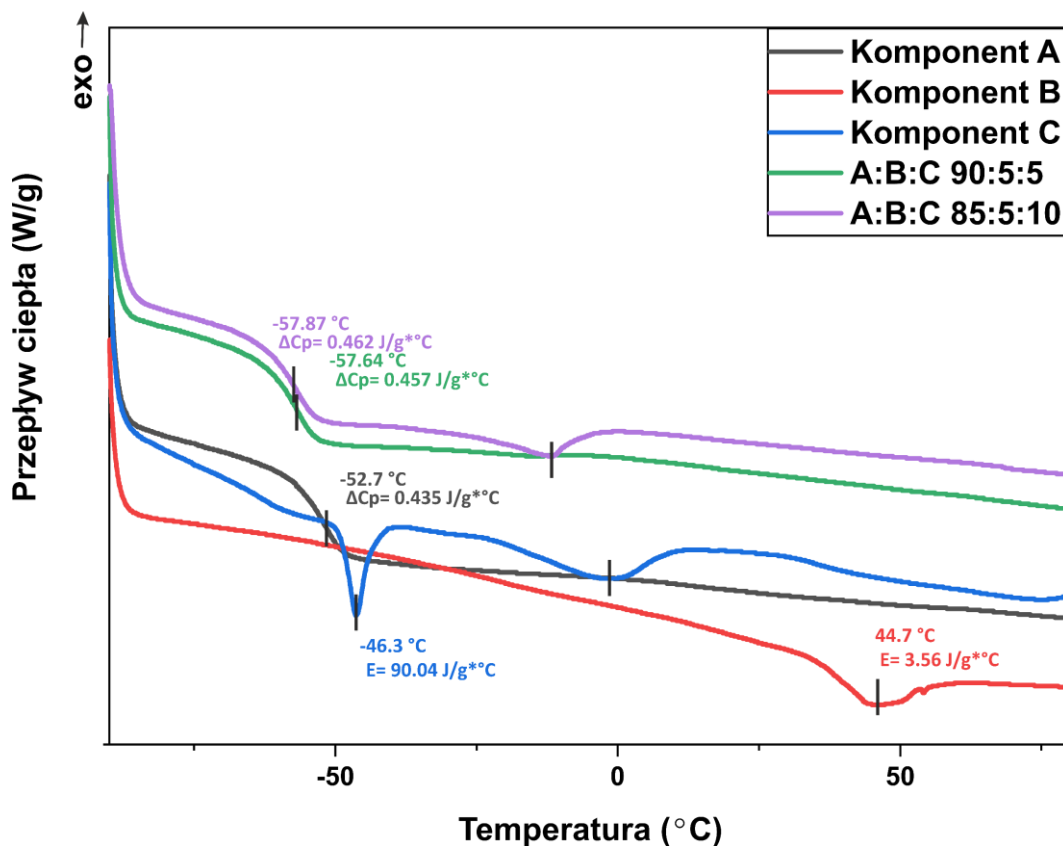


Rysunek 69 Zmiany morfologiczne w strukturze powierzchni hybrydowej sieci polimerowej o polepszonych właściwościach adhezyjnych (ABC) po 21 dniach degradacji proteolitycznej

5.8.6 Analiza termiczna metodą DSC

Na termogramie nieusieciowanych kompozycji obserwuje się znaczące przesunięcia temperatury zeszklenia, do nawet -57°C przy zachowaniu zbliżonych wartości $\Delta C_p = 0,45 \text{ J/g}^{\circ}\text{C}$. Ponadto, dla układu zawierającego 10 % wag. składnika C, obserwuje się temperaturę topnienia nieznacznie przesuniętą w stronę niższych temperatur względem samego

komponentu C (Rysunek 70). Analiza termogramów sieci polimerowych wykazała tylko jedną przemianę fazową– temperaturę zeszklenia. Wartości T_g są bardzo podobne $\sim -49^\circ\text{C}$, co potwierdza pełną kompatybilność składników (Rysunek 70).



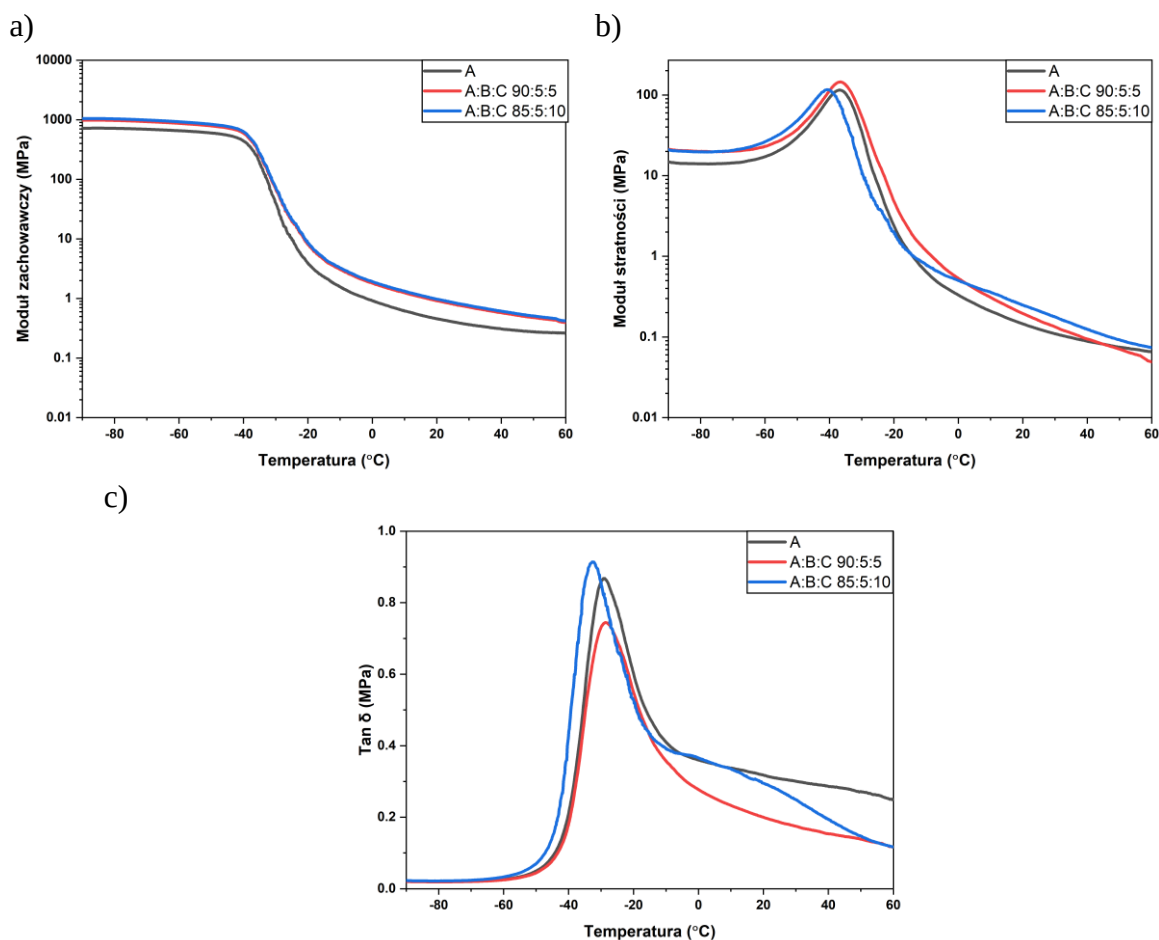
Rysunek 70 Termogramy DSC nieutwardzonych kompozycji ABC

5.8.7 Analiza właściwości termomechanicznych metodą DMTA

Analiza krzywych DMTA trójskładnikowych hybrydowych sieci polimerowych dostarczyła dodatkowych informacji o morfologii i właściwościach termomechanicznych analizowanych układów (Rysunek 71). W przedziale temperatur od -90 do -40°C , wartość modułu zachowawczego (E') (Rysunek 71a) pozostaje w przybliżeniu stała dla wszystkich badanych układów. Największe wartości osiągają hybrydowe sieci polimerowe ($\sim 950 \text{ MPa}$), podczas gdy sieci zbudowane jedynie z komponentu A przyjmują wartość E' 723 MPa . Przebieg krzywych E' dla hybrydowych sieci polimerowych jest niemalże identyczny. Powyżej temperatury -40°C obserwuje się przejście polimeru z fazy szklistej w fazę o większej elastyczności, co wiąże się z gwałtownym spadkiem wartości modułu oraz uwolnieniem energii związanej z relaksacją. Objawia się to w lokalnym maksimum na krzywej tangensa kąta strat mechanicznych, $\tan \delta$ (Rysunek 71c). Temperatury zeszklenia wyznaczone z $\tan \delta$ dla wszystkich próbek są zbliżone i mieszczą się w zakresie -29 – 32°C (Tabela 11).

Również dla trójskładnikowych hybrydowych sieci polimerowych wyznaczono wartości modułów w temperaturze dedykowanej do zastosowań medycznych (37°C). Wartości modułów dla hybrydowych sieci wynoszą około 660 kPa , jest to wartość dwukrotnie większa niż dla sieci jednoskładnikowej A (324 kPa). Warto zauważyć, że jest

to wartość zbliżona do tych otrzymanych dla sieci typu AB 95:5 (769 kPa) oraz sieci typu AC 90:10 (687 kPa) w tej samej temperaturze. Wartości modułu stratności dla wspomnianych powyżej układów (AB 95:5, AC 90:10), jak i sieci trójskładnikowej są zbliżone. Wartość modułu stratności, E'' sieci ABC 90:5:5 wynosi 105 kPa, natomiast dla sieci z 10% zawartością komponentu C, wynosi 140 kPa – niemalże identycznie jak dla sieci AC 90:10 (139 kPa). Wszystkie te wartości są nieznacznie wyższe niż dla sieci na podstawie tylko komponentu A (E'' wynosi 94 kPa). Wyniki te wskazują na istotny wpływ składu sieci polimerowych na ich właściwości mechaniczne. Zwiększona zawartość komponentów B i C w hybrydowych sieciach polimerowych skutkuje większą elastycznością otrzymanych filmów.



Rysunek 71 Analiza DMTA fotoutwardzalnych trójskładnikowych sieci polimerowych: (a) moduł zachowawczy (E'), (b) moduł stratności (E'') i (c) tangens kąta fazowego ($\tan \delta$)

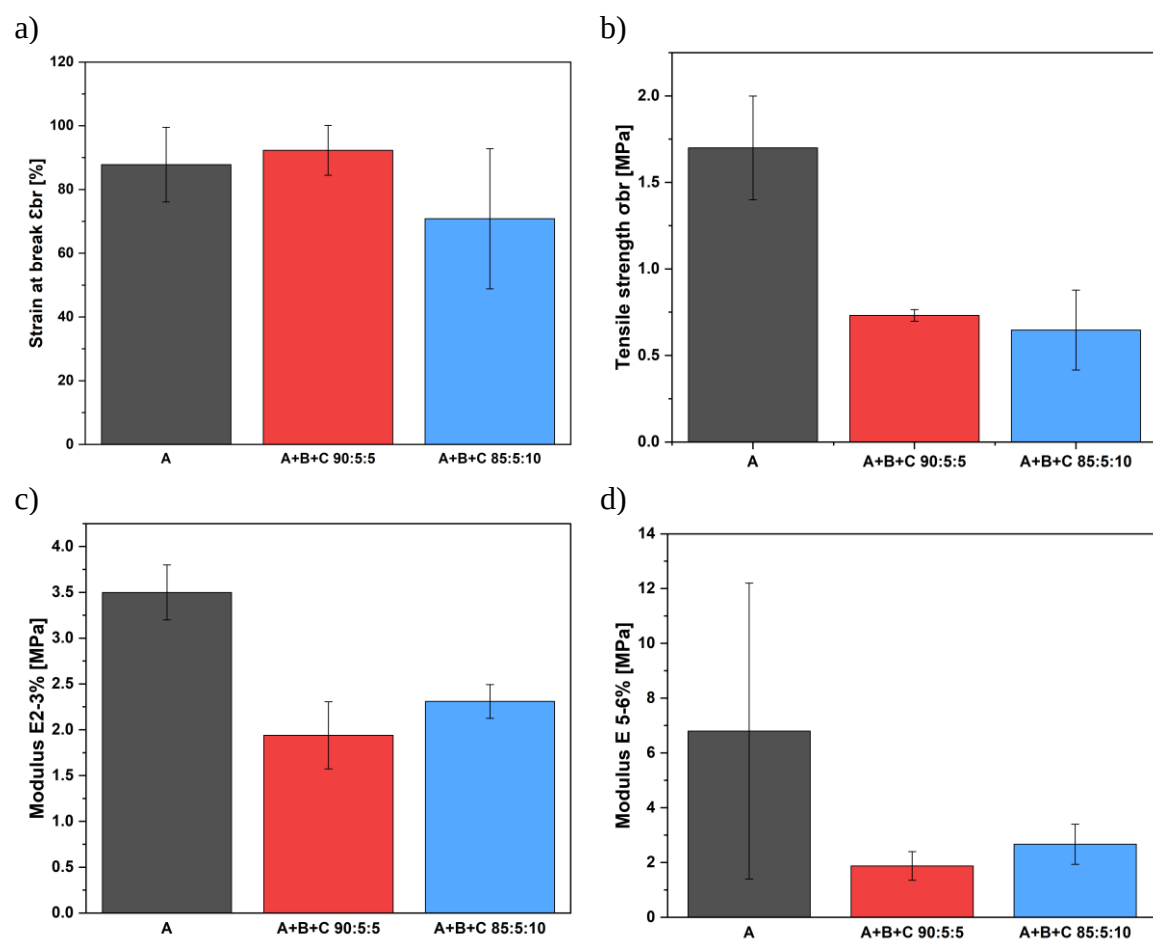
Tabela 11 Wyniki DMTA dla sieci polimerowych A:B:C.

Materiał	T _g ($E''_{\max}$) [°C]	T _g ($\tan \delta_{\max}$) [°C]	E' w 37°C [MPa]	E'' w 37°C [MPa]	Tan δ w 37°C
składnik A	-36,88	-29,25	0,3238	0,0940	0,2905
ABC 90:5:5	-36,69	-28,69	0,6527	0,1048	0,1605
ABC 85:5:10	-38,50	-31,93	0,6610	0,1398	0,2118

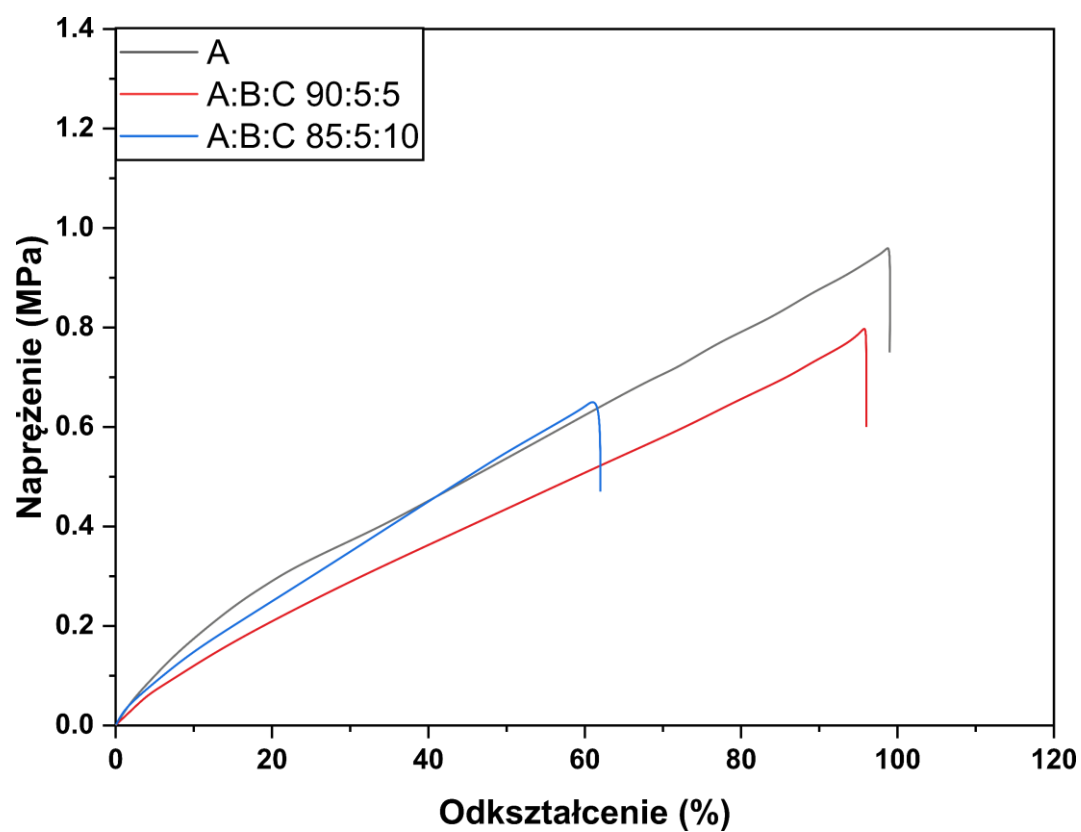
5.8.8 Właściwości mechaniczne

Amfifilowe i hybrydowe sieci polimerowe (ABC) również poddano badaniom właściwości wytrzymałościowych w warunkach statycznych (jednoosiowego rozciągania). Uśrednione wartości wytrzymałości na rozciąganie, odkształcenie przy zerwaniu, moduł przy 2–3% odkształcenia i moduł przy 5–6% odkształcenia przedstawiono na Rysunek 72 i Rysunek 73.

Hybrydowa sieć polimerowa ABC 90:5:5 wykazuje nieznacznie wyższą wartość wydłużenia przy zerwaniu (~92 %) w porównaniu z siecią na bazie komponentu A (~88%), co warto zauważyć jest wartością pośrednią między układem AB 95:5 (~78%) i AC 95:5 (~110%). Natomiast obniżenie zawartości elastomeru, którym jest poli(estro-uretan) (komponent A) i zwiększenie zawartości DOPA obniża tę wartość do około 71%. Pozostałe wyznaczone parametry, tj. odkształcenie przy zerwaniu, moduł przy 2–3% odkształcenia i moduł przy 5–6% odkształcenia dla hybryd ABC przyjmują wartości znacznie niższe niż materiał wyjściowy A i bardzo zbliżone do układów AB. Na szczególną uwagę zasługują niezwykle niskie wartości modułów znajdujące się w zakresach 1,9–2,7 MPa, wpisując się w charakterystykę tkanek miękkich. Ponadto, warto zauważyć, że zawartość komponentu C w trójskładnikowej hybrydzie nie wpływa znacząco na właściwości. Większy jego dodatek jedynie nieznacznie podnosi wartości modułów, a wartości średnie pozostają w granicach błędu.



Rysunek 72 Właściwości mechaniczne amfifilowych i hybrydowych sieci polimerowych: a) wytrzymałość na rozciąganie b) odkształcenie przy zerwaniu c) moduł przy 2-3% i d) moduł przy 5-6%



Rysunek 73 Reprezentatywne krzywe naprężenie-odkształcenia uzyskane podczas próby rozciągania do zerwania hybrydowych sieci polimerowych o poprawionej adhezji

6 Podsumowanie i wnioski

Osiągnięto podstawowy cel pracy, jakim było otrzymanie i charakterystyka amfifilowych i hybrydowych sieci polimerowych. Wykazano, że poprzez połączenie hydrofilowych i hydrofobowych komponentów sieci można uzyskać amfifilowy polimer. Ponadto wykorzystanie katecholu może znacząco wpłynąć na właściwości adhezyjne materiałów.

W przypadku hybrydowych sieci polimerowych, będących tematem niniejszej pracy, połączono dwa rodzaje polimerów: hydrofobowy, syntezowany z pochodnych roślinnych kwasów tłuszczowych oraz hydrofilowy, naturalny fibrynogen. Taka struktura oferuje niezwykle właściwości i wielofunkcyjność dzięki połączeniu różnych składników strukturalnych. Ponadto właściwości hybrydowych sieci polimerowych można dostosować poprzez zmianę zawartości składników w celu uzyskania pożądanych właściwości przydatnych w zastosowaniach medycznych.

Zastosowane nietoksyczne katalizatory i „zielony” rozpuszczalnik umożliwiły syntezę fotosieciowalnego telechelicznego makromonomeru, minimalizując wpływ tej reakcji na środowisko. Ponadto charakterystyka otrzymywanych na ich bazie elastomerów potwierdziła ich potencjał w zastosowaniach medycznych.

Osiągnięto poznawczy cel, jakim było zgłębienie wiedzy o wpływie parametrów, takich jak stężenie fotoinicjatorów, rodzaj atmosfery sieciowania i natężenie promieniowania UV na kinetykę procesu fotosieciowania makromonomeru. Wykazano, że zwiększenie intensywności światła z 20 na 50 mW/cm² pozwala na uzyskanie wyższej konwersji w atmosferze powietrza, niezależnie od zastosowanego fotoinicjatora. Wyższe stężenie fotoinicjatora prowadzi do wyższej maksymalnej konwersji, a niższa maksymalna szybkość reakcji wytłumaczona została ograniczeniem dyfuzji rodników w układach z wysokim R_{max} , co wynikało ze wzrostu lepkości. Zwiększenie stężenia fotoinicjatora przyspiesza szybkość inicjacji i generowanie większej liczby rodników na początku reakcji. Niemniej jednak, powyżej pewnego stężenia fotoinicjatora, w tym przypadku 0,5%, obserwuje się odwrotną tendencję, ze skróceniem czasu indukcji i całkowitego czasu reakcji.

Przeprowadzony test fluorescencyjny wykazał obecność i biofunkcjonalność jednostek katecholowych L-DOPA na powierzchni usieciowanych materiałów, przy czym większa zawartość L-DOPA skutkuje wyższą biodostępnością jednostek katecholowych L-DOPA na powierzchni utwardzonych folii. Ponadto przeprowadzony test odrywania 90° od powierzchni hydrofilowej udowodnił, że 5% zawartość katecholu pięciokrotnie zwiększa siłę odrywania, a 10 %wag. dziesięciokrotnie.

Przeprowadzone badania degradacji proteolitycznej wykazały znaczący wpływ obecności białka na szybkość degradacji, potwierdzając jednocześnie, że poprzez dobór odpowiednich składników hybrydowych sieci polimerowych można projektować materiały o pożądanym czasie biodegradacji, co jest szczególnie istotne w zastosowaniach biomedycznych, takich jak rusztowania komórkowe czy systemy dostarczania leków, w których materiał musi ulec rozkładowi w określonym czasie. Ponadto, przeprowadzona degradacja proteolityczna potwierdziła bioaktywność i biokompatybilność białka. Na powierzchni filmu znajdował się kluczowy dla procesów regeneracji tkanek hydroksypatyt.

7 Literatura

- [1] Grande-Tovar CD, Castro JI, Tenorio DL, Zapata PA, Florez-López E, Valencia-Llano CH. Chitosan–Polyvinyl Alcohol Nanocomposites for Regenerative Therapy. *Polymers* 2023;15. <https://doi.org/10.3390/polym15234595>.
- [2] Alharbi RA, Alminderej FM, Al-Harby NF, Elmehbad NY, Mohamed NA. Preparation and Characterization of a New Bis-Uracil Chitosan-Based Hydrogel as Efficient Adsorbent for Removal of Anionic Congo Red Dye. *Polymers* 2023;15. <https://doi.org/10.3390/polym15061529>.
- [3] Yan D, Li Y, Liu Y, Li N, Zhang X, Yan C. Antimicrobial properties of chitosan and chitosan derivatives in the treatment of enteric infections. *Molecules* 2021;26. <https://doi.org/10.3390/molecules26237136>.
- [4] Ke CL, Deng FS, Chuang CY, Lin CH. Antimicrobial actions and applications of Chitosan. *Polymers* 2021;13. <https://doi.org/10.3390/polym13060904>.
- [5] Castro JI, Valencia-Llano CH, Zapata MEV, Restrepo YJ, Hernandez JHM, Navia-Porras DP, et al. Chitosan/polyvinyl alcohol/tea tree essential oil composite films for biomedical applications. *Polymers* 2021;13:1–21. <https://doi.org/10.3390/polym13213753>.
- [6] Geim AK, Dubonos S V., Grigorieva I V., Novoselov KS, Zhukov AA, Shapoval SY. Microfabricated adhesive mimicking gecko foot-hair. *Nature Materials* 2003;2:461–3. <https://doi.org/10.1038/nmat917>.
- [7] Mahdavi A, Ferreira L, Sundback C, Nichol JW, Chan EP, Carter DJD, et al. A biodegradable and biocompatible gecko-inspired tissue adhesive. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008;105:2307–12. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712117105>.
- [8] Krogsgaard M, Nue V, Birkedal H. Mussel-Inspired Materials: Self-Healing through Coordination Chemistry. *Chemistry - A European Journal* 2016;22:844–57. <https://doi.org/10.1002/chem.201503380>.
- [9] Lee H, Lee BP, Messersmith PB. A reversible wet/dry adhesive inspired by mussels and geckos. *Nature* 2007;448:338–41. <https://doi.org/10.1038/nature05968>.
- [10] EMR. Liposomal Doxorubicin Market Size. 2024.
- [11] Wen Y, Li F, Li C, Yin Y, Li J. High mechanical strength chitosan-based hydrogels cross-linked with poly(ethylene glycol)/polycaprolactone micelles for the controlled release of drugs/growth factors. *Journal of Materials Chemistry B* 2017;5:961–71. <https://doi.org/10.1039/c6tb02201d>.
- [12] Ozdil D, Aydin HM. Polymers for medical and tissue engineering applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 2014;89:1793–810. <https://doi.org/10.1002/jctb.4505>.
- [13] Good IL, Kenoyer JM, Meadow RH. New evidence for early silk in the Indus civilization. *Archaeometry* 2009;51:457–66. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2008.00454.x>.
- [14] Latin S, Antiquity A, December N, Antiquity A, Tarkanian J. Society for American

Archaeology AMERICA ' S FIRST POLYMER SCIENTISTS: RUBBER PROCESSING , USE AND TRANSPORT IN MESOAMERICA Author (s): Michael J . Tarkanian and Dorothy Hosler Published by : Society for American Archaeology All use subject to JSTOR Te 2014;22:469–86.

- [15] Wang Z, Wang Z, Lu WW, Zhen W, Yang D, Peng S. Novel biomaterial strategies for controlled growth factor delivery for biomedical applications. *NPG Asia Materials* 2017;9:e435-17. <https://doi.org/10.1038/am.2017.171>.
- [16] Chu S, Wang AL, Bhattacharya A, Montclare JK. Protein based biomaterials for therapeutic and diagnostic applications. *Progress in Biomedical Engineering* 2022;4. <https://doi.org/10.1088/2516-1091/ac2841>.
- [17] Li G, Liu Y, Xu W, Song A, Hao J. Transition of phase structures in mixtures of lysine and fatty acids. *Journal of Physical Chemistry B* 2014;118:14843–51. <https://doi.org/10.1021/jp510747y>.
- [18] Douliez JP, Navailles L, Nallet F. Self-assembly of fatty acid-alkylboladiamine salts. *Langmuir* 2006;22:622–7. <https://doi.org/10.1021/la052377u>.
- [19] Gaillard C, Novales B, Jérôme F, Douliez JP. Broad polymorphism of fatty acids with amino organosilane counterions, towards novel templates. *Chemistry of Materials* 2008;20:1206–8. <https://doi.org/10.1021/cm702648a>.
- [20] Douliez JP. Self-assembly of hollow cones in a bola-amphiphile/hexadamine salt solution. *Journal of the American Chemical Society* 2005;127:15694–5. <https://doi.org/10.1021/ja0560478>.
- [21] Fameau AL, Cousin F, Navailles L, Nallet F, Boué F, Douliez JP. Multiscale structural characterizations of fatty acid multilayered tubes with a temperature-tunable diameter. *Journal of Physical Chemistry B* 2011;115:9033–9. <https://doi.org/10.1021/jp201261e>.
- [22] González YI, Nakanishi H, Stjerndahl M, Kaler EW. Influence of pH on the micelle-to-vesicle transition in aqueous mixtures of sodium dodecyl benzenesulfonate with histidine. *Journal of Physical Chemistry B* 2005;109:11675–82. <https://doi.org/10.1021/jp050111q>.
- [23] Burke, Ayer Hasirci N. *Biomaterials from Molecules to Engineered Tissues*. 2004.
- [24] Prowans P, El Fray M, Slonecki J. Biocompatibility studies of new multiblock poly(ester–ester)s composed of poly(butylene terephthalate) and dimerized fatty acid. *Biomaterials* 2002;23:2973–8. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00026-1](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00026-1).
- [25] Xu H-B, Zhou Z-B, Huang K-X, Lei T, Zhang T, Liu Z-L. Preparation and properties of poly(dimer acid-sebacic acid) copolymer. *Polymer Bulletin* 2001;46:435–42. <https://doi.org/10.1007/s002890170029>.
- [26] Liverani L, Piegat A, Niemczyk A, El Fray M, Boccaccini AR. Electrospun fibers of poly(butylene succinate–co–dilinoic succinate) and its blend with poly(glycerol sebacate) for soft tissue engineering applications. *European Polymer Journal* 2016;81:295–306. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.06.009>.
- [27] Tallawi M, Zebrowski DC, Rai R, Roether JA, Schubert DW, El Fray M, et al. Poly(Glycerol Sebacate)/Poly(Butylene Succinate-Butylene Dilinoate) Fibrous

- Scaffolds for Cardiac Tissue Engineering. *Tissue Engineering Part C: Methods* 2015;21:585–96. <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2014.0445>.
- [28] Barker TH, Engler AJ. The provisional matrix: setting the stage for tissue repair outcomes. *Matrix Biology* 2017;60–61:1–4. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.04.003>.
- [29] Sobolewski P, Murthy NS, Kohn J, El Fray M. Adsorption of Fibrinogen and Fibronectin on Elastomeric Poly(butylene succinate) Copolyesters. *Langmuir* 2019;35:8850–9. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b01119>.
- [30] SELIKTAR D. Extracellular Stimulation in Tissue Engineering. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2005;1047:386–94. <https://doi.org/10.1196/annals.1341.034>.
- [31] Rufaihah AJ, Vaibavi SR, Plotkin M, Shen J, Nithya V, Wang J, et al. Enhanced infarct stabilization and neovascularization mediated by VEGF-loaded PEGylated fibrinogen hydrogel in a rodent myocardial infarction model. *Biomaterials* 2013;34:8195–202. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.07.031>.
- [32] Mironi-Harpaz I, Berdichevski A, Seliktar D. Fabrication of PEGylated fibrinogen: A versatile injectable hydrogel biomaterial. *Methods in Molecular Biology* 2014;1181:61–8. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1047-2_6.
- [33] van Bochove B, Grijpma DW. Photo-crosslinked synthetic biodegradable polymer networks for biomedical applications. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 2019;30:77–106. <https://doi.org/10.1080/09205063.2018.1553105>.
- [34] Harris JM, Chess RB. Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nature Reviews Drug Discovery* 2003;2:214–21. <https://doi.org/10.1038/nrd1033>.
- [35] Treetharnmathurot B, Ovarlarnporn C, Wungsintaweekul J, Duncan R, Wiwattanapatapee R. Effect of PEG molecular weight and linking chemistry on the biological activity and thermal stability of PEGylated trypsin. *International Journal of Pharmaceutics* 2008;357:252–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.01.016>.
- [36] Hsieh KH, Han JL, Yu CT, Fu SC. Graft interpenetrating polymer networks of urethane-modified bismaleimide and epoxy (I): mechanical behavior and morphology. *Polymer* 2001;42:2491–500. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00641-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00641-8).
- [37] Kausar A. Interpenetrating polymer network and nanocomposite IPN of polyurethane/epoxy: a review on fundamentals and advancements. *Polymer-Plastics Technology and Materials* 2019;58:691–706. <https://doi.org/10.1080/25740881.2018.1563114>.
- [38] Li X, Shu M, Li H, Gao X, Long S, Hu T, et al. Strong, tough and mechanically self-recoverable poly(vinyl alcohol)/alginate dual-physical double-network hydrogels with large cross-link density contrast. *RSC Advances* 2018;8:16674–89. <https://doi.org/10.1039/c8ra01302k>.
- [39] Bastide J, Leibler L. Large-scale heterogeneities in randomly cross-linked networks. *Macromolecules* 1988;21:2647–9. <https://doi.org/10.1021/ma00186a058>.
- [40] Suh TC, Amanah AY, Gluck JM. Electrospun scaffolds and induced pluripotent stem

- cell-derived cardiomyocytes for cardiac tissue engineering applications. *Bioengineering* 2020;7:1–22. <https://doi.org/10.3390/bioengineering7030105>.
- [41] Pan Z, Ding J. Poly(lactide-co-glycolide) porous scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Interface Focus* 2012;2:366–77. <https://doi.org/10.1098/rsfs.2011.0123>.
- [42] Li J, Bao T, Zhang C, Song H, Zou Y, Yuan L, et al. A general strategy for direct growth of yolk-shell MOF-on-MOF hybrids. *Chemical Engineering Journal* 2023;472:144926. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.144926>.
- [43] Tang T, Zessin J, Talnack F, Haase K, Ortstein K, Li B, et al. Multimode Operation of Organic-Inorganic Hybrid Thin-Film Transistors Based on Solution-Processed Indium Oxide Films. *ACS Applied Materials and Interfaces* 2021;13:43051–62. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c10982>.
- [44] Liao C, Li Y, Tjong SC. Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences* 2019;20. <https://doi.org/10.3390/ijms20020449>.
- [45] Makabenta JM V., Nabawy A, Li C-H, Schmidt-Malan S, Patel R, Rotello VM. Nanomaterial-based therapeutics for antibiotic-resistant bacterial infections. *Nature Reviews Microbiology* 2021;19:23–36. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0420-1>.
- [46] Tan HL, Teow SY, Pushpamalar J. Application of metal nanoparticle–hydrogel composites in tissue regeneration. *Bioengineering* 2019;6:1–17. <https://doi.org/10.3390/bioengineering6010017>.
- [47] Brennan M. Fibrin glue. *Blood Reviews* 1991;5:240–4. [https://doi.org/10.1016/0268-960X\(91\)90015-5](https://doi.org/10.1016/0268-960X(91)90015-5).
- [48] Chiulan I, Heggset EB, Voicu ȘI, Chinga-Carrasco G. Photopolymerization of bio-based polymers in a biomedical engineering perspective. *Biomacromolecules* 2021;22:1795–814. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c01745>.
- [49] Ruiz CSB, Machado LDB, Vanin JA, Volponi JE. Cure degree estimation of photocurable coatings by dsc and differential photo- calorimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2002;67:335–41.
- [50] Véchet L, Bombard I, Laurent P, Lieto J. Experimental and modelling study of the radiative curing of a polyester-based coating. *International Journal of Thermal Sciences* 2006;45:86–93. <https://doi.org/10.1016/j.ijthermalsci.2005.04.004>.
- [51] Andrzejewska E. Free-radical photopolymerization of multifunctional monomers. *Three-Dimensional Microfabrication Using Two-Photon Polymerization*. 2nd ed., Elsevier; 2020, p. 77–99. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817827-0.00002-3>.
- [52] Li R, Zhang L, Chen T, Wang D. On-Surface Two-Dimensional Polymerization: Advances, Challenges, and Prospects. *Langmuir : The ACS Journal of Surfaces and Colloids* 2023;39:12521–32. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.3c00880>.
- [53] Li X, Bian F, Li S, Gui X, Yao M, Hu J, et al. Preparation of multifunctional silicone acrylate prepolymers with anti-oxygen inhibition ability for application in UV-curable anti-smudge coatings. *European Polymer Journal* 2022;169:111136. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111136>.

- [54] Bednarczyk P, Nowak M, Mozelewska K, Czech Z. Photocurable Coatings Based on Bio-Renewable Oligomers and Monomers. *Materials* 2021;14:7731. <https://doi.org/10.3390/ma14247731>.
- [55] Yin B, Zhang J. A novel photocurable modified epoxy resin for high heat resistance coatings. *Colloid and Polymer Science* 2020;298:1303–12. <https://doi.org/10.1007/s00396-020-04708-2>.
- [56] Gziut K, Kowalczyk A, Schmidt B. Free-Radical Bulk-Photopolymerization Process as a Method of Obtaining Thermally Curable Structural Self-Adhesive Tapes and Effect of Used Type I Photoinitiators. *Polymers* 2020;12:2191. <https://doi.org/10.3390/polym12102191>.
- [57] Opris DM. Polar Elastomers as Novel Materials for Electromechanical Actuator Applications. *Advanced Materials* 2018;30:1–23. <https://doi.org/10.1002/adma.201703678>.
- [58] Dou J, Sprague CH, Chen L, Wang Z, Wang S, Dou J, et al. Injectable polymeric biomaterials: a brief review. *Injectable polymeric biomaterials: a brief review. Materials Technology: Advanced Performance Materials* 2016;7857. <https://doi.org/10.1080/10667857.2015.1122262>.
- [59] Xu Y, Jia L, Wang Z, Jiang G, Zhou G, Chen W, et al. Injectable photo-crosslinking cartilage decellularized extracellular matrix for cartilage tissue regeneration. *Materials Letters* 2020;268:127609. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.127609>.
- [60] Oliveira MB, Kossover O, Mano JF, Seliktar D. Injectable PEGylated fibrinogen cell-laden microparticles made with a continuous solvent- and oil-free preparation method. *Acta Biomaterialia* 2015;13:78–87. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.11.013>.
- [61] Andrzejewska E. Photopolymerization kinetics of multifunctional monomers. *Progress in Polymer Science* 2001;26:605–65. <https://doi.org/10.1016/S0079-6700>.
- [62] Assumption HJ, Mathias LJ. Photopolymerization of urethane dimethacrylates synthesized via a non-isocyanate route 2003;44:5131–6. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(03\)00530-5](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(03)00530-5).
- [63] Fu J, Wang L, Yu H, Haroon M, Haq F, Shi W, et al. Progress in Organic Coatings Research progress of UV-curable polyurethane acrylate-based hardening coatings. *Progress in Organic Coatings* 2019;131:82–99. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.01.061>.
- [64] Kowalczyk A, Weisbrodt M, Schmidt B, Kraśkiewicz A. The effect of type-I photoinitiators on the kinetics of the UV-induced cotelomerization process of acrylate monomers and properties of obtained pressure-sensitive adhesives. *Materials* 2021;14. <https://doi.org/10.3390/ma14164563>.
- [65] Li C, Cheng J, Jian Y, Chang W, Nie J. Photopolymerization kinetics and thermal properties of dimethacrylate based on bisphenol-S. *Journal of Applied Polymer Science* 2013;127:3418–23. <https://doi.org/10.1002/app.37511>.
- [66] Musanje L, Ferracane JL, Sakaguchi RL. Determination of the optimal photoinitiator concentration in dental composites based on essential material properties. *Dental Materials* 2009;25:994–1000. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.02.010>.

- [67] Prout EG. The thermal decomposition of irradiated potassium permanganate. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* 1958;7:368–77. [https://doi.org/10.1016/0022-1902\(58\)80245-6](https://doi.org/10.1016/0022-1902(58)80245-6).
- [68] Šesták, Jaroslav Berggren G. Study of the kinetics of the mechanism of solid-state reactions at increasing temperatures. *Thermochimica Acta* 1971;3:1–12. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(71\)85051-7](https://doi.org/10.1016/0040-6031(71)85051-7).
- [69] Kamal MR, Sourour S. Kinetics and Thermal Characterization of Thermoset Cure. *Polymer Engineering & Science* 1973;13:59–64.
- [70] Reis LA, Chiu LLY, Feric N, Fu L, Radisic M. Biomaterials in myocardial tissue engineering. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 2016;10:11–28. <https://doi.org/10.1002/term.1944>.
- [71] Nair LS, Laurencin CT. Biodegradable polymers as biomaterials. *Progress in Polymer Science* (Oxford) 2007;32:762–98. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2007.05.017>.
- [72] Velnar T, Bunc G, Klobucar R, Gradisnik L. Biomaterials and host versus graft response: A short review. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences* 2016;16:82–90. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2016.525>.
- [73] Carnicer-Lombarte A, Chen ST, Malliaras GG, Barone DG. Foreign Body Reaction to Implanted Biomaterials and Its Impact in Nerve Neuroprosthetics. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 2021;9:1–22. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.622524>.
- [74] Liu Q, Jiang L, Shi R, Zhang L. Synthesis, preparation, in vitro degradation, and application of novel degradable bioelastomers - A review. *Progress in Polymer Science* 2012;37:715–65. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.11.001>.
- [75] Demirci G, Niedźwiedź MJ, Kantor-Malujdy N, El Fray M. Elastomer–Hydrogel Systems: From Bio-Inspired Interfaces to Medical Applications. *Polymers* 2022;14:1822. <https://doi.org/10.3390/polym14091822>.
- [76] Kasper, Cornelia Witte, Frank Portner R. *Tissue Engineering III: Cell-Surface Interactions for Tissue Culture*. vol. 126. 2012.
- [77] Kurowiak J, Klekiel T, Będziński R. Biodegradable Polymers in Biomedical Applications: A Review—Developments, Perspectives and Future Challenges. *International Journal of Molecular Sciences* 2023;24. <https://doi.org/10.3390/ijms242316952>.
- [78] Amini AR, Wallace JS, Nukavarapu SP. Short-term and long-term effects of orthopedic biodegradable implants. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants* 2011;21:93–122. <https://doi.org/10.1615/JLongTermEffMedImplants.v21.i2.10>.
- [79] Nilawar S, Uddin M, Chatterjee K. Surface engineering of biodegradable implants: Emerging trends in bioactive ceramic coatings and mechanical treatments. *Materials Advances* 2021;2:7820–41. <https://doi.org/10.1039/d1ma00733e>.
- [80] Bingmer K, Ofshteyn A, Stein SL, Marks JM, Steinhagen E. Decline of open surgical experience for general surgery residents. *Surgical Endoscopy* 2020;34:967–72.

<https://doi.org/10.1007/s00464-019-06881-0>.

- [81] Raucci MG, D'Amora U, Ronca A, Ambrosio L. Injectable Functional Biomaterials for Minimally Invasive Surgery. *Advanced Healthcare Materials* 2020;9:2000349. <https://doi.org/10.1002/adhm.202000349>.
- [82] Zhou H, Liang C, Wei Z, Bai Y, Bhaduri SB, Webster TJ, et al. Injectable biomaterials for translational medicine. *Materials Today* 2019;28:81–97. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2019.04.020>.
- [83] Li C, Huang Z, Gao N, Zheng J, Guan J. Injectable, thermosensitive, fast gelation, bioeliminable, and oxygen sensitive hydrogels. *Materials Science and Engineering C* 2019;99:1191–8. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.02.075>.
- [84] Dimatteo R, Darling NJ, Segura T. In situ forming injectable hydrogels for drug delivery and wound repair. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2018;127:167–84. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.03.007>.
- [85] Chen Q-Z, Harding SE, Ali NN, Lyon AR, Boccaccini AR. Biomaterials in cardiac tissue engineering: Ten years of research survey. *Materials Science and Engineering: R: Reports* 2008;59:1–37. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2007.08.001>.
- [86] Skrobot J, Zair L, Ostrowski M, El Fray M. New injectable elastomeric biomaterials for hernia repair and their biocompatibility. *Biomaterials* 2016;75:182–92. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.10.037>.
- [87] Yeo Y, Geng W, Ito T, Kohane DS, Burdick JA, Radisic M. Photocrosslinkable hydrogel for myocyte cell culture and injection. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials* 2007;81:312–22. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30667>.
- [88] Habib M, Shapira-Schweitzer K, Caspi O, Gepstein A, Arbel G, Aronson D, et al. A combined cell therapy and in-situ tissue-engineering approach for myocardial repair. *Biomaterials* 2011;32:7514–23. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.06.049>.
- [89] Vunjak-Novakovic G, Tandon N, Godier A, Maidhof R, Marsano A, Martens TP, et al. Challenges in cardiac tissue engineering. *Tissue Engineering Part B, Reviews* 2010;16:169–87. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2009.0352>.
- [90] Wu D, Qin H, Wang Z, Yu M, Liu Z, Peng H, et al. Bone Mesenchymal Stem Cell-Derived sEV-Encapsulated Thermosensitive Hydrogels Accelerate Osteogenesis and Angiogenesis by Release of Exosomal miR-21. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 2022;9:1–14. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.829136>.
- [91] Kowalska A, Sokolowski J, Bociong K. The photoinitiators used in resin based dental composite—a review and future perspectives. *Polymers* 2021;13:1–17. <https://doi.org/10.3390/polym13030470>.
- [92] Christman KL, Vardanian AJ, Fang Q, Sievers RE, Fok HH, Lee RJ. Injectable fibrin scaffold improves cell transplant survival, reduces infarct expansion, and induces neovasculature formation in ischemic myocardium. *Journal of the American College of Cardiology* 2004;44:654–60. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.04.040>.
- [93] Dor, M.d. V. The endoventricular circular patch plasty (“Dor procedure”) in ischemic akinetic dilated ventricles. *Heart Failure Reviews* 2001;6:187–93.

<https://doi.org/10.1023/A:1011477132227>.

- [94] Suchanek W, Yoshimura M. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *Journal of Materials Research* 1998;13:94–117. <https://doi.org/10.1557/JMR.1998.0015>.
- [95] Ambrosio L, Netti PA, Nicolais L, Ambrosio L, Netti PA, Nicolais L. *Soft Tissue* 2002;347–65.
- [96] LAWRENCE KATZ J. Anisotropy of Young's modulus of bone. *Nature* 1980;288:196–196. <https://doi.org/10.1038/288196d0>.
- [97] Basu B. *Biomaterials for Musculoskeletal Regeneration*. 2017.
- [98] Du X, Wu L, Yan H, Qu L, Wang L, Wang X, et al. Multifunctional Hydrogel Patch with Toughness, Tissue Adhesiveness, and Antibacterial Activity for Sutureless Wound Closure. *ACS Biomaterials Science and Engineering* 2019;5:2610–20. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b00130>.
- [99] Quintanar-Guerrero D, Villalobos-García R, Alvarez-Colín E, Cornejo-Bravo JM. In vitro evaluation of the bioadhesive properties of hydrophobic polybasic gels containing N,N-dimethylaminoethyl methacrylate-co-methyl methacrylate. *Biomaterials* 2001;22:957–61. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00260-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00260-X).
- [100] Walker BW, Lara RP, Yu CH, Sani ES, Kimball W, Joyce S, et al. Engineering a naturally-derived adhesive and conductive cardiopatch. *Biomaterials* 2019;207:89–101. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.03.015>.
- [101] Shin M, Kim K, Shim W, Yang JW, Lee H. Tannic Acid as a Degradable Mucoadhesive Compound. *ACS Biomaterials Science and Engineering* 2016;2:687–96. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.6b00051>.
- [102] Taskin MB, Xu R, Gregersen H, Nygaard JV, Besenbacher F, Chen M. Three-Dimensional Polydopamine Functionalized Coiled Microfibrous Scaffolds Enhance Human Mesenchymal Stem Cells Colonization and Mild Myofibroblastic Differentiation. *ACS Applied Materials & Interfaces* 2016;8:15864–73. <https://doi.org/10.1021/acsmi.6b02994>.
- [103] Sobolewski P, Goszczyńska A, Aleksandrak M, Urbaś K, Derkowska J, Bartoszewski A, et al. A biofunctionalizable ink platform composed of catechol-modified chitosan and reduced graphene oxide/platinum nanocomposite. *Beilstein Journal of Nanotechnology* 2017;8:1508–14. <https://doi.org/10.3762/bjnano.8.151>.
- [104] Glass P, Chung H, Washburn NR, Sitti M. Enhanced reversible adhesion of dopamine methacrylamide-coated elastomer microfibrillar structures under wet conditions. *Langmuir* 2009;25:6607–12. <https://doi.org/10.1021/la9009114>.
- [105] Wei W, Yu J, Broomell C, Israelachvili JN, Waite JH. Hydrophobic enhancement of dopa-mediated adhesion in a mussel foot protein. *Journal of the American Chemical Society* 2013;135:377–83. <https://doi.org/10.1021/ja309590f>.
- [106] Waite JH. Mussel adhesion - Essential footwork. *Journal of Experimental Biology* 2017;220:517–30. <https://doi.org/10.1242/jeb.134056>.
- [107] Rapp M V., Maier GP, Dobbs HA, Higdon NJ, Waite JH, Butler A, et al. Defining the Catechol-Cation Synergy for Enhanced Wet Adhesion to Mineral Surfaces.

- Journal of the American Chemical Society 2016;138:9013–6. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b03453>.
- [108] Akdogan Y, Wei W, Huang K, Kageyama Y, Danner EW, Miller DR, et al. Intrinsic Surface-Drying Properties of Bioadhesive Proteins. *Angewandte Chemie* 2014;126:11435–8. <https://doi.org/10.1002/ange.201406858>.
 - [109] Fan Q, Yang Z, Li Y, Cheng Y, Li Y. Polycatechol Mediated Small Interfering RNA Delivery for the Treatment of Ulcerative Colitis. *Advanced Functional Materials* 2021;31:1–11. <https://doi.org/10.1002/adfm.202101646>.
 - [110] Shen W, Wang R, Fan Q, Gao X, Wang H, Shen Y, et al. Natural polyphenol inspired polycatechols for efficient sirna delivery. *CCS Chemistry* 2020;2:146–57. <https://doi.org/10.31635/ccschem.020.201900084>.
 - [111] Zhu F, Sun Z, Li Y, Chen C, Cheng Y. Polycatechols: Promising materials for biomedical applications. *Progress in Polymer Science* 2024;155:101857. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2024.101857>.
 - [112] Burke KA, Roberts DC, Kaplan DL. Silk Fibroin Aqueous-Based Adhesives Inspired by Mussel Adhesive Proteins. *Biomacromolecules* 2016;17:237–45. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b01330>.
 - [113] Baghdasarian S, Saleh B, Baidya A, Kim H, Ghovvati M, Sani ES, et al. Engineering a naturally derived hemostatic sealant for sealing internal organs. *Materials Today Bio* 2022;13:100199. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2021.100199>.
 - [114] Zhong Y, Wang J, Yuan Z, Wang Y, Xi Z, Li L, et al. A mussel-inspired carboxymethyl cellulose hydrogel with enhanced adhesiveness through enzymatic crosslinking. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2019;179:462–9. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.044>.
 - [115] Liu Y, Meng H, Konst S, Sarmiento R, Rajachar R, Lee BP. Injectable Dopamine-Modified Poly(ethylene glycol) Nanocomposite Hydrogel with Enhanced Adhesive Property and Bioactivity. *ACS Applied Materials & Interfaces* 2014;6:16982–92. <https://doi.org/10.1021/am504566v>.
 - [116] Hollingshead S, Siebert H, Wilker JJ, Liu JC. Cytocompatibility of a mussel-inspired poly(lactic acid)-based adhesive. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A* 2022;110:43–51. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37264>.
 - [117] Dasgupta A, Das D. Designer Peptide Amphiphiles: Self-Assembly to Applications. *Langmuir* 2019;35:10704–24. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.9b01837>.
 - [118] Löwik DWPM, van Hest JCM. Peptide based amphiphiles. *Chemical Society Reviews* 2004;33:234–45. <https://doi.org/10.1039/b212638a>.
 - [119] Matelová A, Huerta-Angeles G, Šmejkalová D, Brůnová Z, Dušek J, Vícha R, et al. Synthesis of novel amphiphilic hyaluronan containing-aromatic fatty acids for fabrication of polymeric micelles. *Carbohydrate Polymers* 2016;151:1175–83. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.085>.
 - [120] Richbourg NR, Peppas NA, Sikavitsas VI. Tuning the biomimetic behavior of scaffolds for regenerative medicine through surface modifications. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 2019;13:1275–93.

<https://doi.org/10.1002/term.2859>.

- [121] Zhao C, Chen H, Wang F, Zhang X. Amphiphilic self-assembly peptides: Rational strategies to design and delivery for drugs in biomedical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2021;208:112040. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112040>.
- [122] Almany L, Seliktar D. Biosynthetic hydrogel scaffolds made from fibrinogen and polyethylene glycol for 3D cell cultures. *Biomaterials* 2005;26:2467–77. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.06.047>.
- [123] Dikovsky D, Bianco-Peled H, Seliktar D. The effect of structural alterations of PEG-fibrinogen hydrogel scaffolds on 3-D cellular morphology and cellular migration. *Biomaterials* 2006;27:1496–506. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.09.038>.
- [124] Oliveira MB, Kossover O, Mano JF, Seliktar D. Injectable PEGylated fibrinogen cell-laden microparticles made with a continuous solvent- and oil-free preparation method. *Acta Biomaterialia* 2015;13:78–87. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.11.013>.
- [125] H. Zarzycka, J. Slonecki and R. Ukielski, Polish Patent 137158 (1983) (Politechnika Szczecin- ska). n.d.
- [126] El Fray M. Synthesis and thermal properties of poly(ester-siloxane) multiblock copolymers. *Designed Monomers and Polymers* 2000;3:325–37. <https://doi.org/10.1163/156855500300160276>.
- [127] El Fray M, Skrobot J, Bolikal D, Kohn J. Synthesis and characterization of telechelic macromers containing fatty acid derivatives. *Reactive and Functional Polymers* 2012;72:781–90. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2012.07.010>.
- [128] Lee BP, Huang K, Nunalee FN, Shull KR, Messersmith PB. Synthesis of 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) containing monomers and their co-polymerization with PEG-diacrylate to form hydrogels. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 2004;15:449–64. <https://doi.org/10.1163/156856204323005307>.
- [129] McCurdy KG, Laidler KJ. THERMOCHEMICAL STUDIES OF SOME ACRYLATE AND METHACRYLATE POLYMERIZATIONS IN EMULSION SYSTEMS. *Canadian Journal of Chemistry* 1964;42:818–24. <https://doi.org/10.1139/v64-121>.
- [130] Andrzejewska E, Socha E, Bogacki M, Andrzejewski M. Chain length dependent termination in radical cross-linking polymerization. *Polymer* 2005;46:5437–46. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.05.002>.
- [131] Hutchinson RA, Paquet DA, Beuermann S, McMinn JH. Investigation of methacrylate free-radical depropagation kinetics by pulsed-laser polymerization. *Industrial and Engineering Chemistry Research* 1998;37:3567–74. <https://doi.org/10.1021/ie980167p>.
- [132] Lee K, Kim J, Lee B. Free radical polymerization of nitropropyl acrylates and methacrylates. I. Heat of polymerization. *Journal of Applied Polymer Science* 2001;81:2929–35. <https://doi.org/10.1002/app.1743>.
- [133] Hernández-Gascón B, Peña E, Melero H, Pascual G, Doblaré M, Ginebra MP, et al.

- Mechanical behaviour of synthetic surgical meshes: Finite element simulation of the herniated abdominal wall. *Acta Biomaterialia* 2011;7:3905–13. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.06.033>.
- [134] Bialkower M, McLiesh H, Manderson CA, Tabor RF, Garnier G. Rapid paper diagnostic for plasma fibrinogen concentration. *The Analyst* 2019;144:4848–57. <https://doi.org/10.1039/C9AN00616H>.
- [135] Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, Kitsugi T, Yamamuro T. Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W3. *Journal of Biomedical Materials Research* 1990;24:721–34. <https://doi.org/10.1002/jbm.820240607>.
- [136] Córdoba A, Monjo M, Hierro-Oliva M, González-Martín ML, Ramis JM. Bioinspired Quercitrin Nanocoatings: A Fluorescence-Based Method for Their Surface Quantification, and Their Effect on Stem Cell Adhesion and Differentiation to the Osteoblastic Lineage. *ACS Applied Materials & Interfaces* 2015;7:16857–64. <https://doi.org/10.1021/acsami.5b05044>.
- [137] Ryu JH, Messersmith PB, Lee H. Polydopamine Surface Chemistry: A Decade of Discovery. *ACS Applied Materials & Interfaces* 2018;10:7523–40. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b19865>.
- [138] Eva Maxfield Brown, Dan Toloudis, Jamie Sherman MS-BT. AICSImageIO: Image Reading, Metadata Conversion, and Image Writing for Microscopy Images in Pure Python. <https://github.com/AllenCellModeling/aicsimageio> 2021.
- [139] Team DD (2016) Dask: library for dynamic task scheduling. <https://dask.org> n.d.
- [140] Napari contributors napari: a multi-dimensional image viewer for python. <https://zenodo.org/records/8115575> n.d.
- [141] Hunter JD. Matplotlib: A 2D graphics environment. *Computing in Science and Engineering* 2007;9:90–5. <https://doi.org/10.1109/MCSE.2007.55>.
- [142] Harris CR, Millman KJ, van der Walt SJ, Gommers R, Virtanen P, Cournapeau D, et al. Array programming with NumPy. *Nature* 2020;585:357–62. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2649-2>.
- [143] Virtanen P, Gommers R, Oliphant TE, Haberland M, Reddy T, Cournapeau D, et al. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nature Methods* 2020;17:261–72. <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0686-2>.
- [144] Standard I. ISO. Biological evaluation of medical devices—Part 5: tests for in vitro cytotoxicity; Geneva, Switzerland, 2009. n.d. 2009.
- [145] Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Duellman S, Benink HA, Worzella TJ, et al. *Cell Viability Assays*. 2004.
- [146] Tanzi MC, Verderio P, Lampugnani MG, Resnati M, Dejana E, Sturani E. Cytotoxicity of some catalysts commonly used in the synthesis of copolymers for biomedical use. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 1994;5:393–6. <https://doi.org/10.1007/BF00058971>.
- [147] Dubalska K, Rutkowska M, Bajger-Nowak G, Konieczka P, Namieśnik J. Organotin Compounds: Environmental Fate and Analytics. *Critical Reviews in Analytical*

Chemistry 2013;43:35–54. <https://doi.org/10.1080/10408347.2012.743846>.

- [148] Jessop PG. Searching for green solvents. *Green Chemistry* 2011;13:1391. <https://doi.org/10.1039/c0gc00797h>.
- [149] Niedźwiedź MJ, Demirci G, Kantor-Malujdy N, Sobolewski P, El Fray M. Fatty-acid-derived ester-urethane macromonomers synthesized using bismuth and zinc catalysts. *European Polymer Journal* 2022;170:111168. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111168>.
- [150] Niedźwiedź MJ, Ignaczak W, Sobolewski P, Goszczyńska A, Demirci G, El Fray M. Injectable and photocurable macromonomers synthesized using a heterometallic magnesium–titanium metal–organic catalyst for elastomeric polymer networks. *RSC Advances* 2023;13:18371–81. <https://doi.org/10.1039/D3RA02157B>.
- [151] Arnould P, Bosco L, Sanz F, Simon FN, Fouquay S, Michaud G, et al. Identifying competitive tin- or metal-free catalyst combinations to tailor polyurethane prepolymer and network properties. *Polymer Chemistry* 2020;11:5725–34. <https://doi.org/10.1039/D0PY00864H>.
- [152] Sukhorukov AY, Sukhanova AA, Zlotin SG. Stereoselective reactions of nitro compounds in the synthesis of natural compound analogs and active pharmaceutical ingredients. *Tetrahedron* 2016;72:6191–281. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.07.067>.
- [153] Danielmeier K, Schmalstieg L, Laas H-J, Mertens H, Jahn R. Light-fast polyisocyanates having good solubility in non-polar solvents.pdf. CA 2311045, n.d.
- [154] Lapprand A, Boisson F, Delolme F, Méchin F, Pascault J-P. Reactivity of isocyanates with urethanes: Conditions for allophanate formation. *Polymer Degradation and Stability* 2005;90:363–73. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2005.01.045>.
- [155] Akhtar R, Sherratt MJ, Cruickshank JK, Derby B. Characterizing the elastic properties of tissues. *Materials Today* 2011;14:96–105. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70059-1](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70059-1).
- [156] HOLZAPFEL GA. Biomechanics of Soft Tissue. *Handbook of Materials Behavior Models*, Elsevier; 2001, p. 1057–71. <https://doi.org/10.1016/B978-012443341-0/50107-1>.
- [157] Niedźwiedź MJ, Demirci G, Kantor-Malujdy N, Fray M El. Influence of Photoinitiator Type and Curing Conditions on the Photocuring of Soft Polymer Network. *Materials* 2023;16:7348–71. <https://doi.org/10.3390/ma16237348>.
- [158] Odian G. *Principles of Polymerization*. John Wiley & Sons; 2004.
- [159] Andrzejewska E. Sulfur-containing polyacrylates: V. Temperature effects on the photoinitiated polymerization of diacrylates. *Polymer* 1996;37:1039–45. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(96\)87288-0](https://doi.org/10.1016/0032-3861(96)87288-0).
- [160] Ligon SC, Husár B, Wutzel H, Holman R, Liska R. Strategies to Reduce Oxygen Inhibition in Photoinduced Polymerization. *Chemical Reviews* 2014;114:557–89. <https://doi.org/10.1021/cr3005197>.
- [161] Green WA. *Industrial Photoinitiators: A technical guide*. CRC Press; 2010.

<https://doi.org/10.1201/9781439827468>.

- [162] Jin S, Kareliussen E, Cheng C-M. Photoinitiator Effect on Depth of Cure in Visible Light Cure Polymerization. *UV + EB Technology* 2020;6:30–40.
- [163] Szalewski L, Szalewska M, Jarosz P, Woś M, Szymańska J. Temperature Changes in Composite Materials during Photopolymerization. *Applied Sciences* 2021;11:474. <https://doi.org/10.3390/app11020474>.
- [164] Goodner MD, Bowman CN. Development of a comprehensive free radical photopolymerization model incorporating heat and mass transfer effects in thick films. *Chemical Engineering Science* 2002;57:887–900. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(01\)00287-1](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(01)00287-1).
- [165] Dionysopoulos D, Papadopoulos C, Kouros P, Tsitrou E, Koliniotou-Koumpia E. Temperature rise during photo-polymerization under ceramic restorations. *Oral Health and Dental Management* 2013;12:273–8.
- [166] He H, Li L, Lee LJ. Photopolymerization and structure formation of methacrylic acid based hydrogels: The effect of light intensity. *Reactive and Functional Polymers* 2008;68:103–13. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2007.10.006>.
- [167] Demirci G, Niedźwiedź MJ, Charęza M, Dro R, Fray M El. Hydrolytic and Enzymatic Degradation of Photocurable Polymer Networks Comprising Ester-Urethane Building Block , PEGylated Fibrinogen and Catechol Units. *ChemRxiv* 2024:1–33.
- [168] Lee H, Scherer NF, Messersmith PB. Single-molecule mechanics of mussel adhesion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006;103:12999–3003. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605552103>.
- [169] Waite JH. The phylogeny and chemical diversity of quinone-tanned glues and varnishes. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry And* 1990;97:19–29. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(90\)90172-P](https://doi.org/10.1016/0305-0491(90)90172-P).
- [170] Ahn BK. Perspectives on Mussel-Inspired Wet Adhesion. *Journal of the American Chemical Society* 2017;139:10166–71. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b13149>.
- [171] Kan Y, Danner EW, Israelachvili JN, Chen Y, Waite JH. Boronate complex formation with Dopa containing mussel adhesive protein retards pH-induced oxidation and enables adhesion to mica. *PLoS ONE* 2014;9:1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108869>.
- [172] Holten-Andersen N, Harrington MJ, Birkedal H, Lee BP, Messersmith PB, Lee KYC, et al. pH-induced metal-ligand cross-links inspired by mussel yield self-healing polymer networks with near-covalent elastic moduli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011;108:2651–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1015862108>.
- [173] Xue B, Gu J, Li L, Yu W, Yin S, Qin M, et al. Hydrogel tapes for fault-tolerant strong wet adhesion. *Nature Communications* 2021;12:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27529-5>.
- [174] van Oss CJ. Surface properties of fibrinogen and fibrin. *Journal of Protein Chemistry* 1990;9:487–91. <https://doi.org/10.1007/BF01024625>.
- [175] Reyes-Gasga J, Martínez-Piñeiro EL, Rodríguez-Álvarez G, Tiznado-Orozco GE,

- García-García R, Brès EF. XRD and FTIR crystallinity indices in sound human tooth enamel and synthetic hydroxyapatite. *Materials Science and Engineering C* 2013;33:4568–74. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.07.014>.
- [176] Pritzkow W, Rentsch H. Structure refinement with X-ray powder diffraction data for synthetic calcium hydroxyapatite by Rietveld method. *Crystal Research and Technology* 1985;20:957–60. <https://doi.org/10.1002/crat.2170200719>.
- [177] Fu C, Bai H, Zhu J, Niu Z, Wang Y, Li J, et al. Enhanced cell proliferation and osteogenic differentiation in electrospun PLGA/ hydroxyapatite nanofibre scaffolds incorporated with graphene oxide. *PLoS ONE* 2017;12:1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188352>.
- [178] Gligorijević N, Radomirović M, Rajković A, Nedić O, Ćirković Veličković T. Fibrinogen Increases Resveratrol Solubility and Prevents it from Oxidation. *Foods* 2020;9:780. <https://doi.org/10.3390/foods9060780>.
- [179] Kim TH, An DB, Oh SH, Kang MK, Song HH, Lee JH. Creating stiffness gradient polyvinyl alcohol hydrogel using a simple gradual freezing-thawing method to investigate stem cell differentiation behaviors. *Biomaterials* 2015;40:51–60. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.11.017>.
- [180] Oh SH, An DB, Kim TH, Lee JH. Wide-range stiffness gradient PVA/HA hydrogel to investigate stem cell differentiation behavior. *Acta Biomaterialia* 2016;35:23–31. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.02.016>.
- [181] Anselme K, Bigerelle M, Noel B, Dufresne E, Judas D, Iost A, et al. Qualitative and quantitative study of human osteoblast adhesion on materials with various surface roughnesses. *Journal of Biomedical Materials Research* 2000;49:155–66. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(200002\)49:2<155::AID-JBM2>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(200002)49:2<155::AID-JBM2>3.0.CO;2-J).

Spis rysunków i tabel.....	
Rysunek 1 Schemat sieci polimerowej.....	17
Rysunek 2 Dane z bazy Scopus dotyczące liczby opublikowanych artykułów naukowych za okres 2000-2023, słowo kluczowe „biodegradable biomaterials or polymer” (w tytule, abstrakcie). Źródło: opracowanie własne na podstawie danych z bazy Scopus, stan na czerwiec 2024.....	24
Rysunek 3 Schemat syntezy katalizatora wodorosześciobutoksy-o-tytanian magnezu	33
Rysunek 4 Schemat syntezy telechelicznego makromonomeru.....	35
Rysunek 5 Destylacja azeotropowa PEG	35
Rysunek 6 Schemat fotosieciowania	38
Rysunek 7 Widmo DYMAX BlueWave LED Prime UVA (Źródło: karta producenta).....	38
Rysunek 8 Widma spektroskopii FT-IR wykorzystane do monitorowania postępu reakcji z użyciem 2 mol% BiHex.....	45
Rysunek 9 Widmo makromonomeru estrowo-uretanowego (PrZnAc_4), wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami.....	48
Rysunek 10 Widmo a) ^1H NMR i b) ^{13}C NMR makromonomeru estrowo-uretanowego (PrZnAc_4), wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami.....	49
Rysunek 11 Żywotność komórkowa sieci polimerowych otrzymanych z wykorzystaniem różnych katalizatorów i różnych stężeń. Słupki zakreskowane przedstawiają wyniki dla próbek utwardzanych w atmosferze argonu, natomiast niezakreskowane atmosferę powietrza. Odcień jaśniejszy odpowiada niższemu stężeniu katalizatora.....	51
Rysunek 12 Konwersja monomeru w funkcji czasu dla różnych stężeń 0,5, 1 i 2% wag. fotoinicjatora a) Omnirad 2022 i b) Omnirad 819.....	53
Rysunek 13 Struktura chemiczna a) Omnirad 819 i b) składników blendy Omnirad 2022, który jest mieszaniną Omnirad 819, TPO-L i Omnirad 1173.	54
Rysunek 14 Widma fotoinicjatorów wykonane dla roztworów 0,1% w acetonitrylu (zgodnie z kartą katalogową).....	55
Rysunek 15 Dwuetapowa fotoliza Omnirad 819 [161]	56
Rysunek 16 Szybkość reakcji w funkcji czasu dla różnych stężeń 0,5, 1 i 2% wag. fotoinicjatora a) Omnirad 2022 i b) Omnirad 819.....	57
Rysunek 17 Szybkość reakcji w funkcji konwersji dla różnych stężeń 0,5, 1 i 2% wag. fotoinicjatora a) Omnirad 2022 i b) Omnirad 819.....	58
Rysunek 18 Wpływ warunków fotopolimeryzacji na wartość konwersji przy najwyższej szybkości reakcji (C_u , na szarym tle) i maksymalną konwersję ($C_{\max}$) dla reakcji w atmosferze argonu (symbole wypełnione) i powietrza (symbole puste)	59

Rysunek 19 Wpływ warunków fotopolimeryzacji na maksymalną szybkość reakcji ($R_{\max}$) dla reakcji w atmosferze argonu (symbole wypełnione) i powietrza (symbole puste)	60
Rysunek 20 Wpływ warunków fotopolimeryzacji na czas potrzebny do osiągnięcia 50% konwersji ($t_{1/2}$) dla reakcji w atmosferze argonu (symbole wypełnione) i powietrza (symbole puste)	60
Rysunek 21 Wpływ natężenia światła na a) stałą szybkości k i cząstkowe rzędy reakcji b) n i c) m dla reakcji w atmosferze argonu (symbole wypełnione) i powietrza (symbole puste).	63
Rysunek 22 Profile temperaturowe systemów fotosieciowalnych z a) Omniradem 2022 i b) Omniradem 819 w funkcji czasu	65
Rysunek 23 Zdjęcia 2D i 3D AFM estrowo-uretanowej sieci polimerowej	66
Rysunek 24 Zmiany w strukturze chemicznej w estrowo-uretanowej sieci polimerowej podczas degradacji hydrolitycznej.....	67
Rysunek 25 Ubytek masy i chłonność wody utwardzonych foli komponentu A podczas degradacji hydrolitycznej	68
Rysunek 26 Zmiany w strukturze chemicznej w poliuretanie podczas degradacji proteolitycznej	69
Rysunek 27 Ubytek masy i chłonność wody utwardzonych foli komponentu A podczas degradacji proteolitycznej.....	70
Rysunek 28 Zmiany morfologiczne w strukturze sieci polimerowej po 21 dniach degradacji proteolitycznej.	70
Rysunek 29 Widmo poli(glikol etylenowy) przed i po suszeniu oraz po diakrylacji, wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami.....	71
Rysunek 30 Widmo NMR diakrylowanego-PEG wraz z przypisanymi sygnałami.....	72
Rysunek 31 Widmo PEG-yłowanego fibrynogenu (komponentu B) i substratami do jego syntezy- diakrylowanego poli(glikolu etylenowego)(PEG-DA) i fibrynogenem, wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami.....	73
Rysunek 32 Widmo ^1H NMR metakrylowanej-L-DOPA, wraz z przypisanymi sygnałami.	74
Rysunek 33 Widma utwardzonych filmów A oraz kompozycji AC wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami.	76
Rysunek 34 Zdjęcia 2D i 3D AFM sieci polimerowych AC.....	77
Rysunek 35 Zawartość frakcji żelowej w sieciach polimerowych z poprawionymi właściwościami adhezyjnymi A:C	78
Rysunek 36 Dwa rodzaje oddziaływań L-DOPA z różnymi powierzchniami a) wiązanie koordynacyjne z metalem krzemu b) przykład wiązania wodorowego	79

Rysunek 37 Zmiana kąta zwilżania wodą w funkcji czasu dla sieci polimerowych A:C a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania.....	80
Rysunek 38 Zmiana kąta zwilżania diodometanem w funkcji czasu dla sieci polimerowych A:C a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowani	80
Rysunek 39 Termogramy DSC nieutwardzonych kompozycji AC.....	81
Rysunek 40 Analiza DMTA fotoutwardzalnych sieci polimerowych z dodatkiem DOPA: (a) moduł zachowawczy (E'), (b) moduł stratności (E'') i (c) tangens kąta fazowego ($\tan \delta$)...	82
Rysunek 41 Właściwości mechaniczne utwardzonych folii zawierających DOPA: a) wytrzymałość na rozciąganie b) odkształcenie przy zerwaniu c) moduł przy 2-3% i d) moduł przy 5-6%.	83
Rysunek 42 Reprezentatywne krzywe naprężenie-odkształcenia uzyskane podczas próby rozciągania do zerwania utwardzonych folii zawierających DOPA	84
Rysunek 43 Test odrywania filmów od powierzchni a) hydrofobowej-polistyrenu i b) hydrofilowej polialkoholu winylowego.....	86
Rysunek 44 Dynamiczne klastrowanie danych histogramowych w oparciu o adaptacyjne kwadratowe odległości Wassersteina.	88
Rysunek 45 Widma FT IR kompozycji A oraz układów hybrydowych A:B o różnym składzie wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami.	89
Rysunek 46 Zdjęcia 2D i 3D AFM hybrydowych sieci polimerowych	90
Rysunek 47 Zawartość frakcji żelowej w amfifilowych i hybrydowych sieciach polimerowych A:B.	91
Rysunek 48 Zmiana kąta zwilżania w funkcji czasu układów amfifilowych A:B a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania.....	92
Rysunek 49 Zmiana kąta zwilżania powierzchni diodometanem w funkcji czasu dla układów amfifilowych A:B a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania	92
Rysunek 50 Zmiany w strukturze chemicznej w hybrydowej sieci polimerowej AB 90:10 podczas degradacji hydrolitycznej.....	93
Rysunek 51 Ubytek masy i chłonność wody hybrydowych sieci polimerowych AB 90:10 podczas degradacji hydrolitycznej.....	94
Rysunek 52 Zmiany w strukturze chemicznej w hybrydowej sieci polimerowej AB 90:10 podczas degradacji proteolitycznej.....	95
Rysunek 53 Ubytek masy i chłonność wody hybrydowych sieci polimerowych AB 90:10 podczas degradacji proteolitycznej.....	96

Rysunek 54 Zmiany morfologiczne w strukturze hybrydowej sieci polimerowej (AB) po 21 dniach degradacji proteolitycznej	96
Rysunek 55 Dyfraktogramy filmu AB 90:10 przed i po 21 dniach degradacji proteolitycznej	97
Rysunek 56 Termogramy DSC nieutwardzonych kompozycji	98
Rysunek 57 Analiza DMTA fotoutwardzalnych sieci polimerowych: (a) moduł zachowawczy (E'), (b) moduł stratności (E'') i (c) tangens kąta fazowego ($\tan \delta$).	99
Rysunek 58 Właściwości mechaniczne utwardzonych folii: a) wytrzymałość na rozciąganie b) odkształcenie przy zerwaniu c) moduł przy 2-3% i d) moduł przy 5-6%.	101
Rysunek 59 Reprezentatywne krzywe naprężenie-odkształcenia uzyskane podczas próby rozciągania do zerwania hybrydowych sieci polimerowych	102
Rysunek 60 Widma utwardzonych filmów A oraz kompozycji ABC wraz z przypisanymi charakterystycznymi pasmami.	104
Rysunek 61 Zdjęcia 2D i 3D AFM hybrydowych sieci polimerowych ABC	105
Rysunek 62 Zawartość frakcji żelowej w hybrydowych sieciach polimerowych A:B:C .	106
Rysunek 63 Zmiana kąta zwilżania w funkcji czasu hybrydowych sieci polimerowych A:B:C a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowania	107
Rysunek 64 Zmiana kąta zwilżania diiodometanem w funkcji czasu hybrydowych sieci polimerowych A:B:C a) dla powierzchni mającej kontakt z powietrzem podczas sieciowania b) dla powierzchni mającej kontakt ze szkłem podczas sieciowani.	107
Rysunek 65 Zmiany w strukturze chemicznej w hybrydowej sieci polimerowej ABC 85:5:10 podczas degradacji hydrolitycznej	108
Rysunek 66 Ubytek masy i chłonność wody hybrydowych sieci polimerowej o polepszonych właściwościach adhezyjnych ABC 85:5:10 podczas degradacji hydrolitycznej	109
Rysunek 67 Zmiany w strukturze chemicznej w hybrydowej sieci polimerowej ABC 85:5:10 podczas degradacji proteolitycznej	110
Rysunek 68 Ubytek masy i chłonność wody hybrydowych sieci polimerowej o polepszonych właściwościach adhezyjnych ABC 85:5:10 podczas degradacji proteolitycznej	111
Rysunek 69 Zmiany morfologiczne w strukturze hybrydowej sieci polimerowej o polepszonych właściwościach adhezyjnych (ABC) po 21 dniach degradacji proteolitycznej	111
Rysunek 70 Termogramy DSC nieutwardzonych kompozycji ABC	112
Rysunek 71 Analiza DMTA fotoutwardzalnych trójskładnikowych sieci polimerowych: (a) moduł zachowawczy (E'), (b) moduł stratności (E'') i (c) tangens kąta fazowego ($\tan \delta$).	113

Rysunek 72 Właściwości mechaniczne amfifilowych i hybrydowych sieci polimerowych: a) wytrzymałość na rozciąganie b) odkształcenie przy zerwaniu c) moduł przy 2-3% i d) moduł przy 5-6%. 115

Rysunek 73 Reprezentatywne krzywe naprężenie-odkształcenia uzyskane podczas próby rozciągania do zerwania hybrydowych sieci polimerowych o poprawionej adhezji 116

Tabela 1 Właściwości mechaniczne tkanek [85][94][95][96][97]	26
Tabela 2 Skład procentowy otrzymanych kompozycji.....	37
Tabela 3 Podsumowanie parametrów reakcji.....	47
Tabela 4 Lepkość dynamiczna i wyniki GPC dla polioliu poliestrowego (Priplast P1838) i zsyntetyzowanych makromonomerów	50
Tabela 5 Frakcja żelowa i żywotność komórkowa sieci polimerowych otrzymanych z wykorzystaniem różnych fotoinicjatorów.	52
Tabela 6 Parametry kinetyczne.....	62
Tabela 7 Zbiorcze dane dotyczące komponentu A.....	66
Tabela 8 Wyniki DMTA dla sieci polimerowych A:C.....	82
Tabela 9 Wartości kąta zwilżania diiodometanem układów amfifilowych A:B	92
Tabela 10 Wyniki DMTA dla sieci polimerowych A:B.....	100
Tabela 11 Wyniki DMTA dla sieci polimerowych A:B:C.....	113

8 Dorobek naukowy

Wykaz artykułów naukowych

- (1) Demirci, G.; **Niedźwiedź, M. J.**; Kantor-Malujdy, N.; El Fray, M. Elastomer–Hydrogel Systems: From Bio-Inspired Interfaces to Medical Applications. *Polymers* **2022**, *14* (9), 1822.10.3390/polym14091822.

Impact factor: 5,16
Lista MEiN:100
- (2) **Niedźwiedź, M. J.**; Demirci, G.; Kantor-Malujdy, N.; Sobolewski, P.; El Fray, M. Fatty-Acid-Derived Ester-Urethane Macromonomers Synthesized Using Bismuth and Zinc Catalysts. *European Polymer Journal* **2022**, *170* (March), 111168. 10.1016/j.eurpolymj.2022.111168.

Impact factor: 6,0
Lista MEiN: 100
- (3) **Niedźwiedź, M. J.**; Ignaczak, W.; Sobolewski, P.; Goszczyńska, A.; Demirci, G.; El Fray, M. Injectable and Photocurable Macromonomers Synthesized Using a Heterometallic Magnesium–Titanium Metal–Organic Catalyst for Elastomeric Polymer Networks. *RSC Advances* **2023**, *13* (27), 18371–18381. 10.1039/D3RA02157B.

Impact factor: 4,036
Lista MEiN:100
- (4) **Niedźwiedź, M.J.**; Demirci, G.; Kantor-Malujdy, N.; Fray, M. El Influence of Photoinitiator Type and Curing Conditions on the Photocuring of Soft Polymer Network. *Materials* **2023**, *16*, 7348–7371, 10.3390/ma16237348m16237348.

Impact factor: 3,1
Lista MEiN: 140
- (5) Demirci, G.; **Niedźwiedź, M. J.**; Stefaniak, N.; Sobolewski, P.; El Fray, M. Injectable and Photocurable Precursors with Their Improved Adhesive Elastomeric Films by Nature-Inspired Marine Mussels Chemistry. *Progress in Organic Coatings* **2024**, *197*, 108818. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2024.108818>.

Impact factor:6,5
Lista MEiN: 100
- (6) Demirci G, **Niedźwiedź M.J.**, Charęza M, Dro R, Fray M El. Hydrolytic and Enzymatic Degradation of Photocurable Polymer Networks Comprising Ester-Urethane Building Block , PEGylated Fibrinogen and Catechol Units. *ChemRxiv* **2024**:1–33.

Impact factor:0
Lista MEiN:0

- (7) **Niedźwiedź, M.J.**; Gil, M.; Gargol, M.; Podkościelny, W. M.; Mergo, P. Determination of the Optimal Extrusion Temperature of the PMMA Optical Fibers. Photonics Letters of Poland **2019**, 11 (1), 7. <https://doi.org/10.4302/plp.v11i1.889>

Impact factor: 1,2

Lista MEiN: 40

Konferencje

- (1) Malwina J. Niedźwiedź, Gokhan Demirci, Nina Kantor-Malujdy, Mirosława El Fray, “New hybrid polymer networks for medical applications - synthesis and properties”, 7th European Symposium on Biomaterials and Related Areas- BioMAT 3-4.05.2023, Weimar
- (2) Malwina J. Niedźwiedź, Gokhan Demirci, Mirosława El Fray, “Photocurable polyurethane synthesized with use of new non-toxic Mg-Ti catalyst”, 1st Baltic Symposium on Polymer and (Bio)Materials Science 22-23.09.2022, Szczecin
- (3) Malwina Niedźwiedź, Gokhan Demirci, Nina Kantor-Malujdy, Peter Sobolewski, Mirosława El Fray, Tin-free bioelastomeric polyurethanes for medical applications, 30th Biomaterials in Medicine and Veterinary, 14-17.10.2021, Rytro
- (4) Malwina J. Niedźwiedź, Gokhan Demirci, Nina Kantor-Malujdy, Mirosława El Fray, Fatty Acid-Based Injectable Biomaterials For Soft Tissue Engineering, UK-Poland Bioinspired Materials Conference, 23-24.11.2020, online
- (5) Konrad Walkowiak, Malwina Niedźwiedź, Joanna Rokicka, Joanna Rydz, Frederick C. Michel Jr., Mirosława El Fray, The comparison of the aerobic and anaerobic degradation of PBS based copolymers, 3-cia Szkoła Letnia projektu GREEN-MAP w Bolonii (Włochy) zatytułowana „Materials Life Cycle Assessment for Sustainable Hospitals”, 26-28.06.2024, Bolonia
- (6) Konrad Walkowiak, Malwina Niedźwiedź, Joanna Rokicka, Joanna Rydz, Frederick C. Michel Jr., Mirosława El Fray, “Evaluation of the degradation of PBS-based copolymers under aerobic and anaerobic conditions”, Final Conference of GREEN-MAP project zatytułowana. “Bio-based and biodegradable polymers for medical packaging and disposables to improve hospitals sustainability”, 21-22.10.2024, Szczecin

Udział w projektach badawczych

2020–2023 OPUS 17 pt. “Hybrid and elastomeric polymer networks: synthesis, structure and properties”, UMO-2019/33/B/ST5/01445.

Staże zagraniczne

01.02.2024–31.04.2024 (dwa miesiące)

Ohio State University, Stany Zjednoczone Ameryki, realizacja zadania związanego z Life-Cycle Assessment (Degradacja anaerobowa (zgodnie z normą ASTM D5511-02) materiałów polimerowych na bazie PBS, PLA)