

Mestrado Integrado em Engenharia Química

Síntese e Caracterização de Poliesteramidas derivadas de PADAS, Etilenoglicóis e Aminoácidos

Tese de Mestrado

desenvolvida no âmbito da disciplina de

Projecto de Desenvolvimento em Instituição Estrangeira

Rita Ramos Correia

Departamento de Engenharia Química

Escola Superior Técnica de Engenharia Industrial de Barcelona

Universidade Politécnica de Barcelona

Orientador:

Alfonso Rodriguez Galán

Julho 2008

Agradecimentos

Barcelona....cidade agitada...pessoas apressadas...encontro de muitas línguas, de muitos pensamentos, de muitas cores e momentos. Quero agradecer em primeiro lugar a esta cidade maravilhosa que me proporcionou muitas novas experiências que já se encontram guardadas nas páginas da minha vida.

E a vida é feita disto mesmo....dos momentos...das experiências...das pessoas que vamos conhecendo e aprendendo com elas....dos sorrisos, das conversas, da energia química que a todos nos envolve e influencia.

E por falar em energia....quero especialmente agradecer ao Dr. Alfonso Rodriguez....meu tutor...meu amigo...meu confidente...meu bom ouvinte e paciente nos momentos mais evasivos do meu pensamento. Quero agradecer a possibilidade que me concedeu em poder realizar o meu tão ilustre projecto na sua “casa”, o Departamento de Engenharia Química da Escola Técnica Superior de Engenharia Industrial de Barcelona! Quero agradecer toda a sabedoria polimérica e experiência prática partilhada, quero agradecer todos os novos conhecimentos que me proporcionou....quero agradecer sobretudo o dia a dia que partilhou comigo na elaboração de 18 copoliesteramidas!!

Agradeço com saudade a todos aqueles que por mim passaram nestes seis meses e com quem tive o prazer de comunicar e conhecer as suas histórias!!

Agradeço a todas as pessoas do departamento de engenharia química da ETSEIB com quem tive a honra de almoçar, de conversar, de aprender, filosofar e até brincar,....o célebre “¿Hola, que tal?” que todos os dias me ofereciam!!

Obrigada Dra. Lourdes Franco pelas ajudas calorimétricas..... Obrigada Dra. Marichel Martinez pelas análises de RMN..... Obrigada José Negeruela pelas ajudas informáticas... Obrigada Laura pela cordialidade.... Obrigada Professor Subirana pela simpatia contagiante.... Obrigada Dr. Jordi Puiggalí, Dra. Nuria Saperas, Dra. Teresa Casas, Dra. Lourdes Urpí..... Obrigada Mireia, Diana, Pedro, Elsa, Tadeo, Elena.... Obrigada Grupo de Polímeros da ETSEIB que me recebeu calorosamente e me fez sentir quase como em casa. Foi sempre um prazer acordar, apanhar o metro no arco do triunfo e seguir em direcção ao meu destino.....ETSEIB!!

Obrigada Maggy, Dod e Patty por partilharem um piso comigo. Obrigada a todos os amigos que me acompanharam e continuam a acompanhar nesta minha jornada.

Obrigada ainda à FEUP e a todos os professores e colegas que viveram comigo este crescente fértil de sabedoria matemática, química, física, científica...

Obrigada Pai, Mãe, Ricardo, Joana e Zé pelo carinho e apoio que me deram, dão e continuarão a dar certamente em todas as fases da minha vida!!!

Obrigada vida que me deste um corpo e uma alma para viver tudo isto....

Resumo

Nos dias de hoje, os polímeros sintéticos biodegradáveis são vistos como materiais biológicos promissores para as mais diversas aplicações, desde a indústria farmacêutica, a biomedicina até à engenharia de tecidos.

As poliesteramidas (PEAs) são uma nova família de polímeros biodegradáveis que combinam as boas propriedades mecânicas e processuais das poliamidas com a biodegradabilidade característica dos poliésteres. As PEAs derivadas de aminoácidos parecem ter melhor biocompatibilidade do que as diaminas alifáticas. Desta forma, esta nova família de polímeros biodegradáveis consegue combinar propriedades mecânicas, físicas e térmicas requeridas com propriedades favoráveis como a biodegradabilidade.

Recentemente, na Universidade Politécnica da Catalunha, foi sintetizado e caracterizado PADAS, uma nova poliesteramida derivada de L-alanina, dodecanodiol e ácido sebácico. Este polímero apresentou boas capacidades de formação de fibras e filme, como também outras características tais como estabilidade térmica e solubilidade em clorofórmio. Estudos de degradação mostraram que tanto o pH como a temperatura influencia a taxa de hidrolização que têm lugar sobretudo nas ligações éster. A degradação foi também estudada usando diferentes enzimas.

No presente projecto, três novas famílias de copoliesteramidas potencialmente biodegradáveis derivadas de aminoácidos, ácidos dicarboxílicos e diálcoois alifáticos foram sintetizadas por polimerização interfacial e também caracterizadas. As copoliesteramidas podem ser consideradas como derivadas de PADAS onde um diol alifático foi substituído por oligómeros de etilenoglicol. As diferenças entre os copolímeros obtidas dizem respeito ao aminoácido incorporado (L-alanina, glicina ou L-fenilalanina) e ao tamanho de etilenoglicol usado (tri- ou tetraetilenoglicol).

As três copoliesteramidas, P(ADAS-co-A4EGAS), P(ADAS-co-G3EGGS) e P(ADAS-co-F3EGFS), foram preparadas por polimerização interfacial numa mistura de água e CCl_4 . A fase inferior foi constituída por uma solução aquosa de Na_2CO_3 , ADA e um dos seguintes monómeros: A4EGA, G3EGG ou F3EGF. A fase superior foi constituída por uma dissolução de dicloreto de sebacoílo num solvente clorado.

Os pesos moleculares médios foram obtidos mediante a análise de GPC onde se obtiveram valores entre 4500 a 1100 para M_n e entre 9200 a 3200 para M_w (o índice de polidispersidade entre 2,1-3,0). Com estes pesos moleculares PADAS demonstrou capacidade de formação de películas e fibras. Os copolímeros obtidos mostraram boa solubilidade em ácidos fortes, tal como é usual nas poliamidas (ácido fórmico e

ácido dicloroacético), em HFPI e em solventes clorados (diclorometano e clorofórmio), mostrando assim possibilidades de processamento a partir de soluções.

As estruturas químicas das poliesteramidas foram confirmadas pelos espectros de IV e RMN. Todos os copolímeros foram obtidos na forma sólida e apresentaram diferentes valores de T_c e T_g que dependeram das respectivas composições.

Este projecto está integrado num mais amplo cujo objectivo é a obtenção de PADAS com maior carácter hidrofílico e com propriedades de biodegradação e biocompatibilidade modificadas. Na parte correspondente a este trabalho foi proposto a preparação e caracterização físico-química de três famílias de copolímeros derivados de PADAS e que contêm três distintos aminoácidos e quantidades variáveis de etilenoglicol.

Abstract

Synthetic biodegradable polymers nowadays have been found as promising biomaterials with increasing applications in pharmaceutical, biomedical, and tissue engineering.

Poly(ester amide)s (PEAs) are a new family of biodegradable polymers that combines the good mechanical and processing properties of polyamides and the biodegradability of polyesters. Amino acid derived PEAs appear to have better biocompatibility than those from aliphatic diamines and have formed a new family of biodegradable polymers that combine desirable mechanical, physical, and thermal properties with favorable properties as biodegradability.

A few years ago, in the Politechnical University of Catalunya a new poly(ester amide), PADAS, derived from L-alanine, dodecanediol and ácido sebácico, was synthesized and characterized. This polymer has good fiber- and film-forming properties, as well as other characteristics like thermal stability and solubility in chloroform. Degradation studies show that both pH and temperature influence in the hydrolysis rate that takes place mainly through the ester linkages. Degradation was also studied by using different enzymes.

In this project three new families of potential biodegradable copoly(ester amide)s based on aminoacids, aliphatic dicarboxylic acids, and aliphatic dialcohols were synthesized by interfacial polymerization and characterized. The copoly(ester amide)s can be considered as derivatives of PADAS in which the aliphatic diol was substituted by oligomers of ethyleneglicol. Differences between families lies in the aminoacid incorporated (L-alanine, glycine or phenylalanine) and in the size of ethyleneglicol used (tri- or tetraethyleneglicol).

The three copoly(ester amide)s, Poly(ADAS-co-A4EGAS), Poly(ADAS-co-G3EGGS) and poly(ADAS-co-F3EGFS), were prepared by interfacial polymerization in a mixture of water and CCl₄. The bottom phase was an aqueous solution of Na₂CO₃, ADA and one of the following monomers: A4EGA, G3EGG or F3EGF. The top phase was a solution of sebacoyl dichloride in the chloroform solvent.

Average molecular weights of 4500-1100 and 9200-32000 for M_n and M_w (polydispersity index of 2,1-3,0) could be deduced from the GPC analysis. However, these molecular weights were sufficient (in the case of PADAS) to give film- and fiber-forming properties. The copolymers show good solubility in strong acids as is usual in polyamides (formic and dichloroacetic acid), in HFPI, and chlorosolvents (dichloromethane and chloroform) which enhance the processing facilities from the solution.

The chemical structures of the PEEAs were confirmed by IR, NMR spectra. All the copolymers are solid with a T_m and T_g that depend on their composition.

Índice

Índice	i
Índice de Figuras	iii
Índice de Tabelas	vii
Abreviaturas	viii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS	2
1.2. POLIÉSTERES	3
1.3. POLI(AMINOÁCIDOS)	5
1.4. POLIAMIDAS	6
1.5. POLIESTERAMIDAS	7
1.6. PADAS	10
1.7. POLIMERIZAÇÃO INTERFACIAL	11
2. OBJECTIVOS	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1 INSTRUMENTAÇÃO	14
3.2. SOLVENTES E REAGENTES	14
3.3. MÉTODOS DE SÍNTESE	15
3.4. AVALIAÇÃO DO PESO MOLECULAR	15
3.5. ESTUDOS DE SOLUBILIDADE	17
3.6. CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA	17
3.6.1. Espectroscopia de Infravermelho (IV)	17
3.6.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	18
3.7. ANÁLISE TÉRMICA	19
4. RESULTADOS EXPERIMENTAIS	22
4.1. SÍNTESE DE PADAS	23
4.2. PREPARAÇÃO DOS MONÓMEROS	24

4.2.1. Preparação do monómero A4EGA	24
4.2.2. Preparação do monómero G3EGG	25
4.2.3. Preparação do monómero F3EGF	26
4.3. SÍNTESE DE COPOLÍMEROS	28
4.3.1. Preparação de P(ADAS-co-A4EGAS)	28
4.3.2. Preparação de P(ADAS-co-G3EGGS)	36
4.3.2. Preparação de P(ADAS-co-F3EGFS)	42
4.4. ESTUDOS DE SOLUBILIDADE	49
5. CONCLUSÕES	51
7. BIBLIOGRAFIA	52
ANEXO A: Resultados IV	56
A.1. Monómeros	57
A.2. PADAS	59
A.3. Copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS)	59
A.4. Copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS)	63
A.5. Copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS)	66
ANEXO B: Resultados ¹ H-RMN	69
B.1. Monómeros	70
B.2. Copolímeros P(ADAS-co-A4EGAS)	74
B.3. Copolímeros P(ADAS-co-G3EGGS)	78
B.4. Copolímeros P(ADAS-co-F3EGFS)	81
ANEXO C: Resultados DSC	84
C.1. Copolímeros P(ADAS-co-A4EGAS)	85
C.2. Copolímeros P(ADAS-co-G3EGGS)	87
C.3. Copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS)	89
ANEXO D: PADAS	91
ANEXO E: Chu et al.	105

Índice de Figuras

Figura 1 – Síntese do poliglicólico (PGA).	4
Figura 2 – Síntese do polilático (PLA).	4
Figura 3 – Síntese da poli(dioxanona).	4
Figura 4 – Síntese da policaprolactona (PCL).	5
Figura 5 – Síntese do poli(lático-co-glicólico).	5
Figura 6 – Síntese de PADAS	23
Figura 7 – Síntese de A4EGA	24
Figura 8 – Síntese de G3EGG	25
Figura 9 – Síntese de F3EGF	26
Figura 10 – Síntese de P (ADAS-co-A4EGAS).	29
Figura 11 – Espectro IV do copolímero P5A	31
Figura 12 – Deslocamentos de ^1H -RMN de P(ADAS-co-A4EGAS).	32
Figura 13 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P7A	32
Figura 14 – Síntese de P(ADAS-co-G3EGGS).	36
Figura 15 – Espectro IV do copolímero P6G	37
Figura 16 – Deslocamentos de ^1H -RMN de P(ADAS-co-G3EGGS).	38
Figura 17 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P6G	38
Figura 18 – Síntese de P(ADAS-co-F3EGFS).	42
Figura 19 – Espectro IV do copolímero P10F	44
Figura 20 – Deslocamentos de ^1H -RMN de P(ADAS-co-F3EGFS)	45
Figura 21 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P4F	45

ANEXO A

Figura A. 1 – Espectro IV de ADA.....	57
Figura A. 2 – Espectro IV de A4EGA.....	57
Figura A. 3 – Espectro IV de G3EGG.....	58
Figura A. 4 – Espectro IV de F3EGF.....	58
Figura A. 5 – Espectro IV de PADAS.....	59
Figura A. 6 – Espectro IV do copolímero P1.....	59
Figura A. 7 – Espectro IV do copolímero P2A.....	60
Figura A. 8 – Espectro IV do copolímero P3A.....	60
Figura A. 9 – Espectro IV do copolímero P4A.....	61
Figura A. 10 – Espectro IV do copolímero P5A.....	61
Figura A. 11 – Espectro IV do copolímero P7A.....	62
Figura A. 12 – Espectro IV do copolímero P9A.....	62
Figura A. 13 – Espectro IV do copolímero P11A.....	63
Figura A. 14 – Espectro IV do copolímero P2G.....	63
Figura A. 15 – Espectro IV do copolímero P4G.....	64
Figura A. 16 – Espectro IV do copolímero P6G.....	64
Figura A. 17 – Espectro IV do copolímero P8G.....	65
Figura A. 18 – Espectro IV do copolímero P11G.....	65
Figura A. 19 – Espectro IV do copolímero P2F.....	66
Figura A. 20 – Espectro IV do copolímero P4F.....	66
Figura A. 21 – Espectro IV do copolímero P6F.....	67
Figura A. 22 – Espectro IV do copolímero P8F.....	67
Figura A. 23 – Espectro IV do copolímero P10F.....	68

ANEXO B

Figura B. 1 – Deslocamentos de ^1H -RMN do monómero ADA	70
Figura B. 2 – Espectro de ^1H -RMN do monómero ADA.....	70
Figura B. 3 – Deslocamentos de ^1H -RMN do monómero A4EGA.....	71
Figura B. 4 – Espectro de ^1H -RMN do monómero A4EGA	71
Figura B. 5 – Deslocamentos de ^1H -RMN do monómero G3EGG.....	72
Figura B. 6 – Espectro de ^1H -RMN do monómero G3EGG	72
Figura B. 7 – Deslocamentos de ^1H -RMN do monómero F3EGF	73
Figura B. 8 – Espectro de ^1H -RMN do monómero F3EGF.....	73
Figura B. 9 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P1	74
Figura B. 10 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P2A	74
Figura B. 11 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P3A	75
Figura B. 12 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P4A	75
Figura B. 13 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P5A	76
Figura B. 14 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P7A	76
Figura B. 15 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P9A	77
Figura B. 16 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P11A	77
Figura B. 17 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P2G	78
Figura B. 18 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P4G	78
Figura B. 19 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P6G	79
Figura B. 20 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P8G	79
Figura B. 21 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P11G	80
Figura B. 22 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P2F	81
Figura B. 23 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P4F.....	81
Figura B. 24 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P6F.....	82
Figura B. 25 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P8F.....	82
Figura B. 26 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P10F.....	83

ANEXO C

Figura C. 1 – Curvas do 1º varrimento DSC de P(ADAS-co-A4EGAS).....	85
Figura C. 2 – Curvas do 2º varrimento DSC de P(ADAS-co-A4EGAS).....	85
Figura C. 3 – Curvas do 3º varrimento DSC de P(ADAS-co-A4EGAS).....	86
Figura C. 4 – Curvas do 4º varrimento DSC de P(ADAS-co-A4EGAS).....	86
Figura C. 5 – Curvas do 1º varrimento DSC de P(ADAS-co-G3EGGS).....	87
Figura C. 6 – Curvas do 2º varrimento DSC de P(ADAS-co-G3EGGS).....	87
Figura C. 7 – Curvas do 3º varrimento DSC de P(ADAS-co-G3EGGS).....	88
Figura C. 8 – Curvas do 4º varrimento DSC de P(ADAS-co-G3EGGS).....	88
Figura C. 9 – Curvas do 1º varrimento DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)	89
Figura C. 10 – Curvas do 2º varrimento DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)	89
Figura C. 11 – Curvas do 3º varrimento DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)	90
Figura C. 12 – Curvas do 4º varrimento DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)	90

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS)	30
Tabela 2 – Absorções no espectro IV de P(ADAS-co-A4EGAS).....	30
Tabela 3 – Composição dos copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS) determinada por ^1H -RMN	33
Tabela 4 – Valores médios dos pesos moleculares de P(ADAS-co-A4EGAS) obtidos por GPC	34
Tabela 5 – Dados DSC de P(ADAS-co-A4EGAS).....	35
Tabela 6 – Copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS).	37
Tabela 7 – Composição dos copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS) determinada por ^1H -RMN.	39
Tabela 8 – Valores médios dos pesos moleculares de P(ADAS-co-G3EGGS) obtidos por GPC	40
Tabela 9 – Dados DSC de P(ADAS-co-G3EGGS).....	40
Tabela 10 – Copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS).....	43
Tabela 11 – Absorções no espectro IV de P(ADAS-co-F3EGFS).....	43
Tabela 12 – Composição dos copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS) determinada por ^1H -RMN	46
Tabela 13 – Valores médios dos pesos moleculares de P(ADAS-co-F3EGFS) obtidos por GPC.....	47
Tabela 14 – Dados DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)	47
Tabela 15 – Solubilidade dos copolímeros estudados.	49

Abreviaturas

PCL	Poli(ϵ -caprolactona)
PDS	Polidioxanona
PEG	Polietilenoglicol
PGA	Poli(ácido glicólico)
PLA	Poli(ácido láctico)
PLAGA	Copolímero de ácido glicólico e ácido láctico
PVA	Álcool polivinílico
IV	Espectroscopia de infravermelho
RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
^1H -RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton
DSC	Calorimetria diferencial de varrimento
GPC	Cromatografia de permeação em gel
TGA	Análise termogravimétrica
TFA- <i>d</i>	Ácido trifluoroacético deuterado
THF	Tetrahidrofurano
T_c	Temperatura de cristalização
T_g	Temperatura de transição vítrea
p.f.	Ponto de fusão
ADA	Sal de L-alanina-dodecanodiol-L-alanina
PADAS	Poliesteramida constituída por L-alanina, dodecanodiol e ácido sebácico
T3EG	Trietilenoglicol
T4EG	Tetraetilenoglicol
A4EGA	Sal de L-alanina-tetraetilenoglicol-L-alanina
G3EGG	sal de glicina-trietilenoglicol-glicina
F3EGF	Sal de L-fenilalanina-trietilenoglicol-L-fenilalanina
PA4EGAS	Poliesteramida constituída por L-alanina, tetraetilenoglicol e ácido sebácico
PG3EGGS	Poliesteramida constituída por glicina, trietilenoglicol e ácido sebácico
PF3EGFS	Poliesteramida constituída por L-fenilalanina, trietilenoglicol e ácido sebácico
P(ADAS- <i>co</i> -A4EGAS)	Copolímero formado por PADAS e PA4EGAS

P(ADAS- <i>co</i> -G3EGGS)	Copolímero formado por PADAS e PG3EGGS
P(ADAS- <i>co</i> -F3EGFS)	Copolímero formado por PADAS e PF3EGFS

1. INTRODUÇÃO

Até meados dos anos 60 a maior parte da investigação em síntese de polímeros encaminhava-se para a preparação de materiais resistentes à biodegradação. Durante as últimas décadas a necessidade de dispositivos terapêuticos temporais no campo da medicina estimulou a síntese e aplicação de polímeros biodegradáveis.

O objectivo é conseguir polímeros biodegradáveis que se degradem *in vivo* de maneira controlada e num determinado espaço de tempo segundo a implantação. As aplicações neste campo incluem as suturas cirúrgicas^[1,2], dispositivos de fixação óssea absorvíveis^[3,4], pele artificial^[5], canais tubulares para preparação de nervos^[6], próteses vasculares^[7], sistemas transportadores para libertação controlada de fármacos^[8-10] e aplicações no campo da engenharia de tecidos em geral.

Nos últimos anos foram realizados importantes avanços nos biomateriais que deram lugar a novos polímeros biodegradáveis com propriedades potenciais para serem aplicados na biomedicina. No entanto, o número de polímeros disponíveis e actualmente utilizado é ainda limitado. Dada a extensa variedade de aplicações existentes e a grande gama de tempos de degradação e perfis requeridos, resulta de grande interesse o desenvolvimento de novos materiais assim como da melhoria dos já disponíveis, quer seja pela obtenção de novos métodos ou através de modificações nos já existentes. Alguns dos principais polímeros sintéticos biodegradáveis dizem respeito aos poliésteres alifáticos^[11], poli(ortoésteres)^[12], polifosfazenos^[13], poli(alfa-aminoácidos)^[14] e polianídridos^[15]. Exemplos de poliésteres alifáticos: poli(ácido glicólico) (PGA), o poli(ácido láctico) (PLA), a polidioxanona (PDS), a poli(ϵ -caprolactona) (PCL) e o poli(láctico-co-glicólico) (PLGA).

Quando se utilizam polímeros biodegradáveis em aplicações médicas é essencial que estes não sejam tóxicos. Uma aproximação útil para minimizar a toxicidade é sintetizar os polímeros a partir de metabolismos naturais. Exemplos deste tipo de polímeros são os poliésteres derivados de ácido glicólico ou láctico e os seus copolímeros^[16], e as poliamidas derivadas de α -aminoácidos^[17]. Desta forma, foram também sintetizadas diversas famílias de poliesteramidas alifáticas, entre elas encontram-se os polipeptídeos, constituídos por α -aminoácidos e α -hidroxiácidos^[18]. Além do mais, as poliesteramidas resultam interessantes porque combinam boas propriedades mecânicas e de biodegradação concedidas pelas ligações amida e éster, respectivamente.

Existem dois tipos básicos de poliesteramidas alifáticas (PEAs): aquelas que não derivam de aminoácidos como o caso de uma diamina alifática e aquelas que sim, nomeadamente da L-fenilalanina, L-leucina e/ou L-lisina^[19-28]). As que contêm aminoácidos apresentam melhores características para a biocompatibilidade como também para a degradabilidade^[26] (i.e., biodegradabilidade e favoráveis propriedades mecânicas, físicas e térmicas).

O presente projecto pretende então dar seguimento às recentes investigações que têm vindo a ser feitas em relação às poliesteramidas alifáticas^[29], uma família potencial de polímeros que apresentam melhores comportamentos mecânicos e térmicos devido aos grupos amida e uma elevada susceptibilidade à degradabilidade devido aos grupos éster.

1.1. POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS

Os polímeros biodegradáveis são definidos como polímeros que se degradam, sob a acção de microrganismos, tais como fungos, bactérias e algas, libertando CO₂, CH₄, componentes celulares e outros produtos, segundo o estabelecido pela *American Standard for Testing and Methods* (ASTM-D-833)^[30,31]. Ou, de outro modo, são materiais que se degradam em dióxido de carbono, água e biomassa, como resultado da acção de organismos vivos ou enzimas^[32].

Descobertos há cerca de 10 anos, os plásticos biodegradáveis, também denominados plásticos biológicos ou bioplásticos, têm ainda uma participação mínima no mercado internacional^[33]. Apesar da vantagem da sua aplicação em relação à preservação do meio ambiente, os plásticos biológicos são mais caros, e têm aplicações mais limitadas que os sintéticos, por serem menos flexíveis.

Recentemente foi sintetizado um número considerável de polímeros biodegradáveis, ao mesmo tempo que se identificaram vários microrganismos e enzimas capazes de os degradar. Segundo a sua constituição química, os materiais biodegradáveis de maior uso comercial podem ser classificados em três distintas categorias: polímeros naturais derivados de açúcares, álcoois polivinílicos e poliésteres.

Os polímeros naturais derivados de açúcares são os de maior aplicação. O amido, termoplástico natural de carácter fortemente hidrofílico, de baixo custo e de elevada disponibilidade, pode ser utilizado como aditivo biodegradável ou material de substituição de plásticos tradicionais. Este composto, em teoria, acelera a degradação ou a fragmentação das cadeias dos polímeros sintéticos. A acção microbiana consome o amido, criando poros no material, que podem originar a sua ruptura. Entre os plásticos biodegradáveis feitos a partir de amido e actualmente comercializados podem citar-se as suas misturas com: polietileno de baixa densidade (ECOSTAR®), polietileno e poliésteres (ECOLAN®), derivados de baixo peso molecular do petróleo (NOVON®), um polímero solúvel em água e plastificante (BIOFIOL®) e a policaprolactona (GREENPOL®)^[35].

O polímero natural mais abundante na natureza é a celulose, de modo que, tanto ela como os seus derivados foram amplamente estudados para aplicações biomédicas. Apesar da celulose natural não poder ser processada com facilidade, ela pode converter-se num material biodegradável mediante modificações químicas que alterem a sua estrutura altamente ordenada. Pode-se citar como exemplo o acetato de

celulose (AC), que se caracteriza por uma elevada resistência à tensão, e a celulose oxidada (Oxycel Surgical), utilizada como gazes estéreis e lâminas para hemorragias ^[36].

Os dois restantes grupos de polímeros biodegradáveis constituem os polímeros biodegradáveis sintéticos. Em geral, os polímeros sintéticos oferecem maiores vantagens comparativamente com os naturais uma vez que podem ser modificados segundo específicas propriedades requeridas e podem também ser estimados ou pré-definidos teoricamente. A segunda categoria de polímeros biodegradáveis é formada pelo álcool polivinílico (PVA) que é um polímero sintético solúvel em água, onde a sua reactividade e degradabilidade o caracterizam como um material potencialmente útil na biomedicina, agricultura, áreas de tratamento de água (eliminação de iões metálicos) e também como excipiente para medicamentos farmacêuticos. A multinacional *DuPont* comercializa o PVA com o nome de ELVANOL®, o qual possui excelentes propriedades de adesão, de formação de fibras e ainda como emulsionante.

A terceira categoria de polímeros biodegradáveis é formada pelo grupo mais importante de polímeros biodegradáveis sintéticos, os poliésteres.

Na presente tese foram sintetizados e estudados polímeros sintéticos, especificamente as poliesteramidas que combinam as características relativas aos poliésteres e às poliamidas. Deste modo, apresenta-se seguidamente uma perspectiva geral referente a estes dois tipos de polímeros sintéticos. Também se apresentam descritos os poli(aminoácidos), uma vez que também é objecto de estudo a incorporação de aminoácidos em poliesteramidas.

1.2. POLIÉSTERES

Os poliésteres constituem um grupo importante de polímeros e caracterizam-se pela presença de ligações éster (-COO-) na cadeia principal. O seu interesse como biomateriais deve-se ao facto de que os grupos éster são degradáveis hidroliticamente de modo que, ao contrário das poliamidas, os poliésteres não apresentam interacções intermoleculares fortes e, por isso, as suas propriedades são muito mais sensíveis à sua estrutura. Foram os primeiros polímeros biodegradáveis a serem desenvolvidos e também os mais utilizados. São obtidos a partir do ácido poliglicólico (PGA) e do ácido poliláctico (PLA) e têm uma aplicação muito vasta na indústria médica, começando pelas suturas biodegradáveis que foram aprovadas em 1960. Desde então, diversos produtos feitos a partir de PGA e PLA foram desenvolvidos, como também outros materiais, como o caso de homopolímeros e copolímeros de policaprolactona (PCL) e copolímeros de polidioxanona (PDS) e poli (trimetilcarbonato), os quais foram aceites como materiais de uso biomédico.

Seguidamente descrevem-se alguns exemplos de poliésteres de maior importância na actualidade.

Poli(ácido glicólico) (PGA): é o poliéster alifático linear mais simples. É degradável hidroliticamente e foi utilizado para desenvolver a primeira sutura sintética totalmente absorvível, comercializada como

DEXON® nos anos 60 por *Davis & Geck, Inc.* O PGA é sintetizado a partir do diéster cíclico do ácido glicólico, como se mostra na seguinte figura (Figura 1).

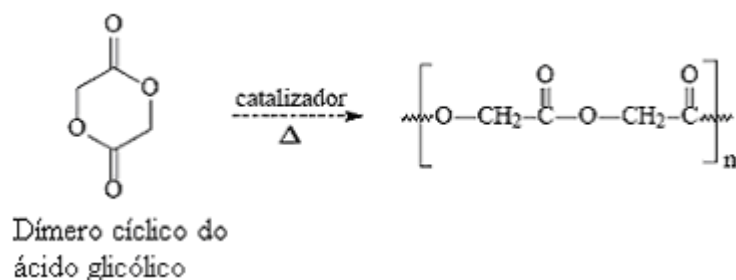


Figura 1 – Síntese do poliglicólico (PGA).

Poli(ácido láctico) (PLA): Em 1966 Kulkarni pensou que o poli(ácido láctico) poderia ser adequado como implante cirúrgico degradável, visto que a sua hidrólise daria lugar ao ácido láctico, um intermédio normal do metabolismo de carboidratos^[37]. O PLA conhecido também como polilactida é obtido através da abertura do anel do diéster cíclico do ácido láctico (lactida)^[38], como se mostra na Figura 2.

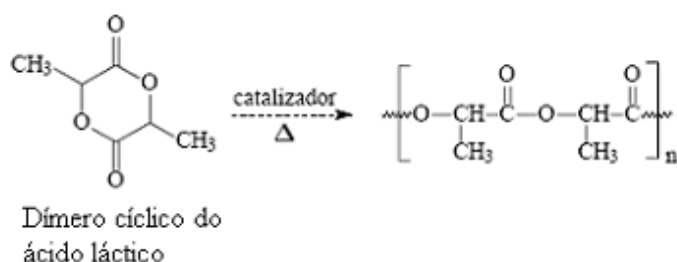


Figura 2 – Síntese do poliláctico (PLA).

Poli(dioxanona) (PDS) : a polimerização através da abertura do anel da p-dioxanona (Figura 3) resultou na primeira sutura cirúrgica clinicamente provada. A poli(dioxanona) demonstrou não ter efeitos tóxicos uma vez implantada, cujo monofilamento perde 50% da sua tensão inicial depois de três semanas e é absorvido num período de seis meses, tendo vantagem face a outros produtos pois consegue actuar em feridas que têm um processo de cura lento. Comercializa-se com o nome PDS™ (Ethicon, USA)^[39,40].

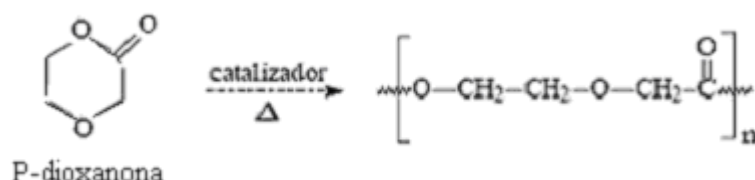


Figura 3 – Síntese da poli(dioxanona).

Poli(ε-caprolactona) (PCL): a polimerização através da abertura do anel da ε-caprolactona dá lugar à poli(ε-caprolactona) ou PCL, que é um material biocompatível e utilizado como sutura biodegradável. Devido ao seu elevado tempo de degradação (~2 anos) foram preparados copolímeros de PCL com D,L-

ácido láctico para aumentar a velocidade de bio-absorção. Também se utilizam copolímeros de PCL-co-PGA (Monocryl)^[41], que oferecem uma menor rigidez comparativamente com o homopolímero PGA puro.



Figura 4 – Síntese da policaprolactona (PCL).

Poli (láctico-co-glicólico) (PLAGA): com o PLA e o PGA estabelecidos como materiais úteis e aceites como implantes, é lógico que se tenham polimerizado misturas destes dois polímeros com intenção de ampliar a gama de propriedades dos polímeros e suas velocidades de absorção *in vivo*. Copolímeros de ácido glicólico com ácido láctico foram desenvolvidos para aplicações em sistemas libertadores de fármacos. O copolímero mais importante apresenta 90% de ácido glicólico e 10% de L-láctico e é comercializado por *Ethicon* como sutura absorvível com o nome comercial de VICRYL®^[41].

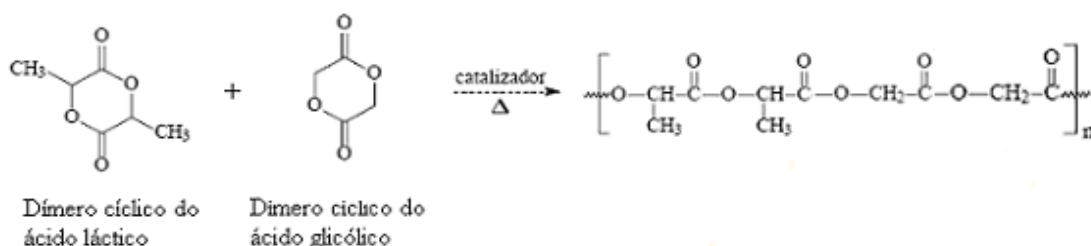


Figura 5 – Síntese do poli(láctico-co-glicólico).

1.3. POLI(AMINOÁCIDOS)

Uma vez que as proteínas são formadas por aminoácidos, surgiu a ideia óbvia de explorar o possível uso dos poli(aminoácidos) em aplicações biomédicas. Estes foram vistos como biomateriais prometedores, devido à presença de grupos laterais que possibilitam a ligação de fármacos ou de grupos funcionais e podem ser utilizados para modificar as propriedades físicas ou mecânicas do polímero. Além disso, mostram um baixo nível de toxicidade sistêmica, devido à sua degradação em aminoácidos naturais^[42,43].

Apesar da sua aparente potencialidade como biomateriais, os poli(aminoácidos) são escassamente utilizados a nível prático^[42,43]. É de referenciar que os polímeros que contêm três ou mais aminoácidos são antigénicos, pelo que a sua aplicabilidade na biomedicina se vê extensamente limitada. Além disso, a maioria destes polímeros são altamente insolúveis e difíceis de processar. Por exemplo, a poliglicina não

é biodegradável devido à sua elevada cristalinidade, além de ser intratável mediante métodos de fusão e de dissolução típicos; os monómeros (N-carboxianídridos) são caros e difíceis de manobrar devido à sua reactividade e sensibilidade à humidade.

Para superar estas limitações foram aplicadas novas estratégias de síntese. Neste sentido foram patenteados copolímeros de ácido glutâmico com aplicação em sistemas de libertação de fármacos^[45] e o poli(ácido L-glutâmico) como material de sutura^[46]. Estudos recentes indicam que a modificação na cadeia principal dos poli(aminoácidos) dando lugar aos chamados “pseudo” –poli(aminoácidos) pode constituir uma aproximação geralmente aplicável para melhorar as propriedades dos poli(aminoácidos) convencionais^[42].

1.4. POLIAMIDAS

As poliamidas, também denominadas por nylons, são polímeros cujas unidades repetitivas contêm grupos amida (–CONH–). A ligação –CONH– recebe o nome de ligação amida ou peptídica. Apresentam, em princípio, características muito atraentes para poderem ser utilizadas como materiais biodegradáveis. Em primeiro lugar, contêm azoto, um elemento necessário para o crescimento de microrganismos. Em segundo, a presença de grupos amida, pelo seu carácter fortemente polar e a presença de pontes de hidrogénio, conferem ao polímero excelentes propriedades mecânicas, tais como elevadas temperaturas de fusão.

Os **Poli(α -aminoácidos)** sintéticos são um caso particular de poliamidas, onde cada grupo amida está separado unicamente por um átomo de carbono. São polímeros biodegradáveis amplamente estudados, principalmente para aplicações biomédicas. No entanto, com a excepção dos poli(α -aminoácidos), as poliamidas apresentam uma velocidade de degradação excessivamente lenta para poderem ser consideradas biodegradáveis. Contudo, foram encontradas soluções para superar este inconveniente:

- **Incorporação de α -aminoácidos.** Os estudos iniciaram-se em 1976 com os trabalhos de Bailey *et al.*^[53] sobre o nylon 2/6. Desde então foi investigada a incorporação de α -aminoácidos em vários nylons comerciais.

- **Incorporação de carboidratos.** Em geral, estes polímeros apresentam boas propriedades térmicas e mecânicas assim como elevada cristalinidade, embora a sua degradação hidrolítica em meio fisiológico seja excessivamente lenta.

- **Incorporação de ligações fracas na cadeia principal.** Polímeros que alternam grupos amida com outros mais susceptíveis à degradação. Podem-se considerar três famílias: poliamidoureтанos, poliamidoenaminas e poliesteramidas.

1.5. POLIESTERAMIDAS

Tal como indica o seu nome, as poliesteramidas são polímeros que contêm ligações do tipo éster (-COO-) e ligações do tipo amida (-CONH-) na cadeia principal e combinam assim a degradabilidade dos poliésteres e as propriedades mecânicas das poliamidas.

Os primeiros estudos com poliesteramidas de carácter biodegradável datam de 1979 e foram realizados com polímeros obtidos mediante o intercâmbio amida-éster que se produz ao submeter uma poliamida e um poliéster a 270°C. Tokiwa *et al.* ^[47] prepararam uma série de copoliesteramidas a partir de policaprolactona e diferentes nylons comerciais (6, 11, 12, 6 6, 6 9, 6 12). Os produtos finais apresentaram susceptibilidade à degradação enzimática com lipases, diminuindo a mesma, com o aumento de grupos amida. A extensão da biodegradação parecia então estar dependente da densidade e distribuição das ligações de hidrogénio do polímero, ou seja, do comprimento dos blocos de amida presentes na copoliesteramida.

Desde então, muitos estudos têm vindo a ser feitos relativamente às poliesteramidas, com o intuito de se obterem plásticos biodegradáveis com características cada vez mais favoráveis à biodegradabilidade e com aplicações na biomedicina. As principais famílias até agora investigadas podem ser agrupadas da seguinte forma:

a) Polidepsipéptidos. Tratam-se de poliesteramidas constituídas por α -aminoácidos e α -hidroxiácidos ^[48,49]. Em geral, são mais susceptíveis à degradação enzimática com esterases do que com proteasas, sendo a degradação dependente do tamanho dos grupos laterais dos comonómeros existentes ^[50]. Os estudos realizados *in vivo* indicaram a importância do lugar de implantação na extensão da cadeia para melhorar a degradação.

b) Poliesteramidas derivadas de monómeros de nylons e de poliésteres comerciais. A síntese e caracterização de copolímeros estadísticos constituídos pelos monómeros de nylon 6 ou de nylon 6,6 e a policaprolactona foram estudados com detalhe pelos grupos de Gonsalves *et al.* ^[51] e Arvanitoyannis *et al.* ^[52], respectivamente. Estas poliesteramidas apresentaram uma rápida degradação sob acção de fungos e enzimas do tipo esterases.

c) Poliesteramidas derivadas de carboidratos. Foram estudados derivados de L-arabinose e D-xilose, obtidos depois da sua transformação em aminoálcoois com os grupos hidroxílicos protegidos na forma de éteres metílicos. Apresentaram uma rápida degradação hidrolítica em condições fisiológicas e uma boa biodegradabilidade com bactérias ^[53].

Foram também sintetizadas poliesteramidas derivadas do ácido tartárico que mostraram uma elevada degradabilidade hidrolítica, muito superior às politartaramidas de estrutura equivalente ^[69,70]. Os polímeros

mais susceptíveis à degradação foram aqueles que continham unidades de diácido que formavam ligações éster e amida com cada um dos seus carboxílicos.

d) Poliesteramidas derivadas de α -aminoácidos. Neste grupo destacam-se os trabalhos sobre um conjunto de polímeros estéreoregulares que se podem sintetizar facilmente a partir de um diol e de duas unidades de um aminoácido. Estes compostos, que são diaminas com ligações éster interiores, são polimerizados com derivados de diácidos por policondensação interfacial ou em solução.

Saotome *et al.* ^[54] foram os primeiros a obter poliesteramidas derivadas de α -aminoácidos através deste método de síntese. Os estudos de biodegradação mostraram que os polímeros constituídos por L- e D,L-aminoácidos eram facilmente hidrolisados mediante enzimas como a tripsina, quimiotripsina e a elastase; ao contrário, aqueles que continham glicina ou D-aminoácidos não foram atacados. Ho e Huang simplificaram notavelmente o método de síntese.

Ho e Huang ^[55] descreveram a obtenção de poliesteramidas a partir de aminoácidos (glicina, fenilalanina ou alanina), dicloreto sebacoílo e 1,6-hexanodiol, mediante polimerização interfacial e policondensação em solução. As propriedades dos polímeros dependiam fortemente da tacticidade da cadeia polimérica e do volume do substituinte lateral. Realizaram ensaios de degradação com enzimas, fungos e bactérias. Em particular, as poliesteramidas resultaram ser degradadas por subtilisina e observaram que a velocidade de degradação aumentava com o acréscimo do número de metilenos do diácido.

No laboratório de polímeros da Escola Técnica Superior de Engenharia Industrial de Barcelona (ETSEIB), foi também efectuado um estudo sistemático de uma família de poliesteramidas. Estas foram elaboradas a partir de dióis, tais como o hexanodiol e o dodecanodiol, diácidos alifáticos com quatro até doze átomos de carbono e aminoácidos como a glicina, alanina e valina ^[56].

O método de síntese utilizado foi a polimerização interfacial e foram obtidos rendimentos próximos de 70% e viscosidades intrínsecas de apenas 1dL/g. Em geral, os polímeros obtidos com maior peso molecular corresponderam aos derivados do dodecanóico e do dicloreto de ácido sebácico, devido à maior estabilidade destes face à hidrólise.

O fácil processo de síntese e as boas características apresentadas por algumas dessas poliesteramidas mostraram que esses mesmos materiais têm um elevado potencial para serem aplicados como polímeros biodegradáveis. Destaca-se que os polímeros estudados foram rapidamente degradados em meios que continham papaína ou proteinase K, mas não em meios constituídos por tripsina, quimiotripsina ou lipases. A constituição dos polímeros estudados deu lugar também a claras diferenças: as poliesteramidas que continham L-alanina degradaram-se mais facilmente que aquelas derivadas da glicina. Deve ressaltar-se também, a baixa citotoxicidade destes materiais, como demonstraram os ensaios de aderência e proliferação celular realizados ^[56b].

Recentemente foram comercializadas duas poliesteramidas fabricadas por *Bayer*: BAK1095® e BAK2195®. A primeira diz respeito a um copolímero constituído por ácido adípico, 1,4-butanodiol e caprolactama, totalmente biodegradável, com boas propriedades e de fácil processamento. Agricultura, horticultura, sectores alimentícios e sacos de lixo são alguns exemplos onde estas poliesteramidas têm aplicação. É um termoplástico semi-cristalino, transparente, que se degrada em condições aeróbias libertando água, monóxido de carbono e biomassa. A sua velocidade de degradação é comparável à dos materiais orgânicos que se decompõem sob condições de compostagem^[57,58].

Em continuação, referem-se ainda alguns importantes estudos feitos nos últimos anos.

Em 2000, Fan *et al.* prepararam uma série de poliesteramidas derivadas de 1,4-hexanodiol, dicloreto adipóilo e grupos dipeptídicos (fenilalanina e outros aminoácidos), esperando que estes últimos conferissem carácter biodegradável ao polímero e também boas propriedades mecânicas. Estimaram a sua biodegradabilidade mediante ensaios *in vivo* com protease e lipase. As poliesteramidas obtidas foram vistas como degradáveis^[59].

Em 2001, Yujiang *et al.* prepararam uma série de poliesteramidas derivadas de 2-aminoetanol, dicloreto adipóilo ou sebacoílo e cinco aminoácidos distintos. Estudaram a degradabilidade *in vivo* com proteases e lipase. Os resultados indicaram que os polímeros com L-fenilalanina são hidrolisados mais efectivamente através de α -quimiotripsina, subtilisina Carlsberg e subtilisina BPN. As poliesteramidas com outros aminoácidos também foram hidrolisadas em diferentes extensões, reflectindo a especificidade do substrato das proteases. A lipase praticamente não produziu efeito sobre a degradação hidrolítica de nenhuma das poliesteramidas^[60].

Recentemente, Quian *et al.* sintetizaram e realizaram estudos de degradação térmica e hidrolítica de poliesteramidas derivadas de ϵ -caprolactona e ácido 11-aminoundecanoico^[61,62]. Também estudaram a degradação térmica e hidrolítica de poliesteramidas derivadas de ϵ -caprolactona, ácido 11-aminoundecanoico e poli(etilenoglicol)^[63].

Em 2004 Zou *et al.* sintetizaram uma poliesteramida derivada de ácido adípico, 1,4-butanodiol, hexametilendiamina e ϵ -caprolactama. Estudaram a estabilidade durante o processamento de compostos do polímero com distintos enchimentos: carbonato cálcico, fosfato tricálcico e talco. Os três enchimentos afectaram a estabilidade térmica e as propriedades mecânicas^[64].

Em 2005, Zhang *et al.* sintetizaram uma série de poliesteramidas alifáticas ramificadas, derivadas de ácido adípico, hexametilenodiamina, 1,4-butanodiol e ϵ -caprolactama, utilizando um glicol como agente ramificante. Os polímeros resultantes degradaram rapidamente em meio alcalino (pH 11). Por outro lado, a pH 7 e a 37°C com tampão fosfato degradaram lentamente. Observaram que a degradação tem lugar principalmente através das ligações amida^[65].

Em 2005, Feijen *et al.* ^[66] sintetizaram poliesteramidas segmentadas (ou em bloco) por policondensação em estado fundido de 1,4-butanodiol, adipato de dimetilo e um bis(amidodiol) derivado de 1,4-diaminobutano e ϵ -caprolactona em diferentes proporções de diol e amidodiol. As poliesteramidas obtidas apresentaram duas micro-fases separadas, uma fase rígida rica em ligações amida e uma fase flexível rica em ligações éster.

Em 2006, Montserrat *et al.* ^[67] prepararam e caracterizaram duas novas famílias de poliesteramidas biodegradáveis. Foi desenvolvido um novo método de síntese baseado na policondensação térmica. A primeira família de polímeros foi constituída por poliesteramidas derivadas de ácido glicólico e de α -aminoácidos. A segunda incluiu poliesteramidas constituídas por ácido glicólico, diaminas e unidades de ácidos dicarboxílicos. Os rendimentos obtidos foram elevados e os polímeros finais apresentaram boas propriedades de formação de fibras e filmes.

1.6. PADAS

Não são muitos os estudos realizados sobre poliesteramidas derivadas de α -aminoácidos, dióis e diácidos. Saotome *et al.* ^[54] descreveram a degradação enzimática de polímeros derivados de 1,2-etanodiol, ácido adípico e diferentes aminoácidos. No grupo de polímeros do departamento de engenharia química da ETSEIB foram realizados estudos sobre poliesteramidas relacionadas^[56,67] que demonstraram a sua degradabilidade enzimática.

Estes polímeros são obtidos por polimerização interfacial entre o monómero derivado do diol e do α -aminoácido e do dicloreto de ácido sebácico. O método é uma adaptação do procedimento geral de obtenção de nylons, utilizado por Huang para poliesteramidas ^[55]. O monómero corresponde ao sal p-toluenosulfónico e é sintetizado a partir de diol, α -aminoácido e ácido p-toluenosulfónico monohidratado, utilizando tolueno como solvente. Na montagem utiliza-se um *Dean-Stark* e a reacção dá-se por finalizada quando é recolhida a quantidade teórica de água. Uma solução de monómero em água com a quantidade estequiométrica de Na_2CO_3 é adicionada sobre uma dissolução de dicloreto de sebacoílo em CCl_4 e mantém-se agitação mecânica vigorosa durante 15 minutos. Posteriormente separa-se o polímero por filtração.

No caso da poliesteramida constituída por L-alanina, dodecanodiol e ácido sebácico (**PADAS**) foi realizado um estudo mais detalhado em relação à biodegradabilidade e biocompatibilidade visto que esta poliesteramida apresentava potenciais características tais como solubilidade em solventes orgânicos e boas propriedades de formação de filme ^[56b]. Observou-se proliferação celular sobre a superfície do material cultivado com fibroplastos L929. No entanto, detectou-se uma certa toxicidade durante a degradação causada pelos subprodutos libertados.

Posteriormente, foram sintetizadas poliesteramidas constituídas por diferentes proporções de enantiómeros L- e D-alanina. Estudou-se a variação das propriedades respectivas com a proporção de cada um dos enantiómeros contidos no polímero ^[56d].

A solubilidade deste polímero em diclorometano e clorofórmio levou à investigação da possibilidade deste polímero ser aplicado em matrizes para sistemas libertadores de fármacos. Concretamente sintetizaram-se microesferas mediante a técnica de emulsão-extracção/evaporação de solvente. Além disso, a possibilidade de obter distintos perfis de degradação variando a proporção de isómeros resultava interessante no sentido em que se podia aumentar a versatilidade dos sistemas de libertação resultantes.

Algumas das características do polímero que constituíam matriz das microesferas afectaram o perfil de libertação do fármaco que encapsulavam. Entre elas encontram-se principalmente o peso molecular, o estado físico, o qual inclui a cristalinidade e as propriedades térmicas, o tipo de degradação e a velocidade a que esta se produz.

1.7. POLIMERIZAÇÃO INTERFACIAL

A polimerização interfacial trata-se de uma reacção bimolecular que tem lugar na interface de dois líquidos imiscíveis. Na fase orgânica encontra-se dissolvido o dicloreto de ácido, e na fase aquosa, a diamina ou o diol segundo se trate de poliamidação ou poliesterificação, respectivamente. Esta técnica aproveita a maior reactividade dos dicloretos de ácido frente aos seus correspondentes diésteres ou diácidos. Alguns factores como a conversão de reacção podem ser afectados pela agitação do sistema. Dois tipos de sistemas podem ser empregues: sem agitação ou com agitação. Neste caso particular foi utilizado um sistema com agitação que é aplicável a polímeros que precipitam rapidamente e não formem filmes, sendo posteriormente filtrados.

Alguns factores que influenciam o rendimento e peso molecular dos polímeros obtidos pelo método de polimerização interfacial devem ser considerados. Em primeiro lugar, é necessária a presença na fase aquosa de uma base inorgânica que neutralize o subproduto ácido procedente da reacção de condensação, caso contrário este reagiria com a diamina para dar o sal hidrocloreto e o peso molecular resultante diminuiria. Embora as bases fortes sejam melhores aceitadores de subprodutos ácidos e devam ser utilizadas na síntese de poliamidas, deverá considerar-se a sua eleição no caso de monómeros com ligações facilmente hidrolisáveis a pH básico. Nestes casos escolhem-se bases mais fracas como o carbonato de sódio.

O dicloreto de ácido pode sofrer hidrólise dando lugar ao diácido a baixas velocidades de polimerização e a concentrações elevadas de base. A hidrólise não apenas reduz a velocidade de polimerização, como também limita em grande medida o peso molecular do polímero devido ao facto do ácido resultante não ser reagente às temperaturas a que tem lugar a polimerização interfacial.

A eleição do solvente na fase orgânica também tem um papel fundamental no controlo do peso molecular, já que a reacção parece ter lugar neste lado da interface. O solvente deve ser mantido dissolvido no polímero em crescimento até que este alcance um tamanho suficientemente grande para poder precipitar. Solventes como xileno e tetracloreto de carbono tendem a originar polímeros de peso molecular mais baixo do que os solventes clorofórmio ou diclorometano, isto porque estes permitem a precipitação de todas as fracções poliméricas.

Apesar das vantagens que o método apresenta, existem alguns inconvenientes que limitam a sua aplicabilidade industrial, tais como o elevado custo de reagentes e a grande quantidade de solvente que é necessário utilizar e recuperar posteriormente. A polimerização interfacial pode utilizar-se para serem obtidos diversos polímeros, embora os policarbonatos sejam os únicos que se obtêm actualmente à escala industrial.

2. OBJECTIVOS

O objectivo geral do presente projecto é a obtenção de PADAS com maior carácter hidrofílico e com propriedades de biodegradação e biocompatibilidade modificadas.

Objectivos concretos:

1. Obtenção de famílias de copolímeros com quantidades crescentes de etilenoglicóis, nomeadamente com tri- e tetraetilenoglicol.
2. Observar a influência da incorporação de três tipos de aminoácidos:
 - a) L-alanina: é o mesmo aminoácido presente nas unidades de PADAS;
 - b) Glicina: aminoácido sem grupo lateral;
 - c) L-fenilalanina: parecido a alanina mas com um maior grupo lateral.
3. Caracterização físico-química dos copolímeros obtidos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

A maior parte da instrumentação utilizada para a realização do presente Projecto pertence ao Departamento de Engenharia Química da Escola Técnica Superior de Engenharia Industrial de Barcelona.

Seguidamente, são mencionadas as técnicas instrumentais e principais equipamentos utilizados na realização do trabalho experimental da presente Tese.

As curvas de distribuição de peso molecular, assim como os valores médios de peso molecular foram determinados num cromatógrafo Shimadzu (modelo LC-8A) com um detector de índice de refração (Shimadzu RID-10A) e um programa para tratamento de dados (Empower computer program, Waters). Foi ainda utilizada uma coluna PL HFIPgel 300×7,5mm (Polymer Lab).

Os espectros infravermelhos foram realizados num espectrofotómetro Jasco de transformada de Fourier da série 4100 FT-IR e também acoplado com um ATR Sepcac.

Os espectros de RMN de protão (^1H -RMN) foram realizados num espectrofotómetro Bruker AMX-300 de transformada de Fourier, operando a 300,13 MHz.

As análises térmicas DSC (calorimetria diferencial de varrimento) foram efectuadas num calorímetro diferencial de varrimento TA Instruments Q100, dotado com um sistema de arrefecimento refrigerado que opera desde -90 até 550°C. As experiências foram conduzidas sob fluxo de azoto seco com um peso da amostra de ~10mg e a calibração foi realizada com índio.

Os pontos de fusão dos compostos foram determinados calorimetricamente mediante o equipamento respectivo aos ensaios de DSC.

As pesagens foram realizadas numa balança electrónica Mettler AC 100 com uma precisão de 0,1mg e também numa balança Mettler P1210 com uma precisão de 10mg, em função da quantidade de amostra a pesar e da precisão requerida.

3.2. SOLVENTES E REAGENTES

Os solventes foram fornecidos por Panreac S.A. e Sigma-Aldrich-Fluka para os processos de síntese e purificação com qualidade PA-ACS. Os solventes deuterados utilizados nas análises de RMN foram ministrados por Merck ou Aldrich com grau de deuturação mínimo de 99.8%. Todos os solventes foram utilizados sem prévia purificação.

Os reagentes principais utilizados nas sínteses dos monómeros e polímeros foram: os aminoácidos glicina, L-alanina e L-fenilalanina, tri- e tetraetilenoglicol, ácido p-toluenosulfônico monohidratado, cloreto sebacoílo, tolueno, 1-butanol, etanol, isopropanol, acetona, éter etílico, clorofórmio, água, entre outros.

3.3. MÉTODOS DE SÍNTESE

Foram preparados, pelo método de polimerização interfacial as seguintes famílias de poliesteramidas:

- a) Poliesteramidas derivadas de PADAS, tetraetilenoglicol e L-alanina: P(ADAS-co-A4EGAS);
- b) Poliesteramidas derivadas de PADAS, trietilenoglicol e glicina: P(ADAS-co-G3EGGS);
- c) Poliesteramidas derivadas de PADAS, trietilenoglicol e L-fenilalanina: P(ADAS-co-F3EGFS).

O método utilizado para a preparação das copoliesteramidas foi baseado nos trabalhos realizados por N. Paredes *et al.* ^[ANEXO D] correspondente à síntese de uma poliesteramida biodegradável e biocompatível.

O procedimento utilizado consta de dois passos. O primeiro passo corresponde à síntese de três monómeros distintos formados por etilenoglicóis e aminoácidos: L-alanina-tetraetilenoglicol-L-alanina (A4EGA), glicina-trietilenoglicol-glicina (G3EGG) e L-fenilalanina-trietilenoglicol-L-fenilalanina (F3EGF). O segundo passo diz respeito às copolimerizações propriamente ditas entre cada um dos monómeros anteriormente referidos e o monómero PADAS ^[ANEXO D].

3.4. AVALIAÇÃO DO PESO MOLECULAR

As reacções de polimerização podem produzir cadeias poliméricas com diversos números de unidades repetitivas. A maior parte dos polímeros sintéticos são misturas de macro moléculas de distintos tamanhos, pelo que o peso molecular oferece sempre um valor médio e não um valor absoluto.

São muitas as técnicas existentes para a determinação experimental do peso molecular médio de um polímero. No entanto, diferentes valores são obtidos conforme a técnica utilizada e, por isso, existem distintas médias para expressar o Peso Molecular de uma amostra, entre as quais se destacam o Peso molecular médio em número (Mn) e o Peso molecular médio em peso (Mw).

Se todos os polímeros estiverem formados por cadeias de idêntico comprimento, os distintos Pesos Moleculares médios coincidem (Mn=Mw). No entanto, o habitual é que os polímeros sejam polidispersos, ou seja, que sejam formados por cadeias de diferentes comprimentos, onde as distintas médias apresentam valores diferentes.

A relação entre os valores dos Pesos Moleculares médios (M_w/M_n) é conhecida como polidispersidade (DP) e é utilizada para se ter uma ideia da heterogeneidade do Peso Molecular das amostras respectivas dos polímeros.

A determinação do Peso molecular de um polímero é quase sempre uma tarefa complicada e algumas vezes inviável. Não obstante, existem diversos métodos que permitem uma aproximação efectiva na maior parte dos casos.

Uma das técnicas que oferece maior informação sobre os Pesos moleculares é a cromatografia de permeação em gel (GPC). A determinação da polidispersidade a partir da determinação de M_w e M_n realiza-se habitualmente mediante esta técnica baseada nos princípios de fraccionamento em função do tamanho das macromoléculas.

A cromatografia de permeação em gel é uma potente técnica de separação sendo actualmente a que mais se utiliza para separar moléculas de amostras poliméricas em função do seu tamanho molecular ^[68]. No presente trabalho a avaliação do peso molecular dos copolímeros obtidos foi feita mediante esta mesma técnica (GPC).

Primeiro, a amostra do copolímero a analisar foi dissolvida em tetrahidrofurano (THF). Seguidamente, a dissolução foi injectada numa coluna cromatográfica, cujo interior continha um gel poroso, principalmente poliestireno e vidro. Quando a dissolução polimérica, com diferentes tamanhos moleculares, foi introduzida no interior da coluna cromatográfica, teve lugar um fraccionamento em função do respectivo tamanho molecular e da distribuição de tamanho do poro do gel polimérico. As moléculas de maior tamanho foram arrastadas com o solvente, levando menos tempo a atravessar a coluna enquanto que as de menor tamanho foram retidas no interior durante um tempo mais prolongado. À saída da coluna foi registada a variação entre o índice de refacção do solvente puro e a fracção recolhida. A calibração foi realizada com poliestireno.

Porém, a técnica de GPC tem um inconveniente. É que na realidade não se mede a massa mas sim o volume hidrodinâmico das moléculas poliméricas, ou seja, o espaço que ocupa uma molécula particular quando se encontra em solução. A partir do estudo mediante GPC, pode-se fazer uma aproximação do peso molecular, visto que se conhece a relação exacta entre o peso molecular e o volume hidrodinâmico para o poliestireno, sendo este utilizado como standard. Mas a relação entre o volume hidrodinâmico e o peso molecular não é a mesma para todos os polímeros e, deste modo, os resultados obtidos são medidas aproximadas.

3.5. ESTUDOS DE SOLUBILIDADE

A dissolução de um polímero é um processo lento que ocorre em duas etapas. Na primeira, as moléculas de solvente difundem-se lentamente dentro do polímero produzindo um inchamento do mesmo. O processo de dissolução pode ser detido nesta fase se as forças intramoleculares polímero-polímero (que estão relacionadas com aspectos de reticulação ou de cristalinidade) forem suficientemente fortes como para impedir a completa dissolução.

No caso de que estas forças possam ser superadas através de formação de interações intensas entre polímero-solvente, terá lugar a segunda etapa da dissolução. Nesta, o polímero inchado desintegra-se gradualmente originando uma verdadeira dissolução. Adicionando mais polímero não se observa saturação (aspecto que pode quantificar-se), sendo este dissolvido. Por este motivo a solubilidade só se pode expressar de forma qualitativa com designações tais como insolúvel, solúvel a temperatura ambiente ou solúvel a elevada temperatura.

O procedimento seguido no presente trabalho consistiu em depositar uma pequena quantidade de polímero (1mg) num tubo de ensaio, juntando seguidamente cerca de 0.5-1 ml de solvente. Agitou-se com ajuda de uma vareta de vidro durante uns minutos e examinou-se para ver se a amostra se dissolvia ou se modificava o seu aspecto. Quando não se verificaram modificações à temperatura ambiente, repetiu-se o ensaio aquecendo o tubo de ensaio a uma temperatura aproximadamente de 50°C, realizando-se posteriormente as mesmas observações.

3.6. CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA

3.6.1. Espectroscopia de Infravermelho (IV)

A espectroscopia de infravermelho constitui uma técnica espectroscópica de amplo uso que se baseia na excitação dos modos de vibração das moléculas por absorção da radiação infravermelha. Embora esta compreenda comprimentos de onda (λ) entre o visível e o microondas, a região de infravermelho médio entre 4000-300cm⁻¹ é a mais utilizada de um ponto de vista prático. Durante a excitação é necessária uma variação do momento dipolar da molécula para que se produza uma absorção no IV que pode associar-se a vibrações de distensão (simétrica ou assimétrica) ou de deformação.

O espectro IV de um composto é a representação da absorção que ocorre na região infravermelha em função da frequência de radiação. A quantidade de radiação absorvida mede-se como percentagem de transmitância, T. Tendo em conta que cada molécula ou grupo funcional tem uma absorção característica,

com um comprimento de onda específico, a partir do espectro podem ser identificados os grupos funcionais de cada composto, sendo esta a principal aplicação desta técnica.

Existem dois tipos de espectrofotómetros: os de duplo feixe e os de transformada de Fourier (FTIR). Os primeiros analisam cada comprimento de onda absorvido comparando-o com um branco (que pode ser de ar). A diferença de transmissão reflecte-se numa banda ou pico de um comprimento de onda determinado. Os de transformada de Fourier fazem incidir todo o espectro de comprimentos de onda sobre a amostra várias vezes, a radiação transmitida é recolhida como um sinal de interferências (interferograma) a que se aplica a operação matemática de transformada de Fourier para se obter o espectro.

A metodologia que se utiliza para a realização de IV depende do tipo de amostra utilizada. Com amostras líquidas, o espectro é obtido com o líquido colocado entre duas janelas transparentes de um sal que não absorva no infravermelho (normalmente NaCl). No caso de amostras sólidas, o espectro pode ser obtido dissolvendo as amostras em solventes que absorvam pouco no IV ou numa dispersão sólida em brometo de potássio (KBr) ou ainda directamente.

3.6.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A técnica de RMN é utilizada como complemento à espectroscopia infravermelha e constitui actualmente uma das mais úteis e utilizadas para conhecer a estrutura dos compostos orgânicos. O seu papel no campo dos polímeros destaca-se especialmente por proporcionar dados sobre a sua constituição, organização e dinâmica, que dificilmente se poderiam obter por outros meios.

A técnica analisa a interacção entre os níveis de energia das rotações de certos núcleos atómicos com a radiação electromagnética. Apenas os núcleos com momento nuclear são observáveis. Os núcleos de substâncias orgânicas mais usuais em RMN são as de protão (^1H) e as de carbono 13 (^{13}C). A posição dos sinais obtidos depende nos dois casos da densidade electrónica.

Os espectros de RMN de protão consistem num registo dos sinais de ressonância que correspondem aos diferentes tipos de hidrogénio presentes na amostra em forma de picos, cuja posição, altura, área e subestrutura permitem a sua caracterização. A posição está associada à identidade dos diferentes grupos vizinhos de protões e expressa-se como um deslocamento químico (em ppm) relativamente ao sinal de um grupo de referência.

As características dos espectros de ^1H -RMN que proporcionam informação sobre a estrutura de um composto são, além dos deslocamentos comentados anteriormente, as seguintes:

- a. O número de sinais em cada espectro corresponde ao número de diferentes tipos de hidrogénio em cada composto.
- b. As áreas relativas aos picos ou sinais são proporcionais ao número de hidrogénios que produzem o sinal. Permitem atribuir os picos a grupos de hidrogénios particulares.
- c. Acoplamento de sinais. Trata-se de um fenómeno que se produz pelas influências magnéticas dos hidrogénios presentes nos átomos adjacentes. Deste modo, surgem sinais que se dividem em $n+1$ picos onde n é o número de prótons vizinhos equivalentes quimicamente, mas distintos do núcleo observado. Assim, podem surgir dupletes quando existe um próton vizinho, tripletes quando existem dois, etc. Se o núcleo observado tiver prótons vizinhos distintos entre si, os acoplamentos de ambos multiplicam-se.

O espectro de carbono-13 (^{13}C -RMN) consiste num registo de ressonâncias que correspondem aos diferentes átomos de carbono presentes na amostra. Por isso, oferece as mesmas informações que o espectro de ^1H -RMN, mas referentes ao esqueleto carbonado da molécula.

No caso dos polímeros, a técnica de RMN pode ser utilizada para conhecer a sua estrutura química, a presença de grupos terminais e possíveis ramificações. A presença de grupos terminais no espectro pode ser utilizada para determinar o peso molecular dos polímeros (M_n). Por último, também é útil, em relação à degradação de polímeros, a aparição de novos sinais ou a diminuição da intensidade de outros já existentes no espectro inicial do polímero, permitindo conhecer o avanço da degradação.

Na realização deste projecto foram utilizados apenas espectros de ^1H -RMN. As amostras foram introduzidas em tubos de vidro especiais de 5 a 10 mm de diâmetro e de 10 cm de altura. A quantidade de amostra necessária para realizar uma experiência de ^1H -RMN foi de 5 a 20 mg. As amostras sólidas dissolvem-se em solventes que não absorvem as regiões em estudo e por isso são habitualmente utilizados solventes deuterados, tais como o clorofórmio (DCCl_3), o ácido trifluoroacético ($\text{TFA-}d$) e o ácido fórmico. Deste modo, para a dissolução dos polímeros em estudo foram utilizadas misturas de DCCl_3 e $\text{TFA-}d$. foi adicionada uma gota de substância de referência (TMS) e as amostras foram então introduzidas no íman supercondutor do equipamento.

3.7. ANÁLISE TÉRMICA

A análise térmica e calorimétrica fundamenta-se na medida e controlo tanto do calor como da temperatura, assim como das mudanças que estes factores provocam nos materiais. É útil para estudar as propriedades físicas de substâncias que são sensíveis a modificações térmicas e absorvem ou cedem calor.

No campo dos polímeros as técnicas mais usuais são: Análise Térmica Diferencial (DTA), Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC), Análise Termogravimétrica (TGA) e Análise Térmica Dinâmica-Mecânica (DMTA).

A Análise Térmica dos polímeros e monómeros do presente trabalho foram realizados somente pela técnica de DSC.

A Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) é uma técnica que mede as mudanças de energia que uma amostra experimenta com a temperatura. Como todas as mudanças físicas e químicas de uma substância estão associados a uma alteração de energia, com esta técnica podem-se determinar as temperaturas a que se produz uma mudança de estado, uma mudança estrutural ou um processo degradativo, entre outras. Além do mais, esta técnica permite determinar a magnitude energética dessa mudança.

No caso dos materiais poliméricos, as transições térmicas mais importantes na DSC são a Temperatura de Transição Vítrea (T_g), a Temperatura de Fusão (T_f) e a Temperatura de Cristalização (T_c).

Normalmente numa calorimetria de caracterização registaram-se 4 varrimentos, dos quais três são de aquecimento e um de arrefecimento.

No primeiro aquecimento (1º varrimento), realizado a 20°C/min, obtém-se informação acerca da fusão de uma amostra, que se manifesta através de um pico endotérmico com subida mais ou menos gradual e regular segundo a natureza e história térmica da amostra, e uma descida brusca até recuperar a linha base. Se esta se mantiver depois da fusão, pode-se dizer que o material é estável para ser processado por fusão. O contrário é indício de decomposição e deve ser estudado esse fenómeno com mais detalhe, por exemplo, mediante análises termogravimétricas. Às vezes podem aparecer vários picos ou então um pico muito largo e isto ocorre quando o material não é homogêneo, de maneira que cada um dos sistemas poliméricos que o constituem funde a uma temperatura diferente.

Imediatamente depois da fusão procede-se ao arrefecimento lento da amostra (a 10°C/min) para observar a cristalização do fundido (2º varrimento). Neste caso observa-se um pico exotérmico correspondente à cristalização do material, cuja posição e área indicam o subarrefecimento e a cristalização alcançada para esta velocidade de arrefecimento.

Posteriormente realiza-se um segundo aquecimento a 20°C/min (3º varrimento) para verificar a fusão da amostra cristalizada a partir do fundido e a reprodutibilidade das fusões observadas.

Seguidamente, submete-se a amostra a um arrefecimento rápido à velocidade máxima permitida pelo calorímetro, com o objectivo de se obter o polímero amorfo.

Finalmente, faz-se um terceiro aquecimento (4º varrimento) a 20°C/min que permite determinar a temperatura de transição vítrea do material. No entanto, em algumas ocasiões, a velocidade de arrefecimento não é suficiente para se obter o polímero amorfo, pelo que nesses casos, a T_g aparece como uma mudança abrupta da linha base. Por outro lado, nos muito cristalinos a T_g é difícil de ser observada devido à baixa proporção da parte amorfa no polímero.

As calorimetrias foram registadas a uma velocidade de 20°C/min e de 10°C/min para o aquecimento e arrefecimento, respectivamente e determinaram-se as variações de entalpia com a temperatura. Utilizaram-se amostras em pó (5-10mg) depositadas em cápsulas de alumínio.

4. RESULTADOS EXPERIMENTAIS

De seguida, descrevem-se detalhadamente os passos seguidos para a preparação das três famílias de copoliesteramidas derivadas de PADAS, etileno glicóis (tri- e tetraetilenoglicol) e aminoácidos (L-alanina, glicina e L-fenilalanina). São apresentadas as sínteses dos três monómeros distintos (A4EGA, G3EGG e F3EGF) e respectivas copolimerizações com PADAS.

Nesta mesma secção também se expõem os resultados respectivos à caracterização espectroscópica (IV e ^1H -RMN), à avaliação do peso molecular (GPC), à análise térmica (DSC) e ainda aos respectivos estudos de solubilidade dos copolímeros obtidos. A metodologia utilizada mediante estas técnicas foi já descrita na secção 3: *Materiais e métodos*.

Foram obtidos e estudados 18 poliesteramidas, sendo 6 respectivos a P(ADAS-co-A4EGAS), 4 respectivos a P(ADAS-co-G3EGGS), 5 respectivos a P(ADAS-co-F3EGFS) e os restantes 3 respectivos aos homopolímeros PADAS, PA4EGAS e PG3EGGS. Como tal, devido ao elevado número de resultados gráficos, apresentam-se apenas alguns exemplos figurativos e quadros síntese dos resultados gerais. Os demais resultados podem ser consultados nos anexos A, B e C.

4.1. SÍNTESE DE PADAS

A síntese de PADAS foi seguida pelo procedimento geral descrito por N. Paredes^[ANEXO D]. Foi obtido um rendimento entre 80 a 90% e um peso molecular em número (Mn) de 6000.

Seguidamente é apresentado o esquema da sua síntese.

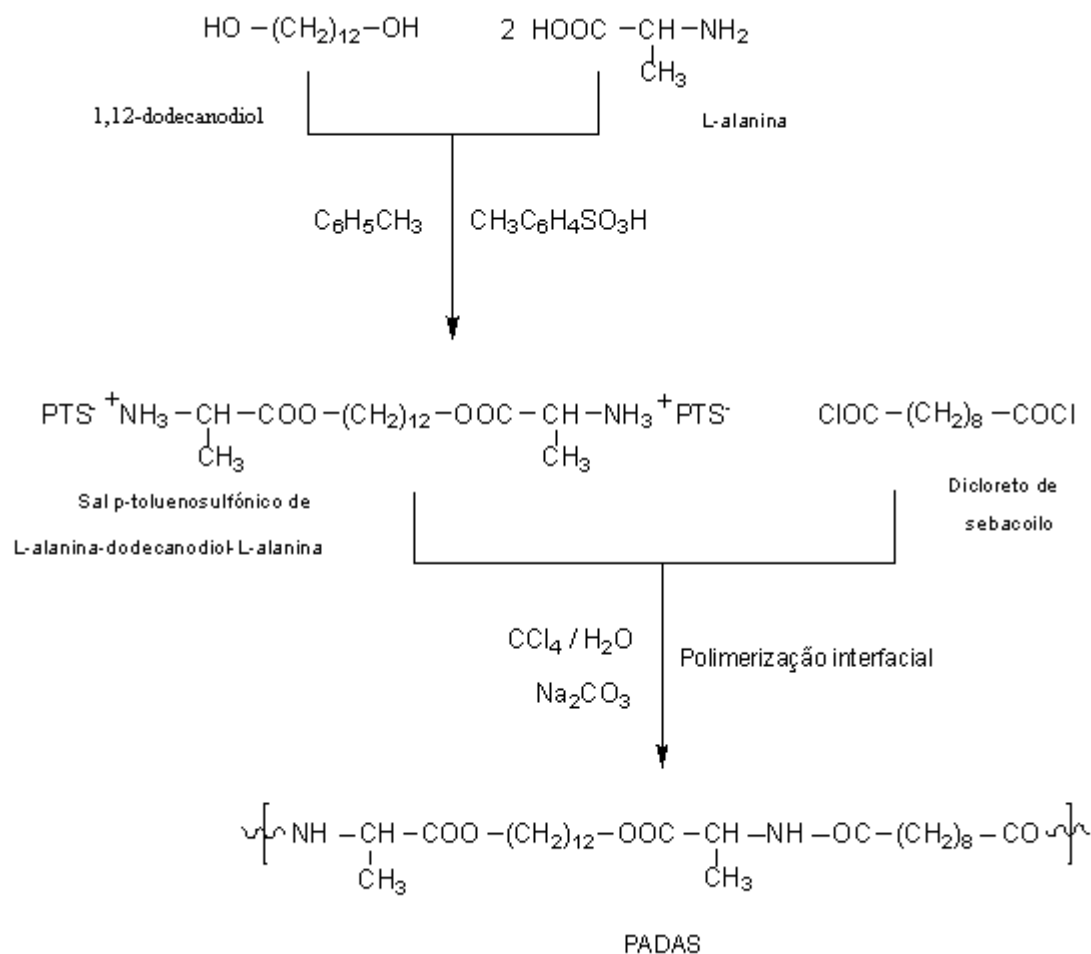


Figura 6 – Síntese de PADAS

Os espectros IV correspondentes ao sal de L-alanina-dodecanodiol-L-alanina (ADA) e ao polímero PADAS encontram-se em anexo^[ANEXO A]. A interpretação dos respectivos espectros pode ser consultada no artigo que se encontra adjunto ao presente trabalho^[ANEXO D].

4.2. PREPARAÇÃO DOS MONÓMEROS

No presente trabalho foram sintetizados três monómeros distintos: L-alanina-tetraetilenoglicol-L-alanina (A4EGA), glicina-trietilenoglicol-glicina (G3EGG) e L-fenilalanina-trietilenoglicol-L-fenilalanina (F3EGF). Os dois primeiros foram preparados seguindo o procedimento geral de ADA ^[ANEXO D] e o terceiro monómero foi adaptado do procedimento geral de *Chu et al.* ^[ANEXO E].

4.2.1. Preparação do monómero A4EGA

O esquema químico correspondente à preparação do monómero formado pelo tetraetilenoglicol e pelo aminoácido L-alanina apresenta-se na figura seguinte.

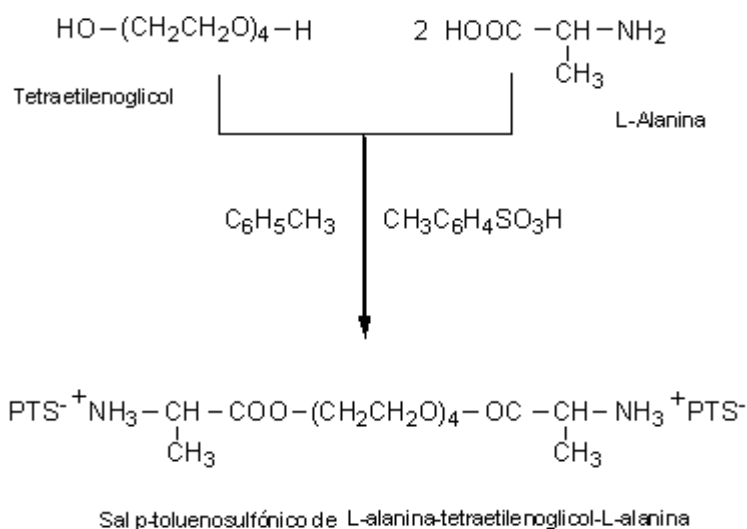


Figura 7 – Síntese de A4EGA

L-alanina (0,272 mol), ácido p-toluenosulfônico monohidratado (0,272 mol), tetraetilenoglicol (0,123 mol) e aproximadamente 500-600 ml de tolueno foram colocados num balão de 250 ml equipado com um equipamento *Dean-Stark*, um tubo de secagem de CaCl_2 e uma barra magnética. A mistura reaccional sólido-líquido foi aquecida (150°C) num banho de óleo de silicone numa placa de aquecimento e agitação e foi mantida em refluxo durante 16h até cerca de 9,8 ml (0,54 mol) de água ser destilada.

A mistura reaccional foi depois refrigerada à temperatura ambiente e posteriormente colocada num frigorífico. Visto que o monómero demorou a cristalizar, foi necessário mantê-lo a baixa temperatura durante vários dias até se obterem cristais filtráveis.

Procedeu-se seguidamente a uma filtração utilizando acetona para recuperar o A4EGA em solução. Posteriormente a mistura (acetona + A4EGA) foi colocada no *Rotary-Evaporation* (37°C) para remoção do solvente (+ou-20 min). O sólido foi então seco a vácuo durante uma noite e finalmente purificado por recristalização 2 vezes com 1-butanol e éter etílico. O rendimento do monómero obtido foi de 74% (65,77g).

Posteriormente foram efectuados estudos através de espectroscopia de IV e de ^1H -RMN. Os espectros de IV encontram-se no ANEXO A. Os deslocamentos químicos de ^1H -RMN, bem como os respectivos espectros encontram-se no ANEXO B. De acordo com os resultados obtidos mediante estas duas técnicas, foi possível confirmar a estrutura do monómero A4EGA.

4.2.2. Preparação do monómero G3EGG

O procedimento seguido para a síntese do monómero glicina-trietilenoglicol-glicina foi análogo ao descrito na secção 4.2.1., com a diferença que neste caso se partiu do trietilenoglicol e do aminoácido glicina, cujo esquema químico se mostra seguidamente:

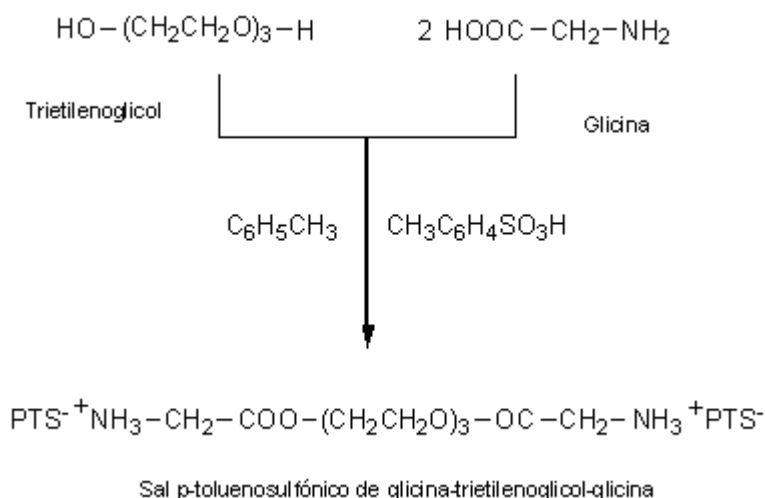


Figura 8 – Síntese de G3EGG

Glicina (0.068 mol), ácido p-toluenosulfónico monohidratado (0.068 mol), trietilenoglicol (0.031 mol) e aproximadamente 125-150 ml de tolueno foram colocados num balão de 250 ml equipado com um equipamento *Dean-Stark*, um tubo de secagem de CaCl_2 e uma barra magnética. A mistura reaccional sólido-líquido foi aquecida (150°C) num banho de óleo de silicone numa placa de aquecimento e agitação e foi mantida em refluxo durante 16h até cerca de 2,3 ml (0,136 mol) de água ser destilada.

A metodologia seguinte foi análoga à utilizada para a obtenção do monômero formado por tetraetilenoglicol e L-alanina, com a diferença do solvente utilizado nas recristalizações que, neste caso, foi o etanol.

O produto sintetizado foi obtido com um rendimento de 40% (7,45g).

Os espectros de IV e de ^1H -RMN respectivos ao sal de G3EGG encontram-se em anexo ^[ANEXO A e B]. Os espectros confirmaram a estrutura química deste composto.

4.2.3. Preparação do monômero F3EGF

A síntese do monômero L-fenilalanina-trietilenoglicol-L-fenilalanina é obtida a partir do trietilenoglicol e do aminoácido L-fenilalanina cujo esquema químico é apresentado seguidamente:

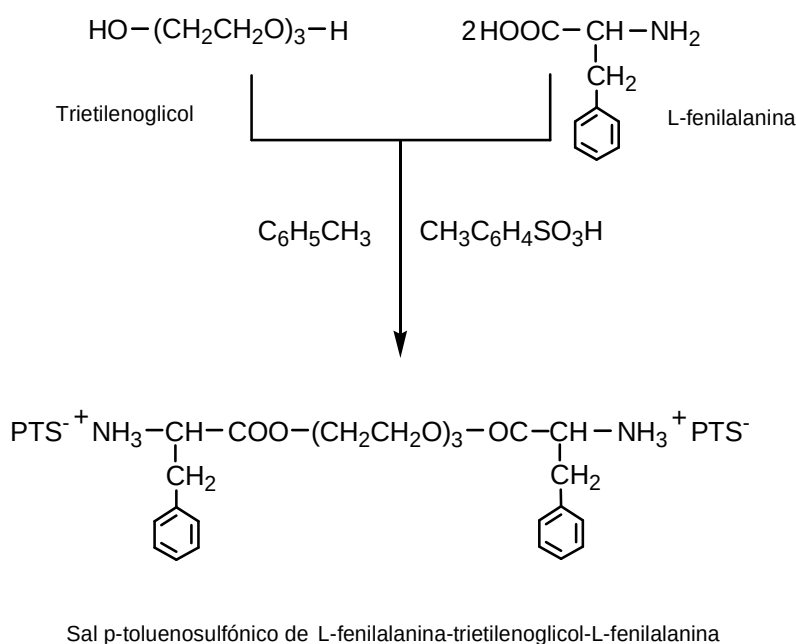


Figura 9 – Síntese de F3EGF

L-fenilalanina (0.211 mol), ácido p-toluenosulfônico monohidratado (0.211 mol), trietilenoglicol (0.096 mol) e aproximadamente 350-400 ml de tolueno foram colocados num balão de 500 ml equipado com um equipamento *Dean-Stark*, um tubo de secagem de CaCl_2 e uma barra magnética. A mistura reaccional sólido-líquido foi aquecida (140°C) e mantida em refluxo durante 16h até cerca de 7,6 ml (0,422 mol) de água ser destilada.

A mistura reaccional foi depois refrigerada à temperatura ambiente e posteriormente colocada num frigorífico. Posteriormente eliminou-se o tolueno e adicionou-se isopropanol (± 100 ml) aquecendo de seguida a mistura até total dissolução. Filtrou-se seguidamente utilizando acetona para recuperar o F3EGF. A mistura (F3EGF + acetona) foi seca a vácuo e finalmente purificada por recristalização 2 vezes com isopropanol. O produto sintetizado foi obtido com um rendimento de 12% (9,31g).

Os espectros de IV e de ^1H -RMN respectivos ao sal de F3EGF encontram-se em anexo ^[ANEXO A e B]. Os espectros confirmaram a estrutura química do respectivo monómero.

4.3. SÍNTESE DE COPOLÍMEROS

O método utilizado para a preparação das três famílias de copoliesteramidas foi adaptado do procedimento geral descrito por N. Paredes^[ANEXO D].

Seguidamente descrevem-se os passos seguidos para a preparação dos respectivos copolímeros. Para tal, foi utilizada a polimerização interfacial que já foi anteriormente explicada na secção 1.

4.3.1. Preparação de P(ADAS-co-A4EGAS)

Os copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS) foram obtidos a partir de uma mistura dos monómeros ADA e A4EGA dissolvidos em água (40ml) e carbonato de sódio(0,87g). Esta solução foi vertida cuidadosamente sobre uma dissolução de dicloreto de sebacoílo (1g) em tetracloreto de carbono anidro (27ml), num pequeno reactor agitado. Formaram-se duas películas de líquidos imiscíveis que, passado alguns minutos, sob agitação mecânica, formaram um sólido branco. Depois de 30 minutos de agitação, o sólido foi filtrado, sendo lavado seguidamente com abundante acetona, de forma a eliminar a água e o CCl₄, dois líquidos imiscíveis entre si. Seguidamente a amostra foi lavada com água para eliminar o bicarbonato passível de se encontrar aderido ao copolímero. A amostra foi novamente filtrada, lavada com acetona e colocada a secar em vácuo. Procedeu-se depois a uma purificação por reprecipitação, onde a amostra foi dissolvida em clorofórmio e depois adicionada gota a gota sobre um matraz com uma quantidade abundante de acetona ($\pm$ 40ml). Finalmente, o sólido foi filtrado e seco por vácuo.

De seguida apresenta-se o esquema químico do procedimento seguido:

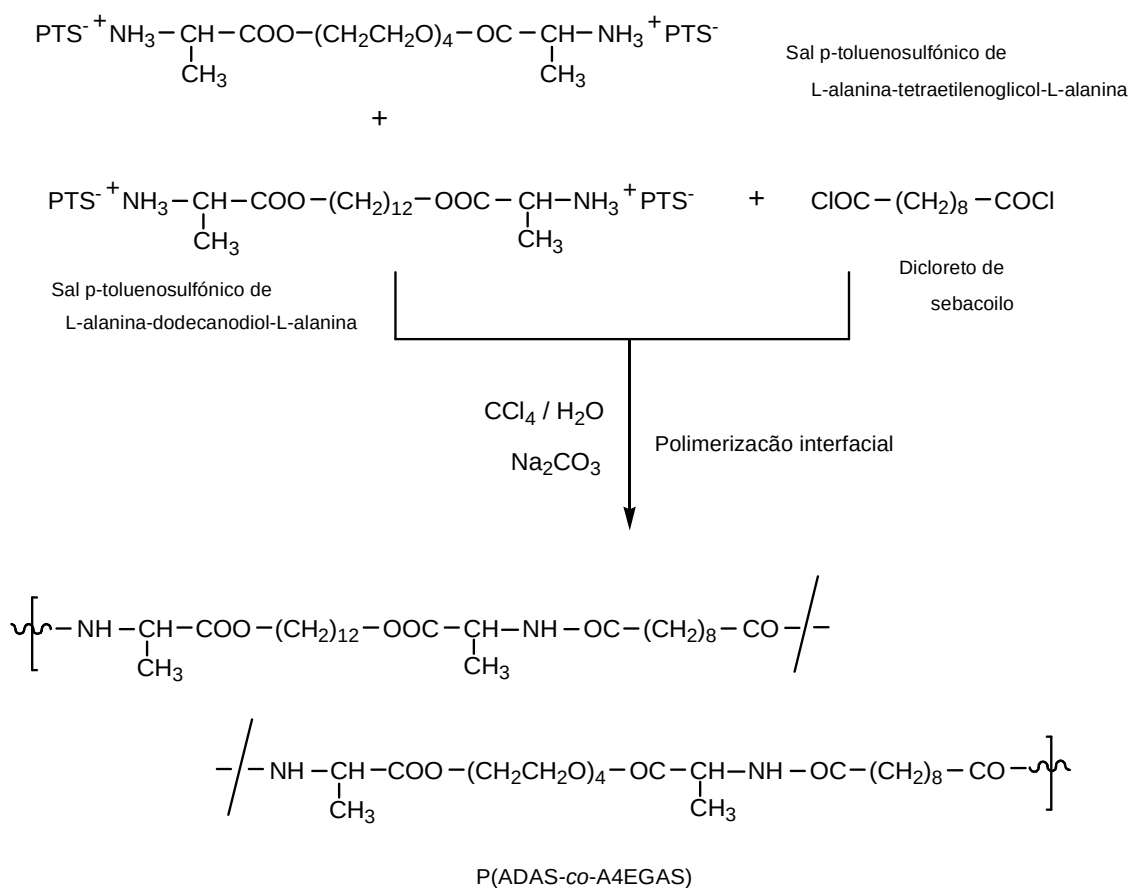


Figura 10 – Síntese de P (ADAS-co-A4EGAS)

Obtiveram-se 8 copolímeros P(ADAS-co-A4EGAS) com diferentes composições de ADA e de A4EGA: P1, P2A, P3A, P4A, P5A, P7A, P9A e P11A. As composições respectivas apresentam-se descritas na Tabela 1:

Tabela 1 – Copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS)

Amostra	Mole ADA	Moles A4EGA	ADA:A4EGA	m _{ADA} (g)	g A4EGA
P1	0,0041	---	100:0	2,82	---
P2A	0,0037	0,00041	90:10	2,54	0,29
P3A	0,0033	0,00082	80:20	2,26	0,59
P4A	0,0029	0,00123	70:30	1,97	0,89
P5A	0,0024	0,0016	60:40	1,69	1,18
P7A	0,0016	0,0024	40:60	1,13	1,78
P9A	0,00082	0,0033	20:80	0,56	2,37
P11A	---	0,0041	0:100	---	2,96

Nota: P1 corresponde a PADAS

Espectroscopia IV:

Na Tabela 2 apresentam-se as absorções no espectro IV respectivas aos copolímeros P(ADAS-co-A4EGAS), ou seja, as ligações correspondentes aos sinais observados nos respectivos espectros.

Tabela 2 – Absorções no espectro IV de P(ADAS-co-A4EGAS)

ν (cm ⁻¹)	Grupo	Tipo de vibração
Segmentos de PADAS		
3305	N-H	Vibração de distensão da ligação N-H
3061	Amida B	
2918 e 2850	C-H Alifático	Vibração de distensão da ligação C-H
1734	C=O (éster)	Vibração de distensão da ligação C=O
1644	Amida I	Acoplamento da vibração de distensão da ligação C=O e de flexão da de N-H
1538	Amida II	Acoplamento da vibração de distensão da ligação de C-N e de flexão de N-H
1193 e 1158	C-O-C (éster)	Vibração simétrica e assimétrica de C-O
Segmentos de PA4EGAS		
Possui as bandas a 3305, 3061, 2918, 2850, 1734, 1644 e 1538 cm ⁻¹ comuns com PADAS		
1113	CH ₂ -O-CH ₂	Vibração simétrica e assimétrica de C-O Esta banda aumenta de intensidade conforme aumenta a proporção de A4EGA no copolímero

Como se pode observar na Tabela 2, as absorções dos homopolímeros de PADAS e de PA4EGAS são praticamente coincidentes, diferenciando-se apenas a banda de C-O de poliéster, cuja intensidade aumenta com a proporção de A4EGA existente nos copolímeros.

A título ilustrativo apresenta-se seguidamente o espectro IV referente ao copolímero P5A. Todos os demais espectros encontram-se em anexo ^[ANEXO A].

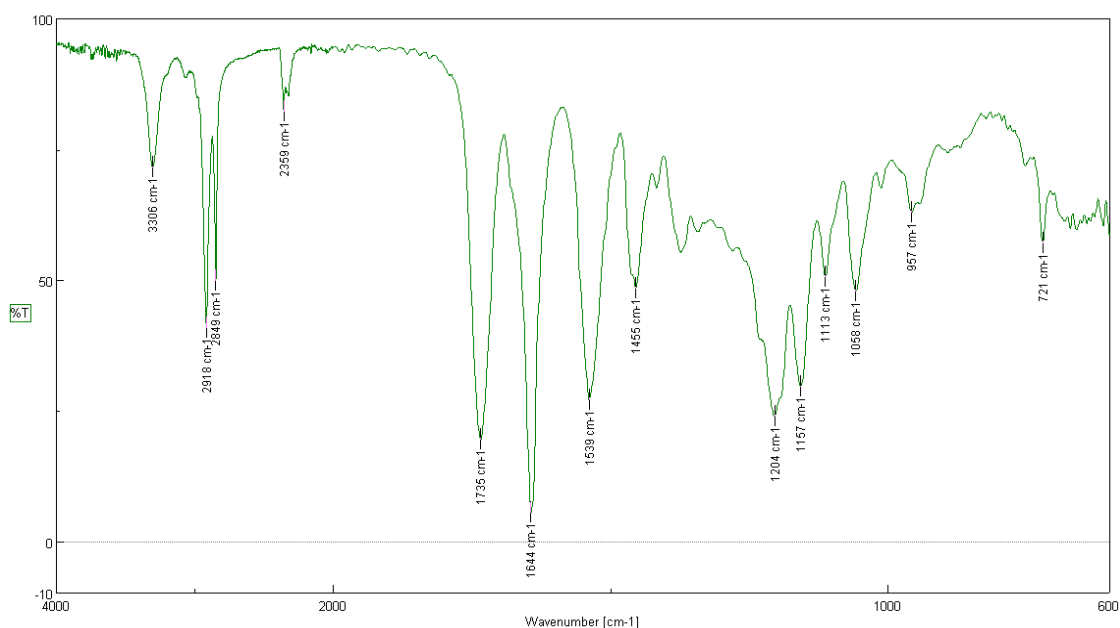
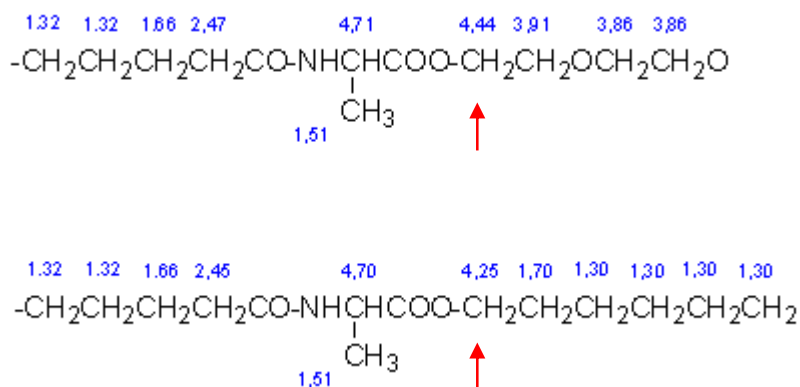


Figura 11 – Espectro IV do copolímero P5A

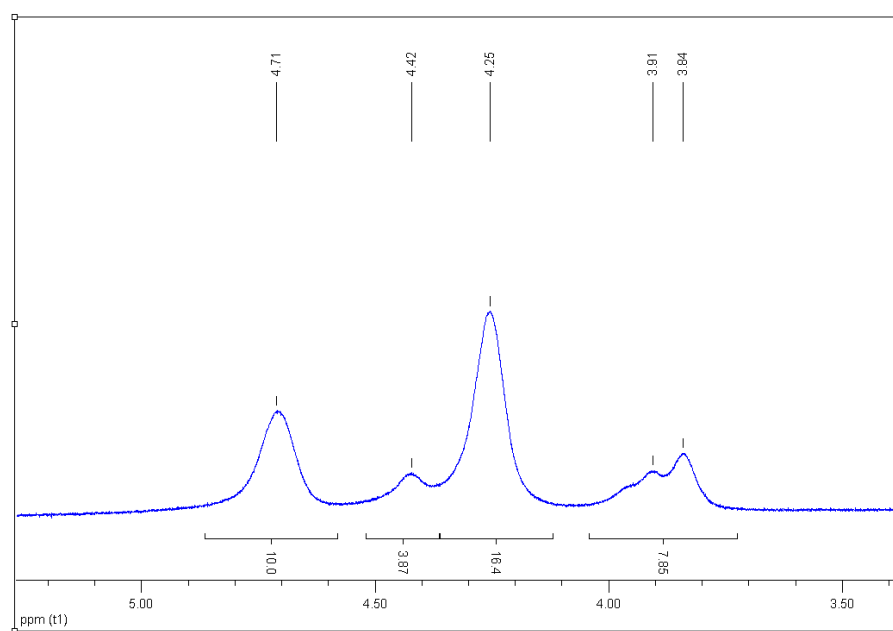
A técnica de espectroscopia de IV não é uma técnica suficientemente sensível para apresentar consideráveis variações de composição, surgindo então a espectroscopia de ^1H -RMN que permite confirmar a estrutura dos copolímeros e determinar as suas composições.

Espectroscopia de ^1H -RMN:

Na figura seguinte apresentam-se os deslocamentos químicos de ^1H -RMN correspondentes às duas metades das unidades repetitivas dos homopolímeros PADAS e PA4GAS.

Figura 12 – Deslocamentos de ^1H -RMN de P(ADAS-co-A4EGAS)

A título ilustrativo apresenta-se na Figura 13, o espectro de ^1H -RMN referente à amostra P7A. Os espectros das restantes amostras podem ser visualizadas no ANEXO B. A zona ampliada é referente aos sinais dos grupos metilenos que se encontram nos extremos das unidades de dodecanodiol e de tetraetilenoglicol (T4EG).

Figura 13 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P7A

Como se pode observar nos espectros de ^1H -RMN, as intensidades relativas aos picos a 4.71, 4.44, 4.25, 3.91 e 3.86 ppm variam com a alteração da composição dos copolímeros. A quantidade de dodecanodiol presente é proporcional à área do pico a 4.25 ppm. A quantidade da unidade A4EGAS virá dada pela área do pico a 4.44 ppm. Alternativamente, pode ser utilizada como medida da quantidade de A4EGAS a soma das áreas a 4.44, 3.91 e 3.86 ppm, dividida por quatro. Desta forma, temos que:

- Quantidade de unidades de ADAS: $S_{4,25}$ ppm (1º metileno do dodecanodiol).
- Quantidade de unidades de A4EGAS: $S_{4,44}$ ppm (1º metileno de A4EGAS) ou $\frac{S_{4,44} + S_{3,91} + S_{3,86}}{4}$ (média dos quatro metilenos de A4EAGS).

Com estes dados pode então ser calculada a composição dos diferentes copolímeros utilizando para isso duas metodologias ligeiramente diferentes:

$$\text{a) \% de PADAS no copolímero: } \frac{S_{4,25} \cdot 100}{S_{4,25} + S_{4,44}} \quad [1]$$

$$\text{b) \% de PADAS no copolímero: } \frac{S_{4,25} \cdot 100}{S_{4,25} + \frac{S_{4,44} + S_{3,91} + S_{3,86}}{4}} \quad [2]$$

Na tabela seguinte apresentam-se os resultados obtidos respectivamente à composição dos copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS) determinada por espectroscopia de ^1H -RMN.

Tabela 3 – Composição dos copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS) determinada por ^1H -RMN

Amostra	% ADA (1)	$S_{4,71}$ [ADA+4EG]	$S_{4,44}$ [4EG]	$S_{4,25}$ [ADA]	$S_{3,91} + S_{3,86}$ [4EG×3]	% ADA (2)	% ADA (3)
P1	100	10,0	---	19,26	---	100	100
P2A	90	10,0	0,52	20,38	0,23	97,5	99,1
P3A	80	10,0	0,74	21,22	4,83	96,6	93,8
P4A	70	10,0	0,94	21,55	3,09	95,8	95,5
P5A	60	10,0	0,89	23,40	1,25	96,3	97,8
P7A	40	10,0	3,87	16,48	7,85	81,0	84,9
P9A	20	10,0	5,95	13,92	14,88	70,1	72,8
P11A	0	10,0	25,31	---	105,89	---	---
(1): Composição da alimentação; (2): Calculado a partir da equação [1]; (3): Calculado a partir da equação [2]							

Observando a Tabela 3, pode-se verificar que os dois monómeros não têm a mesma reactividade, ou seja, ADA é claramente mais reactivo que A4EGA uma vez que os copolímeros obtidos são muito mais ricos em ADA comparativamente com a mistura inicial. Por exemplo, P9A obtido a partir de 20% de ADA tem

na sua composição final 70%. Consequentemente, esta família de copolímeros assemelha-se muito a PADAS.

GPC:

A estimativa do tamanho dos copolímeros foi realizada mediante a cromatografia de permeabilidade em gel (GPC). Esta técnica permitiu a obtenção de valores médios de peso molecular em número (M_n) e em peso (M_w), assim como da polidispersidade (DP). Os respectivos valores dos pesos moleculares relativos aos copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS) encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores médios dos pesos moleculares de P(ADAS-co-A4EGAS) obtidos por GPC

Amostra	M_n	M_w	DP
P1	4535	13060	2,9
P2A	4480	12400	2,8
P3A	5390	16210	3,0
P4A	5620	14385	2,6
P5A	3815	9155	2,4
P7A	4710	13190	2,8
P9A	5795	15480	2,7
P11A	6175	16060	2,6

Os resultados obtidos relativos aos pesos moleculares indicados na Tabela 4 indicam que não foi encontrada nenhuma relação entre a composição dos copolímeros e o seu correspondente tamanho, pois não se verificam diferenças significativas entre esses mesmos valores.

DSC:

Foi efectuada ainda uma análise calorimétrica. Para a obtenção das respectivas curvas foram efectuados quatro varrimentos que já foram anteriormente explicados na secção 3: *Materiais e Métodos*. Os dados obtidos a partir dos ensaios de DSC são apresentados na Tabela 4 e as curvas respectivas encontram-se no ANEXO C.

Tabela 5 – Dados DSC de P(ADAS-co-A4EGAS)

Varrimentos	P1	P2A	P3A	P4A	P5A	P7A	P9A	P11A
1° T _f (°C)	86,100 e 119	85, 99, 103 e 119	87, 97, 103 e 118	84, 96 e 117	85, 98 e 118	86, 98 e 118	88, 95 e 115	69 e 93
ΔH _f (J/g)	64	69	69	69	74	71	55	51
2° T _c (°C)	78	78	82	74	77	76	74	77 e 85
ΔH _c (J/g)	34	35	34	31	33	30	23	17
3° T _f (°C)	92 e 101	92 e 101	93	89	91 e 100	91 e 99	87	82
ΔH _f (J/g)	29	31	34	34	33	33	32	13
4° T _f (°C)	92 e 101	91 e 100	93 e 116	88 e 96	90 e 99	90 e 100	87	86
ΔH _f (J/g)	32	38	37	36	31	36	39	12
T _g (°C)	5.52	6.22	5.82	2.22	5.21	6.15	-6.60	-1.37

Observando a Tabela 5 e as curvas de DSC apresentadas em anexo ^[ANEXO C] pode-se verificar o seguinte:

1º varrimento: observa-se a existência de vários pontos de fusão. Existem 3 fenómenos que explicam este facto. Primeiro, sabendo que os polímeros são substâncias semi-cristalinas, ou seja, no seu interior têm faces cristalinas e outras amorfas em que as zonas ordenadas são as que permitem o aparecimento dos pontos de fusão e as zonas amorfas não o permitem; é muito normal constatar que as poliamidas e poliésteres tenham dois pontos de fusão que se devem sobretudo à diferente espessura das lamelas cristalinas. Nas poliesteramidas em questão, as zonas ordenadas mantêm-se ordenadas devido às pontes de hidrogénio. Segundo, quando existem copolímeros é normal que os blocos de um tipo se juntem, ou seja, neste caso, os blocos de PADAS por um lado e os de PA4EGAS por outro. Por último, a existência de vários pontos de fusão pode dever-se a possíveis resíduos de solventes.

2º varrimento: observa-se que todos os copolímeros cristalizam sob arrefecimento lento no intervalo entre 73 a 82°C. Também se observa que a uns 10°C mais abaixo existe uma 2ª cristalização em forma de ombro. Isto indica que uma parte dos cristais se modifica ligeiramente ou então que há formação de um segundo tipo de cristal.

3º varrimento: é de destacar que continuam a aparecer vários picos de fusão e que as curvas parecem indicar a existência de uma cristalização do fundido e posterior fusão a temperaturas mais elevadas.

4º varrimento: aqui é onde se observam as temperaturas de transição vítreas (T_g) entre 5 a -6°C e logo a seguir os p.f. sem existência de uma cristalização prévia, o que significa que os polímeros cristalizaram em “quenching”, ou seja, têm muita tendência à cristalização, isto devido à existência de pontes de hidrogénio.

4.3.2. Preparação de P(ADAS-co-G3EGGS)

O procedimento para a preparação dos copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS) foi análogo ao descrito para os copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS).

Seguidamente apresenta-se o esquema químico do procedimento seguido.

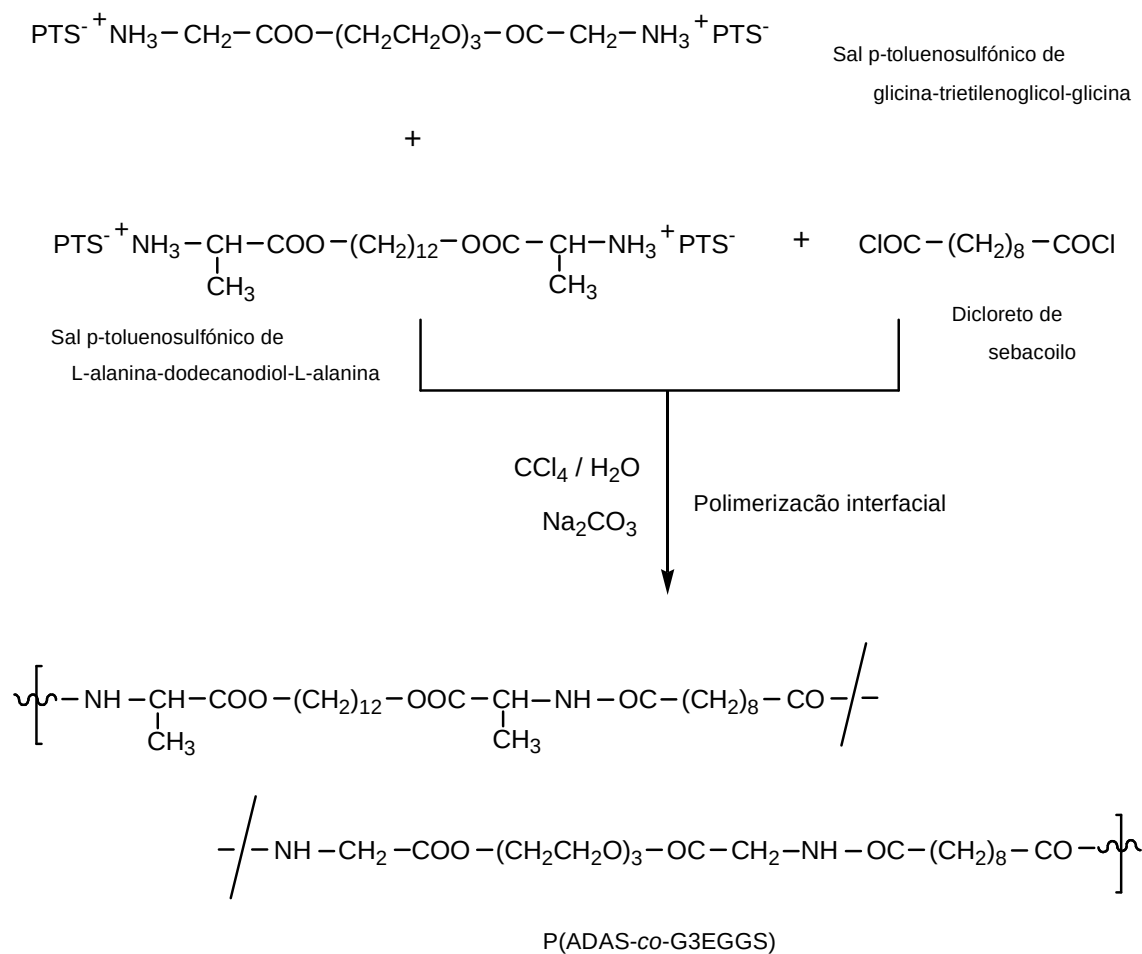


Figura 14 – Síntese de P(ADAS-co-G3EGGS)

Obtiveram-se 5 copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS) com diferentes composições de ADA e G3EGG: P2G, P4G, P6G, P8G e P11G. Os copolímeros com quantidades consideráveis de trietilenoglicol (P8G e P11G) foram lavados cuidadosamente apenas com acetona devido à sua maior solubilidade em água.

Na Tabela 6 apresentam-se os respectivos copolímeros obtidos e suas respectivas composições.

Tabela 6 – Copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS).

Amostra	Moles ADA	Moles G3EGG	ADA:G3EGG	g ADA	g G3EGG
P1	0,0041	---	100:0	2,94	---
P2G	0,0037	0,00041	90:10	2,54	0,25
P4G	0,0029	0,0012	70:30	1,97	0,75
P6G	0,0020	0,0020	50:50	1,41	1,25
P8G	0,0012	0,0029	30:70	0,85	1,74
P11G	---	0,0041	0:100	---	2,49

Nota: P1 corresponde a PADAS

Espectroscopia IV:

Relativamente aos espectros IV obtidos, tal como foi comentado anteriormente para os de P(ADAS-co-A4EGAS), os espectros apenas se diferenciaram na banda referente à ligação de C-O de poliéster, verificando-se também um aumento na intensidade do pico respectivo com o aumento da proporção de G3EGG existente nos copolímeros.

A título exemplificativo apresenta-se seguidamente o espectro IV referente ao copolímero P6G. Os restantes espectros encontram-se no ANEXO A.

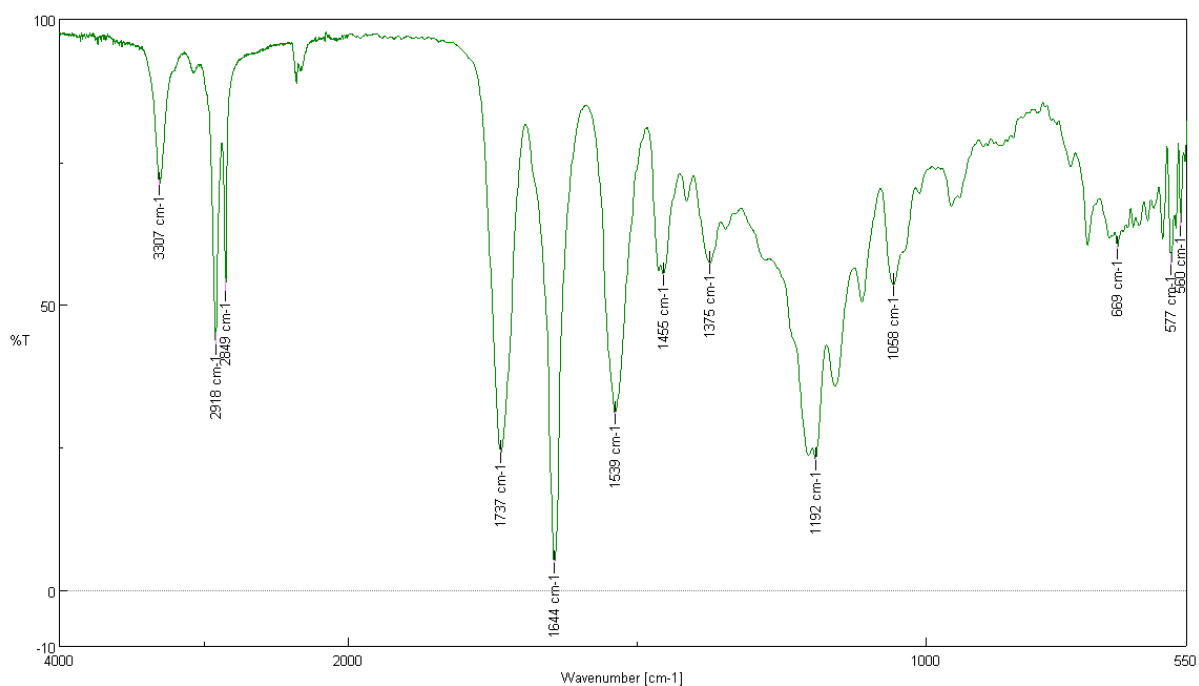


Figura 15 – Espectro IV do copolímero P6G

Espectroscopia ^1H -RMN:

Como já foi dito anteriormente, também foi realizado um estudo da estrutura e composição dos copolímeros por espectroscopia de ^1H -RMN. Seguidamente apresentam-se os deslocamentos químicos correspondentes aos copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS)

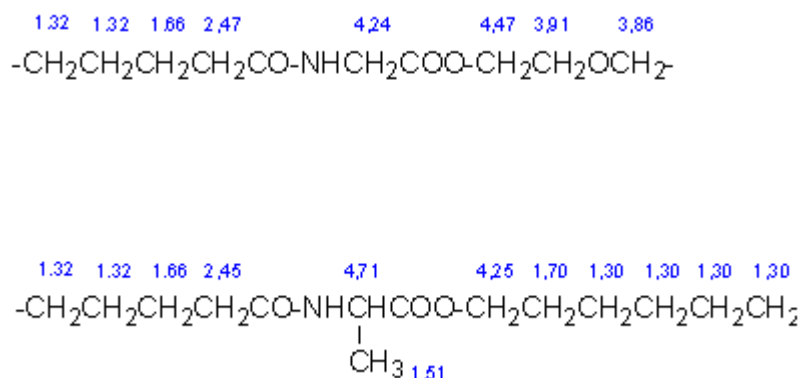


Figura 16 – Deslocamentos de ^1H -RMN de P(ADAS-co-G3EGGS).

Como exemplo, apresenta-se na Figura 17 o espectro de ^1H -RMN referente à amostra P6G e os restantes espectros podem ser consultados no ANEXO B. A zona ampliada é referente aos sinais dos grupos metilenos que se encontram nos extremos das unidades de dodecanodiol e de trietilenoglicol (T3EG).

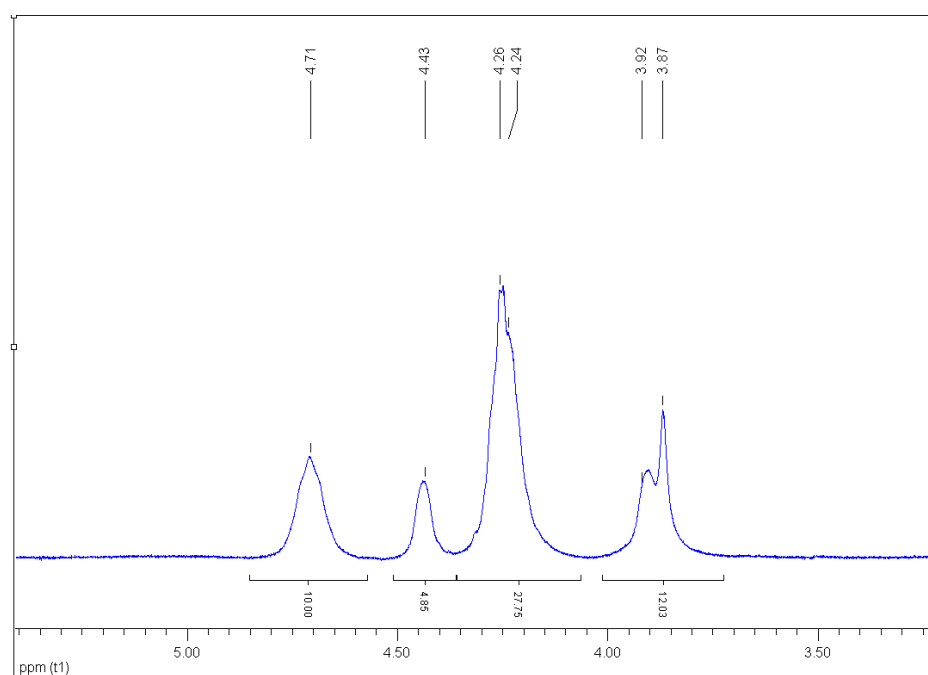


Figura 17 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P6G

Pela observação dos espectros de ^1H -RMN respectivos a esta série de copolímeros pode-se constatar que, tal como no caso anterior, as intensidades dos picos também variam com a composição dos copolímeros. A característica principal é que entre 4.27 e 4.24 ppm aparecem duas bandas juntas, em que uma é referente ao dodecanodiol e outra à unidade de glicina.

Os cálculos respectivos à composição podem ser realizados utilizando duas expressões distintas:

$$\text{a) } F_1 = \frac{S_{4.71} \cdot 2 \cdot 100}{(2 \cdot S_{4.71}) + \left[\frac{S_{4.47} + S_{3.91} + S_{3.86}}{3} \right]} \quad [3]$$

$$\text{b) } F_2 = \frac{\left(S_{4.25} - \left[\frac{S_{4.47} + S_{3.91} + S_{3.86}}{3} \right] \right) \cdot 100}{S_{4.25} - \left[\frac{S_{4.47} + S_{3.91} + S_{3.86}}{3} \right] + \left[\frac{S_{4.47} + S_{3.91} + S_{3.82}}{3} \right]} = \frac{\left(S_{4.25} - \left[\frac{S_{4.47} + S_{3.91} + S_{3.86}}{3} \right] \right) \cdot 100}{S_{4.25}} \quad [4]$$

Na tabela seguinte apresentam-se os resultados obtidos respectivamente à composição dos copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS) determinada por espectroscopia de ^1H -RMN.

Tabela 7 – Composição dos copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS) determinada por ^1H -RMN.

Amostra	% ADA (1)	$S_{4.71}$	$S_{4.47}$	$S_{4.25}$	$S_{3.91}$ + $S_{3.86}$	$(S_{4.47}+S_{3.91}+S_{3.86})/3$	% ADA (2)	% ADA (3)
P2G	90	10	0,28	22,47	0,40	0,23	98,6	99,0
P4G	70	10	1,38	22,27	2,90	1,43	93,5	93,6
P6G	50	10	4,85	27,75	12,03	5,63	80,5	79,9
P8G	30	10	13,74	31,44	25,21	12,98	59,3	58,7
P11G	0	10	---	---	---	---	---	---
(1): Composição da alimentação; (2): Calculado a partir da equação [3]; (3): Calculado a partir da equação [4].								

Observando os dados da Tabela 7 verifica-se que ADA é mais reagente que G3EGG. Por exemplo, P8G com 30% de ADA na sua mistura inicial contém 58,7% de ADA na composição final. No entanto, nesta

família de copolímeros, o monómero derivado de G3EGG é mais reagente que o correspondente monómero derivado de A4EGA.

GPC:

Os pesos moleculares obtidos mediante a técnica de GPC apresentam-se na seguinte tabela:

Tabela 8 – Valores médios dos pesos moleculares de P(ADAS-co-G3EGGS) obtidos por GPC

Amostra	M_n	M_w	DP
P2G	5755	16695	2,9
P4G	5290	14600	2,8
P6G	4410	11550	2,6
P8G	5415	12455	2,3
P11G	5460	11460	2,1

Observando os valores médios dos pesos moleculares apresentados na Tabela 8, constata-se que não existe nenhuma relação entre a composição e respectivo tamanho dos copolímeros, tal como o observado para a família de copolímeros anteriormente apresentada.

DSC:

Seguidamente apresenta-se um quadro resumo com os dados obtidos a partir dos ensaios de DSC. Foram também efectuados quatro varrimentos para a obtenção das respectivas curvas que podem ser consultadas no ANEXO C.

Tabela 9 – Dados DSC de P(ADAS-co-G3EGGS)

Varrimentos		P2G	P4G	P6G	P8G	P11G
1°	$T_f(^{\circ}\text{C})$	89, 99, 106 e 121	88, 99 e 119	85, 100 e 117	86, 102 e 116	116 e 131
	$\Delta H_f (\text{J/g})$	56	59	70	80	114
2°	$T_c(^{\circ}\text{C})$	68 e 81	66 e 77	66 e 76	67 e 77	93
	$\Delta H_c (\text{J/g})$	38	33	31	27	55
3°	$T_f(^{\circ}\text{C})$	94	92	90	79 e 90	121 e 129
4°	$\Delta H_f (\text{J/g})$	35	36	40	41	61
	$T_f(^{\circ}\text{C})$	94	91	89	82 e 89	71
	$\Delta H_f (\text{J/g})$	48	42	38	36	31
	$T_g(^{\circ}\text{C})$	9.27	6.76	4.99	2.43	-3.21

Pela observação dos dados da Tabela 9 e das curvas de DSC apresentadas em anexo ^[ANEXO C] pode-se verificar o seguinte:

1ºvarrimento: é de destacar que o ponto de fusão do homopolímero PG3EGGS (amostra P11G) é maior que o de PADAS e que se observam de forma clara os p.f. de ambos.

2ºvarrimento: pode-se observar que todos os copolímeros cristalizam sob arrefecimento lento.

3ºvarrimento: é de destacar que já começam a aparecer as T_g , ou seja, há uma zona amorfa que não cristaliza. Também aparecem vários p.f. e também cristalizações depois da 1ª fusão, ou seja, a molécula tem capacidade para formar dois cristais.

4ºvarrimento: observam-se novamente as T_g e muito claramente, as cristalizações após as fusões.

4.3.2. Preparação de P(ADAS-co-F3EGFS)

O procedimento para a preparação dos copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS), uma vez mais, foi análogo ao descrito para as outras duas famílias de copoliesteramidas anteriormente apresentadas. Seguidamente apresenta-se o esquema químico do procedimento seguido:

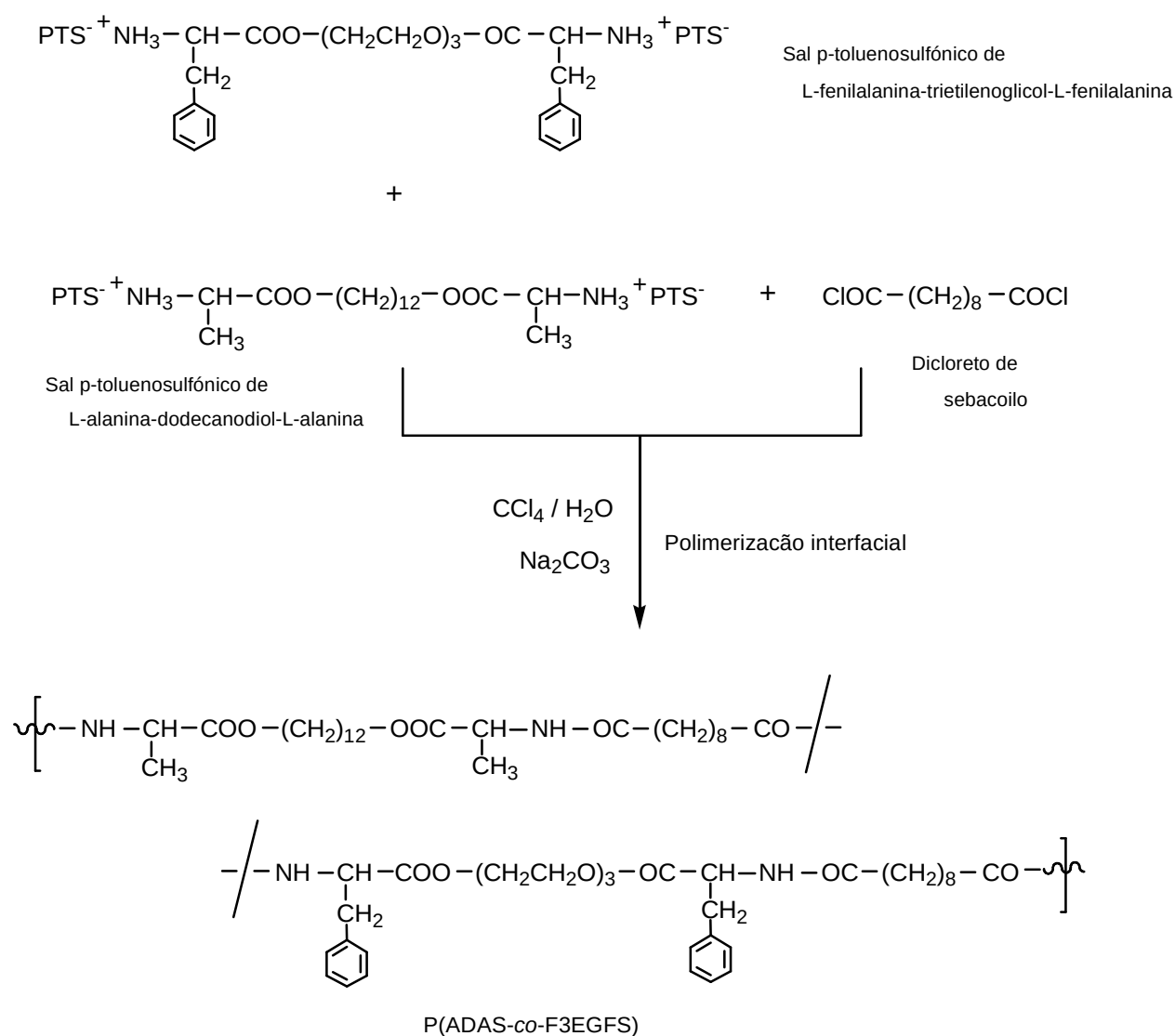


Figura 18 – Síntese de P(ADAS-co-F3EGFS).

Foram sintetizados 5 copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS) com diferentes composições de ADA e F3EGF: P2F, P4F, P6F, P8F e P10F. Porém, os copolímeros com quantidades consideráveis de trietilenoglicol (P8F e P10F) foram lavados unicamente com éter etílico devido à sua maior solubilidade quer em água, quer em acetona.

Na Tabela 10 apresentam-se os respectivos copolímeros obtidos e estudados, bem como as suas respectivas composições.

Tabela 10 – Copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS).

Amostra	Moles ADA	Moles F3EGF	ADA:A4EGA	g ADA	g F3EGF
P1	0,0041	---	100:0	2,94	---
P2F	0,0037	0,00041	90:10	2,54	0,32
P4F	0,0029	0,0012	70:30	1,97	0,97
P6F	0,0020	0,0020	50:50	1,41	1,62
P8F	0,0012	0,0029	30:70	0,84	2,26
P10F	0,00041	0,0037	10:90	0,28	2,91
Nota: P1 corresponde a PADAS					

Espectroscopia IV:

Na Tabela 11 encontram-se as absorções no espectro IV referentes aos copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS).

Tabela 11 – Absorções no espectro IV de P(ADAS-co-F3EGFS).

ν (cm ⁻¹)	Grupo	Tipo de vibração
Segmentos de PADAS		
3305	N-H	Vibração de distensão da ligação N-H
3061	Amida B	
2918 e 2850	C-H Alifático	Vibração de distensão da ligação C-H
1734	C=O (éster)	Vibração de distensão da ligação C=O
1644	Amida I	Acoplamento da vibração de distensão da ligação C=O e de flexão de N-H
1538	Amida II	Acoplamento da vibração de distensão da ligação C-N e de flexão de N-H
1193 e 1158	C-O-C (éster)	Vibração simétrica e assimétrica de C-O
Segmentos de PF3EGFS		
Possui as bandas a 3305, 3061, 2918, 2850, 1734, 1644 e 1538 cm ⁻¹ comuns com PADAS		
3029	C-H Aromático	Vibração de distensão da ligação C-H
1604	C-C Aromático	Vibração de distensão da ligação de C-C aromática
1115	CH ₂ -O-CH ₂	Vibração simétrica e assimétrica de C-O
700 e 746		Aromático monosubstituído

Comparativamente com os resultados de IV para as outras duas famílias de copolímeros apresentadas anteriormente, pode-se observar que para este caso existem mais diferenças significativas entre os dois homopolímeros. É de destacar as duas novas bandas de carácter aromático devido à presença de fenilalanina (Tabela 11).

Como exemplo, apresenta-se seguidamente o espectro IV referente ao copolímero P10F(10% de ADA e 90% de F3EGF). Os restantes espectros encontram-se no ANEXO A.

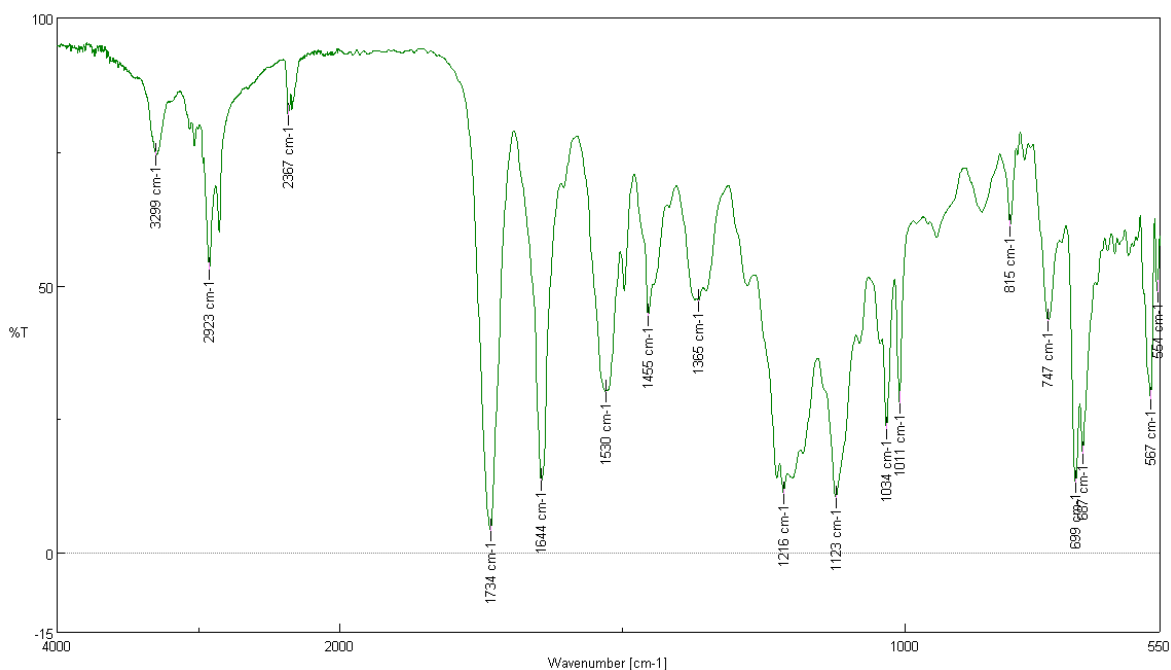


Figura 19 – Espectro IV do copolímero P10F

Espectroscopia ^1H -RMN:

Seguidamente apresentam-se os deslocamentos químicos correspondentes aos copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS).

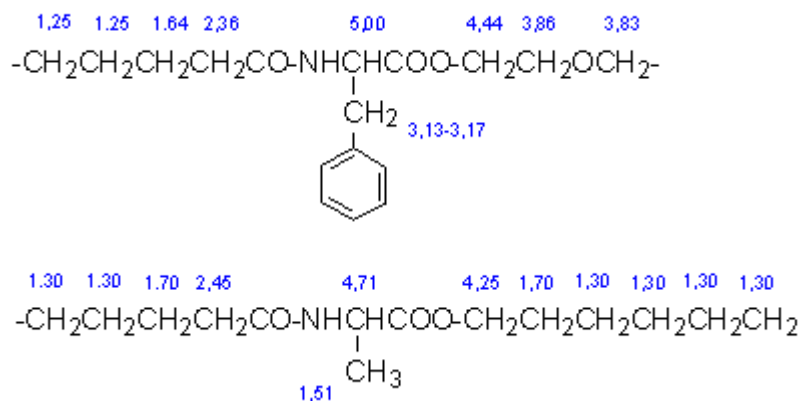


Figura 20 – Deslocamentos de ^1H -RMN de P(ADAS-co-F3EGFS)

A título exemplificativo apresenta-se na Figura 21 o espectro de ^1H -RMN referente à amostra P4F. Os restantes espectros podem ser consultados no ANEXO B. A zona ampliada é relativa aos sinais dos grupos metilenos que se encontram nos extremos das unidades de dodecanodiol e de trietilenoglicol (T3EG).

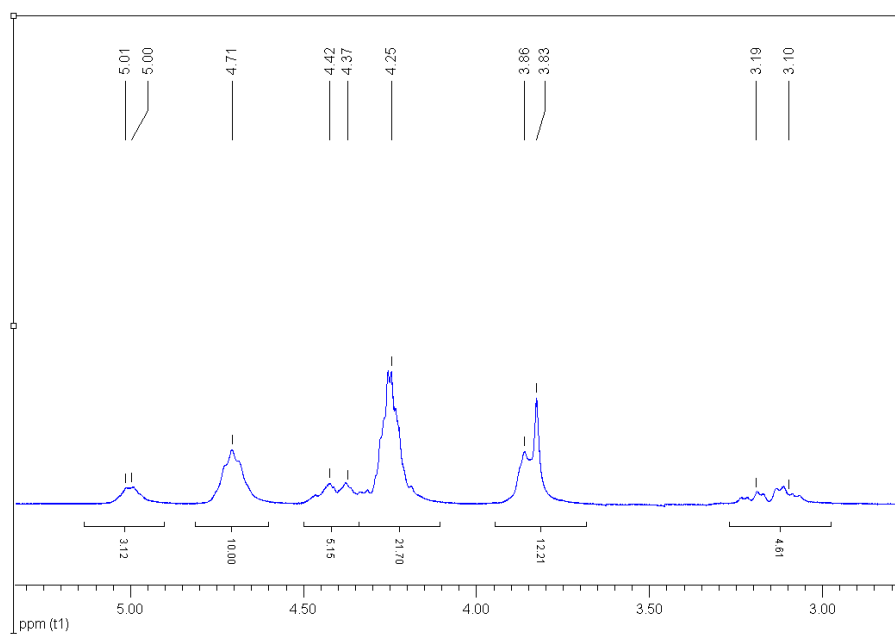


Figura 21 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P4F

Pela observação dos espectros de ^1H -RMN respectivos a esta série de copolímeros, pode-se constatar que o anel aromático característico da fenilalanina, que tem a característica de atrair a densidade electrónica, desloca o sinal de $-\text{CH}-$ do aminoácido mais para a esquerda do que o correspondente hidrogénio da alanina (4,71 ppm). Os cálculos respectivos à composição foram igualmente realizados mediante duas distintas expressões para a obtenção dos valores numéricos das composições dos copolímeros em questão:

$$a) F_1 = \frac{S_{4,71} \cdot 100}{S_{5,00} + S_{4,71}} \quad [5]$$

$$b) F_2 = \frac{S_{4,25} \cdot 100}{S_{4,25} + \left[\frac{S_{4,44} + S_{3,86} + S_{3,83}}{3} \right]} \quad [6]$$

Na seguinte tabela apresentam-se os resultados obtidos respectivamente à composição dos copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS) determinada por espectroscopia de ^1H -RMN.

Tabela 12 – Composição dos copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS) determinada por ^1H -RMN

Amostras	% ADA (1)	$S_{5,00}$	$S_{4,71}$	$S_{4,44}$	$S_{4,25}$	$S_{3,86}$ + $S_{3,83}$	$(S_{4,44}$ + $S_{3,86}$ + $S_{3,83})/3$	% ADA (2)	% ADA (3)
P1	100	0	---	---	---	---	---	100	100
P2F	90	0,81	10,0	0,76	20,58	3,30	1,353	92,5	93,8
P4F	70	3,12	10,0	5,15	21,70	12,21	5,786	76,2	78,9
P6F	50	6,84	10,0	16,13	22,52	30,99	15,706	59,4	58,9
P8F	30	23,68	10,0	43,85	23,19	99,04	47,630	29,7	32,7
P10F	10	106,10	10,0	230,14	26,38	499,06	243,066	8,6	9,8
(1): Composição da alimentação; (2): Calculado a partir da equação [5]; (3): Calculado a partir da equação [6]									

Através dos resultados apresentados na Tabela 12, pode-se verificar que neste caso há muito pouca diferença de reactividade entre ADA e F3EGF. Os copolímeros são ligeiramente mais ricos em ADA. Consequentemente, P8F e P10F são muito mais parecidos ao homopolímero PF3EGFS que a PADAS.

É de destacar que dos três monómeros derivados de EG, F3EGF é o mais reagente.

GPC:

Os pesos moleculares obtidos mediante a técnica de GPC apresentam-se seguidamente na Tabela 13.

Tabela 13 – Valores médios dos pesos moleculares de P(ADAS-co-F3EGFS) obtidos por GPC

Amostra	M _n	M _w	DP
P2F	10970	28855	2,6
P4F	10800	25595	2,4
P6F	10685	31945	3,0
P8F	5835	15110	2,6
P10F	10690	28325	2,6

Os resultados apresentados na tabela anterior (Tabela 13) mostram que, tal como para as outras duas famílias de copoliesteramidas anteriormente apresentadas, não se encontram diferenças significativas nos pesos moleculares, ou seja, não existe nenhuma relação entre a composição e o tamanho dos copolímeros. Porém, comparativamente com as outras duas famílias, esta é a que mostra moléculas de maior tamanho.

DSC:

Relativamente à análise calorimétrica, apresentam-se na Tabela 14 os dados obtidos nos quatro varrimentos efectuados para os copolímeros de P(ADAS-co-F3EGGS). As curvas respectivas podem ser consultadas no anexo C.

Tabela 14 – Dados DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)

Varrimentos		P2F	P4F	P6F	P8F	P10F
1°	T _f (°C)	87 e 98	80 e 93	87	72	56
	ΔH _f (J/g)	54	56	45	21	7
2°	T _c (°C)	74 e 59	59	-	-	-
	ΔH _c (J/g)	31	25	-	-	-
3°	T _f (°C)	92	84.5	76	-	-
	ΔH _f (J/g)	36	30	9	-	-
	T _g (°C)	12.7	10.1	13.7	5.3	16.5
4°	T _c (°C)	-	39	60	-	-
	T _f (°C)	91 e 117	82	76	-	-
	ΔH _f (J/g)	37	27	6	-	-
	T _g (°C)	13.5	9.6	14.1	-	-

Pela observação dos dados da Tabela 14 e das curvas de DSC apresentadas no ANEXO C, pode-se verificar o seguinte:

1º varrimento: observa-se que os copolímeros que contêm menores quantidades de PADAS deixam de ter três pontos de fusão e apresentam apenas um que diminui com o aumento de 3EG na sua composição. Esta evidência está presente nas curvas referentes a P6F, P8F e P10F.

2º varrimento: as curvas de arrefecimento mostram que P6F, P8F e P10F já não cristalizam. Os dados obtidos indicam que quando os copolímeros se assemelham a um dos dois homopolímeros, cristalizam. Por outro lado, as composições intermédias têm dificuldade em cristalizar e são vistos como amorfos.

3º varrimento: P2F e P4F que anteriormente cristalizaram no arrefecimento lento, mostram agora um único ponto de fusão apesar de terem apresentado três no 1º varrimento. P8F e P10F não fundem. O mais interessante é a amostra P6F que era amorfa mas cristalizou ao ser aquecida, mostrando posteriormente um p.f..

4º varrimento: P2F mostra um p.f., ou seja, cristalizou no arrefecimento rápido. P4F e P6F não cristalizam no arrefecimento mas sim no aquecimento e logo mostram os p.f.. P8F e P10F já não aparecem pois, como é lógico, se não cristalizaram no arrefecimento lento, também não cristalizam no rápido.

4.4. ESTUDOS DE SOLUBILIDADE

Nesta secção é estudada a solubilidade dos copolímeros em vários solventes. Os resultados obtidos apresentam-se na Tabela 15.

Tabela 15 – Solubilidade dos copolímeros estudados.

Amostra	Água	Acetona	Éter etílico	Acetato de Etilo	Diclorometano	Clorofórmio	Ácido Fórmico	Ácido dicloro acético	Hexafluoro Isopropanol (HFIP)
P(ADAS-co-A4EGAS)									
P1A	–	–	–	–	+	++	++	++	++
P2A	–	–	–	–	+	++	++	++	++
P3A	–	–	–	–	+	++	++	++	++
P4A	–	–	–	–	+	++	++	++	++
P5A	–	–	–	–	+	++	++	++	++
P7A	–	–	–	–	++	++	++	++	++
P9A	–	–	–	–	++	++	++	++	++
P11A	+	+	–	–	++	++	++	++	++
P(ADAS-co-G3EGGS)									
P2G	–	–	–	–	±	++	++	++	++
P4G	–	–	–	–	±	++	++	++	++
P6G	–	–	–	–	±	++	++	++	++
P8G	–	–	–	–	±	++	++	++	++
P11G	–	–	–	–	–	–	++	++	++
P(ADAS-co-F3EGFS)									
P2F	–	–	–	–	++	++	++	++	++
P4F	–	±	–	–	++	++	++	++	++
P6F	–	+	–	–	++	++	++	++	++
P8F	±	+	–	±	++	++	++	++	++
P10F	±	+	–	±	++	++	++	++	++
(–) Insolúvel; (±) Ligeiramente inchado a temperatura ambiente ou a quente; (+) Solúvel a quente; (++) Solúvel a temperatura ambiente.									

Relativamente aos resultados apresentados na Tabela 15 podem-se verificar algumas alterações à medida que a composição dos copolímeros se torna diferente de PADAS. As alterações mais significativas apresentam-se para G3EGGS e F3EGFS. No primeiro caso, a presença de glicina, que é um aminoácido sem ramificações, tem como consequência uma diminuição da solubilidade em solventes clorados. No segundo caso, as alterações são consequência do substituinte da fenilalanina, o anel benzénico, que leva ao aumento da solubilidade em solventes clorados e especialmente em acetona. Este facto é importante visto que na preparação dos copolímeros na fase da purificação o habitual é a utilização de acetona para lavar o polímero sólido obtido.

5. CONCLUSÕES

Conclusões gerais:

1. As propriedades características de PADAS podem ser modificadas introduzindo por copolimerização unidades que contenham oligómeros de etilenoglicol e aminoácidos.
2. É de facto possível utilizar a polimerização interfacial para preparar três famílias de copolímeros que contenham unidades de A4EGAS, G3EGGS ou F3EGFS.
3. A espectroscopia de ^1H -RMN é uma ferramenta útil para determinar a composição das três famílias de copoliesteramidas estudadas.

Conclusões particulares:

➤ Copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS):

- a) Na preparação desta família observou-se que o monómero ADA é muito mais reagente que A4EGA; b) Estes copolímeros foram obtidos com uma baixa proporção de A4EGAS, ou seja, as suas propriedades apresentam-se muito similares com as de PADAS.

➤ Copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS):

- a) Na preparação desta família observou-se que o monómero ADA é muito mais reagente que G3EGA; b) Devido ao enriquecimento do aminoácido glicina nos membros desta família, observa-se uma diminuição de solubilidade em solventes não ácidos (não rompedores de pontes de Hidrogénio).

➤ Copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS):

- a) Na preparação desta família observou-se que o monómero ADA é de uma reactividade similar à de F3EGF; b) É possível preparar copolímeros com composições ricas em F3EGFS; c) A presença de fenilalanina nestes copolímeros tem como consequência um aumento de solubilidade em solventes não clorados.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] Devi, K.S. and Vasudevan, P.; *J. Macromol. Sci., Rev. Macromol. Chem. Phys.* **1985**, C25, 315.
- [2] Hoffmann, A.S.; *J. Appl. Polym. Sci., Appl. Polym. Symp.* **1977**, 31, 313.
- [3] Vert, M.; Chabot, F. and Christel, P.; *Makromol. Chem. Suppl.* **5**, **1981**, 30.
- [4] Leenslag, J.W.; Pennings, A.J.; Bos, R.R.M.; Rozema, F.R. and Boering, G.; *Biomaterials* **1987**, 8, 70.
- [5] Aiba, S.; Minoura, N.; Fujiwara, Y.; Yamada, S.; Nakagawa, T.; *Biomaterials* **1985**, 6, 290.
- [6] Nyilas, E.; Chiu, T.H.; Sidman, R.L.; Henry, E.W.; Brusshart, T.M.; Dikkes, P. and Madison, R.; *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs* **1983**, 29, 307.
- [7] Gogolewski, S.; Pennings, A.J.; Lommen, E. and Wildevuur, C.R.H.; *Makromol. Chem., Rapid Commun.* **1983**, 4, 213.
- [8] Wise, D.L.; Trantolo, D.J.; Marino, R.T. and Kitchell, J.P.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1987**, 1, 19.
- [9] Ustariz-Peyret, C.; Coudane, J.; Vert, M.; Kaltsatos, V. and Boisramé; *J. Microencapsulation* **1999**, 16, 181.
- [10] Mallard, C.; Coudane, J.; Rault, I. and Vert, M.; *J. Microencapsulation* **2000**, 17, 13.
- [11] Holland, S.J.; Tighe, B.J. and Gould, P.I.; *J. Controlled Rel.* **1986**, 4, 155.
- [12] Leong, K.W.; Brott, B.C. and Langer, R.; *J. Biomed. Mat. Res.* **1985**, 19, 941.
- [13] Heller, J.; *J. Controlled Rel.* **1985**, 2, 167.
- [14] Laurencin, C.T.; Koh, H.J.; Neenan, T.X.; Allcock, H.R. and Langer, R.; *J. Biomed. Mat. Res.* **1987**, 21, 1231.
- [15] Sidman, K.R.; Steber, W.D.; Schwoppe, A.D. and Schnaper, G.R.; *Biopolymers* **1983**, 22, 547.
- [16] Tormala P.; *Clin. Mater.* **1992**, 10, 29.
- [17] Imanishi, Y.; in "Ring-opening polymerisation", ed. By Ivin, K.J. and Saegusa, T.; Elsevier; England **1984**, 523.
- [18] Kricheldorf, H. R.; Hauser, K.; *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, 202, 1219.
- [19] Barrows, T. H.; Grussing, D. M.; Hegdahl, D. W. *Poly(ester amides): A new class of synthetic absorbable polymers.* *Trans. Soc. Biomater.* **1983**, 109.
- [20] Veld, P. J. A. I.; Dijkstra, P. J.; Feijen, J. *Synthesis of biodegradable polyesteramides with pendant functional groups.* *Macromol. Chem. Phys.* **1992**, 193, 2713-2730.
- [21] Grigat, E.; Koch, R.; Timmermann, R. BAK 1095 and BAK 2195: *Completely biodegradable synthetic thermoplastics.* *Polym. Degrad. Stab.* **1998**, 59, 223-226.
- [22] Paredes, N.; Rodriguez-Galan, A.; Puiggali, J. *Synthesis and characterization of a family of biodegradable poly(ester amide)s derived from glycine.* *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem* **1998**, 36, 1271-1282.

- [23] Puiggali, J.; Aceituno, J. E.; Paredes, N.; Rodriguez-Galan, A.; Pelfort, M.; Subirana, J. A. *Preliminary structural data on new biodegradable poly(esteramide)s derived from L- and L,D-alanine*. Abstr. Pap.-Am. Chem. Soc. **1998**, 216, 858.
- [24] Katsarava, R.; Beridze, V.; Arabuli, N.; Kharadze, D.; Chu, C. C.; Won, C. Y. *Amino acid-based bioanalogous polymers. Synthesis and study of regular poly(ester amide)s based on bis(α -amino acid) α,ω -alkylene diesters, and aliphatic dicarboxylic acids*. J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. **1999**, 37, 391-407.
- [25] Fan, Y. J.; Kobayashi, M.; Kise, H. *Synthesis and biodegradability of new polyesteramides containing peptide linkages*. Polym. J. **2000**, 32, 817-822.
- [26] Qian, Z. Y.; He, Y.; Zou, Y. B.; Li, S.; Liu, X. B. *Structure and property study of degradable polyesteramide fibres: Processing and alkaline degradation behavior*. Polym. Degrad. Stab. **2004**, 83, 127-132.
- [27] Guo, K.; Chu, C. C.; Chkhaidze, E.; Katsarava, R. *Synthesis and characterization of novel biodegradable unsaturated poly(ester amide)s*. J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. **2005**, 43, 1463-1477.
- [28] Lips, P.; Dijkstra, P. J. *Biodegradable Polyesteramides*. In *Biodegradable Polymers for Industrial Applications*; Smith, R., Ed.; Woodhead Publishing Ltd.: Cambridge, **2005**; pp 107-139.
- [29] Gaymans, R. J. and Haan, J.L.; *Polymer* **1993**, 34, 4360.
- [30] Lee, S. Y.; Choi, J.; *Polym. Degrad. Stab.* **1998**, 59, 387.
- [31] Raghavan, D.; *Polym. Plast. Technol. Eng.* **1995**, 42, 41.
- [32] Rosa, D. S.; Lotto, N. T.; Guedes, C. G. F.; *Polym. Test.* **2004**, 23, 3.
- [33] Korner, I.; Redemann, K.; Stegmann, R.; *Waste Manag.* **2005**, 25, 409.
- [34] Calmon-Decriaud, A.; Bellon-Maurel, V.; Ivestre, F.S.; *Adv. Polym. Sci.* **1998**, 135, 207.
- [35] Armelin, Elaine ; Puiggali, Jordi ; *Síntesis y caracterización de nuevas poliesteramidas: estudio de sus propiedades*. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona **2002**.
- [36] Hayashi, T., *Prog. Polym. Sci.* **1994**, 19, 663.
- [37] Kulkarni, R.K. ; Pani, K.C. ; Neuman, C. ; Leonard, F. ; *Arch. Surg.* **1996**, 93, 839.
- [38] Aydin, O. ; Schultz, R.C. ; *Makromolec. Syn.* **1982**, 8, 99.
- [39] Berry, A.R. ; Wilson, M.C. ; Thomson, J.W.W. ; Mc Nair, T.J. ; *J.R. Coll. Surg. Edinb.* **1998**, 26, 170.
- [40] Lerwick, E. ; *Surg. Gynecol. Obstet.* **1993**, 156, 51.
- [41] Middleton, J.; Tipton, A.J.; *Journal of Biomedical Materials Research* **1977**, 11, 711.
- [42] Kohn, J. and Langer, R.; in "Biomaterial Science", ed. By Rather *et al.* New York, Academic Press **1966**, 64.
- [43] Dekker, A.; Panfil, C.; Valdor, M.; Pennartz, G.; Richter, H.; Mittermayer, C. and Kirkpatrick, C.J.; *Cell Mater.* **1994**, 4, 101.
- [45] Sidman, K.R.; U.S. Patent 4 450 150, May 22, **1984**.
- [46] Miyamae, T.; Mori, K-shi; Mori, K-ken; Mor, S.; Takeda, Y.; U.S. Patent 3 371069, Feb 27, **1968**.

- [47] Tokiwa, Y.; Suzuki, T.; Ando, T.; *J. Appl. Polym. Sci.* **1979**, 24, 1701
- [48] Hollinger, J. *Biomedical Applications of Synthetic Biodegradable Polymers*; CRC Press: Boca Raton, FL, **1995**.
- [49] Kimura, Y., *Biodegradable Polymers. In Biomedical Applications of Polymeric Material*; Tsuruta, T., Hayashi, T., Kataoka, K., Ishihara, K., Kimura, Y., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, **1993**; pp 164-190.
- [50] Yoshida, M.; Asano, M.; Kumakura, M.; Katakai, R.; Mashimo, T., *Eur. Polym. J.* **1991**, 27, 325.
- [51] Gonsalves, K.E.; Chen, X.; Cameron, J.A. *Macromolecules* **1992**, 25, 3309.
- [52] Arvanitoyannis, I.; Kawasaki, N.; Yamamoto, N.; *Polymer* **1995**, 36, 4.
- [53] Bailey, W.J.; Okamoto, Y.; Kuo, W.; *Proceedings of the 3rd International Symposium, Applied Science Publishers* **1976**, pp. 765-773.
- [54] a) Saotome, Y.; Miyazawa, T.; Endo, T. *Chem. Lett.* 1991, 21. b) Saotome, Y.; Tashiro, M.; Miyazawa, T.; Endo, T. *Chem. Lett.* **1991**, 153.
- [55] Ho, L.H.; Huang, S.; *J. Polym. Prepr. Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem. Ed.* **1998**, 36, 1271.
- [56] a) Paredes, N.; Rodríguez-Galán, A.; Puiggalí, J. *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1998**, 36, 1271. b) Paredes, N.; Rodríguez-Galán, A.; Puiggalí, J.; Peraine, C. *J. Appl. Polym. Sci.* **1998**, 69, 1537. c) Puiggalí, J.; Aceituno, J.E.; Paredes, N.; Rodríguez-Galán, A.; Pelfort, M.; Subirana, J.A.; *Polym. Prepr. Am. Chem. Soc. Div. Polym. Mat.* **1998**, 79, 60. d) Rodríguez-Galán, A.; Pelfort, M.; Aceituno, J.E.; Puiggalí, J. *J. Appl. Polym. Sci.* **1999**, 74, 2312. e) Paredes, N. *Poliámidas y poliesteramidas derivadas de aminoácidos: síntesis, caracterización y degradación*, Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona, **1999**.
- [57] Grigat, E.; Koch, R.; Timmermann, R. *Polymer Degradation & Stability* **1998**, 59, 223.
- [58] [Http://www.bayerus.com/new/1997/9.25.97.html](http://www.bayerus.com/new/1997/9.25.97.html)
- [59] Fan, Y.; Kobayashi, M. and Kise, H.; *Polymer J.* **2000**, 32, 817.
- [60] Fan, Y.; Kobayashi, M. and Kise, H.; *J. Polym. Sci. : Part A: Polym. Chem.* **2001**, 39, 1318.
- [61] Qian, Z.Y.; Li, S.; Liu, X.B.; *Polym. Degrad. Stab.* **2003**, 81, 279.
- [62] Qian, Z.Y.; Li, S.; Liu, X.B.; *Biomaterials* **2004**, 25, 1975.
- [63] Qian, Z.Y.; Li, S.; Liu, X.B.; *Polym. Degrad. Stab.* **2004**, 84, 41.
- [64] Zou, Y.B.; Wang, L.; Liu, Xiaobo; *Polym. Degrad. Stab.* **2004**, 83, 87.
- [65] Zhang, H.; He, Y.; Li, S.; Liu, Xiaobo; *Polym. Degrad. Stab.* **2005**, 88, 309.
- [66] Lips, P.A.M. ; Broos, R. ; Heeringen, M.J.M. Van ; Dijkstra, P.J. ; Feijen, J. ; *Polymer* **2005**, 46, 7823.
- [67] Montserrat, V. M.; Puiggalí J., *Síntesis y caracterización de nuevas poliesteramidas biodegradables*, Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Catalunya, Barcelona **2007**.
- [68] Moore, J.C. J.; *Polym. Sci.* **1964**, A2, 835.

[69] a) Alla, A. Síntesis y degradación de poliesteramidas derivadas del ácido tartárico, Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona(1998). b) Alla, A., Rodríguez-Galán, A.; Martínez de Illarduya, A.; Muñoz-Guerra, S. Polymer 1997, 38, 4935.

[70] Villuendas, M.I. Poliesteramidas derivadas del ácido tartárico y aminoalcoholes, Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona (1998).

ANEXO A: Resultados IV

A.1. Monómeros

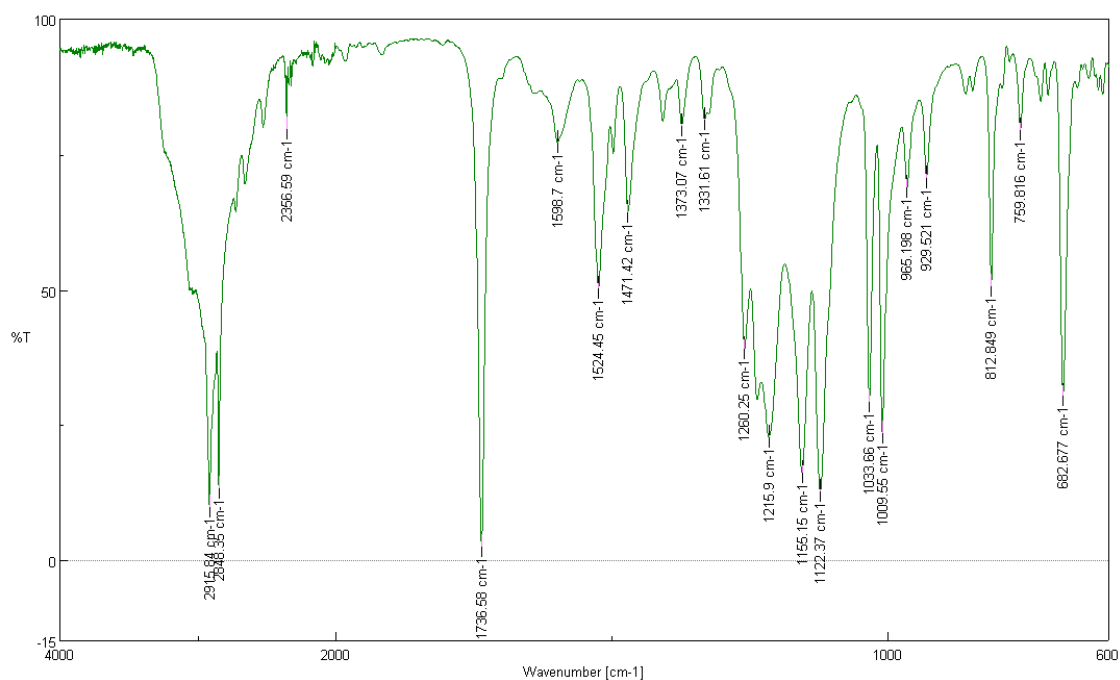


Figura A. 1 – Espectro IV de ADA

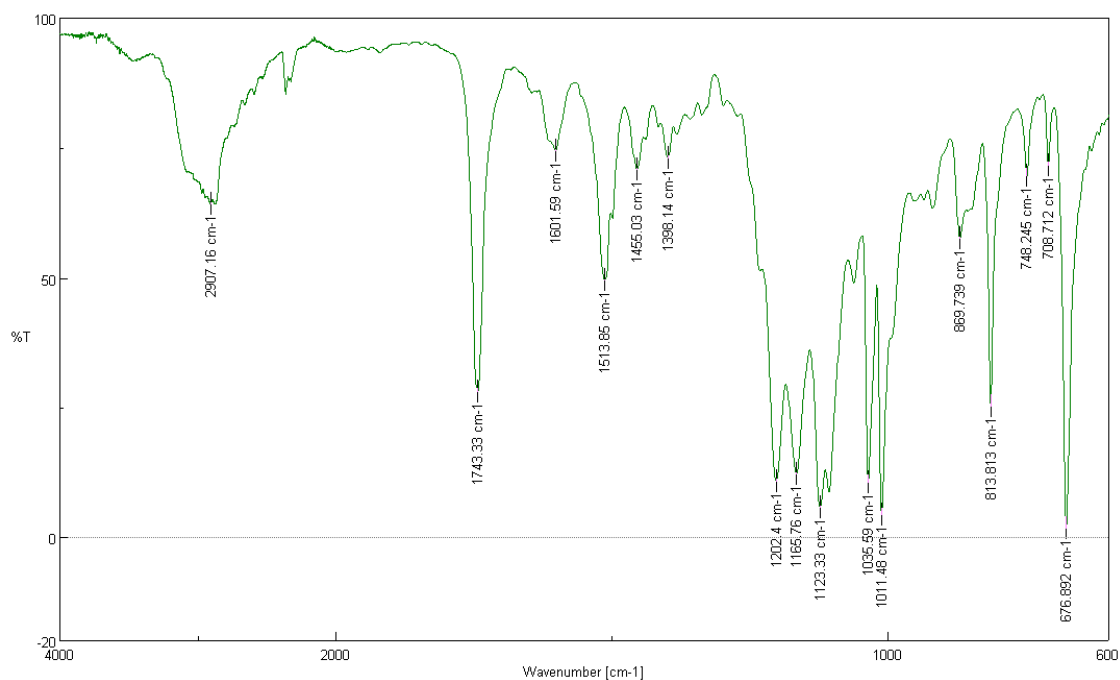


Figura A. 2 – Espectro IV de A4EGA

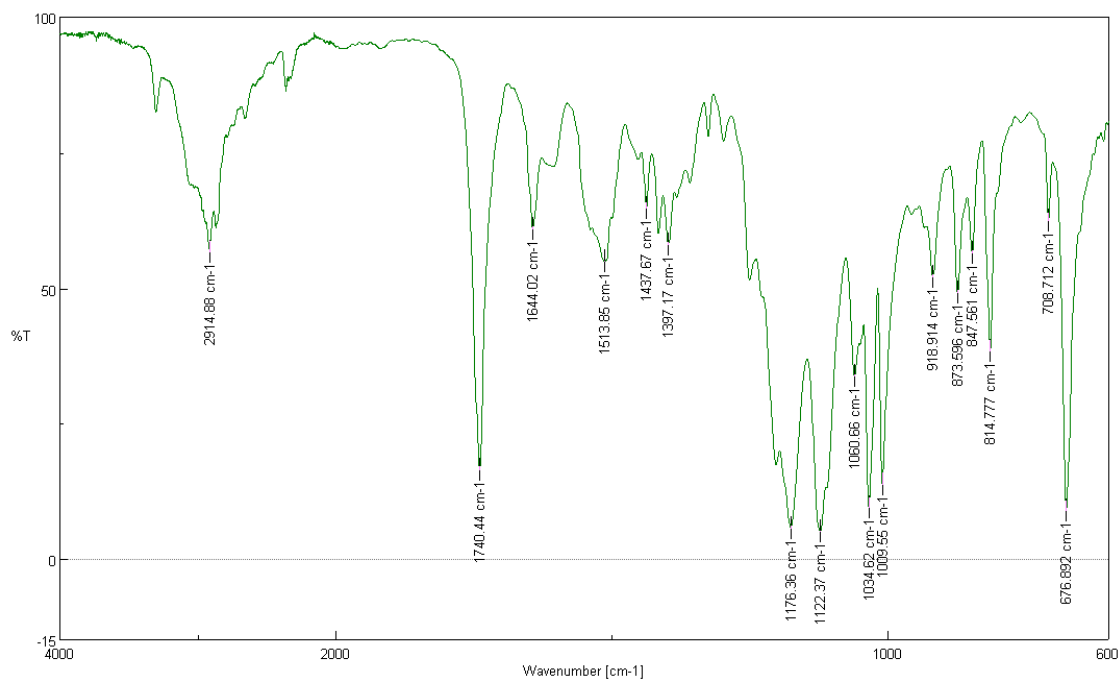


Figura A. 3 – Espectro IV de G3EGG

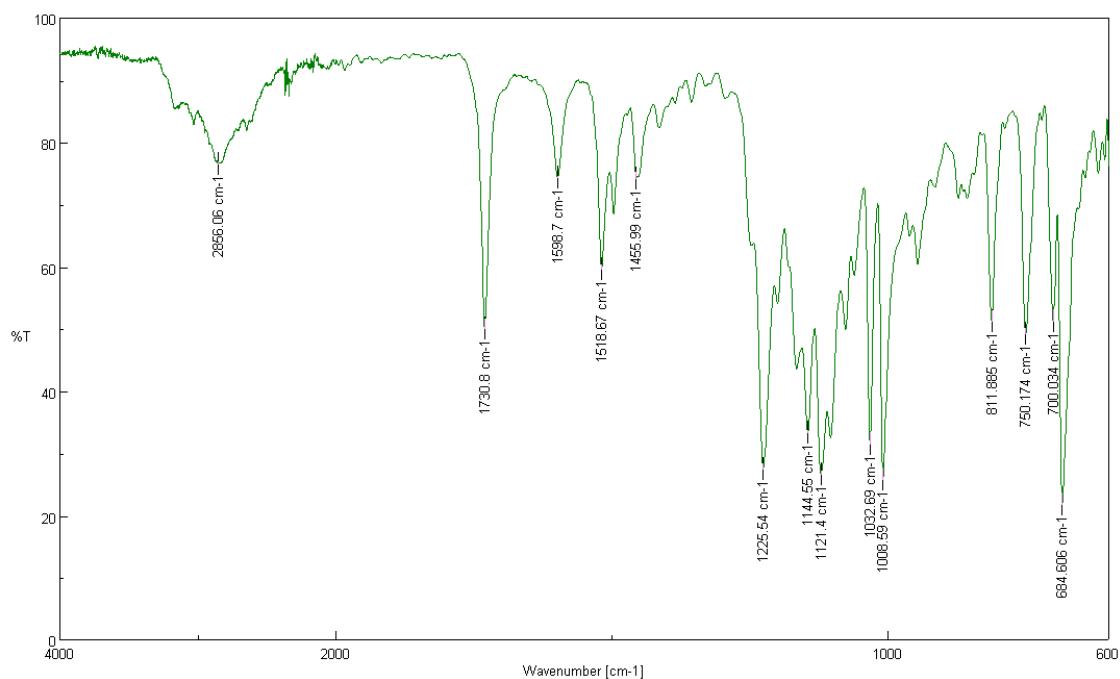


Figura A. 4 – Espectro IV de F3EGF

A.2. PADAS

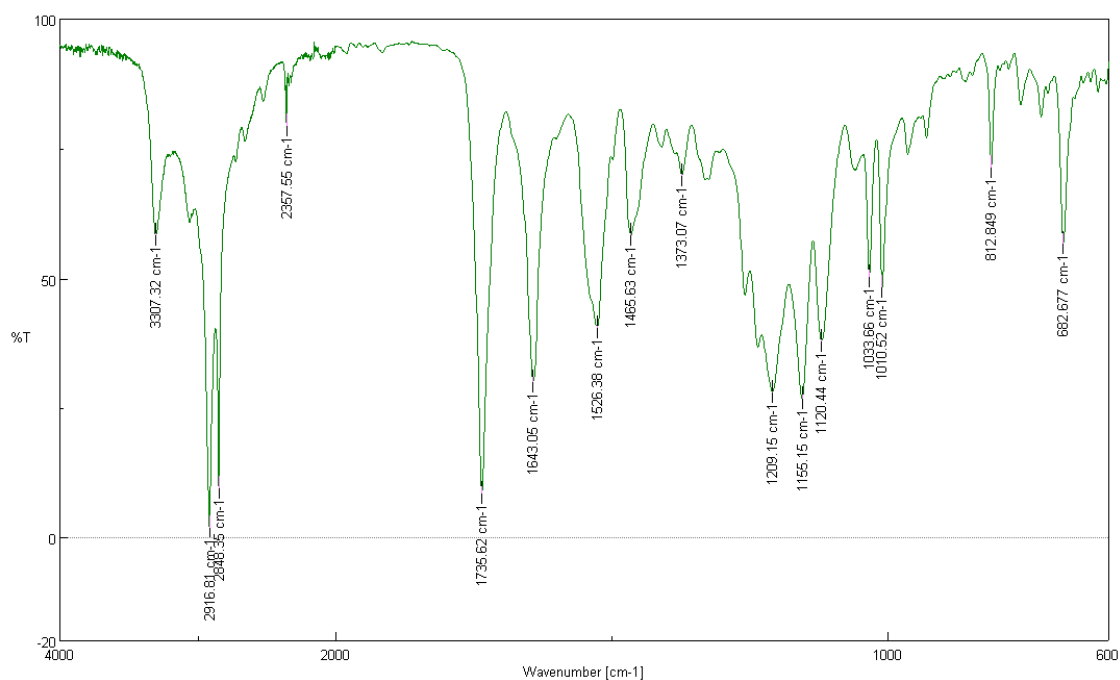


Figura A. 5 – Espectro IV de PADAS.

A.3. Copolímeros de P(ADAS-co-A4EGAS)

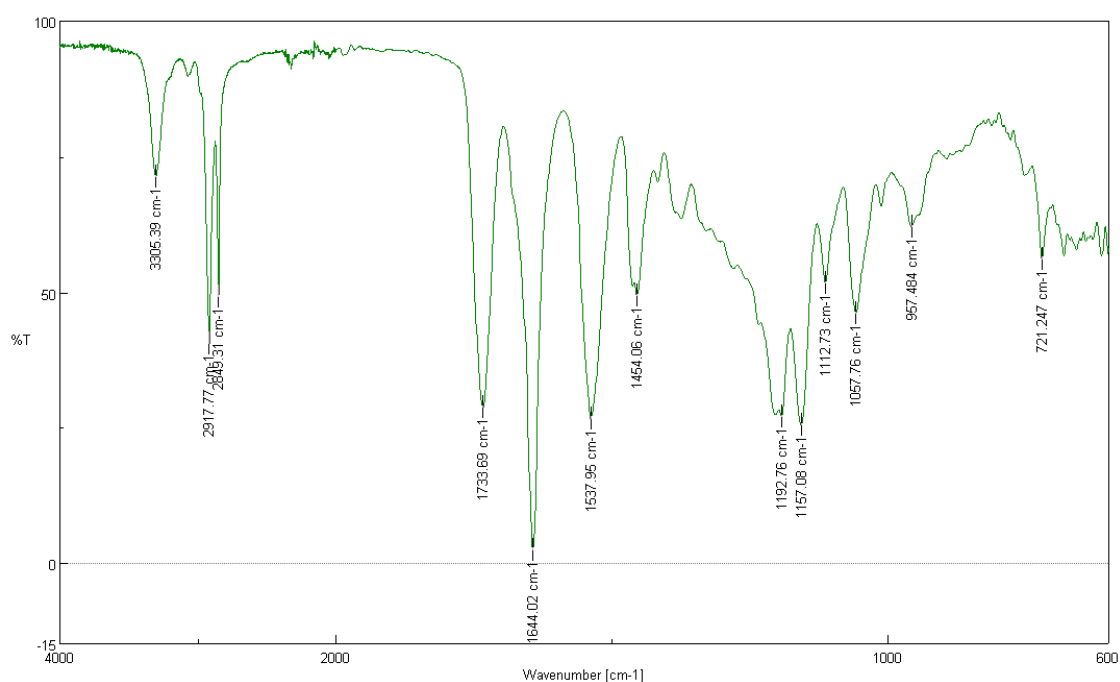


Figura A. 6 – Espectro IV do copolímero P1.

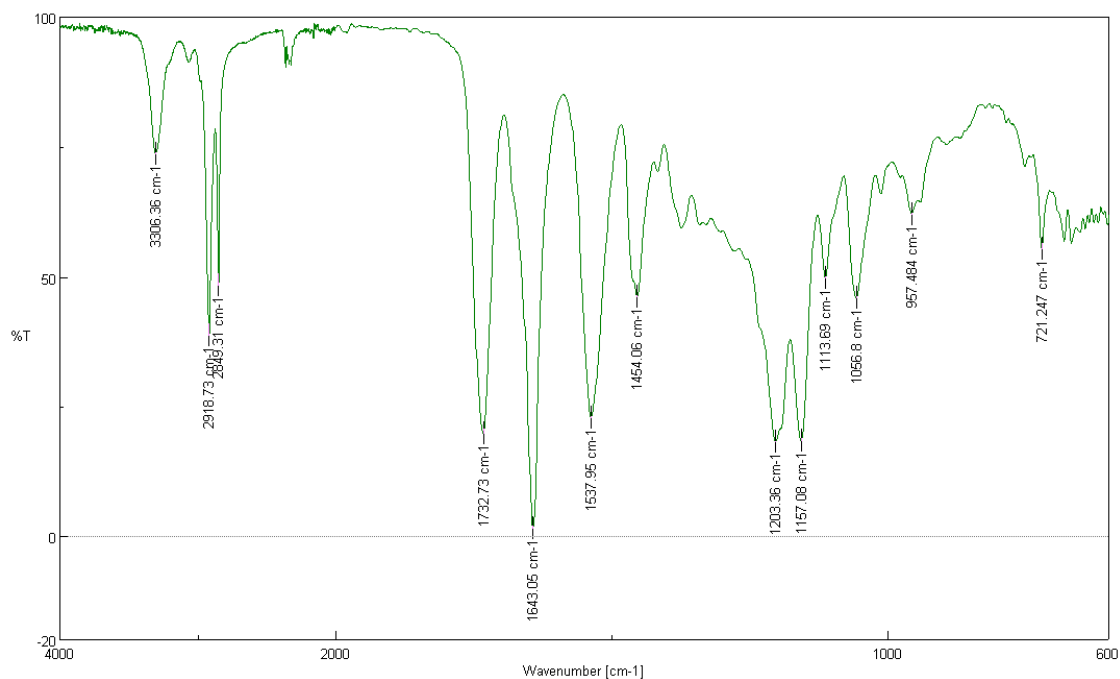


Figura A. 7 – Espectro IV do copolímero P2A.

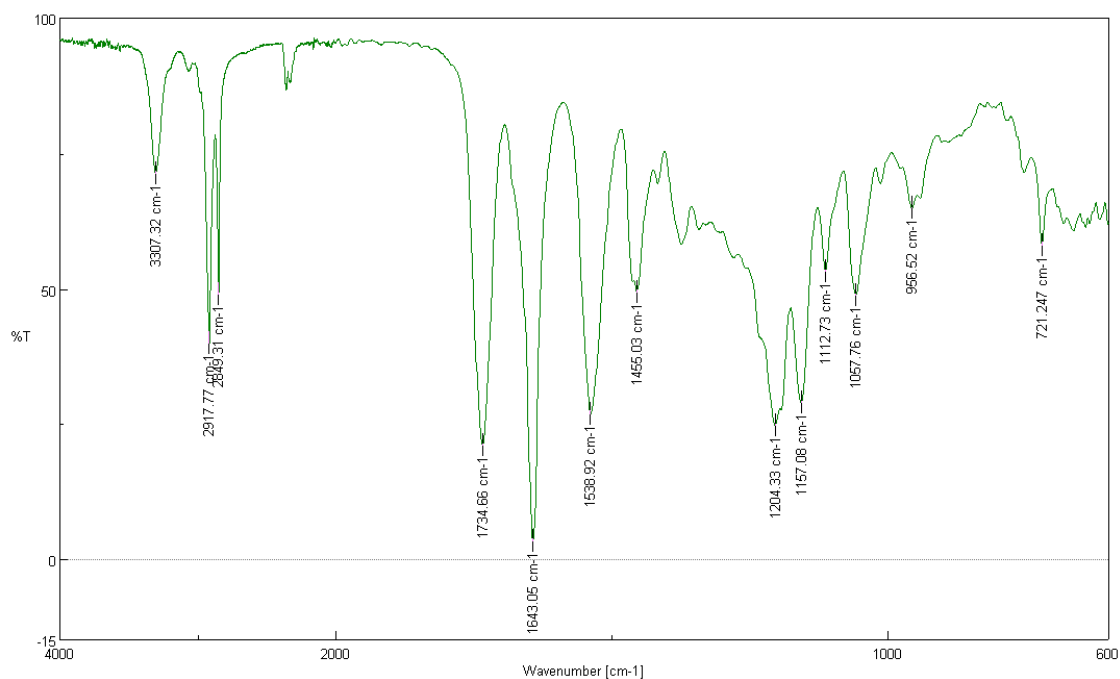


Figura A. 8 – Espectro IV do copolímero P3A.

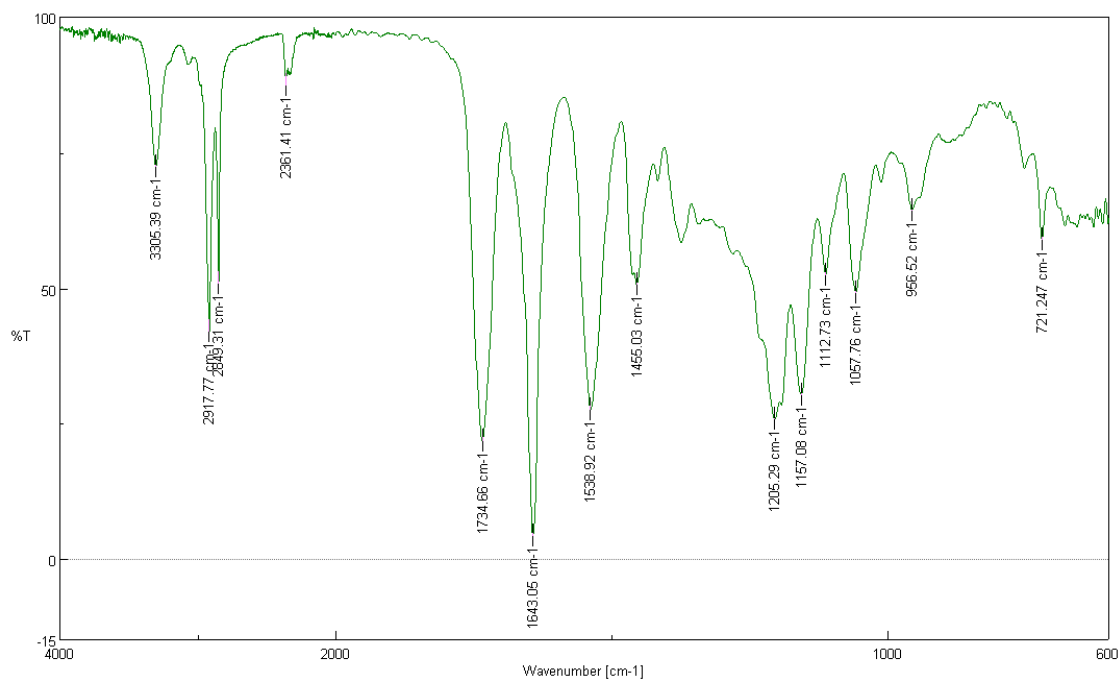


Figura A. 9 – Espectro IV do copolímero P4A.

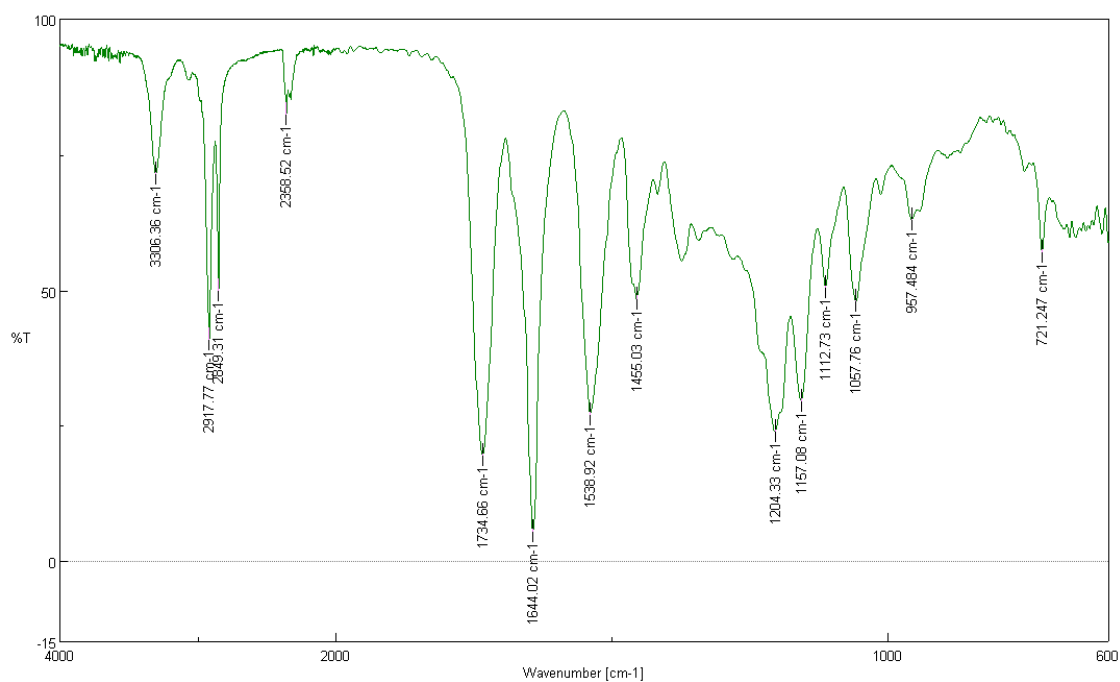


Figura A. 10 – Espectro IV do copolímero P5A.

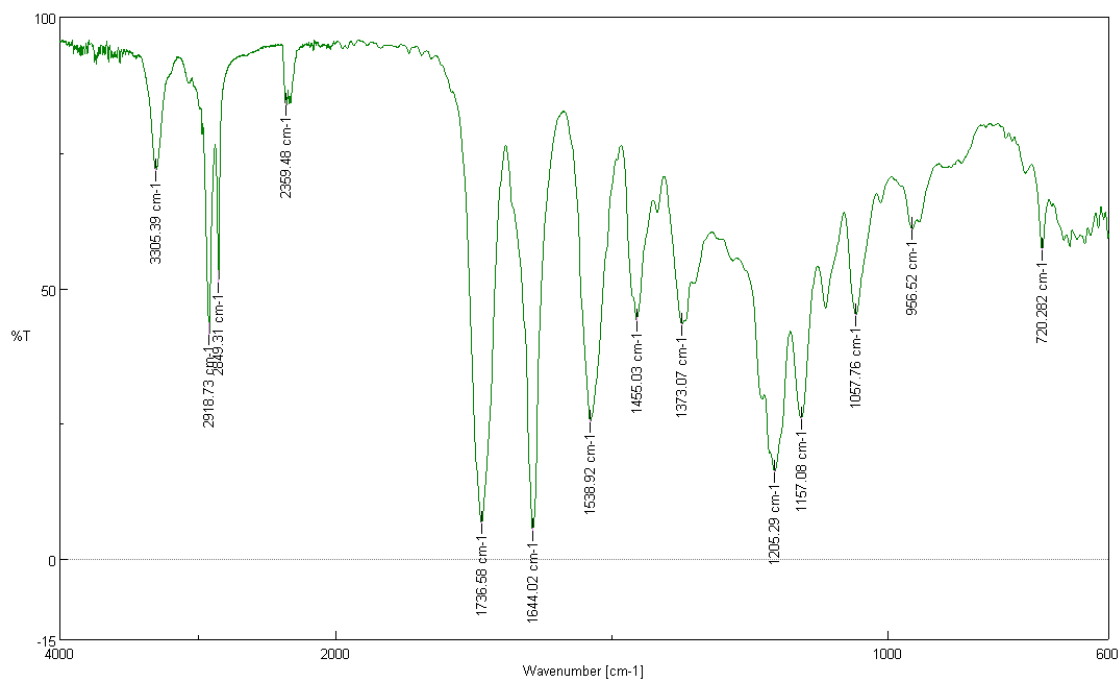


Figura A. 11 – Espectro IV do copolímero P7A.

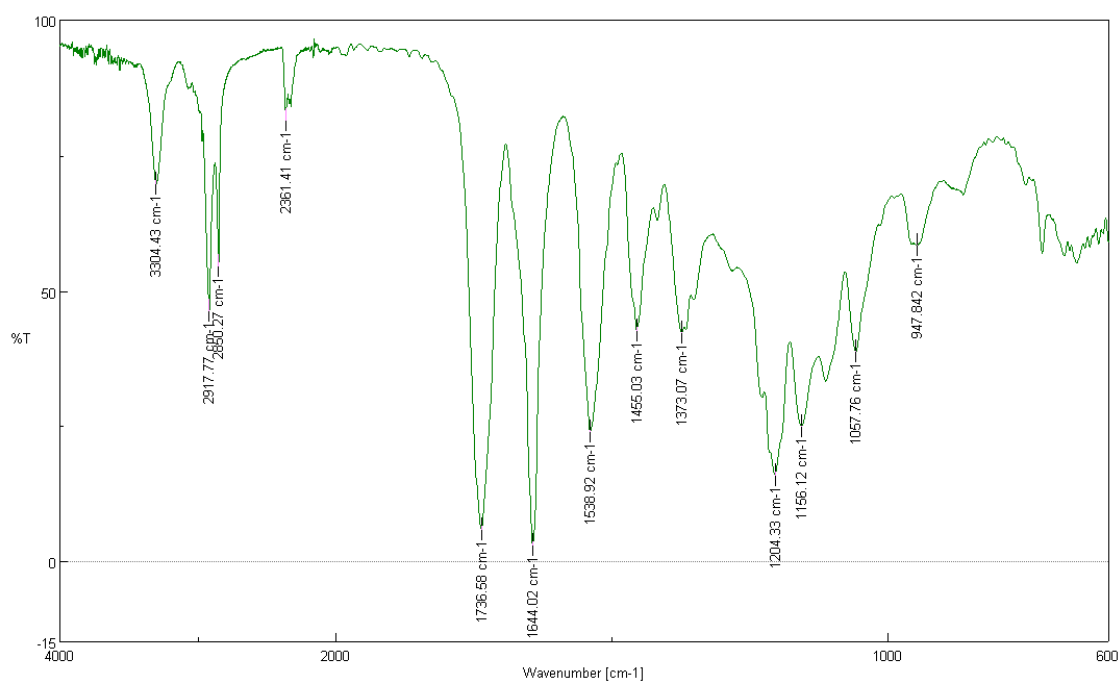


Figura A. 12 – Espectro IV do copolímero P9A.

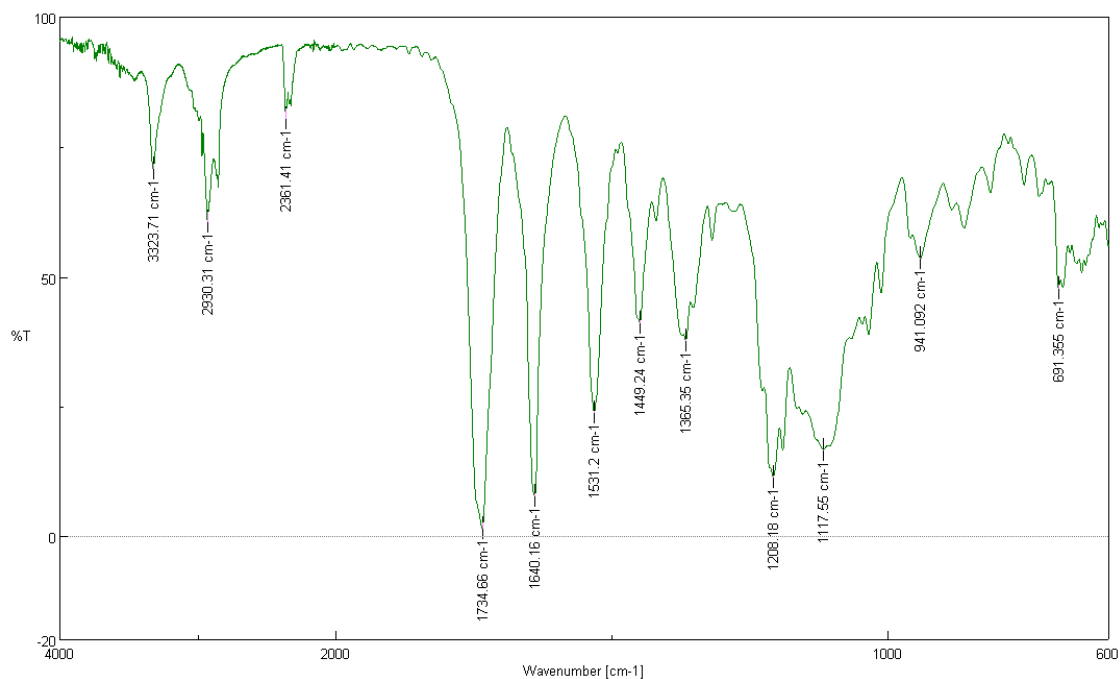


Figura A. 13 – Espectro IV do copolímero P11A.

A.4. Copolímeros de P(ADAS-co-G3EGGS)

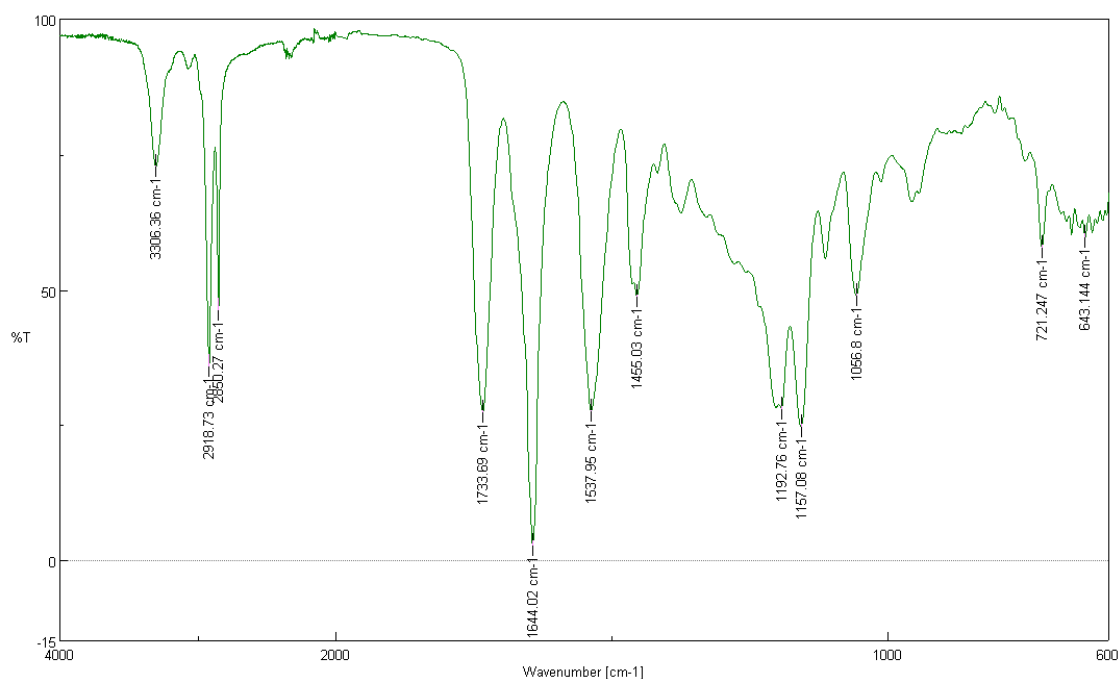


Figura A. 14 – Espectro IV do copolímero P2G.

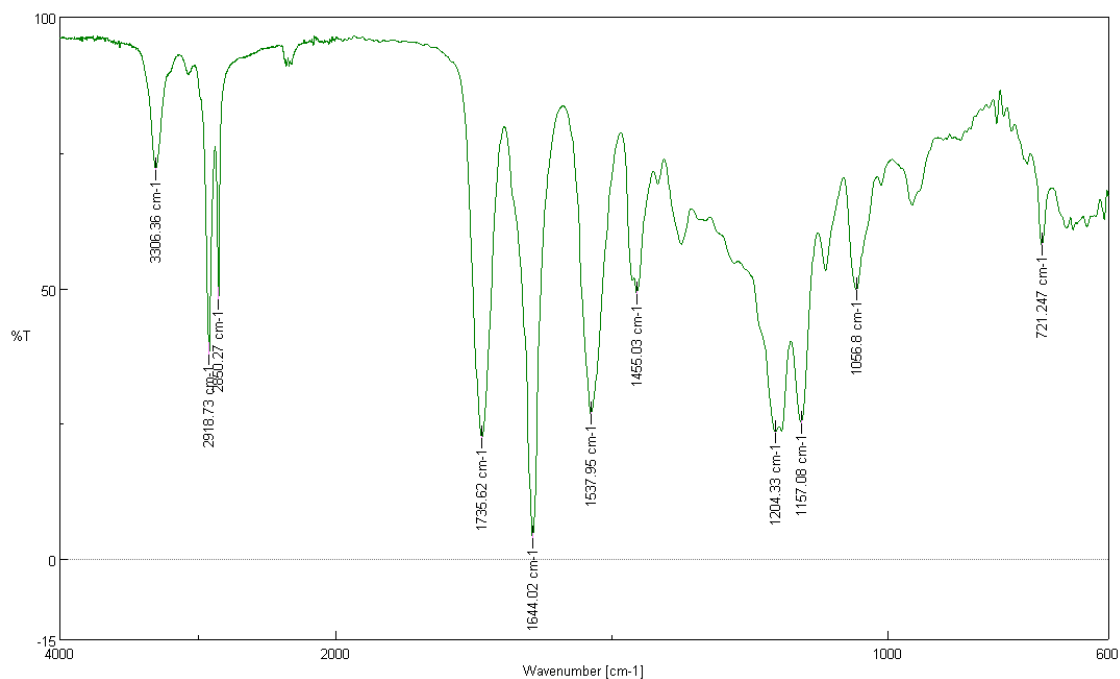


Figura A. 15 – Espectro IV do copolímero P4G.

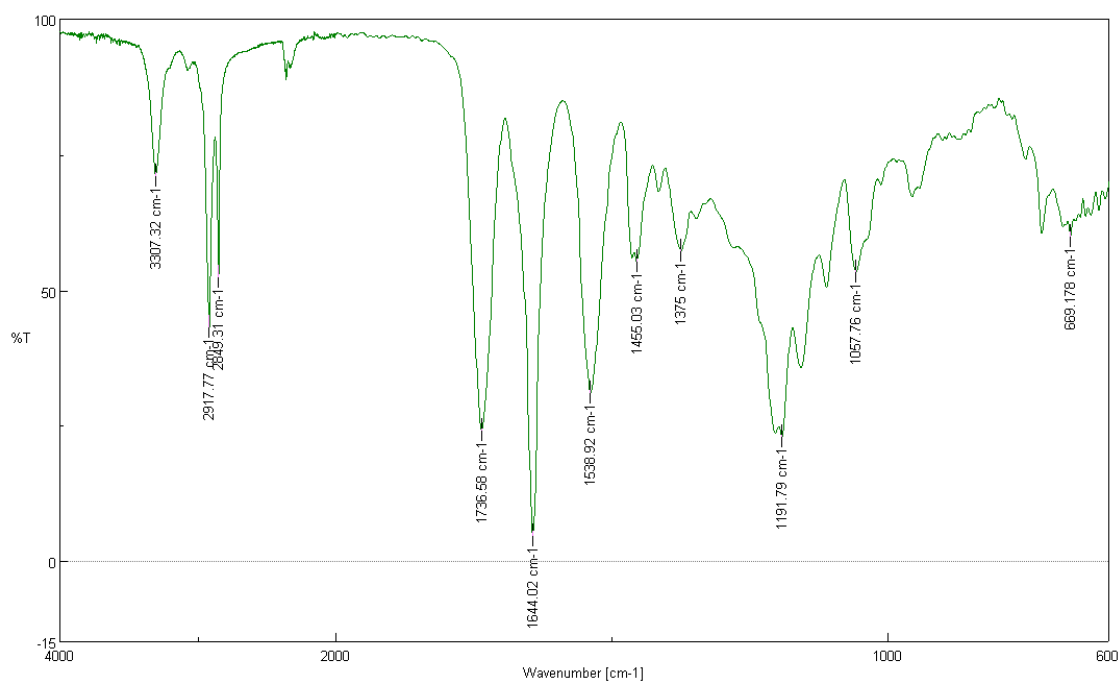


Figura A. 16 – Espectro IV do copolímero P6G.

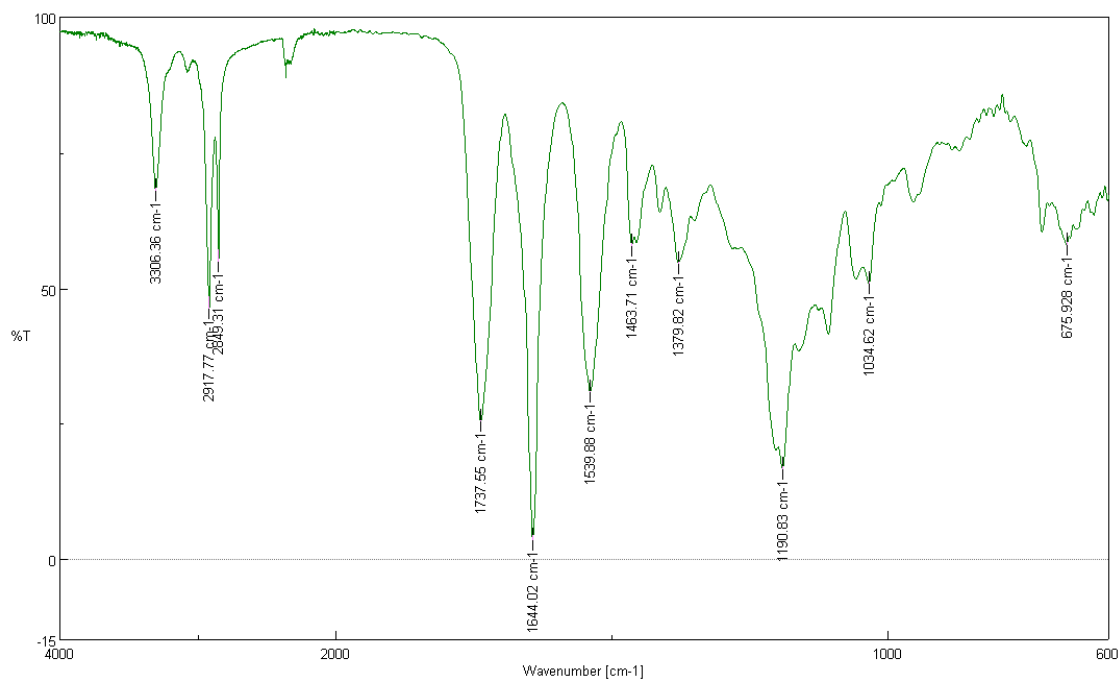


Figura A. 17 – Espectro IV do copolímero P8G.

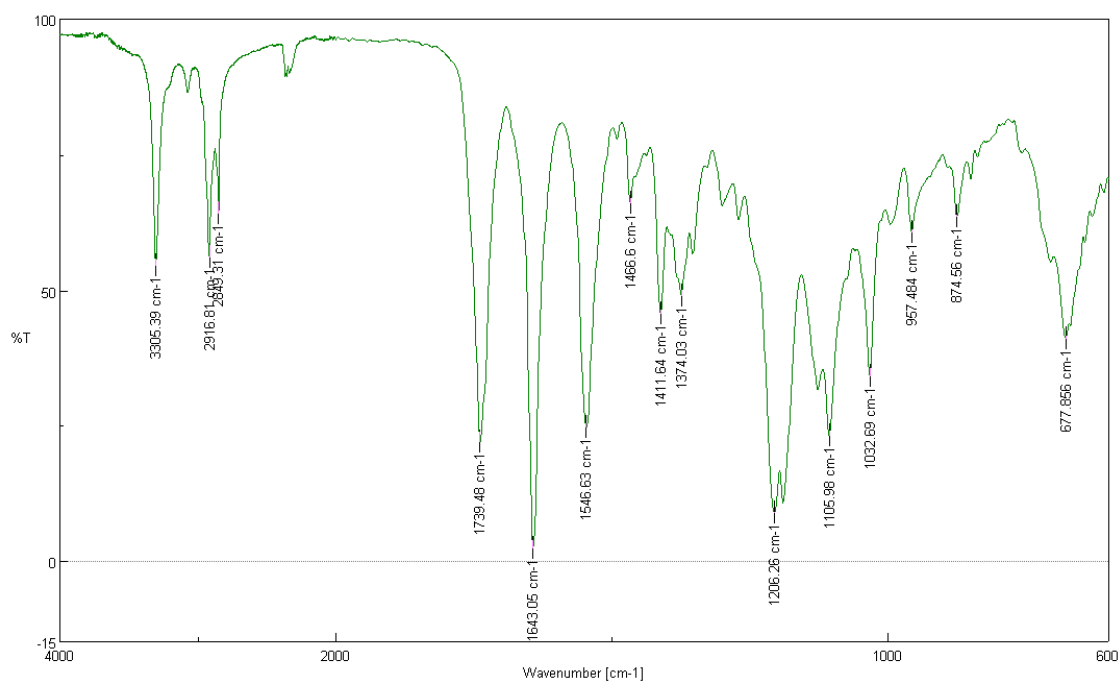


Figura A. 18 – Espectro IV do copolímero P11G.

A.5. Copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS)

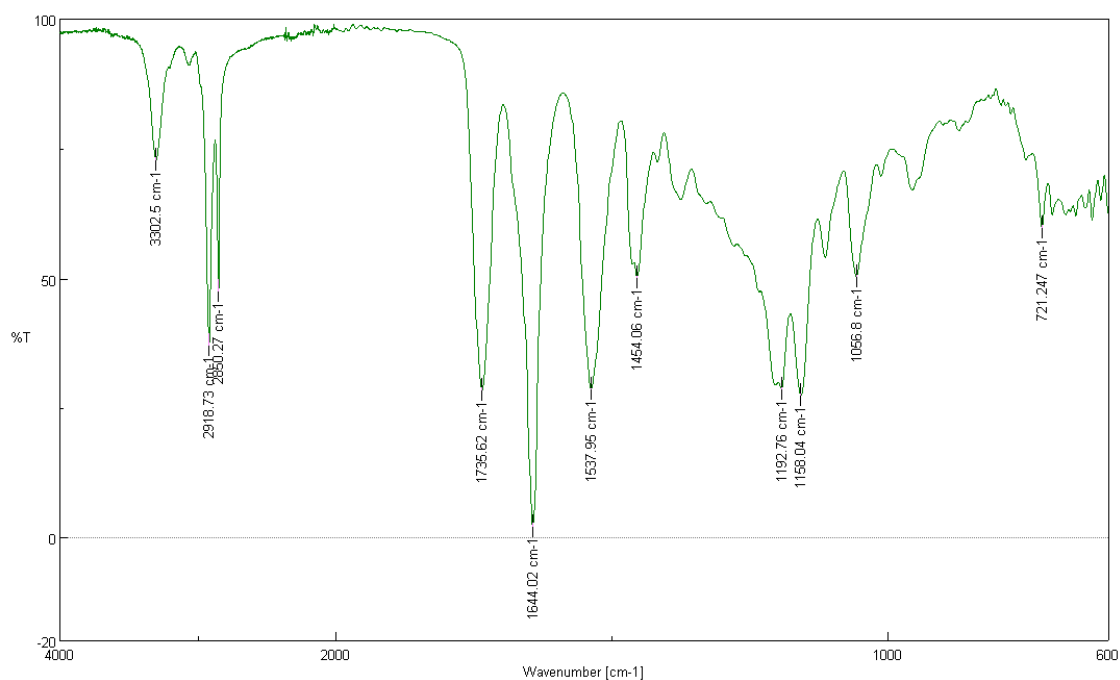


Figura A. 19 – Espectro IV do copolímero P2F.

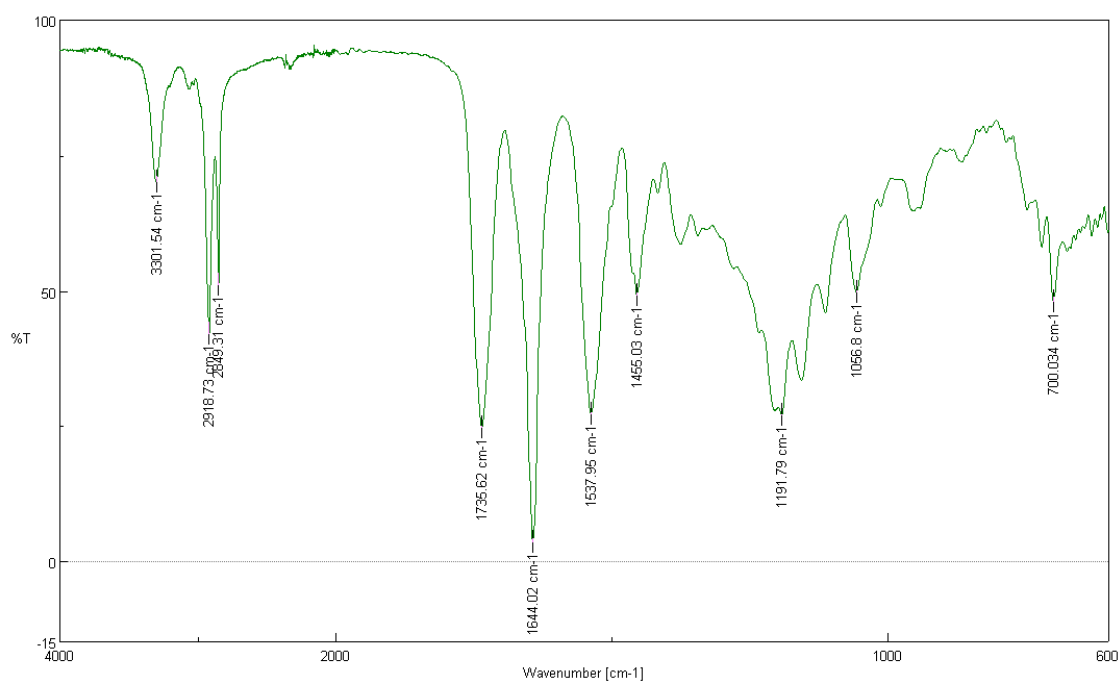


Figura A. 20 – Espectro IV do copolímero P4F.

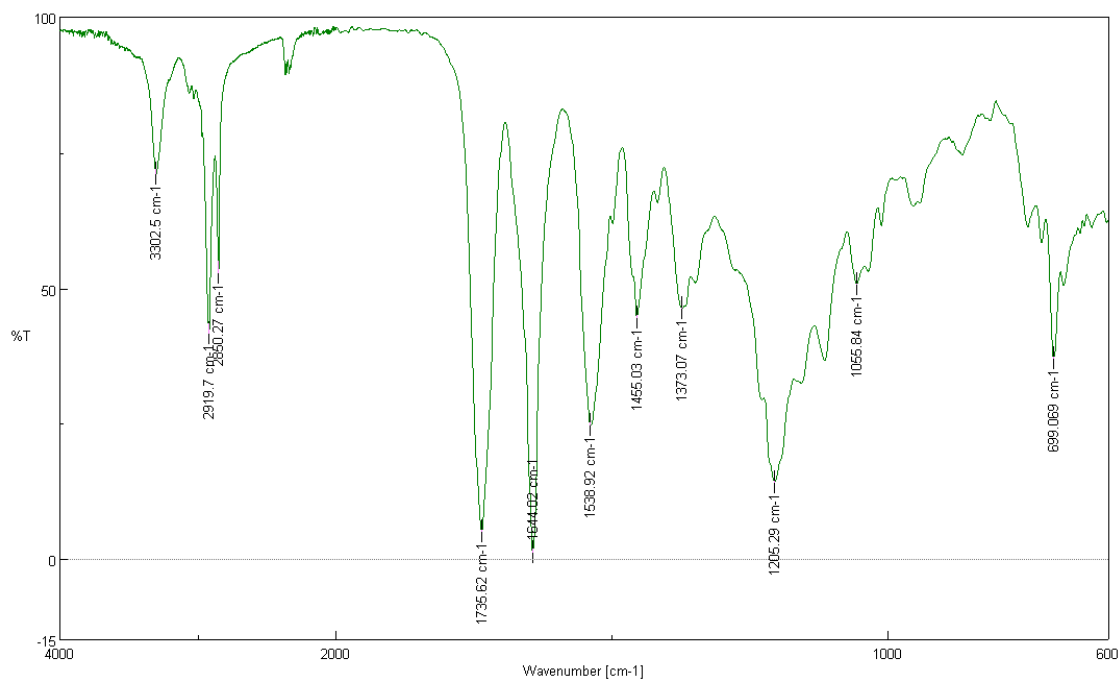


Figura A. 21 – Espectro IV do copolímero P6F.

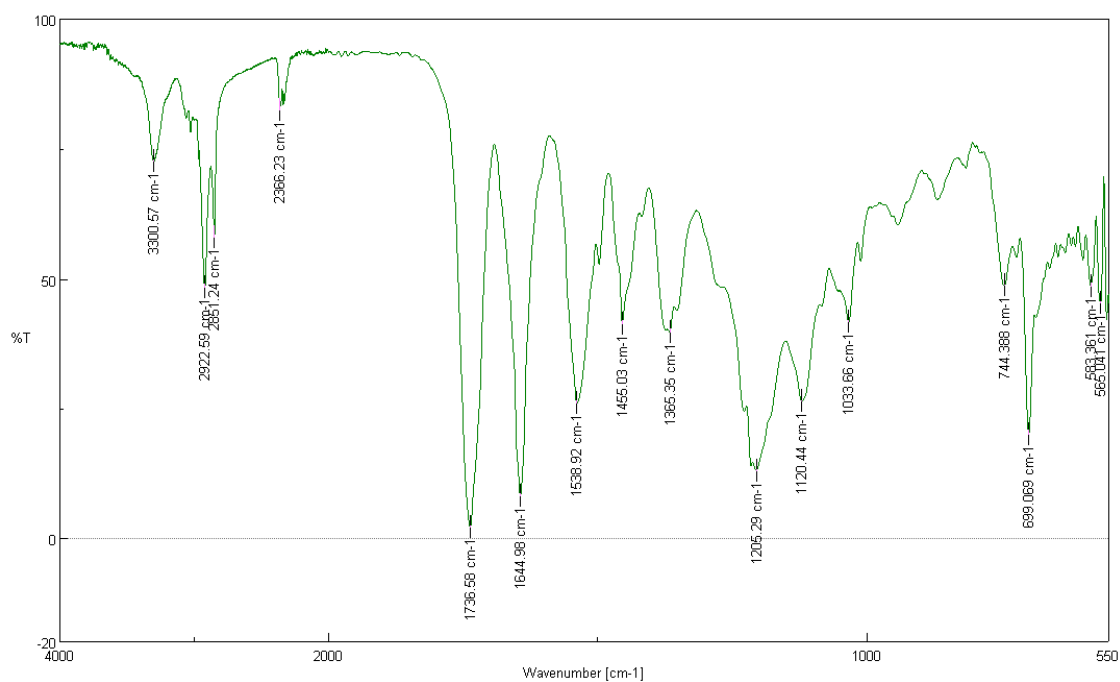


Figura A. 22 – Espectro IV do copolímero P8F.

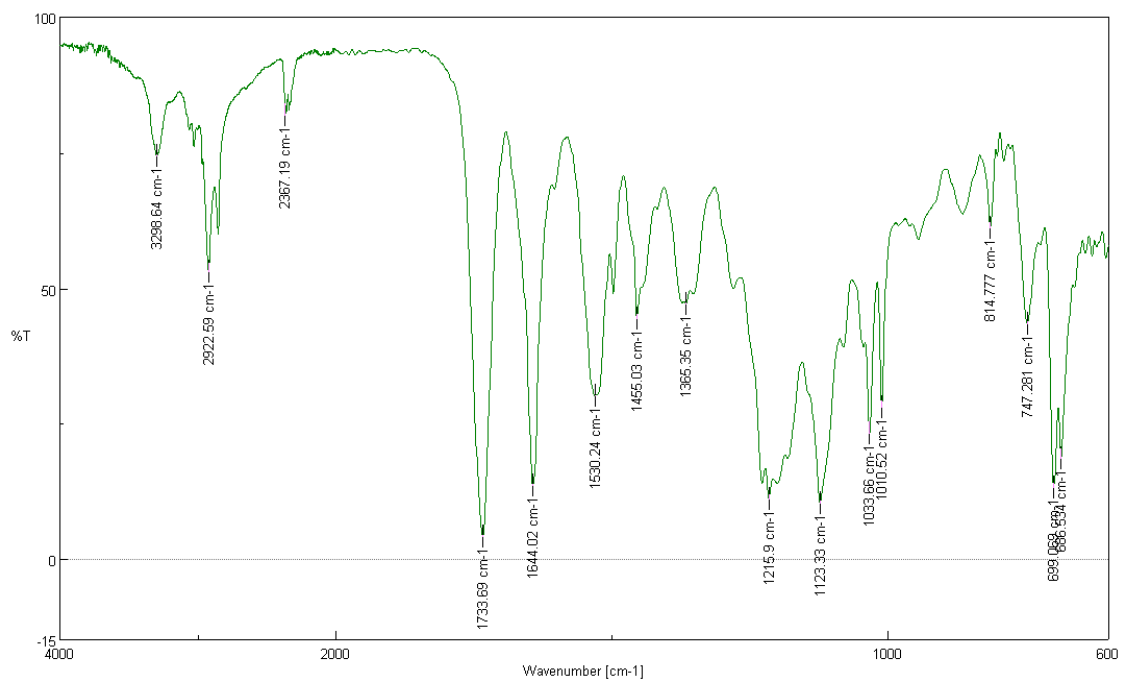


Figura A. 23 – Espectro IV do copolímero P10F.

ANEXO B: Resultados ^1H -RMN

B.1. Monómeros

ADA

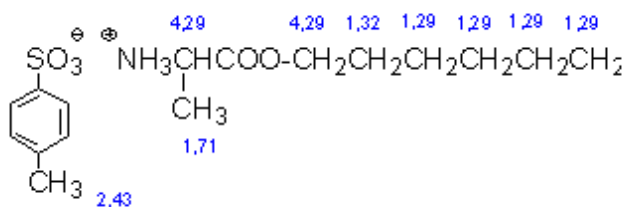


Figura B. 1 – Deslocamentos de ^1H -RMN do monômero ADA

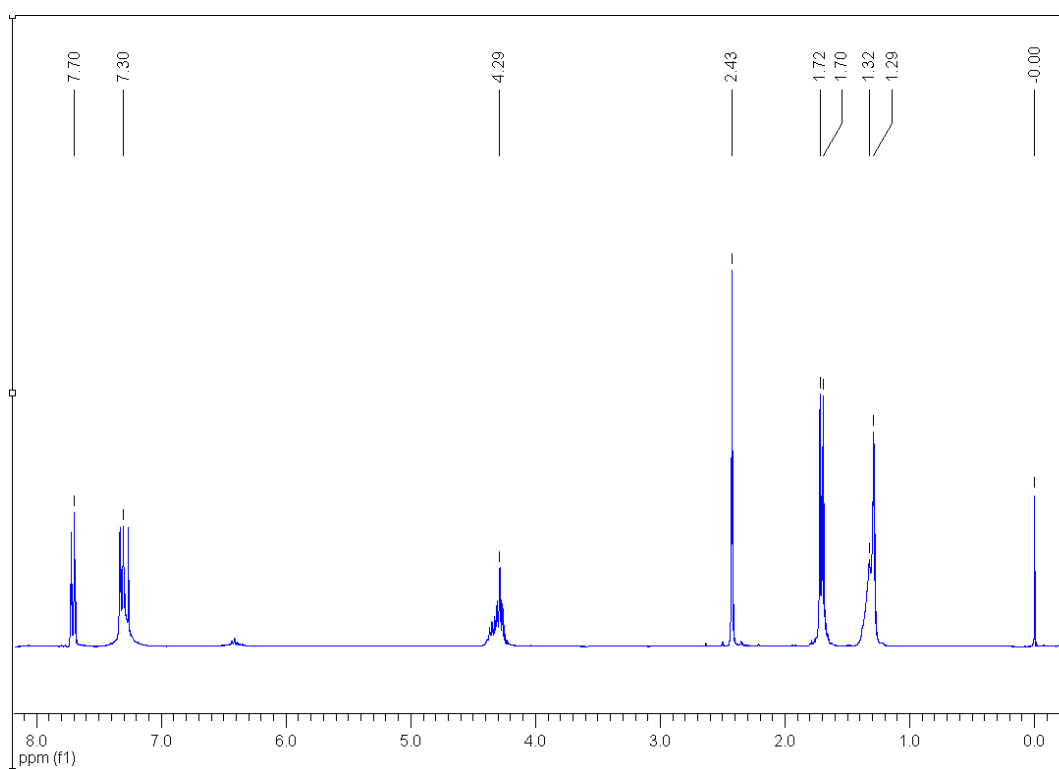


Figura B. 2 – Espectro de ^1H -RMN do monômero ADA

A4EGA

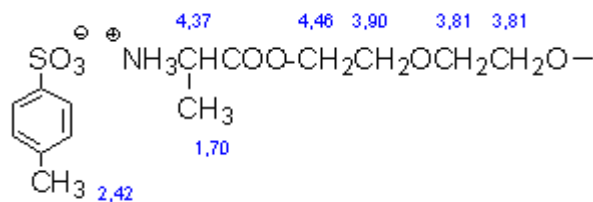


Figura B. 3 – Deslocamentos de ^1H -RMN do monómero A4EGA

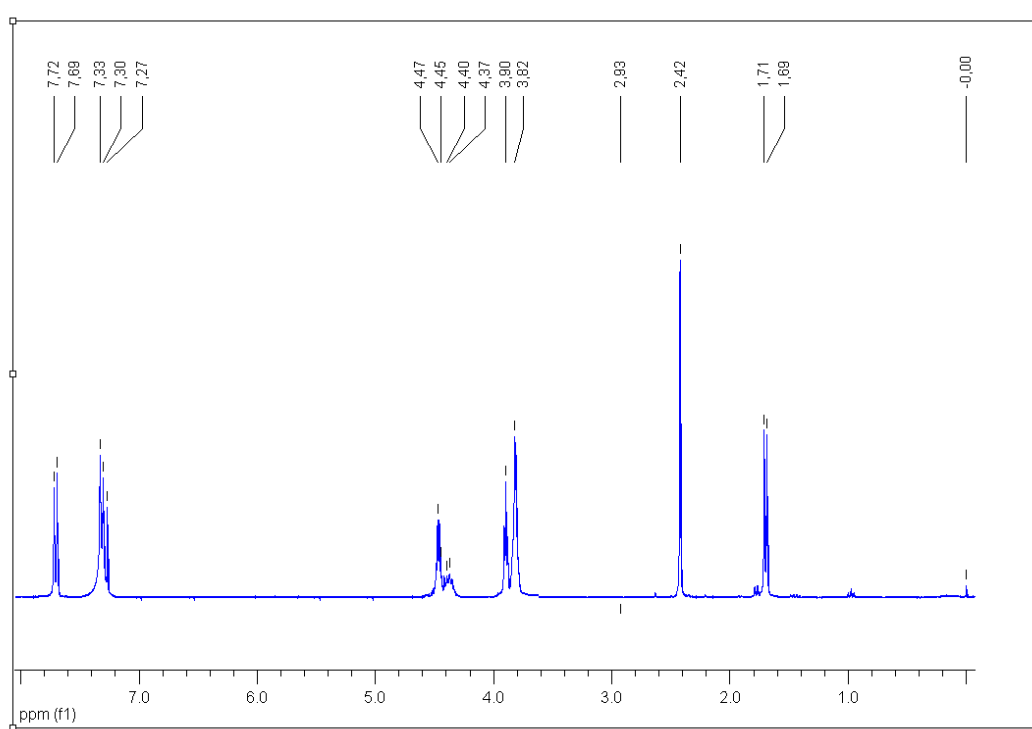


Figura B. 4 – Espectro de ^1H -RMN do monómero A4EGA

G3EGG

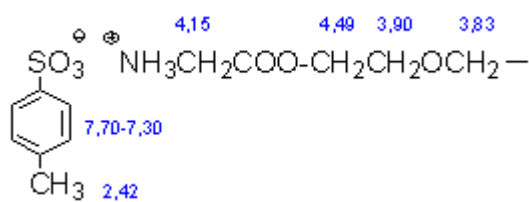


Figura B. 5 – Deslocamentos de ¹H-RMN do monómero G3EGG

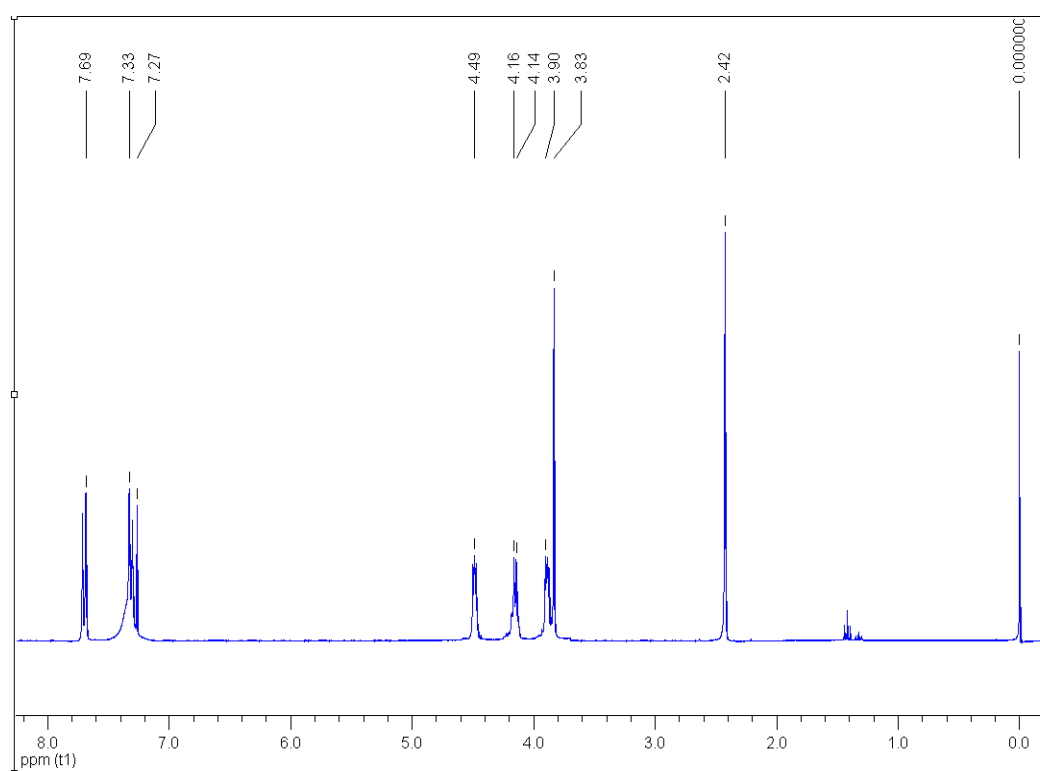


Figura B. 6 – Espectro de ¹H-RMN do monómero G3EGG

F3EGF

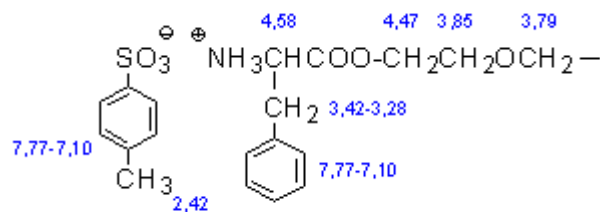


Figura B. 7 – Deslocamentos de ^1H -RMN do monómero F3EGF

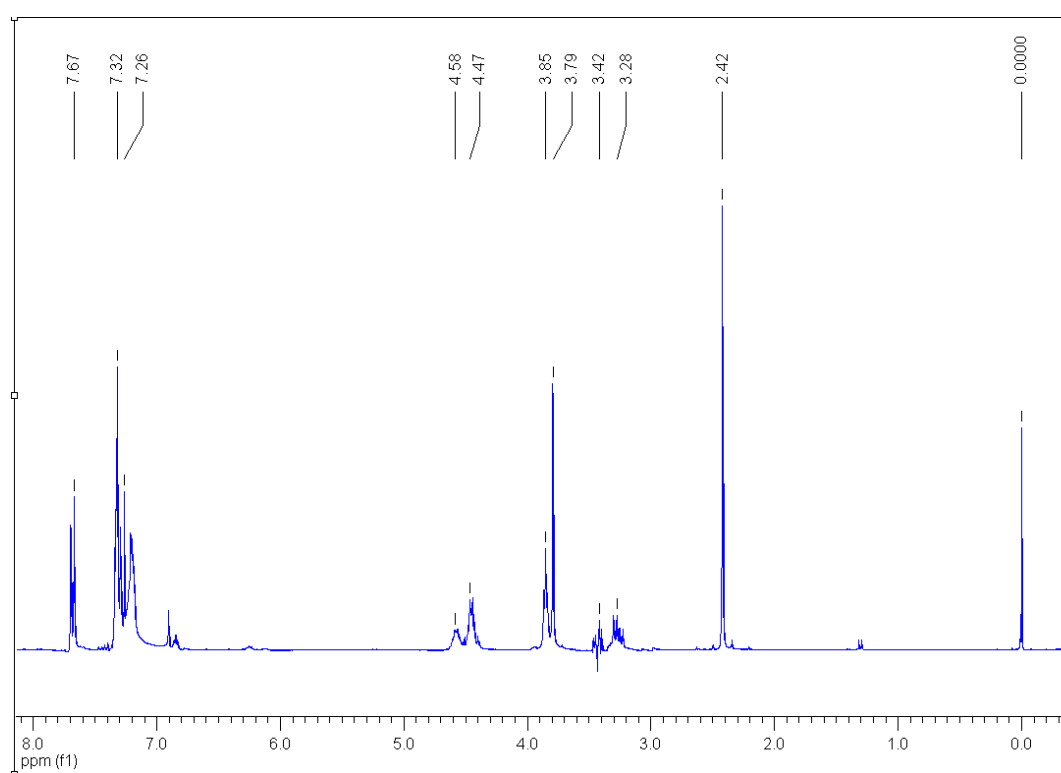
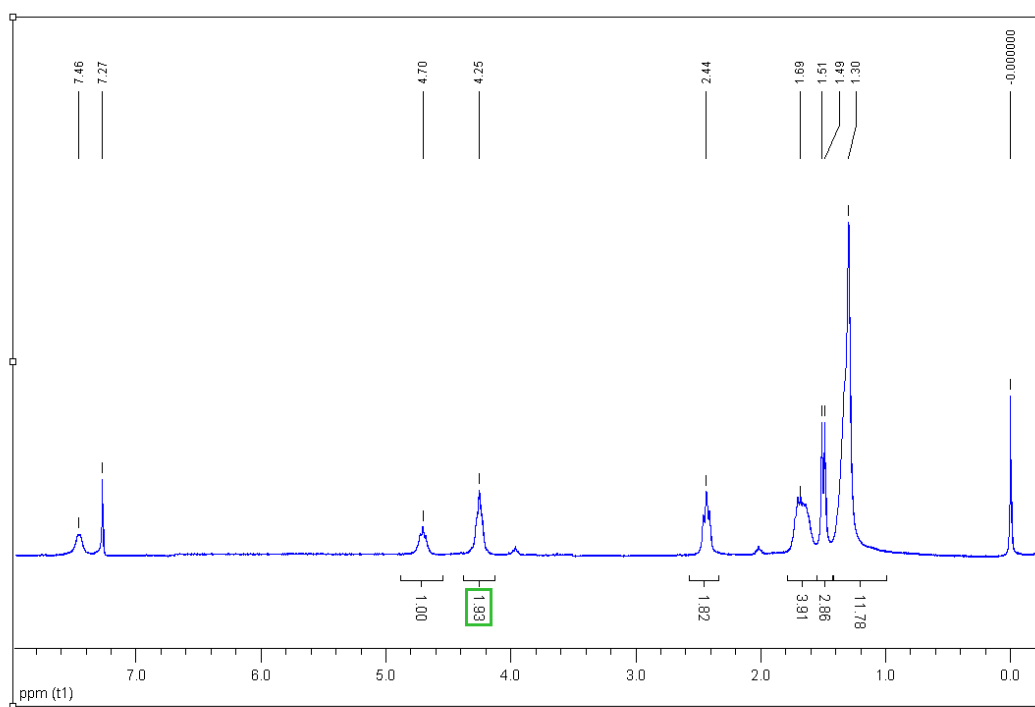
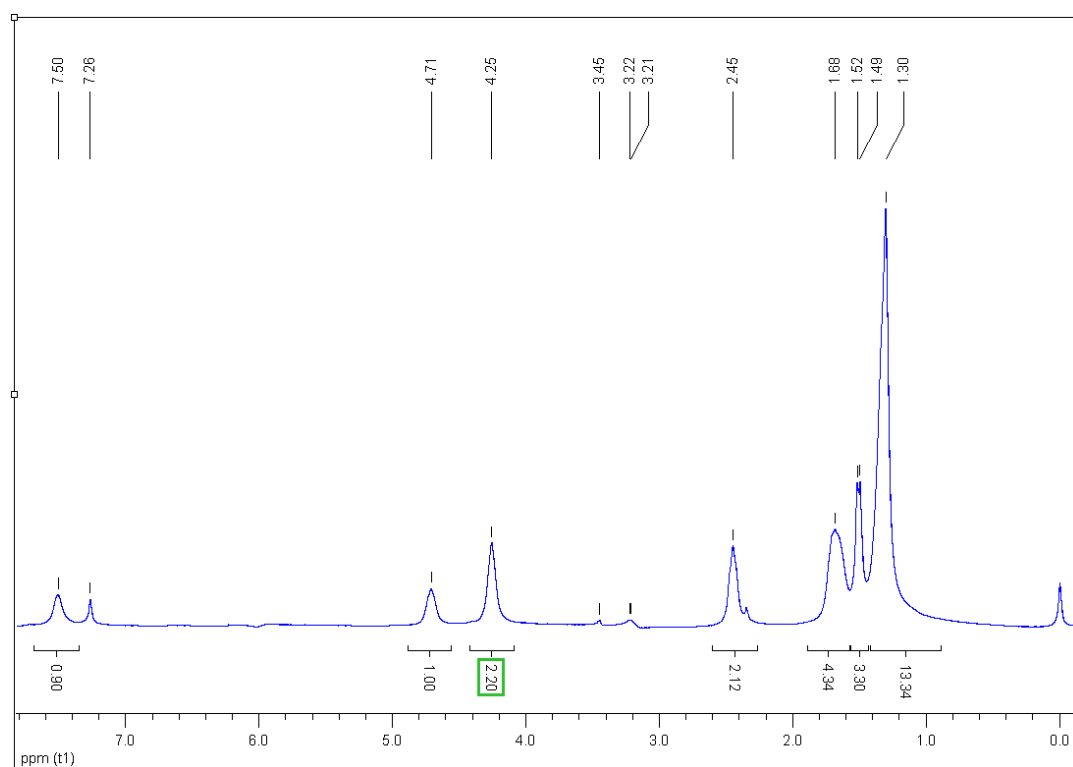


Figura B. 8 – Espectro de ^1H -RMN do monómero F3EGF

B.2. Copolímeros P(ADAS-co-A4EGAS)**Figura B. 9** – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P1**Figura B. 10** – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P2A

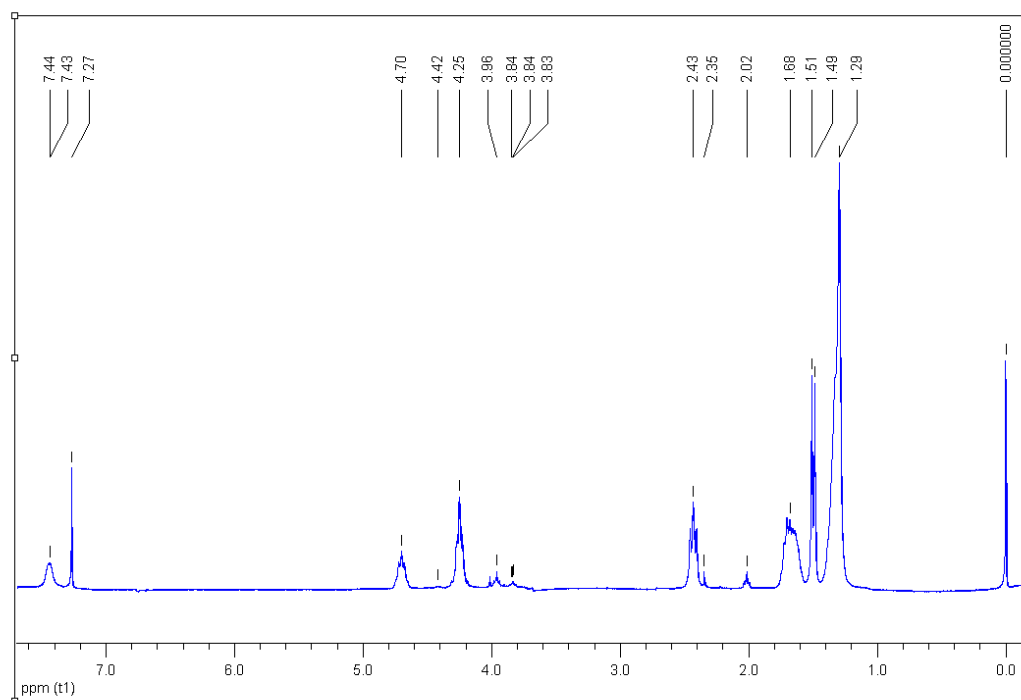


Figura B. 11 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P3A

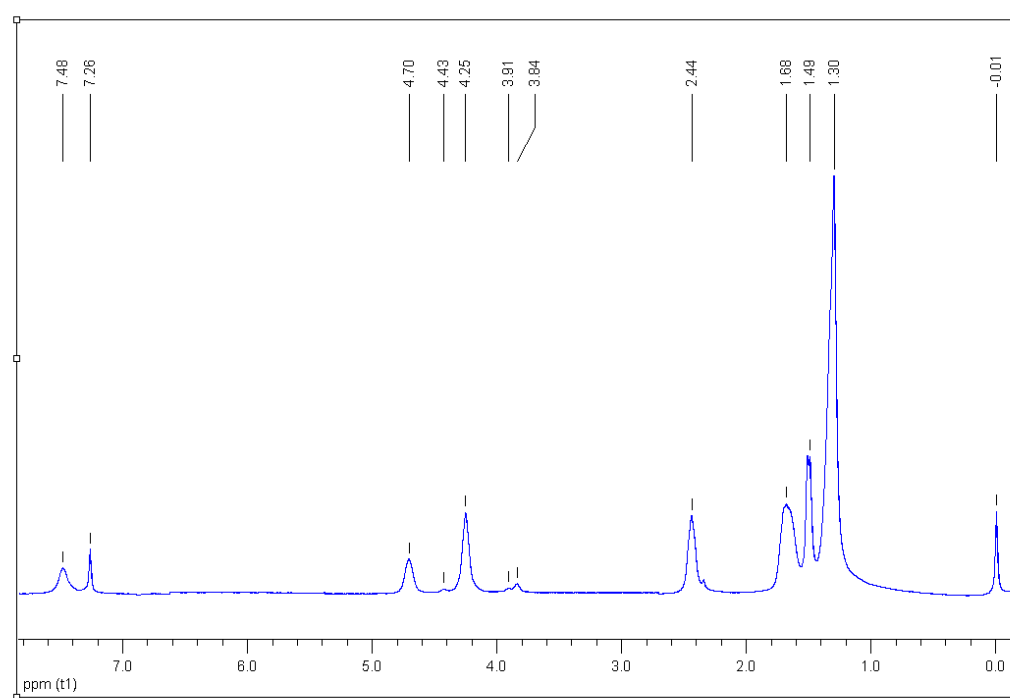


Figura B. 12 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P4A

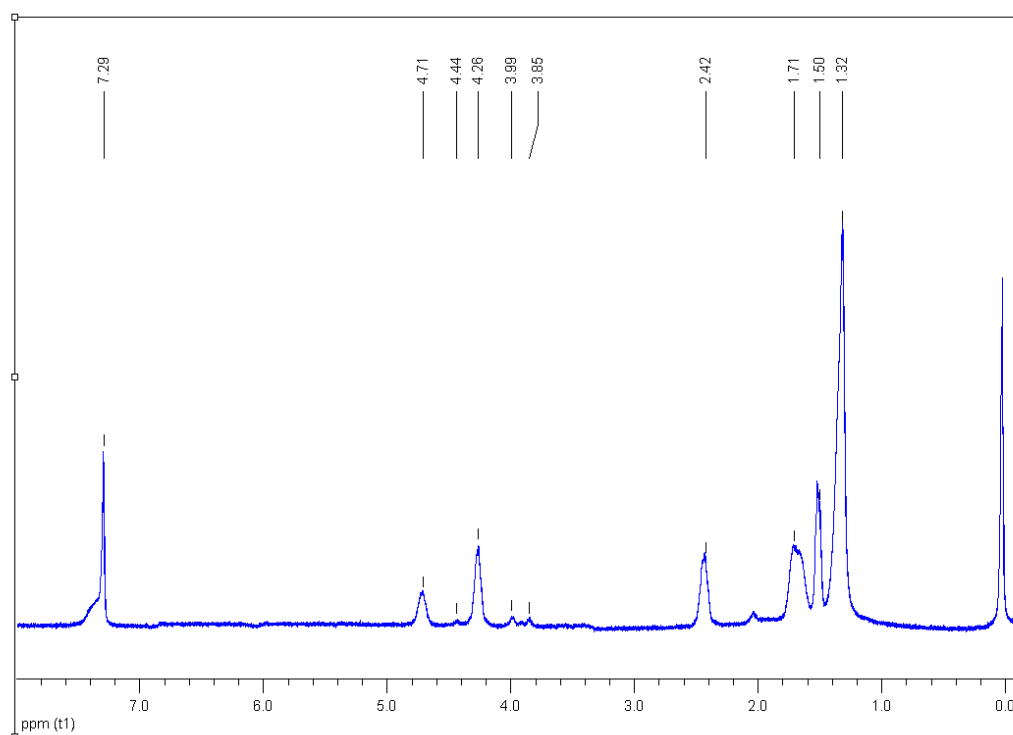


Figura B. 13 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P5A

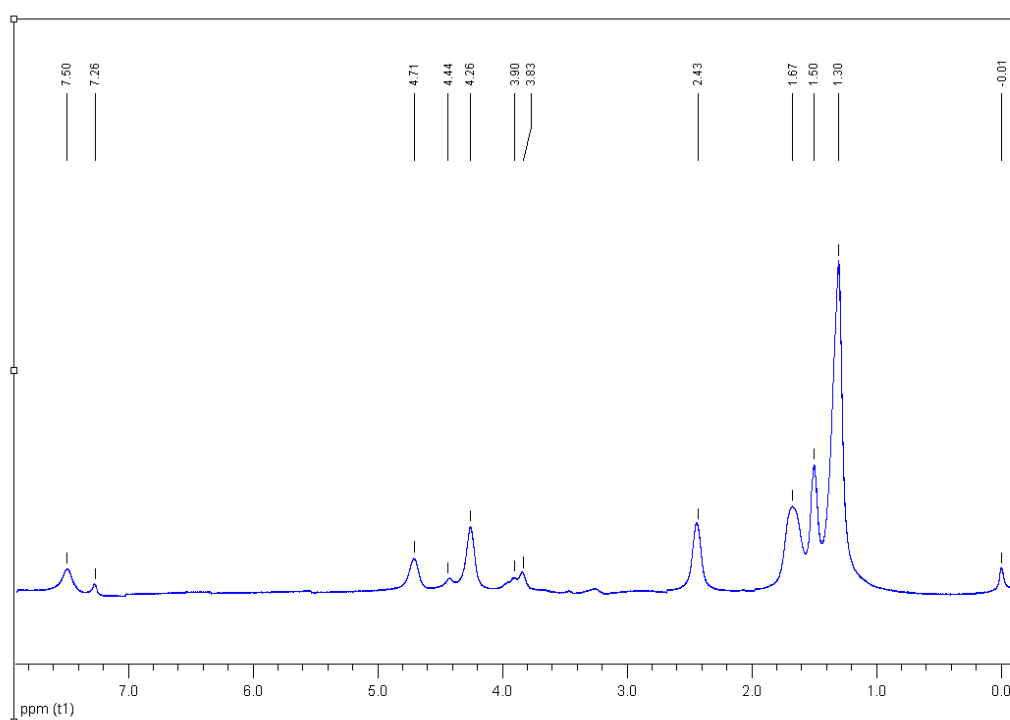


Figura B. 14 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P7A

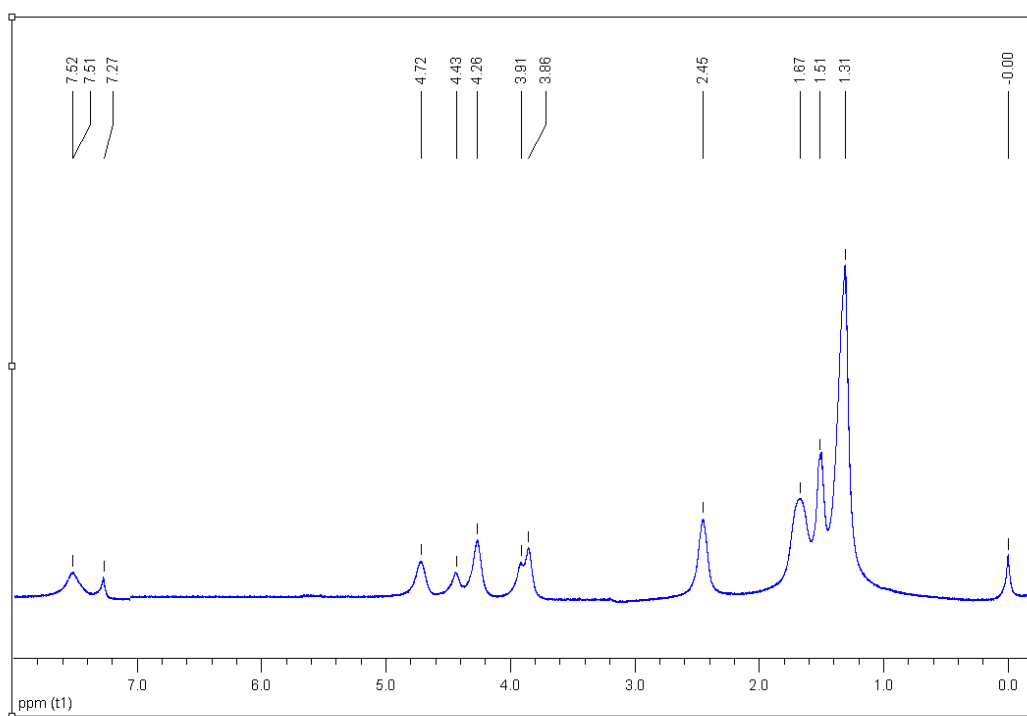


Figura B. 15 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P9A

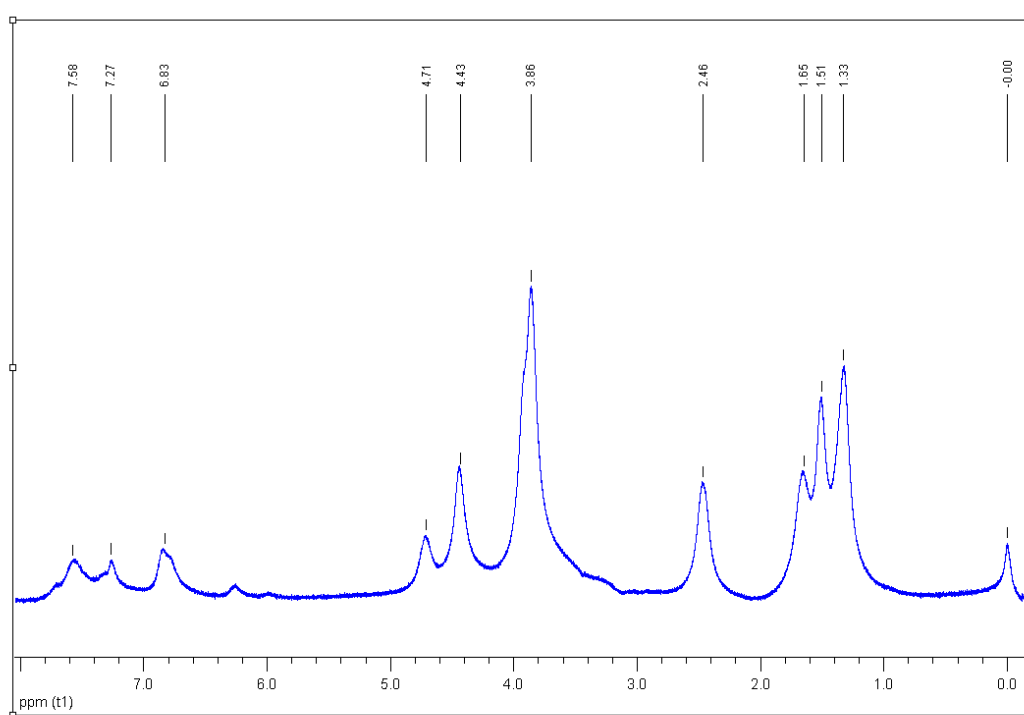


Figura B. 16 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P11A

B.3. Copolímeros P(ADAS-co-G3EGGS)

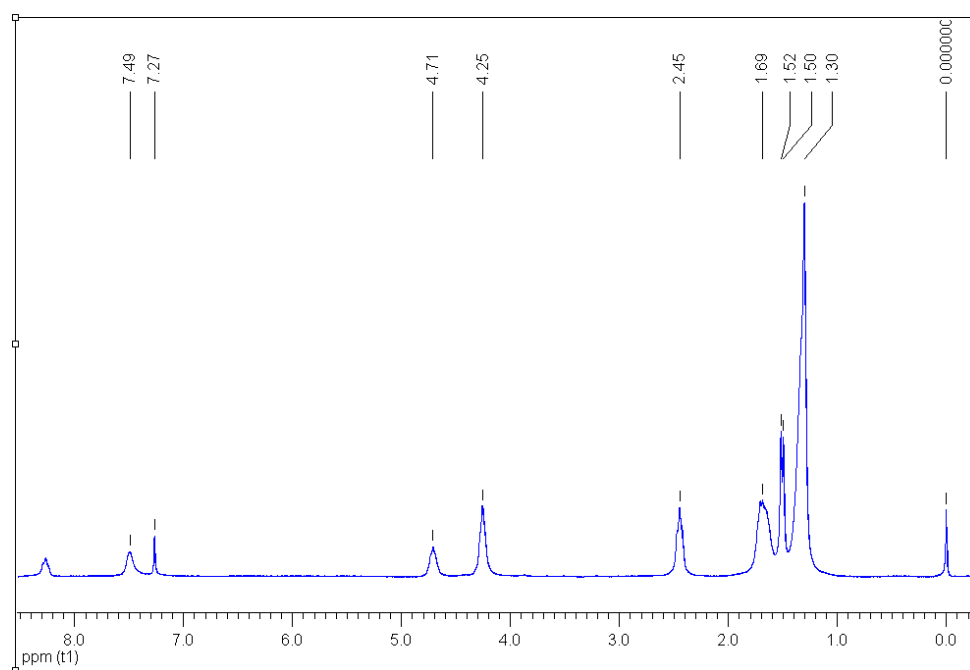


Figura B. 17 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P2G

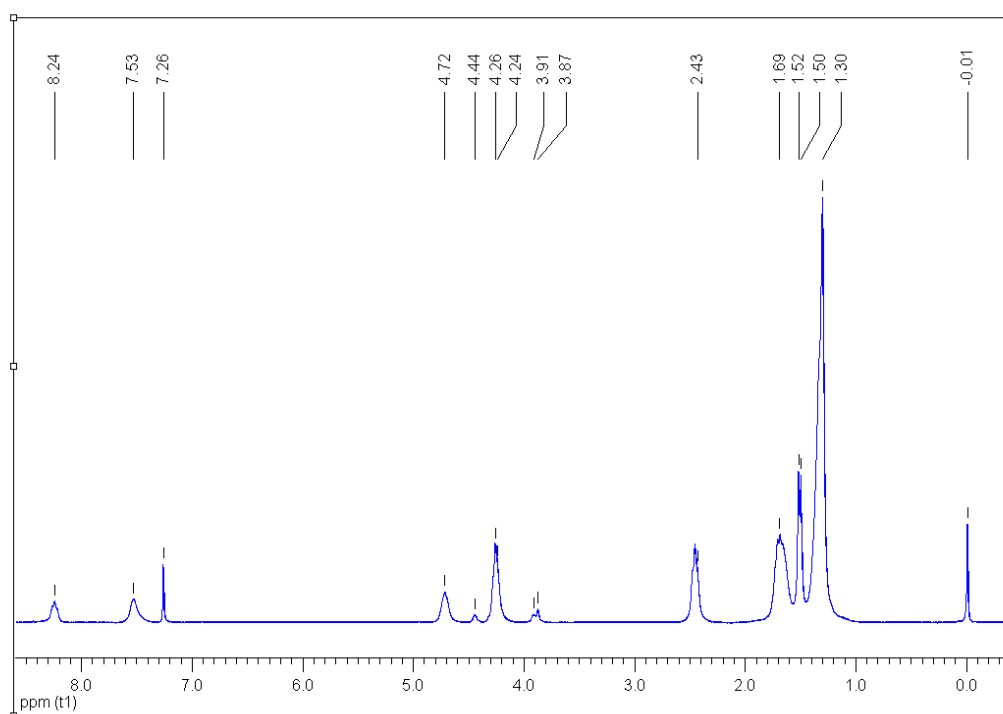


Figura B. 18 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P4G

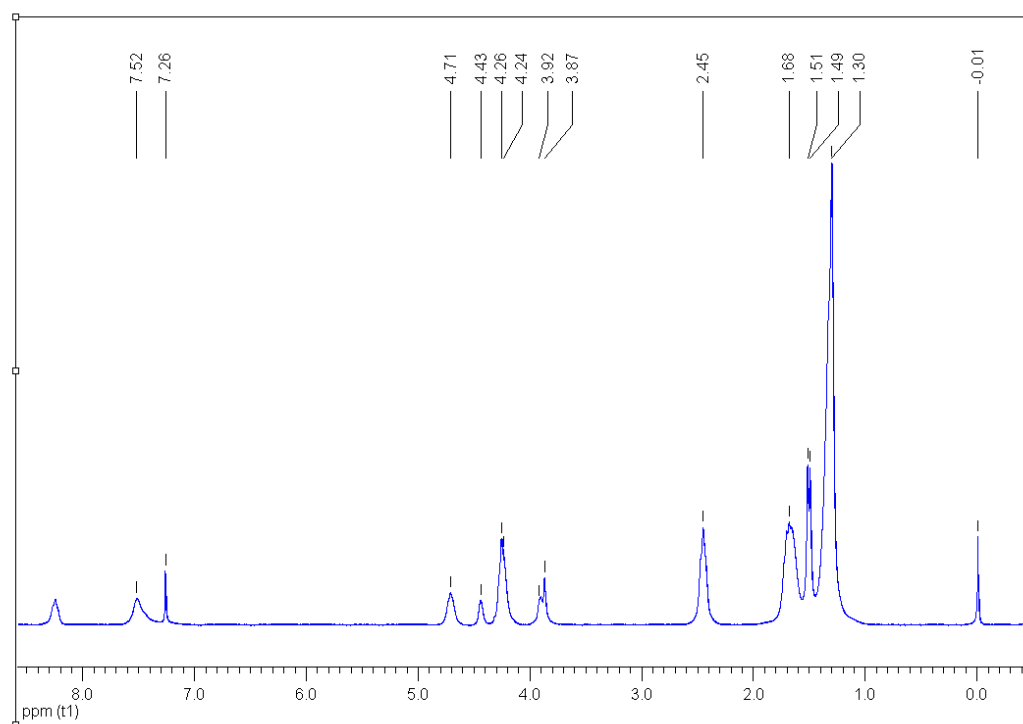


Figura B. 19 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P6G

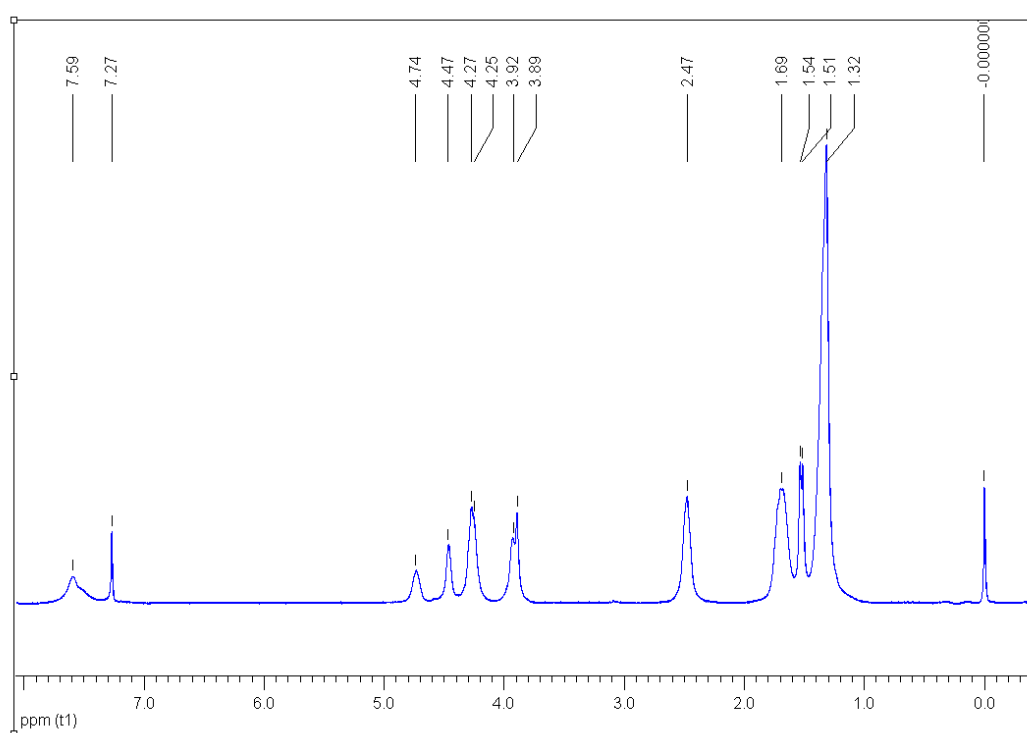


Figura B. 20 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P8G

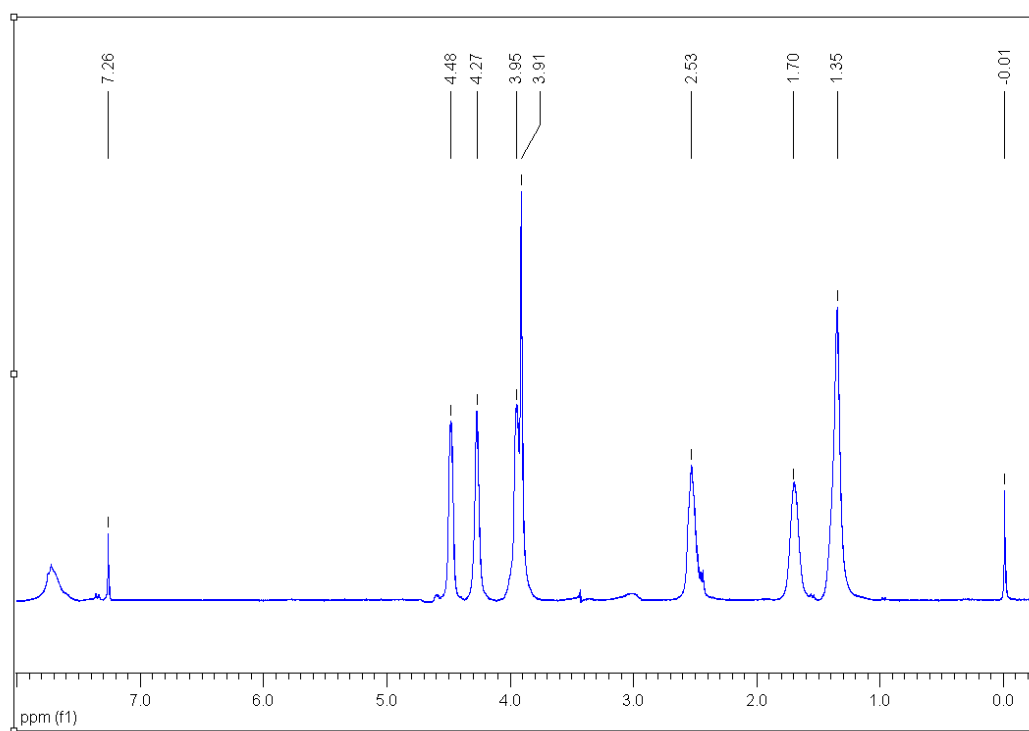
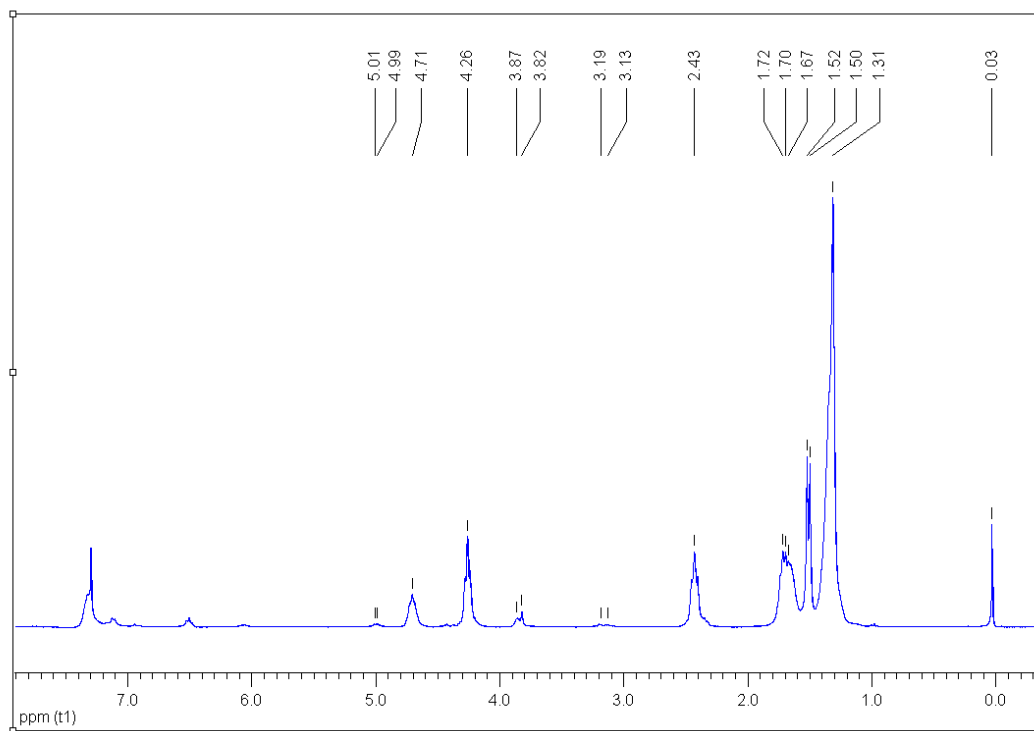
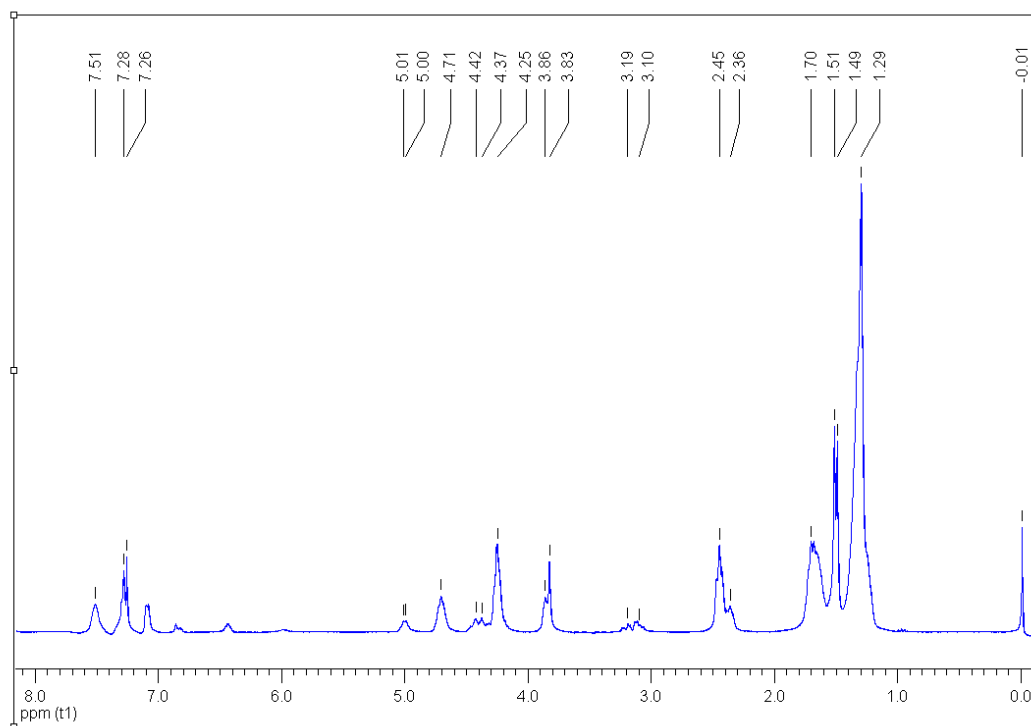


Figura B. 21 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P11G

B.4. Copolímeros P(ADAS-co-F3EGFS)**Figura B. 22** – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P2F**Figura B. 23** – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P4F

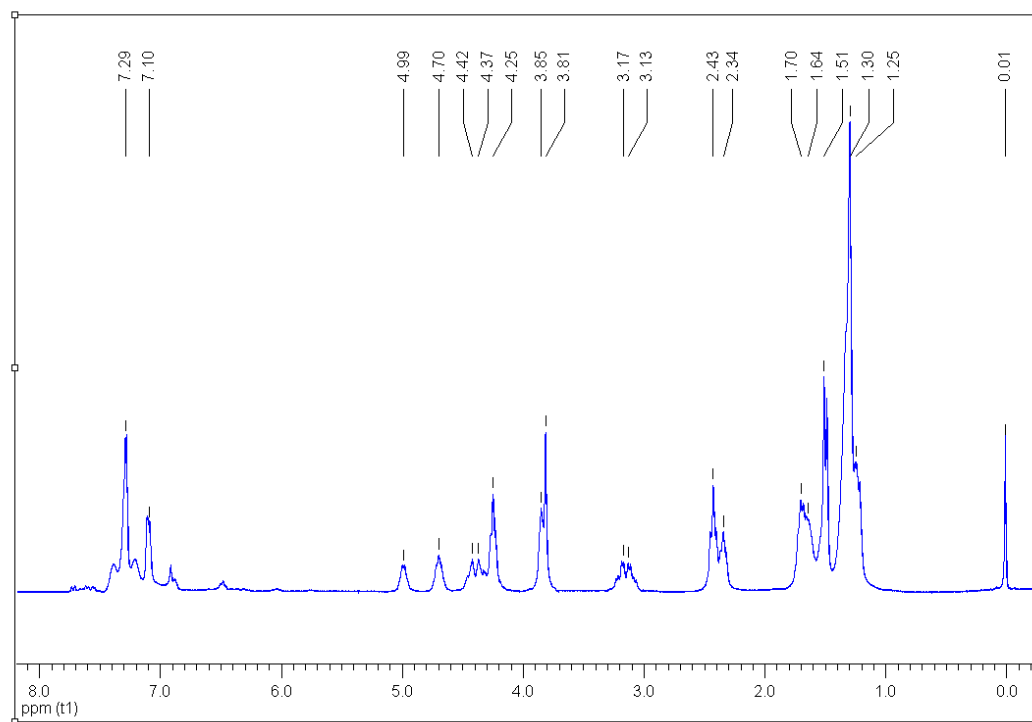


Figura B. 24 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P6F

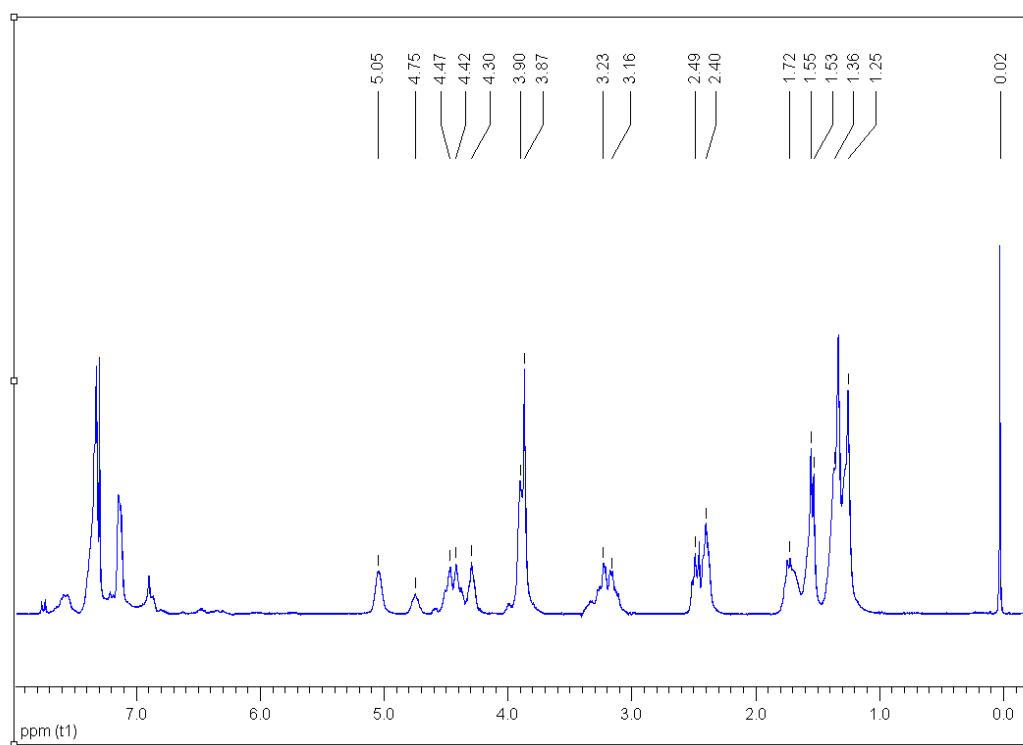


Figura B. 25 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P8F

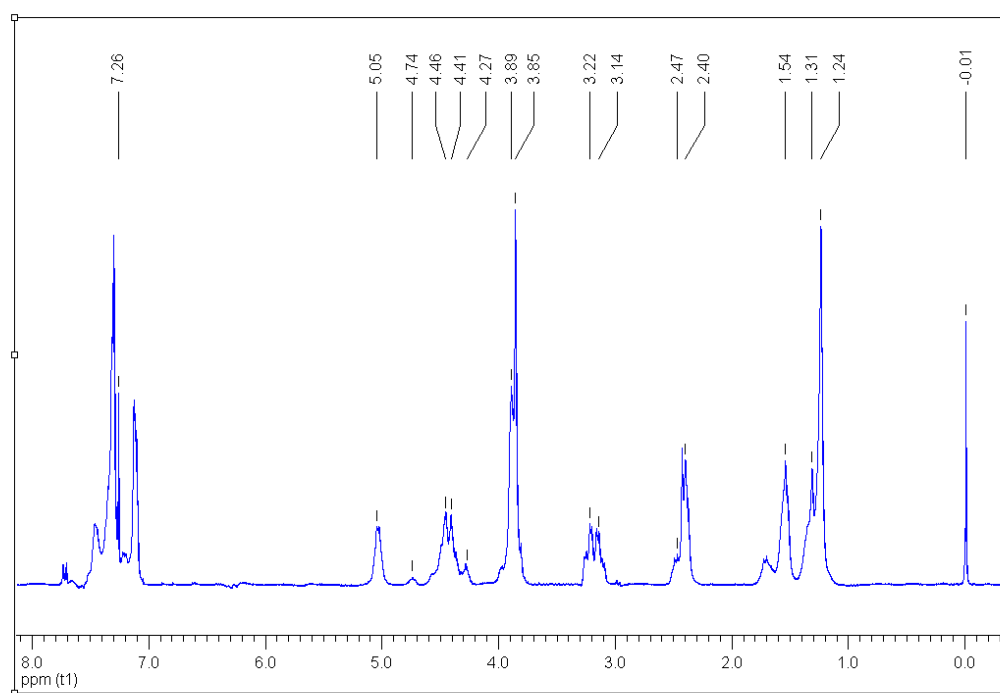


Figura B. 26 – Espectro de ^1H -RMN do copolímero P10F

ANEXO C: Resultados DSC

C.1. Copolímeros P(ADAS-co-A4EGAS)

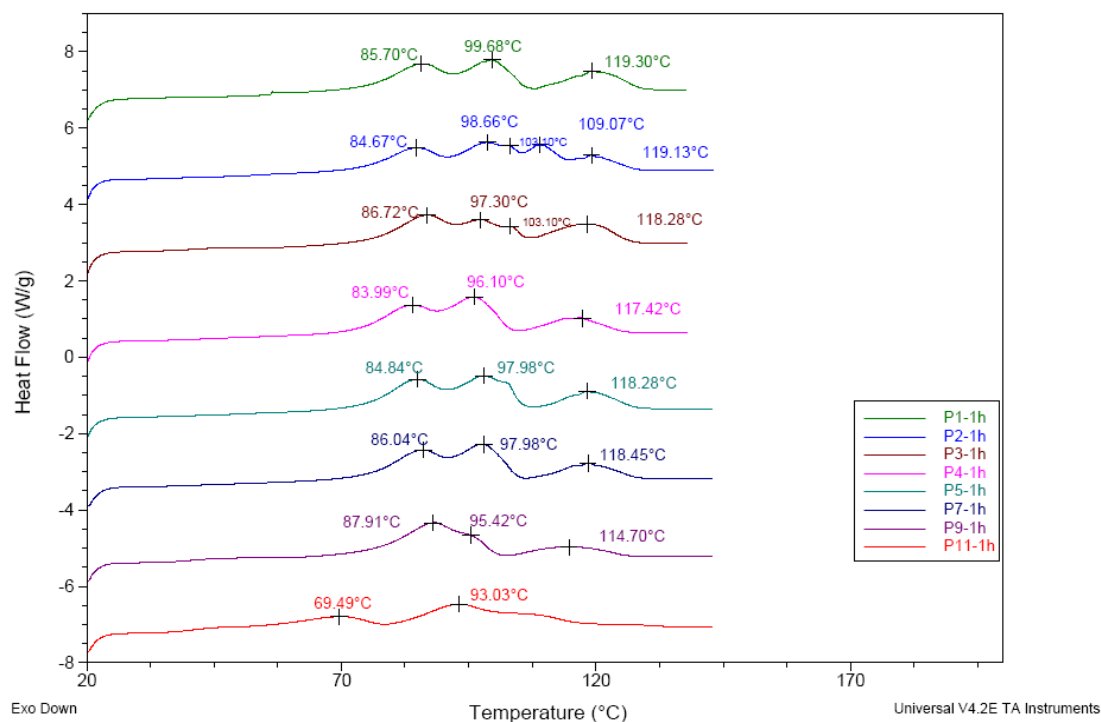


Figura C. 1 – Curvas do 1º varrimento DSC de P(ADAS-co-A4EGAS)

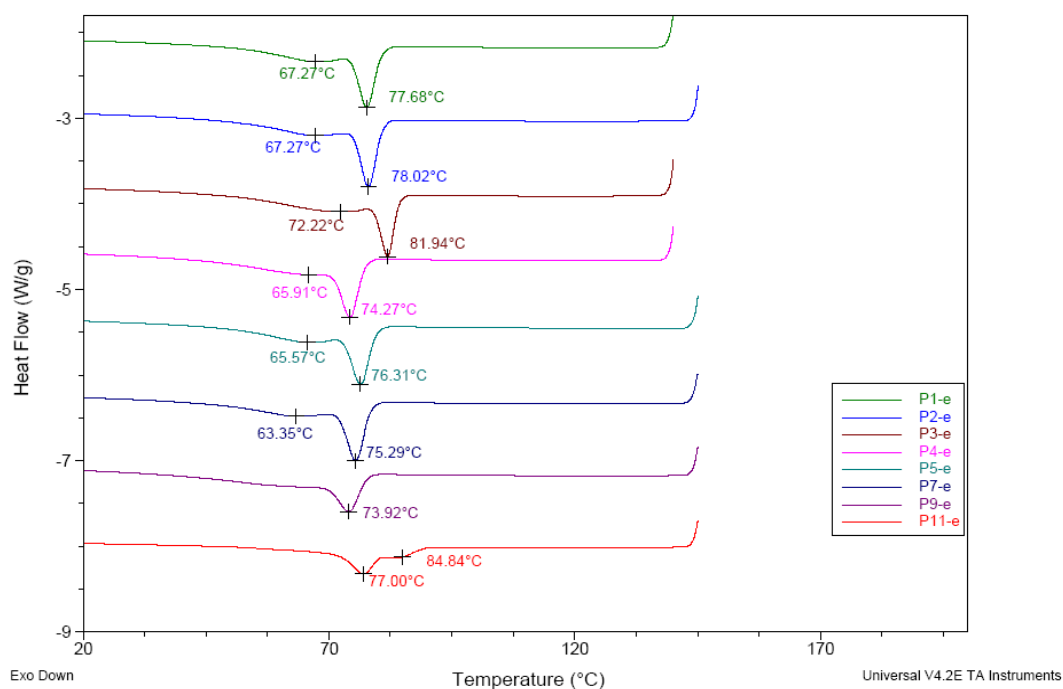


Figura C. 2 – Curvas do 2º varrimento DSC de P(ADAS-co-A4EGAS)

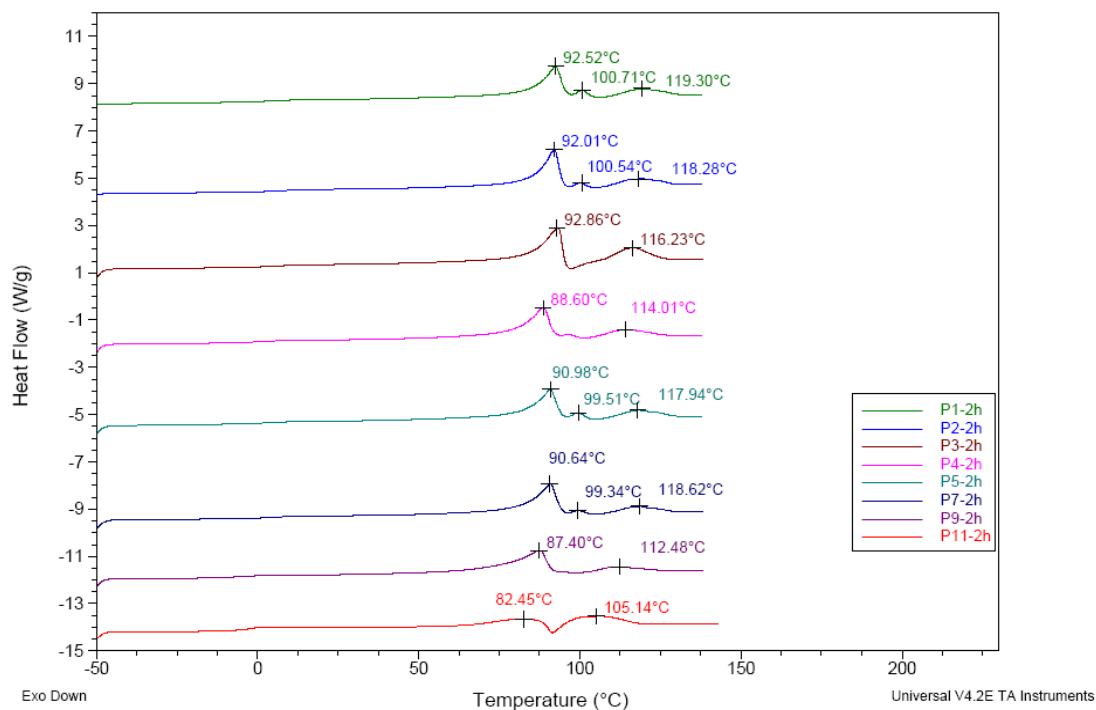


Figura C. 3 – Curvas do 3º varrimento DSC de P(ADAS-co-A4EGAS)

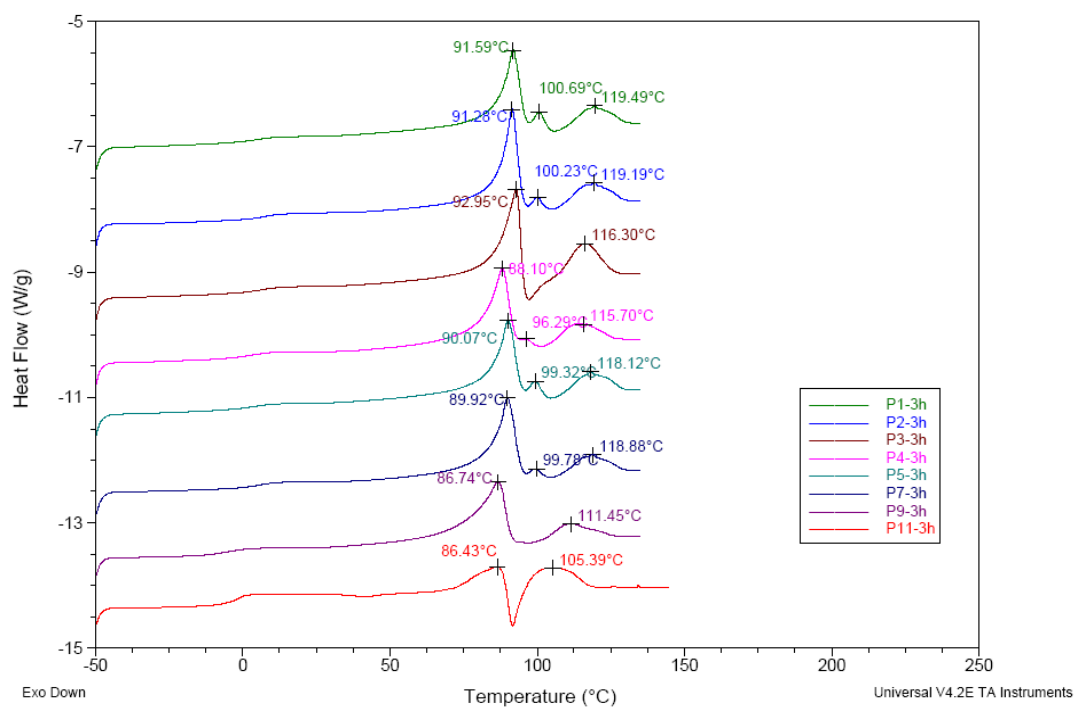


Figura C. 4 – Curvas do 4º varrimento DSC de P(ADAS-co-A4EGAS).

C.2. Copolímeros P(ADAS-co-G3EGGS)

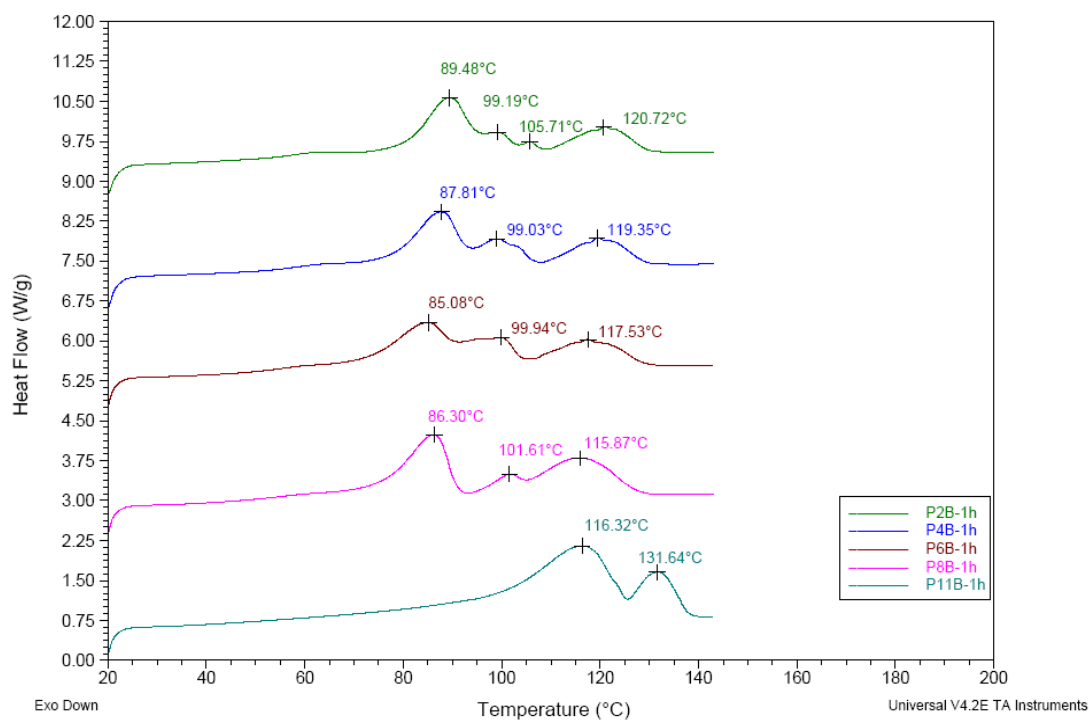


Figura C. 5 – Curvas do 1º varrimento DSC de P(ADAS-co-G3EGGS)

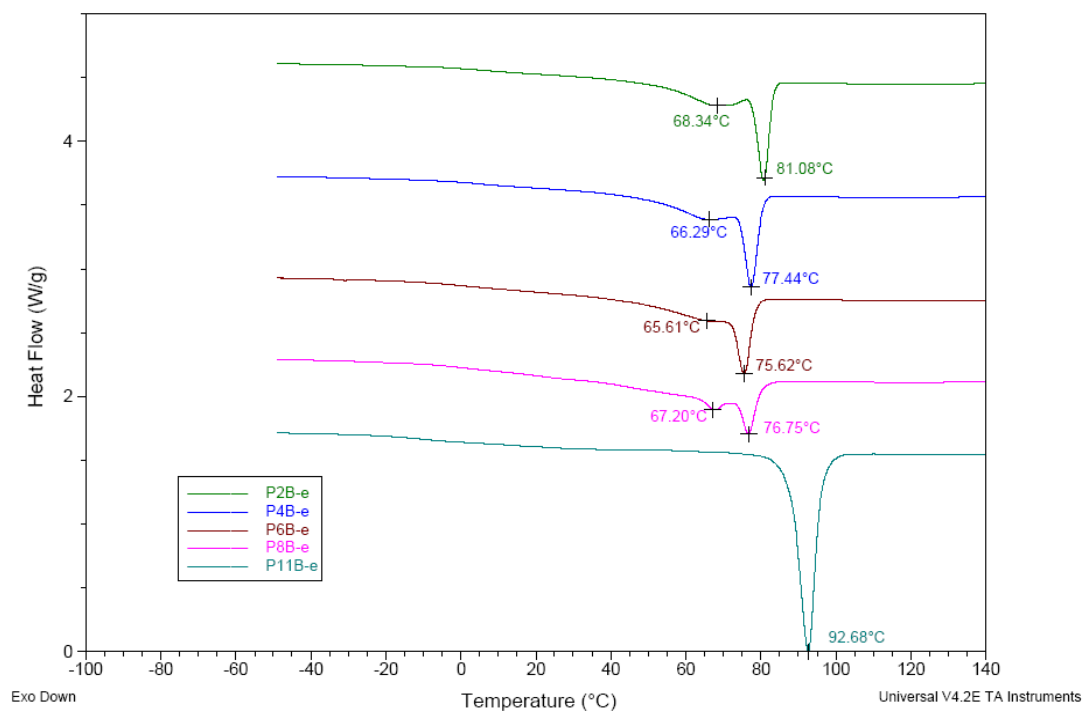


Figura C. 6 – Curvas do 2º varrimento DSC de P(ADAS-co-G3EGGS)

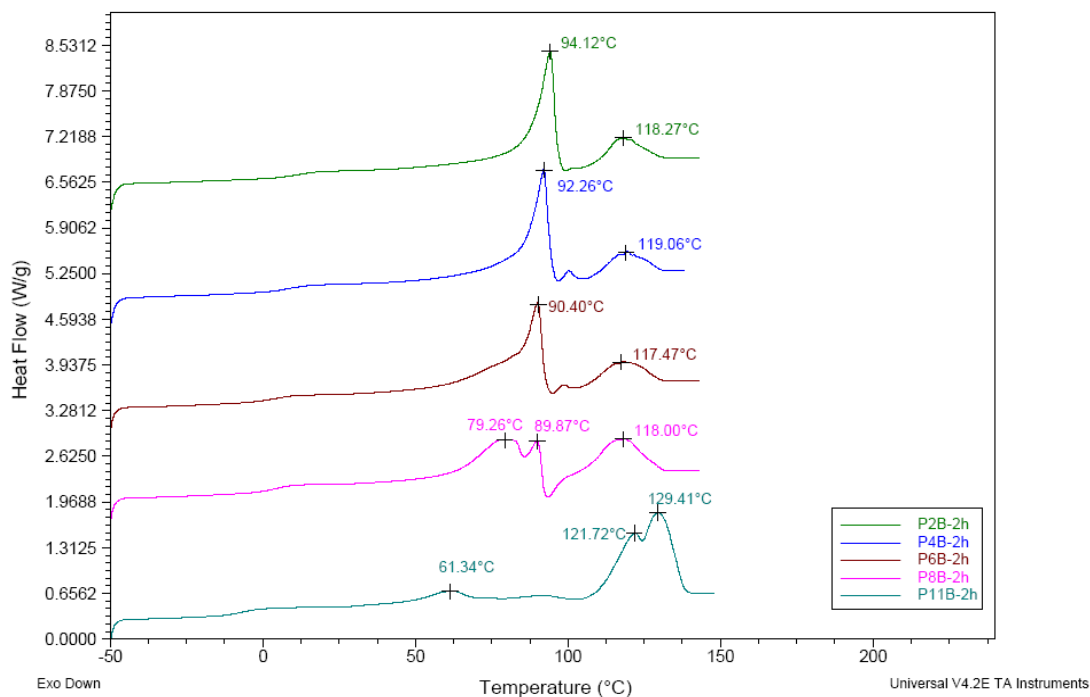


Figura C. 7 – Curvas do 3º varrimento DSC de P(ADAS-co-G3EGGS)

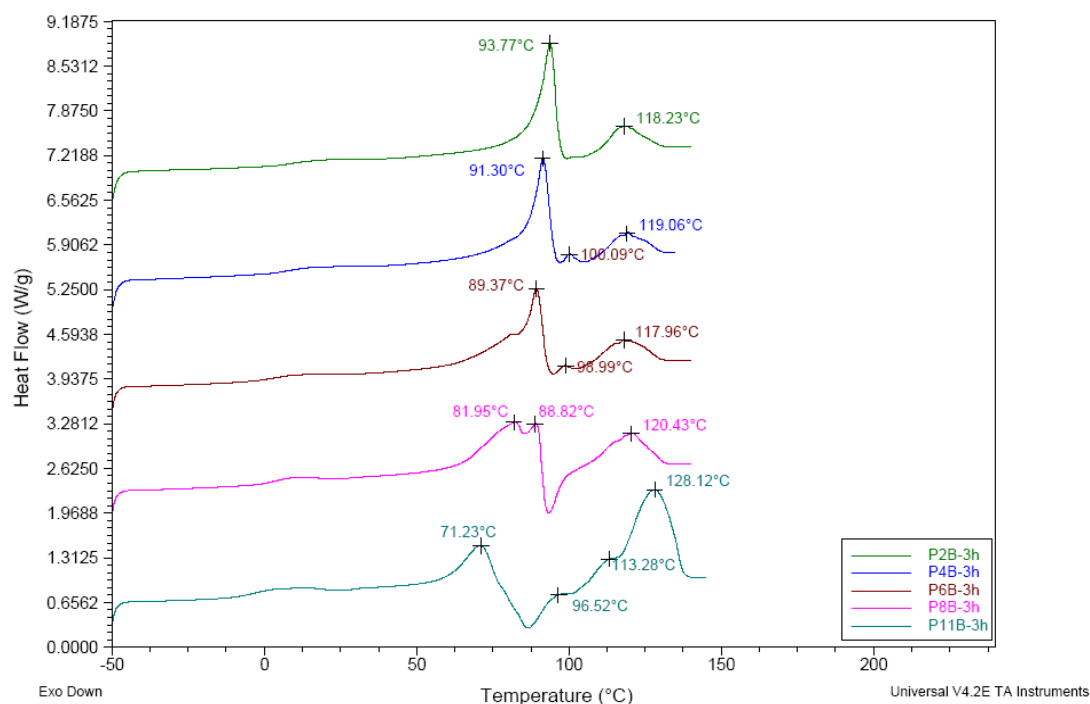


Figura C. 8 – Curvas do 4º varrimento DSC de P(ADAS-co-G3EGGS)

C.3. Copolímeros de P(ADAS-co-F3EGFS)

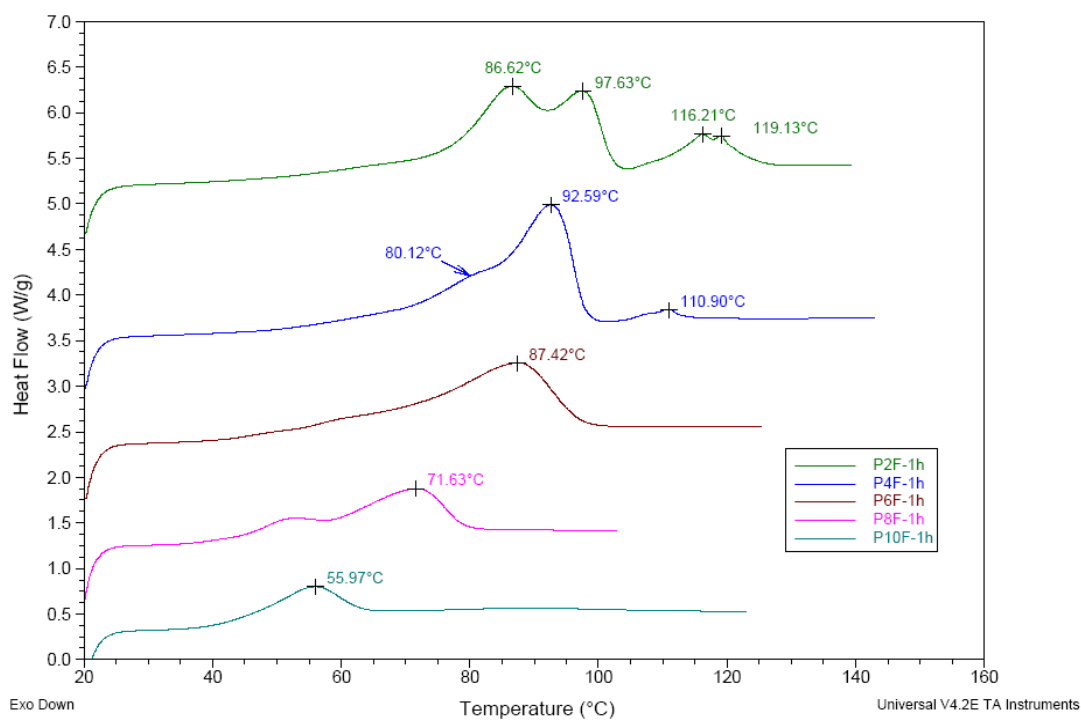


Figura C. 9 – Curvas do 1º varrimento DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)

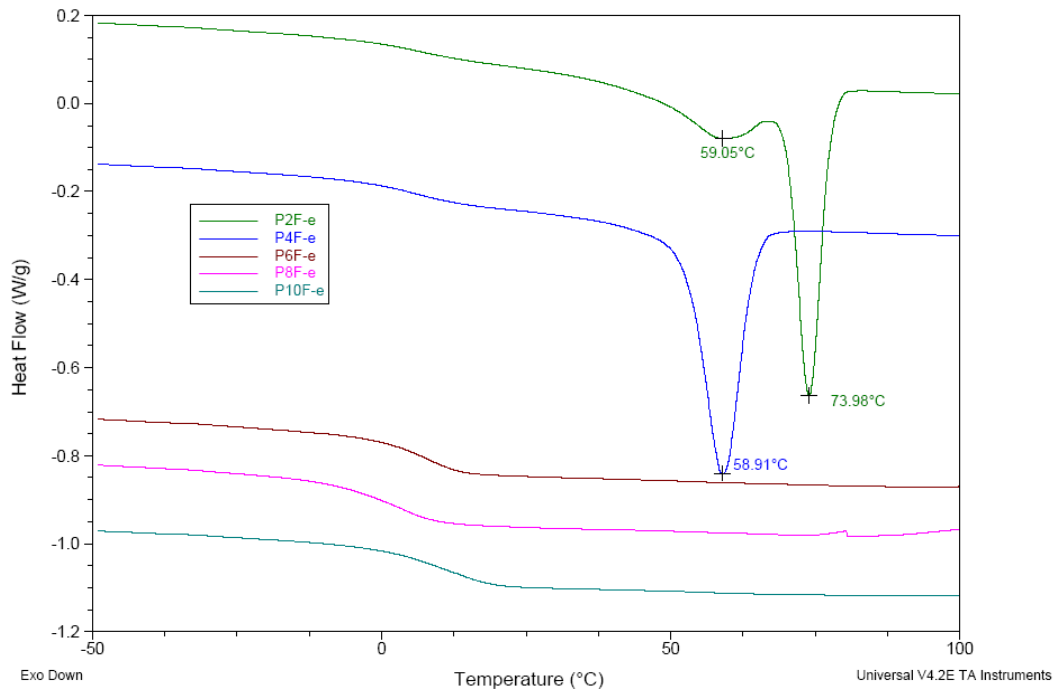


Figura C. 10 – Curvas do 2º varrimento DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)

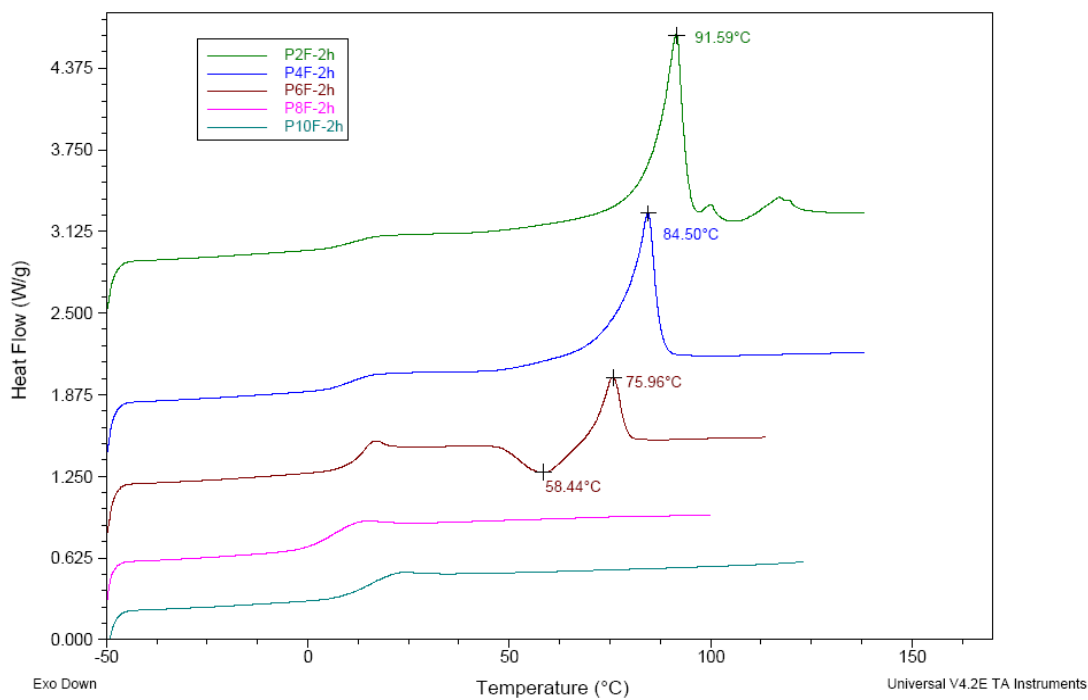


Figura C. 11 – Curvas do 3º varrimento DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)

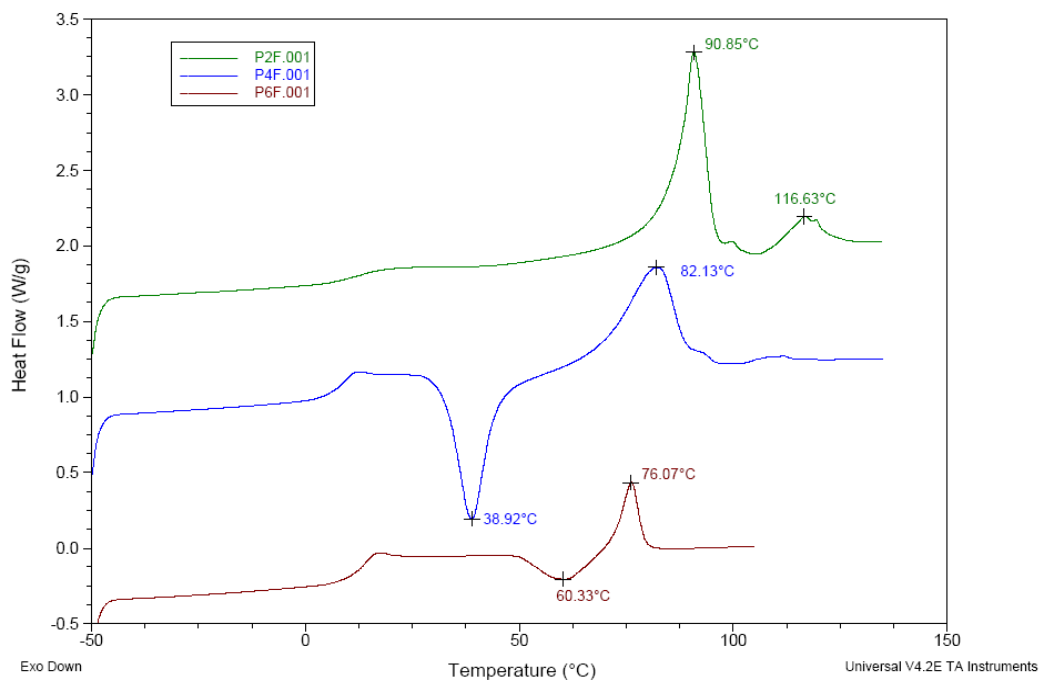


Figura C. 12 – Curvas do 4º varrimento DSC de P(ADAS-co-F3EGFS)

ANEXO D: PADAS

Studies on the Biodegradation and Biocompatibility of a New Poly(ester amide) Derived from L-Alanine

N. PAREDES,¹ A. RODRIGUEZ-GALÁN,¹ J. PUIGGALÍ,¹ C. PERAIRE²

¹ Departament d'Enginyeria Química, ETS d'Enginyers Industrials, Universitat Politècnica de Catalunya, Diagonal 647, Barcelona 08028, Spain

² Centro de Investigación y Desarrollo Aplicado, s.a.l., Argenters 6, Sta Perpetua de Mogoda 08130, Spain

Received 23 June 1997; accepted 15 January 1998

ABSTRACT: A new poly(ester amide) derived from L-alanine has been synthesized and characterized. The polymer has good fiber- and film-forming properties, as well as other characteristics like thermal stability and solubility in chloroform, which enhance its processing facilities. Degradation studies show that both pH and temperature influence in the hydrolysis rate that takes mainly place through the ester linkages. Degradation was also studied by using different enzymes. Results indicated that papain was the most efficient of these, and that the hydrolysis to water-soluble products could be attained in a few days. Basal cytotoxicity was assayed using a mouse L929 fibroblast permanent cell line. The MTT viability test was performed with liquid extract of the material (50 days, 37°C). An attachment and proliferation screening study with intact material was also carried out. No cytotoxic responses were detected, in either assay, after a 24- and 48-h incubation period with the cells. After 72 h a slight cytotoxicity was detected in the polymer material, while a more significant one was detected in the material extract. © 1998 John Wiley & Sons, Inc. *J Appl Polym Sci* 69: 1537–1549, 1998

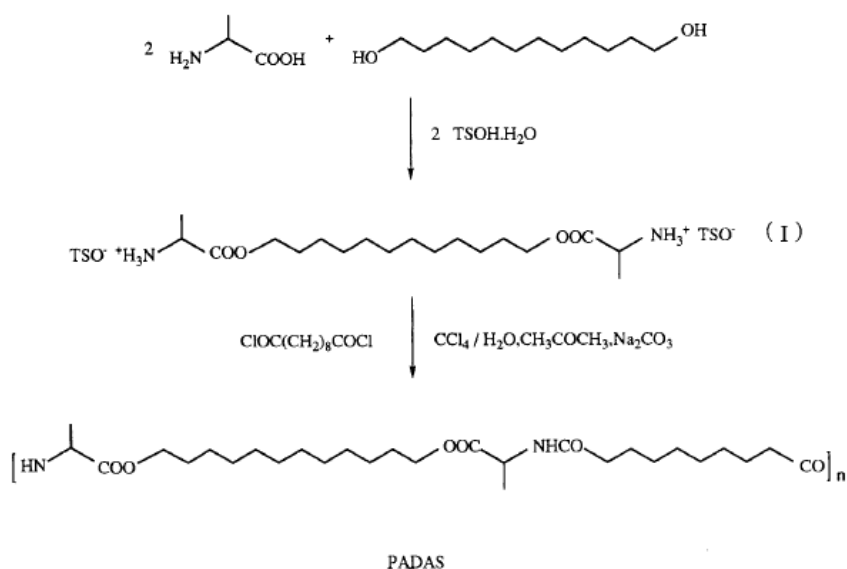
Key words: biocompatibility; enzymatic degradation; hydrolytic degradation; poly(ester amide); L-alanine

INTRODUCTION

The biodegradation of synthetic polymers is a subject of considerable interest for environmentalists and industrialists. A considerable effort has also been made to obtain polymers with appropriate properties for biomedical applications such as bioabsorbable sutures, bone fixation, and implants. Although several series of aliphatic polyesters (mainly derived from lactic¹ and/or glycolic² acids) are commercially available for

these purposes, they still lack certain optimum properties such as mechanical, thermal, and processing³ properties. Different nylons have also been investigated because the hydrogen bond interactions between neighboring chains may improve some of these properties. However, their rate of degradation proves too small for them to be considered as commercial biodegradable polymers. Inclusion of α -amino acids favors the susceptibility to enzymatic degradation. Thus, different poly(α -amino acids)⁴ and nylons containing α -amino acids (i.e., copolymers of 6-aminohexanoic acid and glycine,^{5,6} and 11-aminoundecanoic acid and L-alanine⁷) have been tested. In general, these materials are difficult to process, especially when the amide/methylene ratio is high. Aliphatic poly(ester amide)s have been suggested and recently in-

Correspondence to: J. Puiggali.
Contract grant sponsor: CICYT; contract grant number: MAT-97-1013.
Contract grant sponsor: Comissió Interdepartamental de Recerca i Innovació Tecnològica.
Journal of Applied Polymer Science, Vol. 69, 1537–1549 (1998)
© 1998 John Wiley & Sons, Inc. CCC 0021-8995/98/081537-13



Abbreviations:
TSOH: *p*-toluenesulfonic acid

PADAS: Polyesteramide derived from L-alanine (A), 1,12-dodecanediol (D) and sebacic acid (S).

Scheme 1

vestigated⁸ as a potential family of polymers with optimum behavior: mechanical and thermal due to the amide groups and degradability due to the ester groups. In this work we study a poly(ester amide) derived from an α -amino acid like L-alanine and, therefore, with a potentially enhanced biodegradability. The synthesis of related polymers from α -amino acid glycol esters and dicarboxylic acids has been previously reported.⁹

EXPERIMENTAL

All chemicals were ACS grade and used without further purification. The polymer (PADAS) was synthesized from the α -amino acid glycol ester according to the two-step methodology previously reported for other derivatives and outlined in Scheme I.

Monomer Synthesis

A three-necked round-bottom flask equipped with a CaSO_4 drying tube, magnetic stirrer, and a Dean-Stark apparatus was charged with L-alanine (0.272 mol), *p*-toluene-sulfonic acid monohydrate (0.272 mol), dodecanediol (0.123 mol), and toluene (750 mL). Then, the reaction medium was refluxed until no more water was distilled out (10 h). The mixture was cooled at room temperature and then a viscous oil separated from the toluene solution. After drying at vacuum, the recovered hard solid was recrystallized twice from isopropanol to give 64 g (75%) of a white solid; m.p. 168–169°C.

IR (KBr) 2922 and 2850 (CH_2), 1738 ($\text{C}=\text{O}$); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3/TFA) δ 7.7–7.2 (8H, m, Ar-H), 4.30 (2H, m, CH), 4.21 (4H, m, COOCH_2), 2.41 (6H, m, Ar- CH_3), 1.72 (6H, d, CHCH_3), 1.65 (4H, m, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2$), 1.30, (16H, m, $\text{COOCH}_2\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_8$).

ANAL. Calcd. for $C_{32}H_{52}N_2O_{10}S_2$: C, 55.73; H, 7.55; N, 4.06. Found: C, 55.80; H, 7.46; N, 4.02.

Polymerization

The poly(ester amide) was synthesized by interfacial polymerization of the monomer (I) and sebacoyl dichloride. The method was adapted from the general procedure used for the synthesis of nylons¹⁰ that has been employed by Huang for poly(esteramides).⁹

A solution of the monomer (0.033 mol) and the proton acceptor (0.066 mol of Na_2CO_3) in a mixture of water (340 mL) and acetone (22 mL) was added to 225 mL of a solution of the dichloride (0.033 mol) in CCl_4 . Although a brittle film immediately appeared in the interphase, the polymerization was optimized when the reaction mixture was stirred at high speed in a reactor vessel. After 30 min, the polymer was filtered and repeatedly washed with CCl_4 , water, ethanol, and ether before drying in a vacuum desiccator at 60°C.

Molecular Weight Determination

The intrinsic viscosity of the samples was determined by measurement with a Cannon-Ubbelohde microviscometer in dichloroacetic acid solutions at $25 \pm 0.1^\circ C$. The molecular weight distributions (M_n , M_w , and polydispersity index) were measured with a GPC apparatus (Water Assoc., Model 510) equipped with a Maxima 820 computer program. M_n and M_w values are indicative because they were calculated using polystyrene standards (Polysciences). A set of two μ -Styragel (Polymer Lab.) columns with limited exclusion molecular weight of 10^4 and 10^3 and a RI 410 (Water Assoc.) detector were used. The polymer was dissolved and eluted in chloroform at the flow rate of 0.5 mL/min (injected volume 100 μ L, sample concentration 0.35% w/v).

Spectroscopy

Infrared absorption spectra were recorded from potassium bromide pellets with a Perkin-Elmer 1600 FTIR spectrometer in the 4000–500 cm^{-1} range. NMR spectra were registered from polymer solutions in deuterated chloroform using tetramethylsilane (TMS) as an internal standard. A Bruker AMX-300 spectrometer operating at 300.1 and 75.5 MHz was used for ^1H - and ^{13}C -NMR investigations, respectively. A sine bell window

function was employed in the Fourier transform of 2d NMR data matrices to suppress peak broadening.

Thermal Analysis

The thermal behavior was studied by differential scanning calorimetry with a Perkin-Elmer DSC-4 and a Mettler DSC-30 to determine the melting (T_m) and glass transition (T_g) temperatures of the samples. Indium metal was used for calibration purposes ($T_m = 429.75$ K, $\Delta H_f = 3.267$ kJ/mol). Thermogravimetric analysis was carried out with a Mettler TG50 thermobalance. Unless otherwise noted, heating and cooling rates were $10^\circ C/min$. All experiments were done under a flow of dry N_2 , through the calorimeter.

X-ray Diffraction

Powder X-ray diagrams were recorded under vacuum conditions at room temperature and calcite ($d_B = 3.035$ Å) was used for calibration. A modified Statton camera (W. H. Warhus, Wilmington, DE) with a nickel-filtered copper radiation of wavelength 1.542 Å was used for these experiments.

Degradation Studies

Samples for hydrolytic and enzymatic degradation studies were prepared by melt pressing at ca. $110^\circ C$ ($10^\circ C$ below the melting temperature of the polymer). Discs with a diameter of 12 mm were prepared and those with a thickness of 200–300 μm and a weight of 30–45 mg were selected. For the hydrolysis experiments each disc was kept in bottles filled to 30 mL with one of the following buffers: (a) 0.1 aqueous Na_2HPO_4/KH_2PO_4 (pH 7.4); (b) 0.1M aqueous citrate/HCl (pH 2.3); (c) 0.1M aqueous $Na_2CO_3/NaHCO_3$ (pH 10.6). Sodium azide (0.03 wt %) was used to prevent microbial growth. Two temperatures were selected for hydrolysis so the vials were kept in ovens maintained at 37 and $70^\circ C$. After the immersion time, the retrieved samples were thoroughly rinsed with water, dried to constant weight in vacuum, and stored over $CaCl_2$ before analysis.

The enzymatic degradation with papain was carried out in a 0.05M phosphate buffer (pH 6.0). Papain (30 000 USP-U mg^{-1} No. 7144) was purchased from Merck, and was used without further recrystallization. The proteolytic enzyme was activated in the buffered solution with 34 mM L-

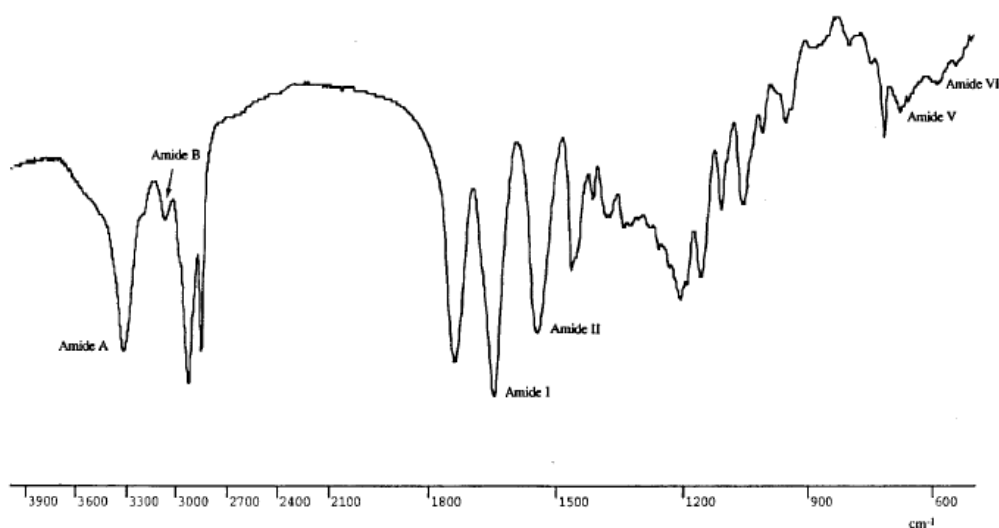


Figure 1 Infrared spectra of PADAS. Note the relative sharp band corresponding to the Amide I mode, which is indicative of a unique type of hydrogen bonds.

cysteine and 30 mM ethylenediaminetetraacetic disodium salt in a procedure similar to that proposed by Arnon.¹¹ Sodium azide (0.03 wt %) was also used. The stability of the enzyme under experimental conditions was controlled by the use of a high molecular-weight substrate such as casein. The activity of the papain was determined by measuring the absorbancy of the solution at 280 nm. Polymer samples were placed in small bottles containing 10 mL of the enzymatic medium. The reaction solution was incubated at 37°C from 1 to 360 h and the enzyme solution was renewed after every 72 h because of the enzymatic activity loss (around 15%). After incubation, the retrieved samples were washed and dried as indicated before for the hydrolytic experiments. In all cases, the mass loss and the intrinsic viscosity of the samples were evaluated.

Degradation in a cell culture media was carried out by using minimum essential medium (MEM) with Earle's salts (Sigma 0268). Films were prepared by slow evaporation of polymer solutions in CHCl_3 (10% w/v) and cut into discs similar in diameter, weight, and thickness to those used for hydrolytic degradation. The discs were placed in a tissue culture multiwell plate, where each well was filled to 1.5 mL with the culture medium. After incubation at 37°C, the samples were treated as previously indicated.

Biocompatibility

For the cytotoxicity studies, a film of the polymer was prepared by the slow evaporation at 37°C, of a dilute chloroform solution (10% w/v) onto Petri dishes. Subsequently, the film was cut into discs with a diameter of 6 mm (surface (S): 0.28 cm²) for the evaluation of polymer basal cytotoxicity and into a film of 12 cm² for the evaluation of the cytotoxicity of the degradation products. The samples were sterilized by gamma irradiation using a dose of 25 kGy. The permanent cell line used was L929 mouse fibroblast (ATCC, CCL1, NCTC 929) cultured in MEM, 10% Foetal Calf Serum (JRH Bioscience), 1% Penicillin–Streptomycin, and 1% Glutamine.

The basal cytotoxicity of the polymer was determined by using standard methods.^{12,13} To detect the cytotoxicity of the intact material, 1×10^4 L929 mouse fibroblasts were seeded onto each material and negative control samples. We used tissue-culture grade polystyrene plastic (NUNC) as a negative control and a phenol solution of 0.64 mg/mL as positive cytotoxic control. The cultures were incubated for 24, 48, and 72 h at 37°C and 5.5% of CO_2 . After that, the cellular counts were carried out with a micrometric eye piece. The kinetic growth and doubling time were calculated. The level of cytotoxicity for each parameter was calculated as a percentage of the corresponding

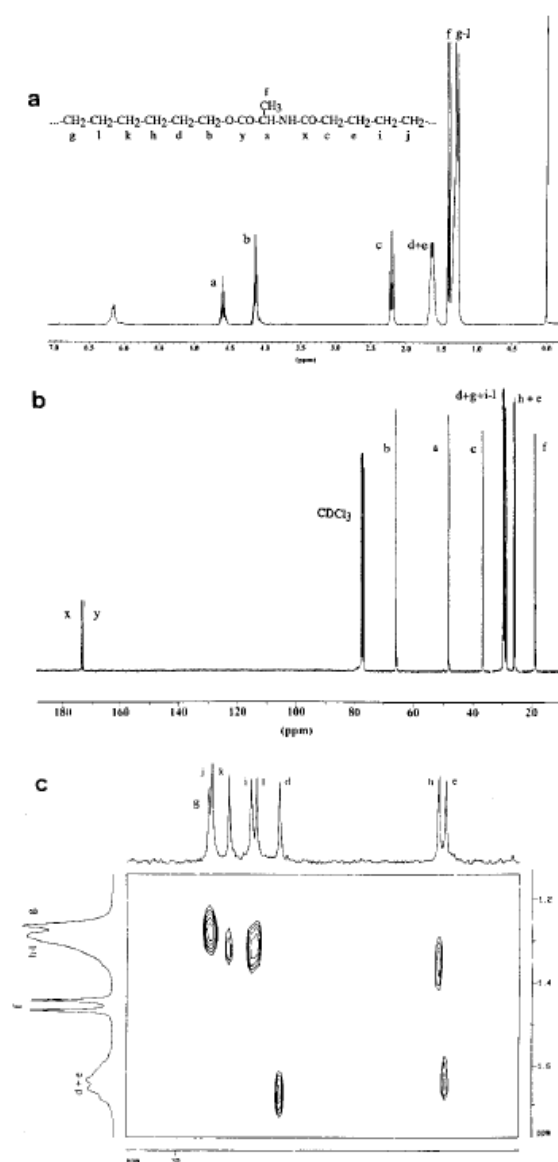


Figure 2 ^1H (a), ^{13}C (b) and two-dimensional (c) NMR spectra of PADAS. Assignment of peaks is carried out according to the inset scheme that represents half of the symmetric repeat unit.

values for the negative control group (a substance is considered cytotoxic if this percentage is greater than 25%).

The cytotoxicity of the products released was evaluated with a cell metabolic test. The material was previously incubated in MEM for 50 days at 37°C and an initial PH of 7.2, in a borosilicate glass container (with a surface/volume ratio of 3

cm^2/mL) without agitation. Other containers with the same extraction vehicle but without the test material were prepared under the same conditions to provide controls for the testing procedure. At the end of the incubation period, the material extract and controls were put in contact with semiconfluent cultures in 96-well plates, at selected concentrations (100, 50, 25, and 10%). A phenol solution at concentration of 6.4 mg/mL was used as a positive control. Three cultures were evaluated for each time point, concentration, and material tested (screening study). After 24 and 72 h of incubation at 37°C and 5.5% of CO_2 , the metabolic activity test (MTT, water-soluble tetrazolium dye, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) was performed. The optical density was measured at 540 nm.

RESULTS AND DISCUSSION

Synthesis and Characterization

The polymer was obtained with a high yield and purity from interfacial polymerization. Thus, a yield of around 80–90% was found in all the polymerizations carried out, being the best elemental analysis: C, 65.63; H, 9.73; N, 5.07. Calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_6$: C, 65.88; H, 9.80; N, 5.49. A limited intrinsic viscosity of ca. 0.60 dL/g was found although different reaction conditions were tested to increase the degree of polymerization. Thus, the proportion of acetone used to solubilize the L-alanyl monomer (I) in the aqueous phase was optimized as well as other factors like the types of proton acceptor and organic solvent.

Average molecular weights of 9000 and 24,100 for M_n and M_w (polydispersity index of 2.67) could be deduced from the GPC analysis. However, the molecular weight was sufficient to give film- and fiber-forming properties. PADAS shows good solubility in strong acids as is usual in polyamides (formic, dichloroacetic, and trifluoroacetic acid) and polar organic solvents like dimethylsulfoxide, dichloromethane, and chloroform, which enhance the processing facilities from solution. The infrared spectrum (Fig. 1) of the PADAS polymer shows the characteristic absorptions bands corresponding to the amide (3316, 3072, 1650, 1540, 684, and 584 cm^{-1}), methylene (2924, 2844, and 722 cm^{-1}), and ester (1740, 1160, and 1060 cm^{-1}) groups. It should be noted that the appearance (single peaks with no shoulders) and the position of the amide bands indicate a strong and unique

Table I Assignment of the ^1H - and ^{13}C -NMR Spectra from Deuterated Chloroform Solutions of PADAS (δ , ppm)

	g	l	k	h	d	b	y	a	f	x	c	e	i	j
	$\sim\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—OOC—CH(CH}_3\text{)—NH—CO—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\sim$													
^1H	1.30	1.30	1.30	1.30	1.63	4.13		4.59	1.39	6.14		2.20	1.63	1.30
^{13}C	30.30	29.51	29.96	25.79	29.13	65.62	172.6	47.96	18.70		173.4	36.51	25.52	29.60

kind of hydrogen bonds. Thus, no evidence of amide–ester hydrogen bonds has been detected, although their coexistence with the amide–amide hydrogen bonds has been reported in some cases.¹⁴ Moreover, these absorptions and specifically those corresponding to the high conformationally sensitive region of $700\text{--}500\text{ cm}^{-1}$ appear very close to the characteristic values of nylons in their extended conformation¹⁵ (i.e., 690 and 580 cm^{-1} for the Amide V and VI bands of nylon 6 in its α -form, respectively). Note also that the position of the Amide I is closer to the expected

value for nylons in their extended conformation than is expected for poly(α -amino acid)s in their β -sheet structure¹⁶ (1645 vs. 1630 cm^{-1}).

NMR spectra (^1H and ^{13}C) are fully consistent with the anticipated polymer constitution [Fig. 2(a) and 2(b)]. Two-dimensional NMR was also recorded to ensure a rigorous and detailed assignment (Table I) in terms of coupling/decoupling among the nuclei as shown in Figure 2(c). In agreement with the molecular weight measurements we could not detect any peak corresponding to terminal groups in both NMR spectra.

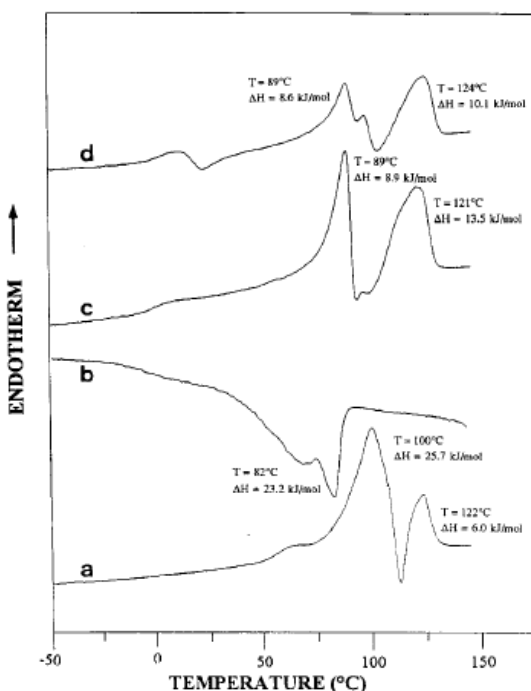


Figure 3 Sequence of four DSC traces for a PADAS sample recovered directly from the synthesis medium: run a, heating of the original sample; run b, cooling; run c, reheating; run d, reheating after fast cooling. Rate in all cases was $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

Thermal Behavior

All fusion data (temperatures and heats of fusion) are included in Figure 3 for the four runs performed with the polymer sample coming directly from polycondensation. In the first run [Fig. 3(a)] the sample was heated at $10^\circ\text{C}/\text{min}$ through fusion and left in the melt for 2–3 min. Subsequent cooling was performed at the same speed to observe crystallization from the melt [Fig. 3(b)]. A second heating was performed to check the reproducibility of the transitions and get data for the melt-crystallized sample [Fig. 3(c)]. Figure 3(d) corresponds to the heating run of a melt-quenched sample to the lowest temperature that can be achieved, -100°C , to observe glass transition and determine whether crystallization could be suppressed. This calorimetric analysis indicates thermal stability because there are well-behaved melt baselines after fusion and the transitions observed on heating are reproducible. In general, the thermograms contain well-defined peaks corresponding to both melting and crystallization transitions. Double melting peaks are seen in all the heating runs, a very common observation in thermal studies of polyamides.¹⁷ These studies indicate that the double-peak effect is the result of a recrystallization process affecting the population of smaller crystals with a lower melting point. To corroborate this assertion for the PADAS poly-

(ester amide) we registered the DSC thermograms at different heating rates (Fig. 4). It can be seen that the DSC scans registered at increasing heating rates show a significant increase in the heat of fusion associated with the low-temperature endotherm, while the total amount of energy absorbed by the sample remains approximately constant. Such evolution is the familiar pattern associated with "reorganization" during heating. Note that, at the low heating rates (lower than 20°C/min) a small exotherm indicative of cold crystallization precedes the higher melting peak, the latter being entirely suppressed when the heating rate is 80°C/min. These cold crystallization peaks can also be clearly observed in the melt-crystallized and melt-quenched samples at a heating rate of 10°C/min [Fig. 3(c) and (d)]. On the other hand, X-ray diffraction data from different samples, as described below, permit us

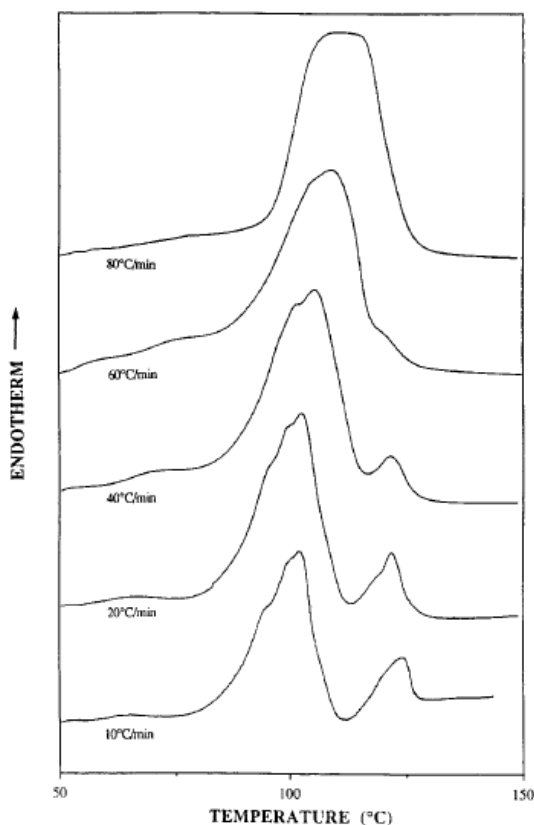


Figure 4 Thermograms of PADAS obtained with scanning rates ranging from 10°C/min to 80°C/min. Note that the cold crystallization and the high melting peaks disappear when the scanning rate increases.

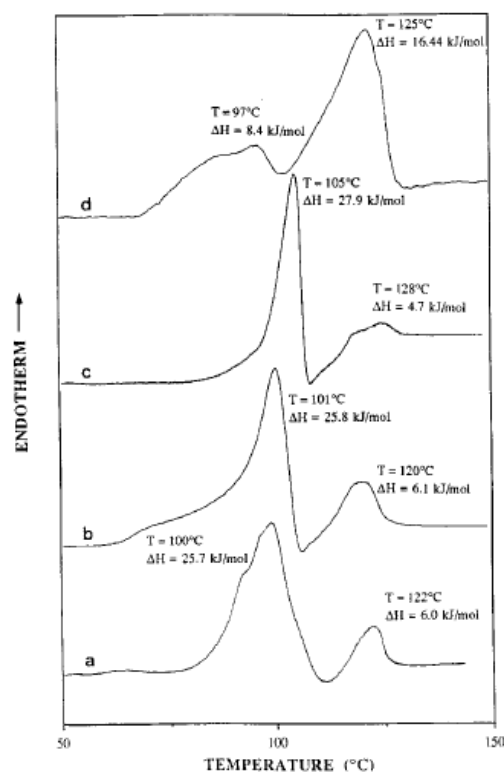


Figure 5 DSC traces of different samples of PADAS: (a) polymer coming directly from polycondensation; (b) film prepared by slow evaporation from a chloroform solution; (c) polymer crystallized in a butanediol solution at 50°C; (d) film prepared by melt pressing. The heating rate in all cases was 10°C/min.

to discard a polymorphic transition. A glass transition temperature of 0.7°C can be deduced from Figure 3(d) where an additional cold crystallization peak at 22°C can be observed. This glass transition temperature is intermediate between those temperatures expected for similar polyesters and polyamides.¹⁸ However, a baseline change at 56.4°C and very close to the characteristic T_g of related polyamides is clearly observed in Figure 3(a). This fact may suggest that segments constituted by amide groups are predominant in the amorphous material of samples recovered from polycondensation. Sample preparation greatly affects the crystallinity and the distribution of the populations of crystals. Figure 5 compares the first heating run of different samples: (a) PADAS sample obtained directly from polycondensation, (b) film prepared by slow evaporation of a chloroform solution, of the type that will be used in the

Table II Experimental Heats of Fusion and Estimated Crystallinities for Different PADAS Samples

Sample	ΔH_1 (kJ/mol) ^a	ΔH_2 (kJ/mol) ^a	% W_c ^b
Recovered from polymerization	25.7	6.0	35.8
Melt crystallized	8.9	13.5	25.3
Quenched from the melt	8.6	10.1	21.1
Film from chloroform	25.8	6.1	36.0
Crystallized from butanediol at 50°C	27.9	5.7	36.8
Melt pressed	8.4	16.4	28.1

^a The heats of fusion ΔH_1 and ΔH_2 correspond to the first and second melting peaks, respectively.

^b Crystallinity evaluated supposing a ΔH_f^0 of 88.4 kJ/mol according to the group contributions¹⁹ to the heat of fusion.

citotoxicity essays, (c) polymer crystallized in a diluted 1,4-butanediol solution at 50°C, and (d) melt-pressed film, of the type used for degradation studies.

The crystallinity of samples could be evaluated by using the heat of fusion for a 100% crystalline material (ΔH_f^0), which was estimated from the reported¹⁹ group contributions of ester (−2.5 kJ/mol), amide (2.0 kJ/mol), CH(CH₃) (4.7 kJ/mol), and methylene (4.0 kJ/mol). Thus crystallinities around 37% are characteristic of solution crystal-

lized samples, whereas the recovery of crystallinity on melt-crystallized or quenched samples is about 60% [Figs. 3(c), (d), and 5(d)]. Note also (Table II) that, in these samples, the proportion of the high melting peak increases, suggesting a preferential crystallization from the melt in the high temperature state. Figure 6 shows the characteristic X-ray diffraction pattern of the different PADAS samples. In general, the patterns are similar, whichever the melting peak predominating in the sample. This fact gives support to the supposition that the double melting peak does not correspond to a polymorphic transition.

Thermogravimetric analysis shows that PADAS is stable through fusion and so the applicability of the polymer is not impaired. The $T_{d,0}$ decomposition temperature (inclination point in the loss of weight vs. temperature curve) appears at 210°C (more than 80°C after fusion). Fifty percent of weight loss occurs at 330°C in a decomposition process that takes place in two steps. Furthermore, no changes after fusion have been detected in the ¹³C-NMR spectra of samples maintained for 10 min at 140°C. This fact indicates that reactions of transamidation-transesterification do not occur during the melting process.

Hydrolytic Degradation

The hydrolytic degradation of PADAS was carried out at 37°C in buffers of pHs 7.4, 10.6, and 2.3. To verify the influence of the temperature on the hydrolysis an assay at pH 7.4 was also realized at 70°C. Weight loss measurements, GPC analysis and viscosity determinations (Tables III and IV) showed that PADAS is degradable, as indicated by the decreases of the corresponding parameters.

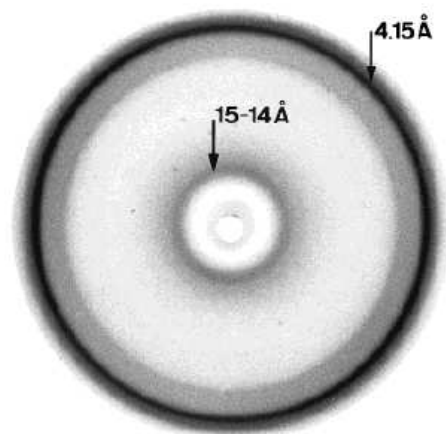


Figure 6 Characteristic X-ray powder pattern of a PADAS sample. In this case the sample was prepared by thermal annealing at 110°C and its thermogram is similar to that depicted in Figure 5(d). Note the high intensity of the 4.15 Å reflection, which is associated to the chain packing as usual in polyamides and polyesters. On the contrary, the low angle reflection (15–14 Å), which is associated to the chain repeat, appears broad and diffuse.

Table III Erosion, Viscosity, and Molecular Weight Changes during the Hydrolytic Degradation of PADAS at 37°C

Degrad. Days	pH = 2.3			pH = 7.4			pH = 10.6		
	% Weight Remaining	$[\eta]^a$ (g/dL)	M_w^b	% Weight Remaining	$[\eta]^a$ (g/dL)	M_w^b	% Weight Remaining	$[\eta]^a$ (g/dL)	M_w^b
0	100.0	0.58	24,100	100.0	0.58	24,100	100	0.58	24,100
2	99.8	0.57	—	—	—	—	100	0.54	23,900
5	99.7	0.54	—	99.5	0.55	23,100	99.5	0.43	—
7	98.6	0.53	22,100	—	—	—	99.5	0.39	22,100
22	99.6	0.48	19,800	97.8	0.48	20,500	99.5	—	21,200
51	98.9	0.41	18,400	98.4	0.44	18,600	98.1	0.33	16,500
75	—	—	—	97.9	0.41	17,200	96.6	0.30	14,900
111	98.7	0.24	16,000	98.8	0.38	—	—	—	—
195	—	—	—	97.6	0.30	12,000	—	—	—
305	—	—	—	94.5	0.25	9,100	—	—	—

^a Intrinsic viscosity measured in dichloroacetic acid at 25°C.^b Molecular weight determined by GPC.

The evolution of the M_w of PADAS during incubation is represented in Figure 7(a), which shows that the relative order of PADAS hydrolytic degradation is as follows: 70°C, pH 7.4 > 37°C, pH 10.6 > 37°C, pH 2.3–37°C, pH 7.4. Observation of this figure clearly demonstrates that PADAS degrades at 37°C in a slow but steady way. The tendency to degradation of PADAS at pH 2.3 and pH 7.4 is nearly identical, but it increases slightly in the basic buffer at pH 10.6.

On the other hand, the influence of temperature on the degradation of PADAS is significant as can be corroborated in Table IV and Figure 7(a). At 70°C and pH 7.4, the molecular weight of PADAS decreases to one-half of its initial value in 6 days, whereas the same change in the buffer

at 37°C and pH 7.4 took place during an interval of 195 days.

Figure 7(b) shows the % weight remaining of PADAS after hydrolytic degradation in the four conditions mentioned above. In general, at 37°C the observed weight losses are minimal. Thus, whatever the pH of the buffers used in the experiments, the weight losses after 75 days of hydrolysis are less than 3.5%. They are similar at pH 2.3 and 7.4, whereas a slightly superior value is observed at pH 10.6. When the experiment at 37°C and pH 7.4 was continued for 305 days, a final weight loss of 5.5% was obtained. In contrast, when PADAS was degraded at 70°C and pH 7.4, the weight loss measured after 100 days of incubation was 22.9%.

The small changes observed in the weight of the discs during the incubation of PADAS at 37°C, could be explained in two ways. On the one hand, the change in the size of the molecules is not considerable, as can be verified if the number of chain bonds split per molecular chain (estimated as $N = M_{n(i)}/M_{n(0)} - 1$) is calculated for the experiment realized at pH 7.4. As the initial M_n is 9000 and the final M_n (after 305 days) is 5100, only 0.764 bonds per molecule are split. On the other hand, PADAS has been prepared from monomers with a high content in hydrophobic methylene groups. Based on these considerations, it must be expected that the oligomers produced in the degradation of PADAS are not readily soluble in the aqueous medium at 37°C.

When the degradation is carried out at 70°C,

Table IV Data of the Hydrolytic Degradation of PADAS at 70°C

Degrad. Days	pH = 7.4		
	% Wt Remaining	$[\eta]^a$ (g/dL)	M_w^b
0	100.0	0.58	24,100
6	98.1	0.48	12,900
16	94.5	0.35	9,800
52	85.9	0.27	7,100
65	83.7	0.24	6,500
100	77.1	0.16	6,000

^a Intrinsic viscosity measured in dichloroacetic acid at 25°C.^b Molecular weight determined by GPC.

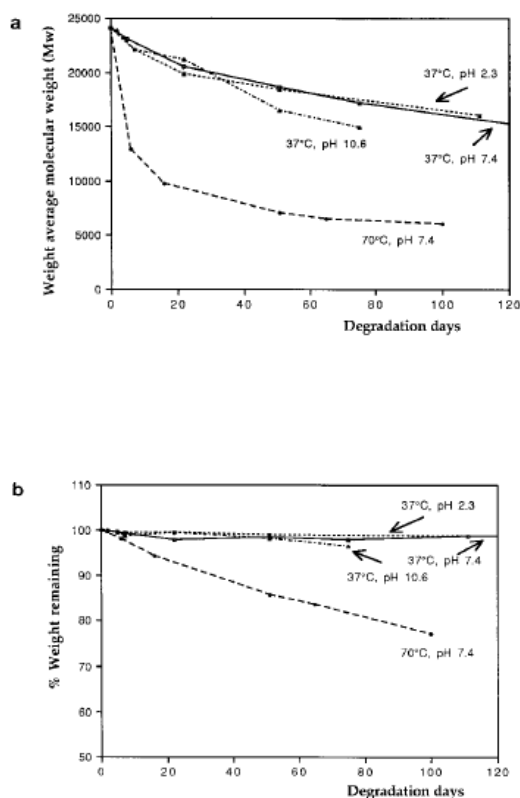


Figure 7 (a) Plot of M_w vs. degradation time (days) for discs of PADAS during hydrolytic degradation in the conditions indicated. (b) Changes in the remaining molecular weight of discs of PADAS after hydrolytic degradation in the conditions indicated.

the weight loss is much greater than that measured at 37°C. This is probably due to the larger extension of the degradation yielding smaller oligomers, and also to the greater solubility of the produced oligomers in an aqueous medium heated to 70°C.

The $^1\text{H-NMR}$ spectra of three samples of PADAS after 22, 111, and 305 days of hydrolytic degradation at 37°C and pH 7.4 are compared in Figure 8. Of primary importance to a discussion of the results of NMR analysis is that, with degradation time, there is both an increase in the area of the peak at 3.65 ppm and a decrease in the area of the peak at 4.16 ppm.

The first peak corresponds to the α -methylene of unesterified 1,12-dodecanediol, whereas the second one is assigned to the analogous methylene

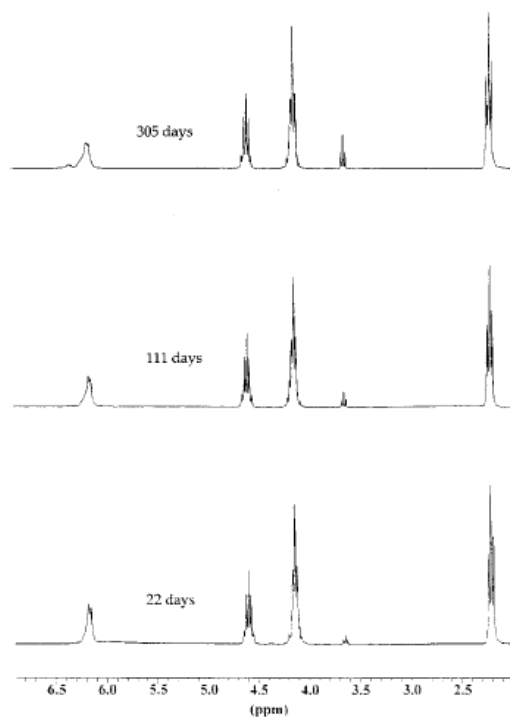


Figure 8 $^1\text{H-NMR}$ spectra of PADAS after 22, 111, and 305 days of hydrolytic degradation in a pH 7.4 phosphate buffer at 37°C.

of a 1,12-dodecanediol esterified unit. Therefore, the NMR analysis seems to indicate that, during degradation, there is a hydrolysis of the ester groups formed by the $-\text{OH}$ of diol and the $-\text{COOH}$ groups of L-alanine.

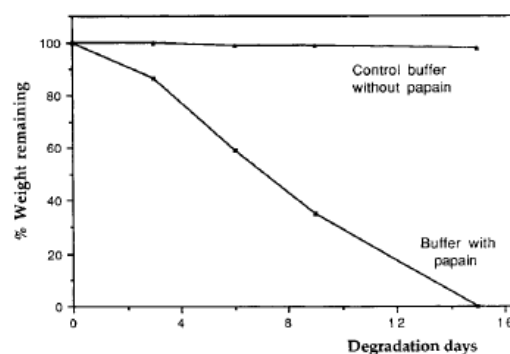


Figure 9 Percentage of weight remaining of PADAS during enzymatic degradation in a buffer with papain.

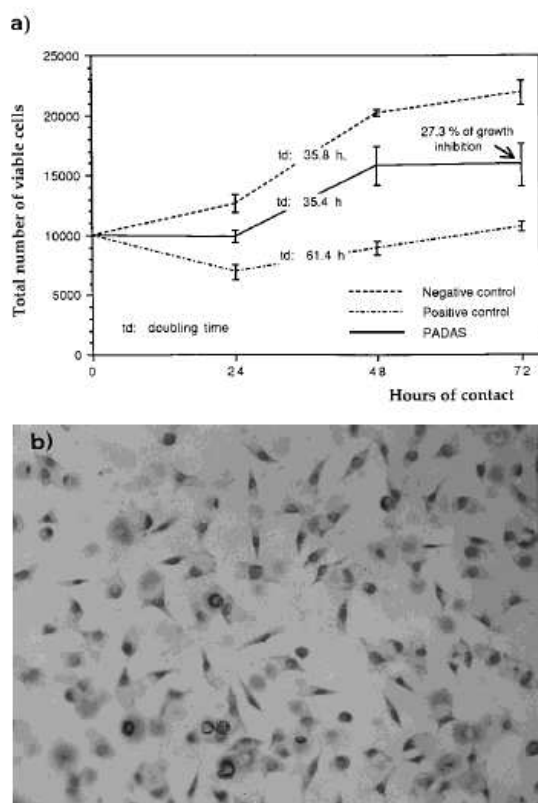


Figure 10 Proliferation of a culture of L929 fibroblasts on PADAS surface: (a) proliferation curve, (b) semiconfluent culture after 48 h (Giemsa, 100.8 $\times$).

Moreover, the peak assigned to the α -methylene of esterified sebacic acid (2.20 ppm) does not change during the incubation time, revealing that there is no hydrolysis of amide groups during degradation. That is, the degradation of the polyesteramide PADAS takes place preferentially in the ester bonds of the main chain and so the amide groups remain unchanged.

Because a part of the cytotoxic studies was developed after incubation of PADAS in a minimum essential medium (MEM), its hydrolytic degradation was also monitored in this system for 50 days. Results indicate that, in this period of time, PADAS loses a 5% of its initial weight, whereas M_w and M_n decrease to 18,700 and 7200, respectively.

These data demonstrate that PADAS also degrades in this solution, and that the biological behavior of an extract of PADAS in MEM must be attributed to the 5% of material that dissolves in this medium.

Enzymatic Degradation

Enzymatic degradation studies of PADAS were carried out with pronase, trypsin, chymotrypsin, and papain. Results obtained with pronase, trypsin, and chymotrypsin indicate that PADAS is slightly degradable by these enzymes because a negligible weight loss was observed for the discs exposed to buffers containing these enzymes.

However, a clear and steady degradation was obtained with papain. Figure 9 shows the weight loss of PADAS discs after exposure to papain. It is interesting to note that the weight loss values shown in the figure appear linearly as a function of time.

During the initial phase of degradation, the discs became white and a decrease in the thickness of the sample was clearly observed. When the disc exposure was continued beyond a 35% disc weight loss, disintegration of the discs occurred and finally, complete disc disappearance was observed, confirming that the PADAS samples were completely degradable by papain to water-soluble products.

Residual PADAS films recovered after 3 or 6 days of enzymatic exposure were analyzed for changes in molecular weight by viscometric measurements. Results showed little viscosity changes, indicating that the first phase of an enzyme-catalyzed degradation of PADAS is a surface process.

Biocompatibility

The biocompatibility of PADAS was investigated using cell culture techniques, because *in vitro* assessment of biocompatibility with permanent cell lines is a good screening method for detecting adverse effects.

The L929 mouse fibroblast attached to and proliferated on the PADAS surface. Furthermore, no differences in the doubling time between PADAS and the negative control during the exponential growth phase (24–48 h, as can be seen in Figure 10(a)) were found. However, the number of cells that initially grew on PADAS surface was significantly less (Newman-Keuls test, $p < 0.01$). Figure 10(b) shows a semiconfluent culture of normal L929 fibroblast growing onto the PADAS surface after 48 h. At the maximum exposure time, 72 h, PADAS maintained the cellular growth rate of the fibroblasts, but gave a slightly cytotoxic percentage of growth inhibition with respect to the negative control (27.3%). Note also in Figure

Table V Cytotoxicity of Material Extract Determined from the Metabolic Activity Test

Material Extract	Time (h)	Concentration (%)	Meas. Abs. ^a	% Viab. ^b	% Cit. ^c
Negative control	24	100	0.3270 ± 0.00817	100.9	-0.9
Positive control	24	100	0.0410 ± 0.00173	12.7	87.3
PADAS	24	100	0.2243 ± 0.01277	69.2	30.8
PADAS	24	50	0.2790 ± 0.01518	95.0	5.0
PADAS	24	25	0.3127 ± 0.00664	103.8	-3.8
PADAS	24	10	0.3023 ± 0.00478	105.7	-5.8
Negative control	72	100	0.5378 ± 0.02821	125.8	25.8
Positive control	72	100	0.0440 ± 0.00100	9.6	90.4
PADAS	72	100	0.1080 ± 0.00181	23.7	76.3
PADAS	72	50	0.2883 ± 0.02609	70.2	29.8
PADAS	72	25	0.3637 ± 0.02258	76.5	23.5
PADAS	72	10	0.4137 ± 0.01586	87.3	12.7

^a The absorbances indicated correspond to the average value of three samples except for the negative control in which six samples were used.

^b Viable cells.

^c Cytotoxicity in relation to the blank group. Percentages greater than 25% indicate a cytotoxic response.

10(a) that the phenol positive control causes a significant inhibition of cellular proliferation throughout the study, with respect to both PADAS and negative control groups.

It is important to note that the PADAS growing kinetic is similar to the negative control, and so a cytotoxic response was not evident. The main difference between the number of cells present on the surface of both materials corresponds to the initial stage when the cell adherence takes place. The results suggest that this is lower in PADAS, probably due to the physico-chemical characteristics of its surface.

A different behavior response was observed for the material extract. Thus, the results obtained in the assay of released products showed a slight cytotoxicity of PADAS on the cellular metabolic activity. This was only detected in the 100% concentration sample (30.8%) at 24 h, but this effect increased with time so that, after 72 h in contact with L929 mouse fibroblast, the cytotoxic effect at the concentration of 50% was 29.8%, and that at the concentration of 100% was 76.3%. The cytotoxic percentages of the remaining concentrations were much lower than the threshold value of 25%. (Table V). Note also that the phenol positive control induced the expected cytotoxicity.

We can deduce that the cytotoxic components of PADAS increased when we submitted the polymer to hydrolytic degradation. It is not absolutely refutable that some of these components were present in the intact material surface as fortuitous impurities (chemicals like chloroform and

toluene), which could have been incorporated during synthesis and/or preparation of samples. However, it is clear that the concentration of cytotoxic components must be greater for the liquid extract than on the material surface. Furthermore, taking into account that the analysis of PADAS after 50 days at 37°C at physiological pH indicates that the polymer has been partially degraded, the toxicity attributed to the impurities would combine with the action due to the liberated oligomers.

CONCLUSIONS

The results presented in this article can be summarized as follows.

1. PADAS can be synthesized in a high yield with a two step procedure where 1,12-dodecanediol is first esterified with L-alanine and then an interfacial polycondensation is carried out.
2. The polymer can be obtained with an adequate molecular weight ($M_w \sim 24,100$) to ensure fiber- and film-forming properties. Moreover, good solubility characteristics have been found.
3. Calorimetric analysis shows that PADAS is stable through fusion and that transamidation-transesterification reactions do not take place during the melting process. The polymer is crystalline (ca. 40%) and presents a

- complex melting peak, which may be interpreted in terms of a recrystallization process that affects different populations of crystals.
4. PADAS is hydrolytically degradable. Temperature affects the rate of degradation, which takes place preferentially through their ester bonds.
 5. PADAS is also degradable by using enzymes. Papain was found to be the most effective one, in a process that occurs on the film surface.
 6. Cellular proliferation is observed on the PADAS material surface when it is seeded with L929 mouse fibroblasts. A moderate cytotoxicity has been detected for the products liberated during degradation.

This research has been supported by a research grant from CICYT (MAT-97-1013). N.P. acknowledges financial support from the Comissió Interdepartamental de Recerca i Innovació Tecnològica. The authors are grateful to Dr. Antonia Araño for help in biocompatibility studies.

REFERENCES

1. D. A. Barrera, E. Zylstra, P. T. Lansbury, Jr., and R. Langer, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 11010 (1993).
2. R. F. Storey and K. Shoemaker, *Polym. Bull.*, **31**, 331 (1993).
3. M. Vert, M. S. Li, G. Spenlehauer, and P. Guerin, *J. Mater. Sci., J. Mater. Med.*, **3**, 432 (1992).
4. J. Kohn and R. Langer, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 817 (1987).
5. W. J. Bailey and B. Gapud, *Ann. NY Acad. Sci.*, **446**, 42 (1985).
6. K. E. Gonsalves, X. Chen, and T. K. Wong, *J. Mater. Chem.*, **1**, 643 (1991).
7. N. Paredes, A. Rodriguez-Galán, and J. Puiggali, *Polymer*, **37**, 4175 (1996).
8. R. J. Gaymans and J. L. de Haan, *Polymer*, **34**, 4360 (1993).
9. L. H. Ho and S. Huang, *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.)*, **33**(2), 94 (1992).
10. P. W. Morgan, *Condensation Polymers: By Interfacial and Solution Methods*, Interscience Publishers, New York, 1965.
11. R. Arnon, *Methods in Enzymology*, Vol. XIX, G. E. Perlmann and L. Lorant, Eds., Academic, New York, 1970, p. 226.
12. Association Française de Normalisation (AFNOR), *Matériel médicochirurgical, biocompatibilité des implants chirurgicaux, méthodes d'extraction*, S93F, Doc. 12, PRS90 701 (1987).
13. Association Française de Normalisation (AFNOR), *Matériel médicochirurgical, biocompatibilité des implants chirurgicaux, évaluation in vitro de la cytotoxicité de matériaux et dispositifs médicaux*, S90 702 (1988).
14. B. Kaczmarczyk and D. Sek, *Polymer*, **36**, 5019 (1995).
15. I. Abu-Isa, *J. Polym. Sci. A-1*, **9**, 199 (1971).
16. G. D. Fasman, *Poly α -Amino Acids*, Marcel Dekker Inc., New York, 1967.
17. B. Wunderlich, *Macromolecular Physics*, vol. 3, Academic Press, New York, 1973, p. 161.
18. P. Peyser, *Polymer Handbook*, 3rd ed., J. Brandrup and E. H. Immergut, Eds., Wiley Interscience, New York, 1989, Chapter VI, p. 233.
19. D. W. Van Krevelen, *Properties of Polymers*, 3rd ed., Elsevier, Amsterdam, 1990, p. 133.

ANEXO E: Chu *et al.*

Synthesis, Characterization, and Biodegradation of Novel Poly(ether ester amide)s Based on L-Phenylalanine and Oligoethylene Glycol

Kai Guo and C. C. Chu*

Department of Fiber Science and Apparel, and Biomedical Engineering Program, Cornell University, Ithaca, New York 14853-4401

Received February 6, 2007; Revised Manuscript Received May 11, 2007

A new family of novel biodegradable poly(ether ester amide)s (PEEAs) consisting of three building blocks (L-phenylalanine, oligoethylene glycol, and aliphatic acid dichloride) were synthesized by solution polycondensation. Using *N,N*-dimethylacetamide as the solvent, these PEEA polymers were obtained with fairly good yields with reduced viscosity (η_{red}) ranging from 0.13 to 0.61 dL/g. The chemical structures of the PEEAs were confirmed by IR, NMR spectra, and elemental analysis. The PEEAs had T_g values lower than that of the saturated poly(ester amide)s (PEAs) of similar structures due to the incorporation of ether bonds in the backbones. An increase in the number of ether bonds in PEEA resulted in a lower T_g value. The solubility of the PEEA polymers in a wide range of common organic solvents was significantly improved when compared with unsaturated PEAs. The preliminary in vitro biodegradation behaviors of PEEA polymers were investigated in both pure PBS buffer and α -chymotrypsin solution of different concentrations. The polymers showed a significantly faster weight loss in an enzyme solution (α -chymotrypsin) but a very slow biodegradation rate in pure PBS buffer. The enzymatic hydrolysis rates of PEEAs (in terms of weight loss) were found to be much faster than those of saturated and unsaturated polyesteramides reported in previous studies. The zero-order-like biodegradation kinetics and molecular weight data also suggested surface erosion biodegradation mechanisms for these PEEAs.

Introduction

Synthetic biodegradable polymers nowadays have been found as promising biomaterials with increasing applications in pharmaceutical, biomedical, and tissue engineering.^{1–15} There are two basic types of aliphatic poly(ester amide)s (PEAs): those derived from non-amino acids like aliphatic diamine and those derived from amino acids like L-phenylalanine, L-leucine, and/or L-lysine.^{16–26} Those amino acid derived PEAs appear to have better biocompatibility than those from aliphatic diamines and have formed a new family of biodegradable polymers that combine the favorable properties of both aliphatic polyesters and polyamides into a single entity²⁵ (i.e., biodegradability and desirable mechanical, physical, and thermal properties).

In our laboratory, amino acid derived saturated PEA (SPEA)^{21,27} and unsaturated PEA (UPEA)²⁴ and copolymers of SPEA and UPEA (USPEA)²⁶ have been designed, successfully synthesized, characterized, and studied. The major unique characteristics of SPEA designed in our lab are the elastomeric mechanical property and the availability of a pendant free –COOH group, which could be used for the attachment of biological active agents like nitroxyl radicals.^{27,28} Because of the relatively lower glass transition temperature, T_g , the second generation PEA, UPEA, was developed and synthesized.²⁶ This UPEA family has the advantages of not only having a relatively higher T_g than SPEA but also having functional C=C double bonds built into the PEA backbone. These double bonds are photosensitive and can serve as reactive sites for synthesizing additional PEA based derivatives, such as hydrogels for the controlled release of anticancer drugs.^{29,30} Because of the C=

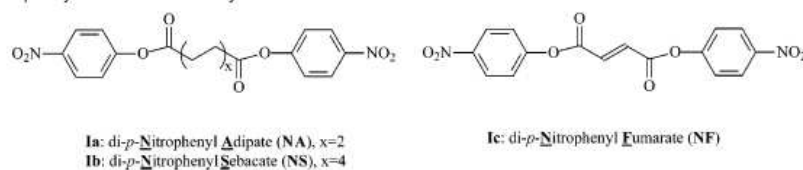
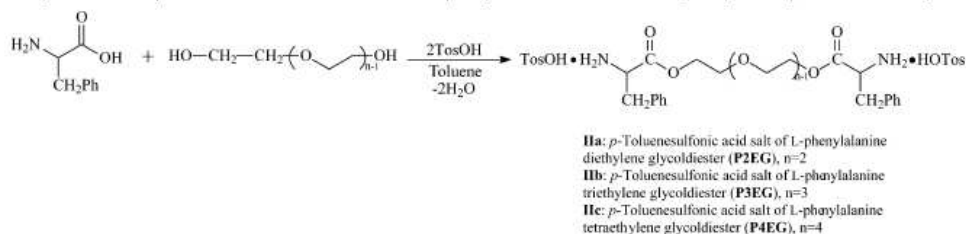
C double bonds in their backbone, UPEA's solubility became less desirable than SPEA. As a result, the third generation PEA, USPEA, was designed and successfully synthesized.²⁶ USPEA integrated the merits of both SPEA and UPEA into a single entity, and the properties of USPEA can be easily controlled by simply adjusting the feed ratio of SPEA to UPEA during the polymerization process.

One of the three building blocks in all of the three amino acid based PEA generations has been simple aliphatic diols like butanediol and/or butenediol. In this work, three types of oligoethylene glycol (OEG) were introduced into the PEA macromolecular backbone as the replacement for aliphatic diols. Thus, this fourth generation PEA family, poly(ether ester amide) (PEEA), would have ether bonds incorporated in addition to the ester and amide linkages common to all PEAs. As a result, the hydrophilicity and biodegradability of these OEG based PEEAs were found to be both enhanced when compared to the PEA polymers and copolymers designed with conventional aliphatic diols. In this study, a series of saturated and unsaturated PEEAs were synthesized by solution polycondensation of unsaturated or saturated diester monomers and saturated OEG based diamine salts. The chemical structures of these PEEAs were confirmed by FTIR, NMR spectra, and elemental analysis. The molecular weight, molecular weight distribution (MWD), thermal property, solubility, and biodegradability of the resulting PEEA polymers were studied.

Experimental Procedures

Materials. L-Phenylalanine (L-Phe), *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (TosOH·H₂O), sebacoyl chloride, adipoyl chloride, fumaryl chloride, diethylene glycol, triethylene glycol and tetraethylene glycol (Alfa Aesar, Ward Hill, MA), and *p*-nitrophenol (J. T. Baker, Phillipsburg, NJ) were used without further purification. Triethylamine

* Author to whom correspondence should be addressed. Fax: (607) 255-1093. E-mail: cc62@cornell.edu.

Scheme 1. Di-*p*-nitrophenyl Esters of Dicarboxylic AcidsScheme 2. Synthesis of Di-*p*-toluenesulfonic Acid Salts of Bis-L-phenylalanine Esters from Oligoethylene Glycols and L-Phenylalanine

from Fisher Scientific (Fairlawn, NJ) was dried by refluxing with calcium hydride and then distilled. *N,N*-Dimethylformamide (DMF) from Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI) was dried over calcium hydride and distilled. Other solvents such as toluene, trifluoroethanol (TFE), tetrahydrofuran (THF), ethyl acetate, acetone, acetonitrile, *N,N*-dimethylacetamide (DMA), and dimethyl sulfoxide (DMSO) were purchased from VWR Scientific (West Chester, PA) and were purified by standard methods before use.

Synthesis of Monomers and Polymers. The synthesis of PEEAs involved the following three basic steps: (1) synthesis of three di-*p*-nitrophenyl esters of dicarboxylic acids (I), one of which was unsaturated and the other two saturated; (2) synthesis of three di-*p*-toluenesulfonic acid salts of bis-L-phenylalanine esters (II) from di-, tri-, and tetraethylene glycol; and (3) solution polycondensation of the monomers I and II, obtained in steps 1 and 2.

Synthesis of Di-*p*-nitrophenyl Esters of Dicarboxylic Acids (I). Three di-*p*-nitrophenyl esters of dicarboxylic acids (Ia, Ib, and Ic, Scheme 1) were prepared by reacting the corresponding dicarboxylic acyl chlorides with *p*-nitrophenol as described previously.²⁴

Briefly, a solution of triethylamine (0.0603 mol) and *p*-nitrophenol (0.0603 mol) in 100 mL of acetone was prepared at room temperature, and this solution was kept at -78°C by dry ice and acetone. Fumaryl chloride (0.03 mol, 3.2 mL) in 40 mL of acetone was then added into the previously chilled solution dropwise upon stirring for 2 h at -78°C and then stirring at room temperature overnight. After that, the mixture was poured into 800 mL of distilled water to precipitate the product, di-*p*-nitrophenyl fumarate (NF), which was filtered, washed thoroughly with distilled water, dried in vacuo at 50°C , and finally purified by recrystallization from acetonitrile 3 times.

Synthesis of Di-*p*-toluenesulfonic Acid Salts of Bis-L-phenylalanine Esters (II). Di-*p*-toluenesulfonic acid salts of bis-L-phenylalanine esters were prepared by the modified procedures of our previous published study²⁴ as shown in Scheme 2. Typically, L-Phe (0.176 mol), *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (0.176 mol), and di-, tri-, or tetraethylene glycol (0.08 mol) in 300 mL of toluene were placed in a flask equipped with a Dean-Stark apparatus, a CaCl_2 drying tube, and a magnetic stirrer. The solid-liquid reaction mixture was heated (ca. 140°C) to reflux for 16 h until 6.1 mL (0.34 mol) of water evolved. The reaction mixture was then cooled to room temperature. After the solvent was removed by rotary evaporation, the mixture was dried in vacuo overnight and finally purified by recrystallization 3 times. Depending on the type of di-*p*-toluenesulfonic acid salts of bis-L-phenylalanine esters synthesized, different solvents were used for recrystallization. For example, water and 2-propanol were used as the recrystallization medium for the di-*p*-toluenesulfonic acid salt of L-phenylalanine diethylene glycol diester (**P2EG**, Ia) and L-phenylalanine triethylene glycol diester (**P3EG**, Ib), respectively.

Di-*p*-toluenesulfonic acid salt of L-phenylalanine diethylene glycol diester (**P2EG**, Ia): recrystallized from water. mp: 229°C . IR (cm^{-1}): 1736 [$-\text{C}(\text{O})-$], 1177 ($-\text{O}-$), 1127 ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm, δ): 2.29 (6H, $\text{H}_3\text{C}-\text{Ph}-\text{SO}_3-$), 3.05, 3.10 (4H, PhCH_2-), 3.50 [4H, $-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$], 4.19 [2H, $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-$], 4.31 [4H, $-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$], 7.11 to ~ 7.49 [18H, Ph], 8.39 [6H, $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-$]. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , ppm, δ): 20.79 ($\text{H}_3\text{C}-\text{Ph}-\text{SO}_3-$), 35.94 (PhCH_2-), 53.20 [$^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-$], 64.71 [$-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-$], 67.70 [$-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$], 125.48, 127.28, 128.17, 128.56, 129.43, 134.45, 138.01, 145.08 (Ph), 169.00 [$-\text{C}(\text{O})-$].

Di-*p*-toluenesulfonic acid salt of L-phenylalanine triethylene glycol diester (**P3EG**, Ib): recrystallized from 2-propanol. mp: 203°C . IR (cm^{-1}): 1737 [$-\text{C}(\text{O})-$], 1169 ($-\text{O}-$), 1124 ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm, δ): 2.29 (6H, $\text{H}_3\text{C}-\text{Ph}-\text{SO}_3-$), 3.06, 3.10 (4H, PhCH_2-), 3.48 [4H, $-(\text{O})\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-$], 3.55 [4H, $-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$], 4.19 [2H, $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-$], 4.33 [4H, $-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-$], 7.10 to ~ 7.49 [18H, Ph], 8.39 [6H, $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-$]. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , ppm, δ): 20.75 ($\text{H}_3\text{C}-\text{Ph}-\text{SO}_3-$), 35.90 (PhCH_2-), 53.17 [$^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-$], 64.78 [$-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-$], 67.77 [$-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$], 69.58 [$-(\text{O})\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-$], 125.45, 127.23, 128.12, 129.51, 129.42, 134.42, 137.92, 145.12 (Ph), 168.95 [$-\text{C}(\text{O})-$].

Di-*p*-toluenesulfonic acid salt of L-phenylalanine tetraethylene glycol diester (**P4EG**, Ic): recrystallized from 2-propanol. mp: 149°C . IR (cm^{-1}): 1746 [$-\text{C}(\text{O})-$], 1219 ($-\text{O}-$), 1124 ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$). ^1H NMR (DMSO- d_6 , ppm, δ): 2.29 (6H, $\text{H}_3\text{C}-\text{Ph}-\text{SO}_3-$), 3.07, 3.11 (4H, PhCH_2-), 3.49 [8H, $-(\text{O})\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$], 3.54 [4H, $-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$], 4.19 [2H, $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-$], 4.34 [4H, $-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-$], 7.10 to ~ 7.49 [18H, Ph], 8.39 [6H, $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-$]. ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , ppm, δ): 20.73 ($\text{H}_3\text{C}-\text{Ph}-\text{SO}_3-$), 35.90 (PhCH_2-), 53.18 [$^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})-$], 64.77 [$-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2-$], 67.73 [$-(\text{O})\text{C}-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$], 69.64 [$-(\text{O})\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-$], 69.65 [$-(\text{O})\text{C}-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$], 125.44, 127.21, 128.10, 129.50, 129.41, 134.42, 137.92, 145.11 (Ph), 168.92 [$-\text{C}(\text{O})-$].

Solution Polycondensation of Monomers I and II. PEEAs were prepared by solution polycondensation of one di-*p*-toluenesulfonic acid diester salt (**P2EG**, **P3EG**, or **P4EG**) with one di-*p*-nitrophenyl ester (NA, NS, or NF). The combinations attempted in this work and their name designation are summarized in Table 1 and shown in Scheme 3. In Table 1, all those designations of PEEAs starting with F such as FP3EG were unsaturated PEEAs in the diamide segment, and the rest of the PEEA designations were saturated.

An example of the synthesis of AP2EG via solution polycondensation is given next to illustrate the details of the synthesis procedures. Ten millimoles (1.42 mL) of triethylamine was added dropwise to the

PEEA Synthesis, Characterization, and Biodegradation

Biomacromolecules, Vol. 8, No. 9, 2007 2853

Table 1. Monomer Combinations for PEEA Synthesis

monomer I		monomer II		
		P2EG	P3EG	P4EG
NF (unsaturated)		FP2EG	FP3EG	FP4EG
NA		AP2EG	AP3EG	AP4EG
NS		SP2EG	SP3EG	SP4EG

mixture of monomers NA (Ia, 4.0 mmol) and P2EG (IIa, 4.0 mmol) in 3 mL of dry DMA, and the solution was heated to 60 °C with stirring until complete dissolution of monomers. The reaction vial was then kept under 70 °C for 48 h without stirring. The resulting viscous solution (from light yellow to dark brown depending on the type of monomers used) was divided into two groups and precipitated by different solvents. For the fumaryl based polymer (FP2EG, FP3EG, and FP4EG), chilled acetone was added into the viscous solution to precipitate the product. The polymer was then washed by warm acetone twice, filtered, and finally dried in vacuo for 48 h before further study. For the rest of the polymers (non-fumurate based), chilled ethyl acetate was used as the precipitation solvent, and then the polymer products were filtered and extracted by ethyl acetate in a Soxhlet apparatus for 48 h and finally dried in vacuo for 48 h.

AP2EG: yield 84%. IR (cm⁻¹), 1741 [—C(O)—O—], 1643, 1536 [—C(O)—NH—], 1127 (—CH₂—O—CH₂—), 3311 [—C(O)—NH—]. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 1.29 [4H, —NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 1.99 [4H, —NH—(O)C—CH₂—], 2.84 to ~3.02 [4H, PhCH₂—], 3.46 to ~3.57 [4H, —(O)C—O—CH₂—CH₂—], 4.11 [4H, —(O)C—O—CH₂—], 4.46 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—], 7.15 to ~7.25 [10H, Ph], 8.24 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—]. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 24.55 [—NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 34.63 [—NH—(O)C—CH₂—], 36.67 [PhCH₂—], 53.41 [—HN—CH(CH₂Ph)—], 63.69 [—(O)C—O—CH₂—], 68.05 [—(O)C—O—CH₂—CH₂—], 126.42, 128.12, 128.99, 137.12 [Ph], 171.65 [—OC(O)—], 172.09 [—C(O)—NH—].

AP3EG: yield 79%. IR (cm⁻¹), 1742 [—C(O)—O—], 1646, 1536 [—C(O)—NH—], 1127 (—CH₂—O—CH₂—), 3293 [—C(O)—NH—]. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 1.29 [4H, —NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 2.00 [4H, —NH—(O)C—CH₂—], 2.83 to ~3.02 [4H, PhCH₂—], 3.47 to ~3.57 [8H, —(O)C—O—CH₂—CH₂—O—CH₂—], 4.10 [4H, —(O)C—O—CH₂—], 4.46 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—], 7.15 to ~7.26 [10H, Ph], 8.24 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—]. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 24.55 [—NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 34.63 [—NH—(O)C—CH₂—], 36.68 [PhCH₂—], 53.40 [—HN—CH(CH₂Ph)—], 63.72 [—(O)C—O—CH₂—], 68.08 [—(O)C—O—CH₂—CH₂—], 69.67 [—(O)C—O—(CH₂)₂—O—CH₂—], 126.42, 128.13, 128.98, 137.14 [Ph], 171.66 [—OC(O)—], 172.07 [—C(O)—NH—].

AP4EG: yield 74%. IR (cm⁻¹), 1742 [—C(O)—O—], 1658, 1547 [—C(O)—NH—], 1117 (—CH₂—O—CH₂—), 3299 [—C(O)—NH—]. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 1.29 [4H, —NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 2.00 [4H, —NH—(O)C—CH₂—], 2.84 to ~3.02 [4H, PhCH₂—], 3.45 to ~3.58 [12H, —(O)C—O—CH₂—CH₂—O—(CH₂)₂—], 4.11 [4H, —(O)C—O—CH₂—], 4.47 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—], 7.16 to ~7.27 [10H, Ph], 8.24 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—]. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 24.56 [—NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 34.64 [—NH—(O)C—CH₂—], 36.69 [PhCH₂—], 53.42 [—HN—CH(CH₂Ph)—], 63.70 [—(O)C—O—CH₂—], 68.06 [—(O)C—O—CH₂—CH₂—], 69.70 [—(O)C—O—(CH₂)₂—O—CH₂—], 69.72 [—(O)C—O—(CH₂)₂—O—CH₂—CH₂—], 126.44, 128.14, 129.00, 137.17 [Ph], 171.67 [—OC(O)—], 172.09 [—C(O)—NH—].

FP2EG: yield 76%. IR (cm⁻¹), 1736 [—C(O)—O—], 1630, 1542 [—C(O)—NH—], 1138 (—CH₂—O—CH₂—), 3299 [—C(O)—NH—]. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 2.88 to ~3.08 [4H, PhCH₂—], 3.48 to ~3.60 [4H, —(O)C—O—CH₂—CH₂—], 4.14 [4H, —(O)C—O—CH₂—], 4.56 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—], 6.84 [2H, —C(O)—CH=], 7.18 to ~7.24 [10H, Ph], 8.90 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—]. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 36.58 [PhCH₂—], 53.82 [—HN—CH(CH₂Ph)—], 63.91 [—(O)C—O—CH₂—], 68.06 [—(O)C—O—CH₂—CH₂—], 126.57, 128.21, 128.99, 136.83 [Ph], 132.50 [—C(O)—CH=], 163.51 [—C(O)—NH—], 171.10 [—OC(O)—].

FP3EG: yield 83%. IR (cm⁻¹), 1741 [—C(O)—O—], 1638, 1536 [—C(O)—NH—], 1115 (—CH₂—O—CH₂—), 3311 [—C(O)—NH—]. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 2.90 to ~3.07 [4H, PhCH₂—], 3.48 to ~3.60 [8H, —(O)C—O—CH₂—CH₂—O—CH₂—], 4.12 [4H, —(O)C—O—CH₂—], 4.56 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—], 6.83 [2H, —C(O)—CH=], 7.19 to ~7.25 [10H, Ph], 8.90 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—]. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 36.56 [PhCH₂—], 53.80 [—HN—CH(CH₂Ph)—], 63.96 [—(O)C—O—CH₂—], 68.06 [—(O)C—O—CH₂—CH₂—], 69.69 [—(O)C—O—(CH₂)₂—O—CH₂—], 126.56, 128.21, 128.98, 136.86 [Ph], 132.49 [—C(O)—CH=], 163.49 [—C(O)—NH—], 171.10 [—OC(O)—].

FP4EG: yield 69%. IR (cm⁻¹), 1738 [—C(O)—O—], 1630, 1537 [—C(O)—NH—], 1114 (—CH₂—O—CH₂—), 3309 [—C(O)—NH—]. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 2.88 to ~3.09 [4H, PhCH₂—], 3.47 to ~3.60 [12H, —(O)C—O—CH₂—CH₂—O—(CH₂)₂—], 4.14 [4H, —(O)C—O—CH₂—], 4.56 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—], 6.83 [2H, —C(O)—CH=], 7.18 to ~7.27 [10H, Ph], 8.90 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—]. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 36.59 [PhCH₂—], 53.83 [—HN—CH(CH₂Ph)—], 63.98 [—(O)C—O—CH₂—], 68.03 [—(O)C—O—CH₂—CH₂—], 69.70 [—(O)C—O—(CH₂)₂—O—CH₂—], 69.73 [—(O)C—O—(CH₂)₂—O—CH₂—CH₂—], 126.59, 128.23, 129.00, 136.89 [Ph], 132.51 [—C(O)—CH=], 163.51 [—C(O)—NH—], 171.13 [—OC(O)—].

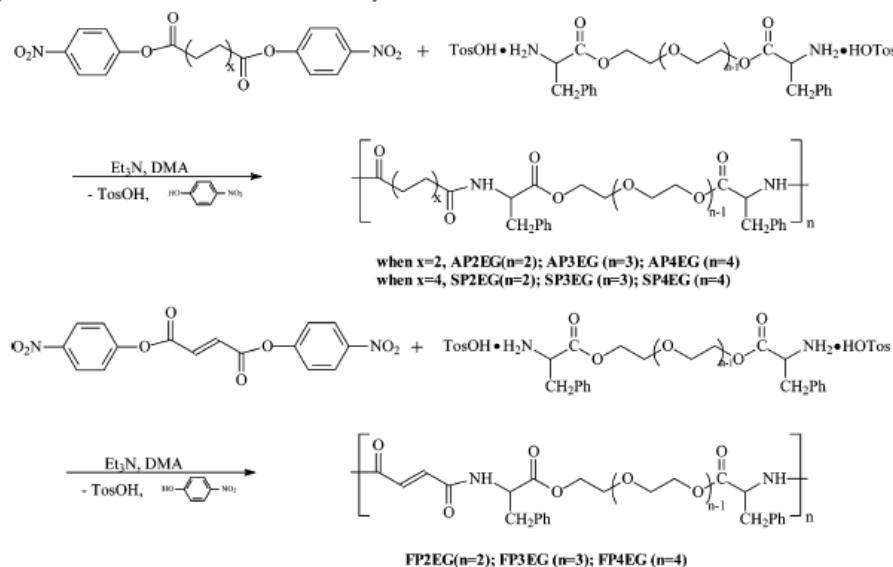
SP2EG: yield 62%. IR (cm⁻¹), 1740 [—C(O)—O—], 1648, 1541 [—C(O)—NH—], 1126 (—CH₂—O—CH₂—), 3309 [—C(O)—NH—]. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 1.10 [8H, —NH—(O)C—(CH₂)₂—(CH₂)₂—], 1.36 [4H, —NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 2.01 [4H, —NH—(O)C—CH₂—], 2.83 to ~3.03 [4H, PhCH₂—], 3.46 to ~3.59 [4H, —(O)C—O—CH₂—CH₂—], 4.12 [4H, —(O)C—O—CH₂—], 4.48 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—], 7.18 to ~7.26 [10H, Ph], 8.24 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—]. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 25.11 [—NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 28.41 [—NH—(O)C—(CH₂)₂—CH₂—], 28.64 [—NH—(O)C—(CH₂)₃—CH₂—], 34.92 [—NH—(O)C—CH₂—], 36.62 [PhCH₂—], 53.35 [—HN—CH(CH₂Ph)—], 63.69 [—(O)C—O—CH₂—], 68.07 [—(O)C—O—CH₂—CH₂—], 126.38, 128.07, 128.98, 137.20 [Ph], 171.67 [—OC(O)—], 172.27 [—C(O)—NH—].

SP3EG: yield 74%. IR (cm⁻¹), 1743 [—C(O)—O—], 1648, 1541 [—C(O)—NH—], 1126 (—CH₂—O—CH₂—), 3296 [—C(O)—NH—]. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 1.11 [8H, —NH—(O)C—(CH₂)₂—(CH₂)₂—], 1.37 [4H, —NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 2.03 [4H, —NH—(O)C—CH₂—], 2.83 to ~3.03 [4H, PhCH₂—], 3.45 to ~3.62 [8H, —(O)C—O—CH₂—CH₂—O—CH₂—], 4.11 [4H, —(O)C—O—CH₂—], 4.47 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—], 7.19 to ~7.25 [10H, Ph], 8.24 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—]. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 25.09 [—NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 28.41 [—NH—(O)C—(CH₂)₂—CH₂—], 28.64 [—NH—(O)C—(CH₂)₃—CH₂—], 34.91 [—NH—(O)C—CH₂—], 36.63 [PhCH₂—], 53.32 [—HN—CH(CH₂Ph)—], 63.72 [—(O)C—O—CH₂—], 68.11 [—(O)C—O—CH₂—CH₂—], 69.69 [—(O)C—O—(CH₂)₂—O—CH₂—], 126.38, 128.07, 128.97, 137.20 [Ph], 171.68 [—OC(O)—], 172.23 [—C(O)—NH—].

SP4EG: yield 63%. IR (cm⁻¹), 1741 [—C(O)—O—], 1643, 1536 [—C(O)—NH—], 1118 (—CH₂—O—CH₂—), 3317 [—C(O)—NH—]. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 1.11 [8H, —NH—(O)C—(CH₂)₂—(CH₂)₂—], 1.36 [4H, —NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 2.03 [4H, —NH—(O)C—CH₂—], 2.83 to ~3.04 [4H, PhCH₂—], 3.41 to ~3.60 [12H, —(O)C—O—CH₂—CH₂—O—(CH₂)₂—], 4.11 [4H, —(O)C—O—CH₂—], 4.47 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—], 7.18 to ~7.25 [10H, Ph], 8.24 [2H, —HN—CH(CH₂Ph)—]. ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, ppm, δ): 25.11 [—NH—(O)C—CH₂—CH₂—], 28.43 [—NH—(O)C—(CH₂)₂—CH₂—], 28.66 [—NH—(O)C—(CH₂)₃—CH₂—], 34.93 [—NH—(O)C—CH₂—], 36.65 [PhCH₂—], 53.35 [—HN—CH(CH₂Ph)—], 63.74 [—(O)C—O—CH₂—], 68.08 [—(O)C—O—CH₂—CH₂—], 69.71 [—(O)C—O—(CH₂)₂—O—CH₂—], 69.73 [—(O)C—O—(CH₂)₂—O—CH₂—CH₂—], 126.40, 128.10, 128.99, 137.22 [Ph], 171.70 [—OC(O)—], 172.25 [—C(O)—NH—].

To study the biodegradability of PEEA polymers, the PEEA films were cast from a 10% (w/v) chloroform solution onto smooth Teflon Petri dishes, and the solvent was allowed to evaporate completely at room temperature. The films were further dried in vacuo at room temperature overnight and finally punched into small disc shaped pieces (diameter 12.5 mm) for the biodegradation test.

Scheme 3. Synthesis of Saturated and Unsaturated L-Phenylalanine Based PEEAs



Materials Characterization. For Fourier transform infrared (FTIR) characterization, samples were ground into powder and mixed with KBr at a sample/KBr ratio of 1:10 w/w. FTIR spectra were then obtained from a PerkinElmer Nicolet Magana 560 (Madison, WI) FTIR spectrometer with Omnic software for data acquisition and analysis.

NMR spectra were recorded by a Varian Unity INOVA-400 400 MHz spectrometer (Palo Alto, CA) operating at 400 and 100 MHz for ^1H and ^{13}C NMR, respectively. Deuterated dimethyl sulfoxide ($\text{DMSO}-d_6$, Cambridge Isotope Laboratories, Cambridge, U.K.) was used as the solvent. Elemental analyses of the polymers synthesized were performed with a PE 2400 CHN elemental analyzer by Atlantic Microlab (Norcross, GA).

Thermal properties of synthesized monomers and polymers were characterized by a DSC 2920 (TA Instruments, New Castle, DE). The measurement was carried out from 0 to 300 °C at a scanning rate of 10 °C/min and nitrogen gas flow rate of 25 mL/min. TA Universal Analysis software was used for thermal data analysis, such as the determination of the glass transition temperature. The melting point was determined at the onset of the melting endotherm.

The number and weight averaged molecular weights (M_n and M_w) and MWD of synthesized PEEAs were determined using a Model 510 gel permeation chromatograph (Waters Associates Inc. Milford, MA) equipped with a high-pressure liquid chromatographic pump, a Waters 486 UV detector, and a Waters 2410 differential refractive index detector. THF was used as the eluent (1.0 mL/min). The columns were calibrated with polystyrene standards having a narrow molecular weight distribution. The reduced viscosity (η_{red}) of the polymers synthesized was determined by a Cannon-Ubbelohde viscometer in DMSO solution at a concentration of 0.25 g/dL at 25 °C.

An *in vitro* biodegradation test of OEG based PEEAs was carried out in a small vial containing a dry PEEA disc film (diameter 12.5 mm) and 10 mL of pure PBS or α -chymotrypsin in PBS buffer (pH 7.4, 0.1 M) of different concentrations (0, 0.05, 0.1, or 0.2 mg/mL). Two representatives OEG based PEEA polymers (AP3EG and SP3EG) were used for this preliminary biodegradation study. There was no unsaturated PEEA sample for this study because it does not dissolve in CHCl_3 , and no quality film could be formed in DMA solvent either. The vial was then incubated at 37 °C with constant reciprocal shaking (100 rpm). At predetermined intervals, the PEEA film samples were taken out of the incubation medium and washed gently with distilled water, and the surface water was blotted by filter paper and weighed until no further weight change. The degree of biodegradation was

estimated from the weight loss of the PEEA film sample based on the following equation:

$$W_1 (\%) = \left[\frac{W_o - W_t}{W_o} \right] \times 100$$

where W_o is the original weight of the dry PEEA film sample before immersion, and W_t is the dry PEEA film sample weight after incubation for t h (with or without enzyme). The weight loss average of the three specimens was recorded.

SEM was employed to analyze the surface morphology of the PEEA polymers during the biodegradation process. After being taken out of the incubation media, the polymer film sample was dried, fixed on aluminum stubs, and coated with gold for 60 s for SEM observation by a Hitachi S4500 scanning electron microscope (Mountain View, CA). The molecular weight changes of the PEEA polymers were also monitored by GPC.

The surface hydrophilicity of the PEEA films was determined using an IMASS contact angle analyzer in a conditioning room of 65% RH and 21 °C. Distilled water was used as the spreading liquid, the contact angles of five randomly chosen surface areas of each PEEA film were measured, and two PEEA films of each type were tested.

Results and Discussion

Synthesis of Di-*p*-nitrophenyl Esters of Dicarboxylic Acids. Three different types of di-*p*-nitrophenyl esters of dicarboxylic acids, NA, NS, and NF, were used as monomers to provide the carboxylic ester segment of PEEA. NA and NS have a saturated methylene structure, while NF has unsaturated $\text{C}=\text{C}$ double bonds in the methylene structure. These three monomers were reported in our previous work.²⁴

Synthesis of Di-*p*-toluenesulfonic Acid Salts of Bis-L-phenylalanine Esters. Three different types of di-*p*-toluenesulfonic acid salts of bis-L-phenylalanine diesters were synthesized the first time and used as the monomers to provide the amino acid segment of PEEA. These three salts had oligomers of ethylene glycol with ether bonds in the segment.

The structures of the di-*p*-toluenesulfonic acid salt monomers, P2EG, P3EG, and P4EG, were all confirmed by FTIR and NMR

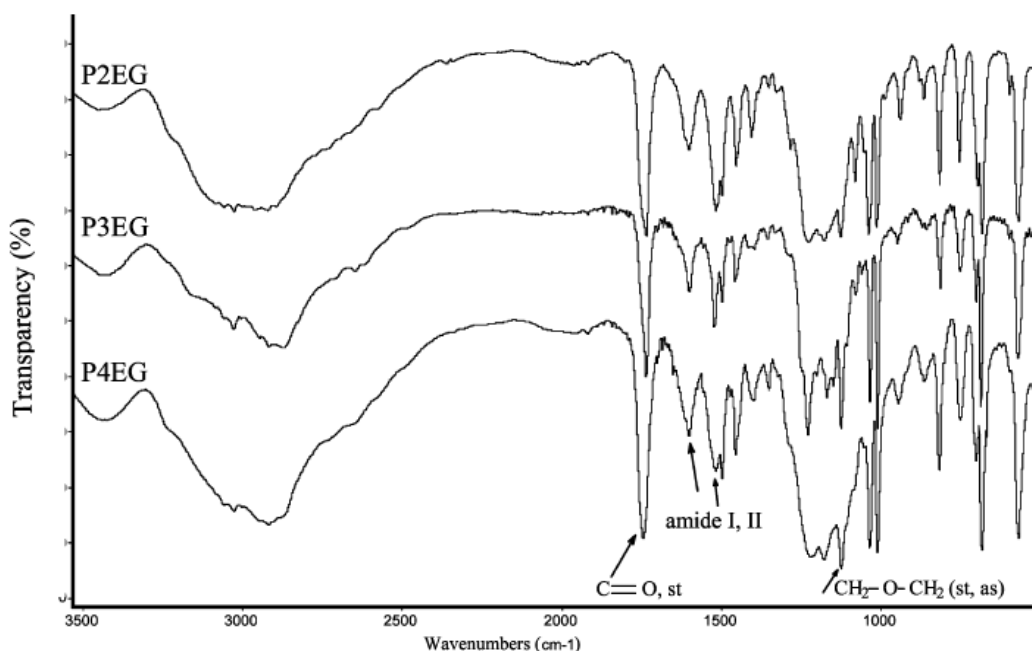


Figure 1. FTIR spectra of the di-*p*-toluenesulfonic acid salts of bis-L-phenylalanine diester monomers: P2EG, P3EG, and P4EG. (st: stretching vibration and as: asymmetry vibration).

spectra. The FTIR spectra are shown in Figure 1, and their main absorption bands, such as ester groups (1736 to ~ 1750 cm^{-1}) and ether groups (~ 1127 cm^{-1}), were assigned. The broad absorption between 2500 and 3300 cm^{-1} could be attributed to both primary amine salt and aliphatic hydrocarbon structure existing in those monomers. The ^1H and ^{13}C NMR data of P2EG, P3EG, and P4EG also showed characteristic signals of $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ (^1H : $\delta \sim 3.50$ ppm). All three monomers were obtained as white powders, and the yield of P3EG was about 86%, higher than those of P2EG (66%) and P4EG (60%).

Polymer Synthesis. As shown in Scheme 3, nine different types of new PEEAs were synthesized by solution polycondensation of different combinations of monomer I (Ia, Ib, or Ic) and monomer II (IIa, IIb, or IIc). Excess triethylamine was used as the acid receptor for TosOH during the polymerization to regenerate free amino groups in the di-*p*-toluenesulfonic acid salt monomer.^{21,24,31} Polymerization took place in the homogeneous phase, and the polymer obtained remained dissolved, but the reaction solution became more viscous.

The structures of these PEEAs were confirmed by both IR and NMR spectra data. The FTIR spectra of all the fumaryl based PEEAs (Figure 2) had characteristic absorption bands of ester groups (~ 1740 cm^{-1}), ether groups (~ 1115 cm^{-1}), amide groups (~ 1640 and ~ 1530 cm^{-1}), and unsaturated $\text{H}-\text{C}=\text{C}$ bonds (~ 983 cm^{-1}). The broad absorption around 2900 cm^{-1} could be attributed to the aliphatic hydrocarbon structure existing in the polymers.

The NMR spectra (^1H and ^{13}C) of three typical PEEAs based on tri-ethylene glycol are shown in Figures 3 and 4 (see the following discussion for detailed spectral band assignments of all polymers). The spectral data were fully in agreement with the anticipated chemical structure of the PEEA polymers shown in Scheme 3. All the PEEAs showed ^1H peaks of the $-\text{NH}-$ bonds of amides (8.90 or 8.24), the ether $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2$ bonds in the diester unit (~ 3.50), and the $-\text{HC}=\text{C}$ bonds in the amide

unit (6.83) for fumaryl based PEEAs. The ^{13}C spectra contained all the peaks for every magnetically different carbon presented in the repeating unit of the polymer. The data from elemental analysis (Table 2) were also consistent with the composition calculated.

Table 3 summarizes the fundamental properties of the PEEAs synthesized. All nine PEEAs were obtained in fairly good yields (59 to $\sim 83\%$), with η_{red} ranging from 0.13 to 0.61 dL/g. The three fumaryl based unsaturated PEEAs (FP2EG, FP3EG, and FP4EG) could not dissolve in THF, which was the designated eluent for the central GPC facility available to us. Among the adipoyl and sebacoyl based PEEAs, AP3EG and SP3EG showed the highest M_n , M_w , and η_{red} in their series, respectively. FP3EG showed the highest η_{red} among the fumaryl based PEEAs. Irrespective of saturated or unsaturated PEEAs, the data in Table 3 demonstrated that, among the three monomers II (P2EG, P3EG, and P4EG), P3EG had the highest reactivity toward monomers I (NA, NS, and NF) because the PEEAs from P3EG consistently resulted in the highest η_{red} .

The T_g and T_m of the synthesized PEEAs were measured by DSC and are listed in Table 3. The PEEAs obtained had lower T_g values than the corresponding saturated and unsaturated PEAs and USPEA based on aliphatic dialcohols.^{21,24,26} For example, AP2EG had a T_g value 9% lower than APB (49 vs 54 $^{\circ}\text{C}$), FP2EG had a T_g value 20% lower than FPB (82 vs 103 $^{\circ}\text{C}$), and SP2EG had a T_g value 20% lower than SPB (32 vs 40 $^{\circ}\text{C}$). Within each PEEA series, an increase in the ether bonds (from diethylene glycol and triethylene glycol to tetraethylene glycol) led to a reduction in T_g as well. For example, in the unsaturated fumaryl based PEEAs, their T_g value decreased from 82 $^{\circ}\text{C}$ (FP2EG with two ether bonds per repeating unit) to 67 $^{\circ}\text{C}$ (FP3EG with three ether bonds per repeating unit) and 54 $^{\circ}\text{C}$ (FP4EG with four ether bonds per repeating unit). The reduction in T_g appeared to be more severe in the saturated PEEA series

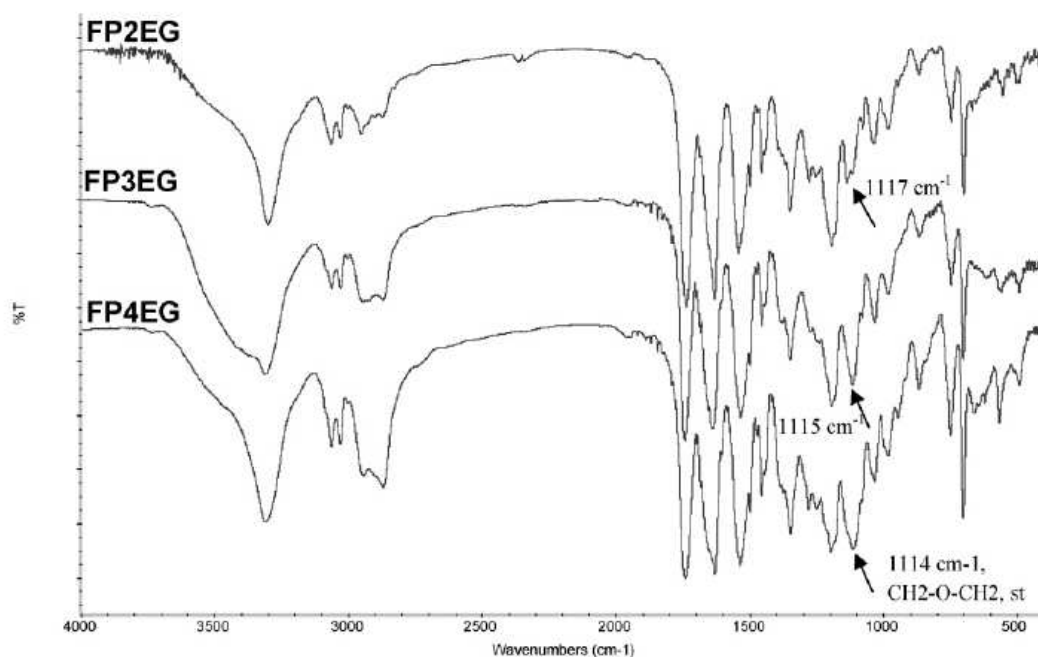


Figure 2. FTIR spectra of fumaryl based poly(ether ester amide)s: FP2EG, FP3EG, and FP4EG. (st: stretching vibration).

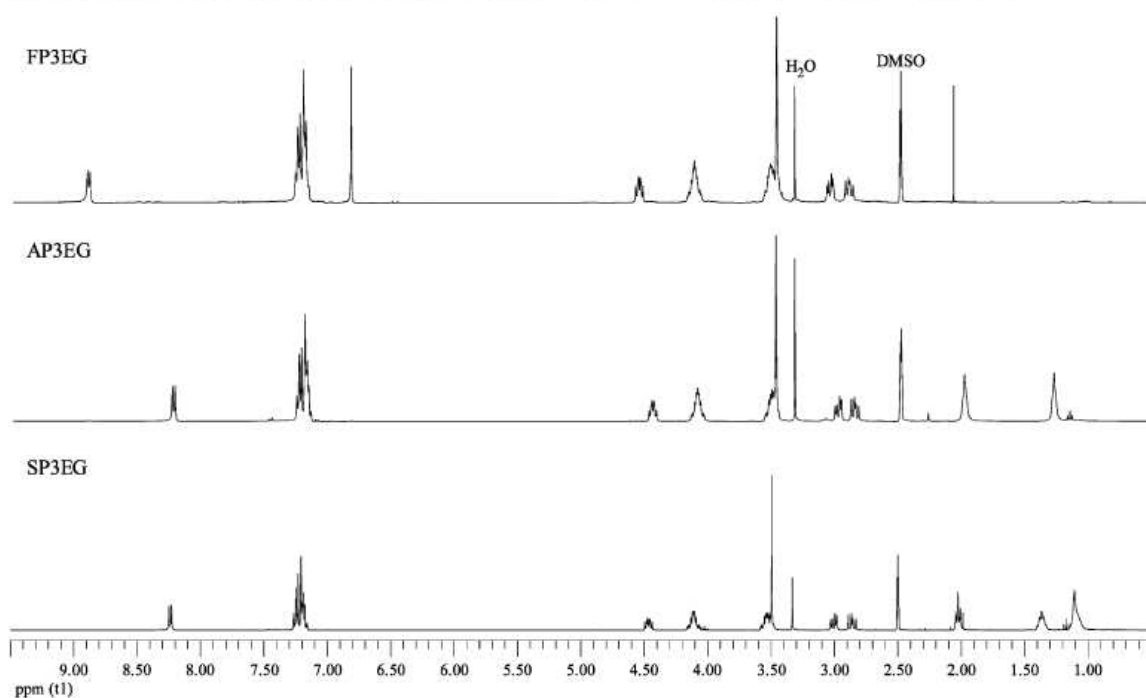


Figure 3. ^1H NMR spectra of three poly(ether ester amide)s in DMSO solvent: FP3EG, AP3EG, and SP3EG.

than in the unsaturated PEEA series. For example, there was a 71% reduction in T_g from saturated AP2EG to AP4EG, while only 34% reduction was found from FP2EG to FP4EG. The lower T_g of PEEAs was attributed to the presence of one or more ether bonds in the repeating units of the PEEA macromolecules, and it is well-known that the ether bond is a quite flexible bond for free rotation (i.e., increasing the polymer chain

flexibility and promoting the chain segmental movement and hence a lower T_g value).

As shown in Table 4, the solubility of PEEAs (50 mg) in common organic solvents (1.0 mL) at room temperature (25 °C) was evaluated. All PEEAs are completely soluble in DMSO, DMF, and formic acid (except FP2EG) but cannot dissolve in water, methanol, and ethyl acetate. Saturated PEEAs can also

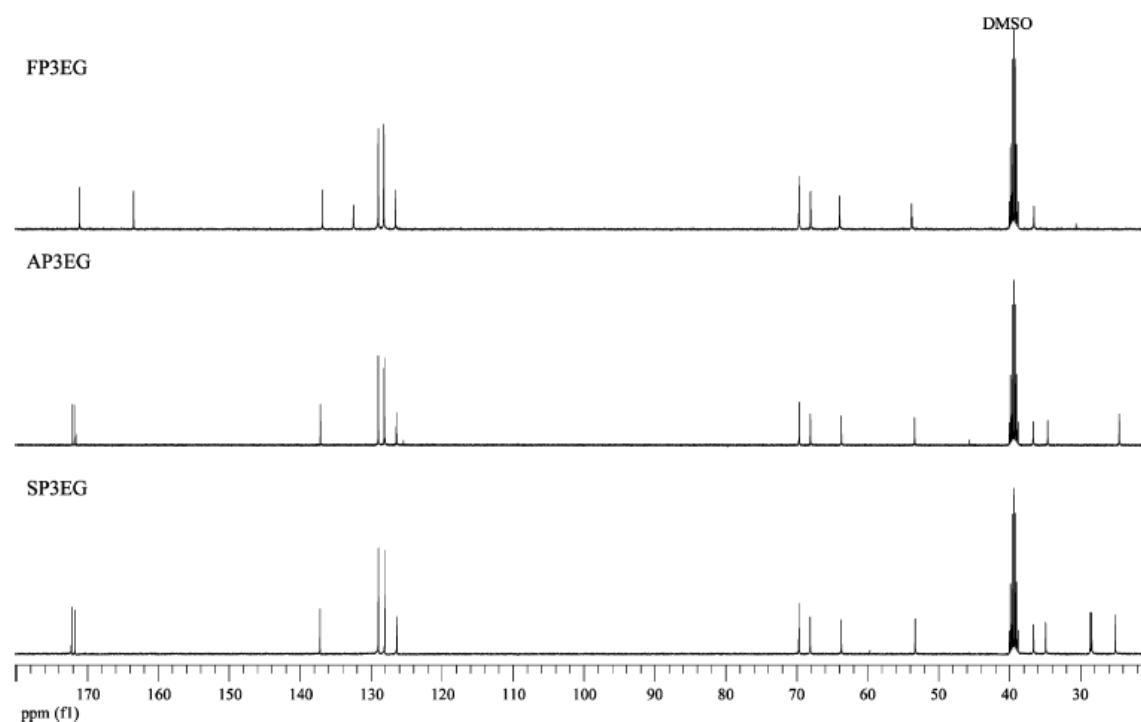
Figure 4. ^{13}C NMR spectra of three poly(ether ester amide)s in DMSO solvent: FP3EG, AP3EG, and SP3EG.

Table 2. Elemental Analysis Results of PEEAs

sample	formula	f_w (g/mol)	calcd (%)			exptl (%)		
			C	H	N	C	H	N
FP2EG	$(\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_7)_n$	480.52n	64.99	5.87	5.83	64.74	5.75	5.82
FP3EG	$(\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8)_n$	524.57n	64.11	6.15	5.34	63.93	6.17	5.36
FP4EG	$(\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_9)_n$	568.62n	63.37	6.38	4.93	62.82	6.34	4.99
AP2EG	$(\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_7)_n$	510.59n	65.87	6.71	5.49	65.64	6.81	5.46
AP3EG	$(\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_8)_n$	554.64n	64.97	6.91	5.05	64.37	6.98	5.03
AP4EG	$(\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_9)_n$	598.69n	64.20	7.07	4.68	63.07	7.24	4.74
SP2EG	$(\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_7)_n$	568.71n	67.58	7.80	4.93	66.92	7.33	4.94
SP3EG	$(\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_8)_n$	610.75n	66.86	7.59	4.59	66.64	7.62	4.67
SP4EG	$(\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{N}_2\text{O}_9)_n$	654.80n	66.03	7.70	4.28	66.03	7.69	4.40

Table 3. Fundamental Properties of PEEAs^a

	yield (%)	η_{red} (dL/g) ^b	M_n (kg/mol)	M_w (kg/mol)	M_w/M_n	T_g (°C)	T_m (°C)
FP2EG ^c	76	0.13 ± 0.01				82	233
FP3EG ^c	83	0.49 ± 0.01				67	180
FP4EG ^c	69	0.27 ± 0.00				54	138
AP2EG	59	0.13 ± 0.01	2.6	4.6	1.76	49	101
AP3EG	79	0.61 ± 0.03	17.4	26.0	1.49	35	92
AP4EG	74	0.24 ± 0.01	9.0	14.6	1.63	14	63
SP2EG	62	0.16 ± 0.01	6.4	10.2	1.59	32	90
SP3EG	74	0.54 ± 0.00	27.3	41.1	1.51	23	67
SP4EG	63	0.17 ± 0.00	7.3	18.5	2.55	12	58

^a Synthesis conditions: C = 0.90 mol/L, T = 70 °C, DMA as the solvent.^b Measured in DMSO at 25 °C, C = 0.25 g/dL. ^c Molecular weight data not available because fumaryl based PEEA cannot be dissolved in THF, which is the solvent for the central GPC facility available to us.

dissolve in trifluoroethanol, THF, and chloroform. However, the three unsaturated PEEAs (FP2EG, FP3EG, and FP4EG) had poor solubility in those regular organic solvents because of the extra conjugation effect between C=C double bonds and carbonyl groups in their structure, which did not exist in the adipoyl and sebacoyl based saturated PEEAs. When comparing

Table 4. Solubility of PEEA at Room Temperature (25 °C)^a

	H ₂ O	formic acid	TFE	DMF	DMSO	THF	MeOH	ethyl acetate	CHCl ₃	acetone
AP2EG	—	+	+	+	+	+	—	—	+	±
AP3EG	—	+	+	+	+	+	—	—	+	±
AP4EG	—	+	+	+	+	+	—	—	+	±
SP2EG	—	+	+	+	+	+	—	—	+	±
SP3EG	—	+	+	+	+	+	—	—	+	+
SP4EG	—	+	+	+	+	+	—	—	+	+
FP2EG	—	±	—	+	+	—	—	—	—	—
FP3EG	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—
FP4EG	—	+	—	+	+	—	—	—	±	—

^a +: Soluble; —: insoluble; and ±: partially soluble or swelling.

to SPEA,²¹ UPEA,²⁴ and USPEA²⁶ that were derived from aliphatic dialcohols, the new OEG based PEEA, especially unsaturated PEEA, showed a significant improvement in solubility. For example, SP3EG and SP4EG can both dissolve in acetone, while SPB (1,4-butanediol based) and SPH (1,6-hexanediol based) cannot. All three unsaturated PEEAs (fumaryl based) can dissolved in DMF and DMSO, while FPB (1,4-butanediol based) and FPH (1,6-hexanediol based) can only partially dissolve.

In Vitro Biodegradation Test of PEEA Polymers. The biodegradation kinetics of two representative OEG based PEEA polymers (AP3EG and SP3EG) in either pH 7.4 PBS buffer or α -chymotrypsin solution at 37 °C is illustrated in Figures 5 and 6. The data show that both polymers exhibit much faster and more severe weight loss in the α -chymotrypsin solution than in a PBS buffer and that the level of biodegradability of these PEEA polymers in an enzyme solution depends on their chemical structures and enzyme concentration.

The biodegradation data showed that AP3EG was very sensitive to enzymatic biodegradation (Figure 5). Even in a very low concentration of α -chymotrypsin solution (0.05 mg/mL), AP3EG was biodegraded quickly and had a 13% weight loss

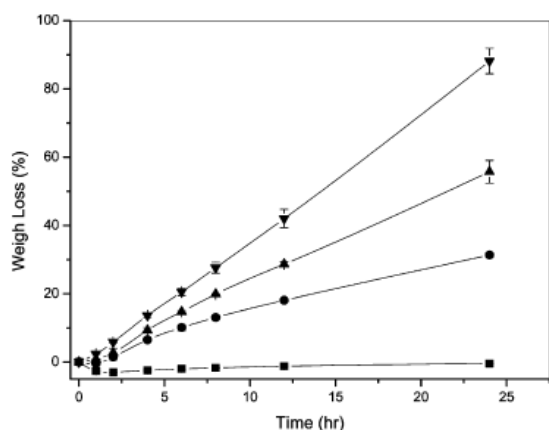


Figure 5. Effect of enzyme (α -chymotrypsin) concentration on weight loss kinetics of AP3EG at 37 °C; pH 7.4 PBS buffer serves as the control. (■) PBS buffer; (●) α -chymotrypsin at 0.05 mg/mL; (▲) α -chymotrypsin at 0.10 mg/mL; and (▼) α -chymotrypsin at 0.20 mg/mL.

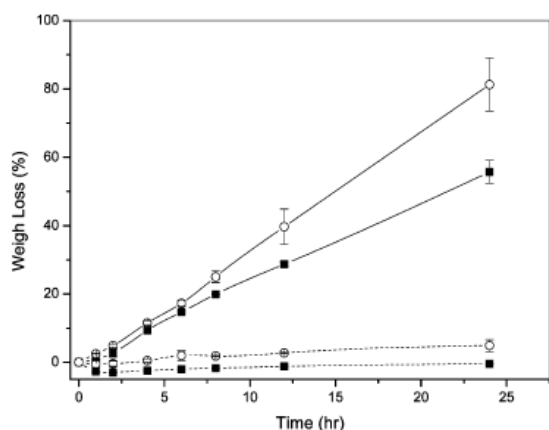


Figure 6. Effect of chemical structure of poly(ether ester amide)s on their weight loss behavior in PBS or α -chymotrypsin medium (0.1 mg/mL) at 37 °C. Solid line: enzyme medium and dashed line: PBS medium. (■) AP3EG in pure PBS buffer; (■) AP3EG in α -chymotrypsin solution; (●) SP3EG in pure PBS buffer; and (●) SP3EG in α -chymotrypsin solution.

in the first 8 h and 31% weight loss after 1 day. The biodegradation profiles of AP3EG showed that its hydrolysis rate increased with a higher α -chymotrypsin concentration. Irrespective of different α -chymotrypsin concentrations, the weight loss kinetics was very close to zero-order. It was also observed that the AP3EG films can maintain their constant surface area very well up to 80% weight loss, while their thickness became thinner and thinner. This suggests that the polymer films eroded evenly on the surface upon enzymatic hydrolysis, which is contrary to aliphatic polyesters' bulk biodegradation.

The effect of different types of monomer I on biodegradability is shown in Figure 6. The data concluded that the tendency of AP3EG (from monomer Ia: di-*p*-nitrophenyl adipate with four methylene groups, NA) to undergo α -chymotrypsin catalyzed hydrolysis is lower than that of SP3EG (from monomer Ib: di-*p*-nitrophenyl sebacate with eight methylene groups, NS). In a 0.10 mg/mL α -chymotrypsin solution, SP3EG also showed biodegradation kinetics close to zero-order and an even faster

biodegradation rate than that of AP3EG, 81 versus 56% weight loss within 24 h. Similar results can be found in our previous work on 1,4-hexanediol based saturated PEA.³² 8-Phe-6 synthesized from NS (monomer Ib) also showed a faster hydrolysis than 4-Phe-6 from NA (monomer Ia) in the α -chymotrypsin solution. The possible reason might be that a higher hydrophobic PEEA-like SP3EG could have a higher affinity for α -chymotrypsin and hence a higher enzymatic hydrolysis than AP3EG.

These OEG based PEEAs also showed a much higher tendency than those PEAs derived from conventional aliphatic diols toward α -chymotrypsin catalyzed biodegradation. For example, within 24 h, SP3EG showed a weight loss of 81.3%, while SPBe (from 2-butene-1,4-diol) had 13.8% and SPB (from 1,4-butanediol) had 6.4% only.³³ Therefore, the incorporation of ether linkages into the amino acid derived PEA backbone also promotes enzymatic biodegradation when compared to those PEAs from aliphatic diols.

The surface morphology changes of PEEA polymer films upon biodegradation are shown in Figures 7 and 8. After 18 h of incubation, both AP3EG and SP3EG PEEAs showed a significant α -chymotrypsin catalyzed biodegradation as evident by the appearance of a more severe moon crater shaped eroded surface with more pores when compared to their counterparts in PBS (Figure 8). Both of these PEEA film samples did not show visible surface erosion in a PBS solution. In addition, as the enzyme concentration increased, the erosion level of the polymer film surface became more severe, especially from 0.05 to 0.10 mg/mL (Figure 7). These SEM data are consistent with the weight loss data.

The GPC and contact angle data of the insoluble part of the PEEA polymer films in the incubation media were also measured to study their biodegradations (Table 5). Although the weight loss showed significant biodegradation of AP3EG (34.9%) and SP3EG (64.8%) samples in 0.1 mg/mL α -chymotrypsin solution for 18 h, the GPC data showed very little change in their molecular weights and molecular weight distributions, and a similar phenomenon also occurred in lower (0.05 mg/mL, less weight loss) and higher (0.20 mg/mL, more weight loss) α -chymotrypsin concentrations or PBS buffer (almost no weight loss). The contact angle data indicated that the polymer surface became slightly more hydrophilic as the weight loss of the polymer increased. For example, the contact angle of the original SP3EG film was 88° and, after 18 h of incubation, was reduced to 78° (3.4% weight loss) in PBS and 49° (64.8% weight loss) in the 0.10 mg/mL α -chymotrypsin solution. In the case of the AP3EG film incubated in 0.20 mg/mL α -chymotrypsin for 18 h, the contact angle of the polymer film could not be measured due to the fast spreading of water on the film sample surface. The much higher contact angle of the original SP3EG (88°) than AP3EG (62°) also confirmed that SP3EG was more hydrophobic than AP3EG because of a longer methylene chain length (eight vs four $-\text{CH}_2-$ groups).

On the basis of both GPC and contact angle data, it is also suggested that the enzymatic hydrolysis occurred mostly at the surface of the PEEA films and that the interior of the polymer remained intact during the hydrolysis progress. Similar findings were reported by Fan et al.^{34,35} that L- and D-phenylalanine based PEA particles underwent surface hydrolysis in α -chymotrypsin medium. Fan et al. also suggested that the rate and extent of the weight loss of the polymers by the enzymatic hydrolysis depended strongly on the solubility of the hydrolysis products because the polymer surface could be covered by unreactive biodegradation products that would retard the further biodegradation of the polymers if the biodegradation products were

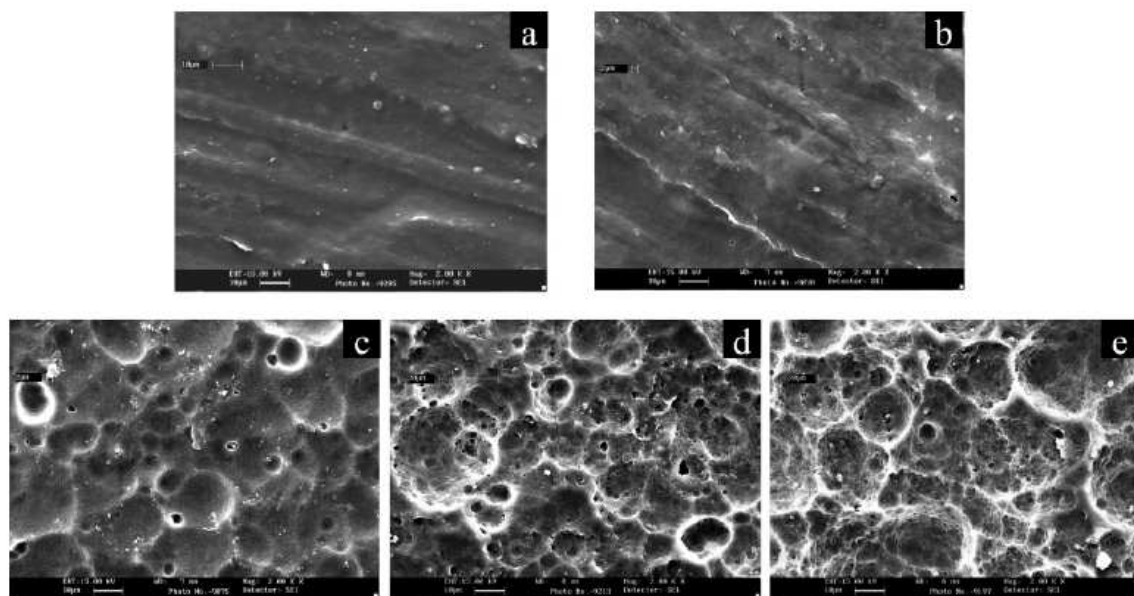


Figure 7. SEM images of AP3EG polymer after 18 h incubation at 37 °C. (a) Original film; (b) in PBS; (c) in 0.05 mg/mL α -chymotrypsin; (d) in 0.10 mg/mL α -chymotrypsin; and (e) in 0.20 mg/mL α -chymotrypsin.

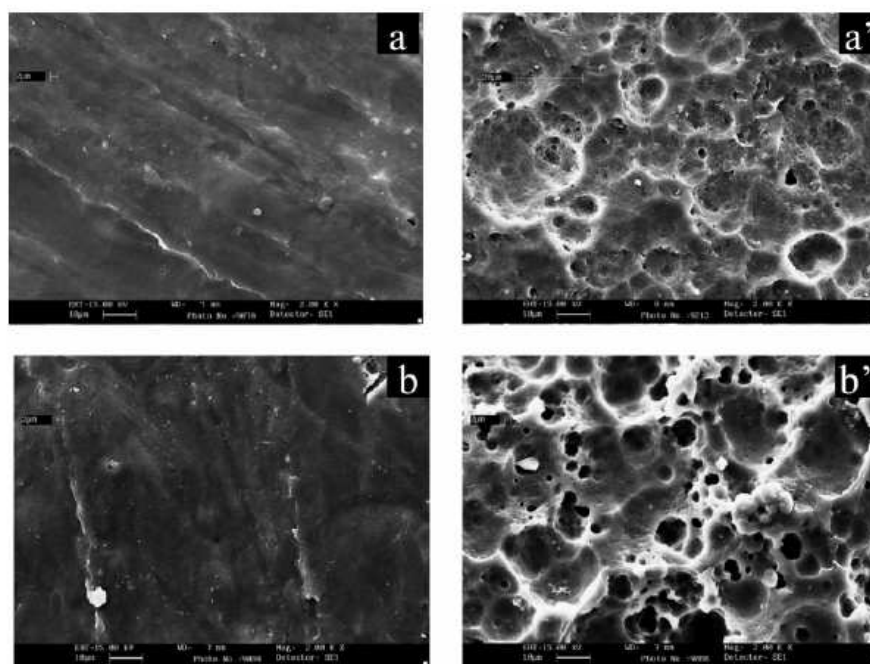


Figure 8. SEM images of AP3EG and SP3EG polymers after 18 h incubation in pH 7.4 PBS (a and b) and 0.10 mg/mL α -chymotrypsin solution (a' and b') at 37 °C. Panels a and a' are AP3EG film, and panels b and b' are SP3EG films.

insoluble. In addition, He et al.³⁶ reported that the melt spun fibers based on non-amino acid aliphatic PEA copolymers (from 6-aminocaproic acid and ϵ -caprolactone monomers at a 50:50 molar feed ratio) exhibited a typical surface erosion in a concentrated alkaline solution (1.0 M NaOH) because their molecular weight and chemical structure did not change significantly during degradation.

However, Bezemer et al.³⁷ reported bulk degradation of amphiphilic PEEA multiblock copolymers synthesized by melt

polycondensation of poly(ethylene glycol) (PEG), 1,4-dihydroxybutane, and short bis-ester–bis-amide blocks in PBS because the inherent viscosity of their PEEA decreased significantly as the mass loss increased with time, and the degradation did not result in significant changes in the surface morphology of their PEEA films.

In Chu et al., previously published research on the biodegradation of phenylalanine based saturated PEA,³² which has similar structures to the phenylalanine based PEEA in this study,

Table 5. Weight Loss, Molecular Weight, and Contact Angle of PEEA Polymers Before and After Incubation in Different Media for 18 h

polymer	concn of α -chymotrypsin (mg/mL)	incubation time (h)	weight loss (%)	M_n (kg/mol)	M_w (kg/mol)	M_w/M_n	contact angle ($^\circ$)
AP3EG	N/A ^a	0	0	17.4	26.0	1.49	62 $\pm$ 5
	0 (pure PBS)	18	-0.6	15.3	24.7	1.61	70 $\pm$ 13
	0.05	18	25.1	17.4	25.5	1.46	47 $\pm$ 17
	0.10	18	34.9	18.2	26.2	1.44	N/A ^b
	0.20	18	62.3	17.6	25.7	1.46	N/A ^b
SP3EG	N/A ^a	0	0	27.3	41.1	1.51	88 $\pm$ 5
	0 (pure PBS)	18	3.4	28.3	43.5	1.54	78 $\pm$ 4
	0.10	18	64.8	29.0	44.2	1.53	49 $\pm$ 5

^a Original sample as the control. ^b Water drop spreads on the sample surface.

was suggested that hydrolysis cleavage of the ester bonds was the mechanism of degradation and that the degradation products were also confirmed by FTIR and UV spectra as the anticipated *N,N'*-adipoyl-(bis-L-phenylalanine) species. The biodegradation products of PEEAs synthesized in the current study, due to the similarity of their chemical structures to PEA's, may also follow a similar hydrolysis route of ester bond cleavage. A separated detailed study of the exact chemical nature of the biodegradation products of PEEAs would be needed and will be initiated in the near future.

Conclusion

A series of novel biodegradable unsaturated and saturated PEEAs based on oligoethylene glycol (OEG) and L-phenylalanine were successfully synthesized by solution polycondensation. The polymers can be obtained with fairly good yields (59 to ~83%) at 70 °C for 48 h in DMA solvent. The molecular weights (M_n and M_w) measured by GPC could be as high as 27.3 kg/mol and with a MWD of 1.51 for SP3EG. The chemical structures of all the nine types of PEEAs were confirmed by IR, NMR spectra, and elemental analysis. The unsaturated PEEAs have higher T_g values (> 138 °C) than the saturated PEEAs (< 101 °C) of a similar backbone structure. The solubility of the polymers was poor in water, methanol, and ethyl acetate and better in formic acid, DMA, and DMSO. A preliminary biodegradation study showed that the L-phenylalanine based PEEAs had a much higher tendency toward the α -chymotrypsin catalyzed biodegradation than the corresponding SPEA or UPEA based on aliphatic dialcohols. On the basis of the analysis of the data of weight loss, and the changes in dimension, contact angle, and molecular weight of AP3EG and SP3EG samples upon biodegradation, it is suggested that the L-phenylalanine based PEEAs eroded evenly on the surface upon enzymatic hydrolysis and were subject to surface, rather than bulk, biodegradation.

References and Notes

- Behraves, E.; Jo, S.; Zygorakis, K.; Mikos, A. G. Synthesis of in situ cross-linkable macroporous biodegradable poly(propylene fumarate-co-ethylene glycol) hydrogels. *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 374–381.
- Salem, A. K.; Cannizzaro, S. M.; Davies, M. C.; Tendler, S. J. B.; Roberts, C. J.; Williams, P. M.; Shakesheff, K. M. Synthesis and characterization of a degradable poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) copolymer with biotinylated end groups. *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 575–580.
- Deschamps, A. A.; van Apeldoorn, A. A.; de Bruijn, J. D.; Grijpma, D. W.; Feijen, J. Poly(ether ester amide)s for tissue engineering. *Biomaterials* **2003**, *24*, 2643–2652.
- Lee, K. H.; Chu, C. C.; Quimby, F.; Klaessig, S. Molecular design of biologically active biodegradable polymers for biomedical applications. *Macromol. Symp.* **1998**, *130*, 71–80.
- Won, C. Y.; Chu, C. C.; Lee, J. D. Novel biodegradable copolymers containing pendant amine functional groups based on aspartic acid and poly(ethylene glycol). *Polymer* **1998**, *39*, 6677–6681.
- Jeong, B.; Bae, Y. H.; Lee, D. S.; Kim, S. W. Biodegradable block copolymers as injectable drug-delivery systems. *Nature* **1997**, *388*, 860–862.
- Kumar, N.; Ravikumar, M. N. V.; Domb, A. J. Biodegradable block copolymers. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *53*, 23–44.
- Chu, C. C. Biodegradable polymeric biomaterials: An updated overview. In *The Biomedical Engineering Handbook*, 3rd ed.; Bronzino, J. D., Ed.; Taylor and Francis: New York, 2006; pp 421–422.
- Bastoli, C. *Handbook of Biodegradable Polymers*; Woodhead Publishing Ltd.: Cambridge, 2005.
- Chiellini, E.; Meisel, I. *Recent Advances in Biodegradable Polymers and Plastics*; John Wiley and Sons: New York, 2003.
- Hollinger, J. *Biomedical Applications of Synthetic Biodegradable Polymers*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1995.
- Kimura, Y. Biodegradable Polymers. In *Biomedical Applications of Polymeric Material*; Tsuruta, T.; Hayashi, T.; Kataoka, K.; Ishihara, K.; Kimura, Y., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1993; pp 164–190.
- Shalaby, S. W. *Biomedical Polymers: Designed-to-Degrade Systems*; Hanser Publishers: New York, 1994.
- Smith, R. *Biodegradable Polymers for Industrial Application*; Woodhead Publishing Ltd.: Cambridge, 2005.
- Vert, M.; Feijen, J.; Albertsson, A.; Scott, G.; Chiellini, E. *Biodegradable Polymers and Plastic*; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1992.
- Barrows, T. H.; Grussing, D. M.; Hegdahl, D. W. Poly(ester amides): A new class of synthetic absorbable polymers. *Trans. Soc. Biomater.* **1983**, *109*.
- Veld, P. J. A. I.; Dijkstra, P. J.; Feijen, J. Synthesis of biodegradable polyesteramides with pendant functional groups. *Macromol. Chem. Phys.* **1992**, *193*, 2713–2730.
- Grigat, E.; Koch, R.; Timmermann, R. BAK 1095 and BAK 2195: Completely biodegradable synthetic thermoplastics. *Polym. Degrad. Stab.* **1998**, *59*, 223–226.
- Paredes, N.; Rodriguez-Galan, A.; Puiggali, J. Synthesis and characterization of a family of biodegradable poly(ester amide)s derived from glycine. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1998**, *36*, 1271–1282.
- Puiggali, J.; Aceituno, J. E.; Paredes, N.; Rodriguez-Galan, A.; Pelfort, M.; Subirana, J. A. Preliminary structural data on new biodegradable poly(esteramide)s derived from L- and L,D-alanine. *Abstr. Pap.-Am. Chem. Soc.* **1998**, *216*, 858.
- Katsarava, R.; Beridze, V.; Arabuli, N.; Kharadze, D.; Chu, C. C.; Won, C. Y. Amino acid-based bioanalogous polymers. Synthesis and study of regular poly(ester amide)s based on bis(α -amino acid) α,ω -alkylene diesters, and aliphatic dicarboxylic acids. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1999**, *37*, 391–407.
- Fan, Y. J.; Kobayashi, M.; Kise, H. Synthesis and biodegradability of new polyesteramides containing peptide linkages. *Polym. J.* **2000**, *32*, 817–822.
- Qian, Z. Y.; He, Y.; Zou, Y. B.; Li, S.; Liu, X. B. Structure and property study of degradable polyesteramide fibres: Processing and alkaline degradation behavior. *Polym. Degrad. Stab.* **2004**, *83*, 127–132.
- Guo, K.; Chu, C. C.; Chkhaidze, E.; Katsarava, R. Synthesis and characterization of novel biodegradable unsaturated poly(ester amide)s. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 1463–1477.
- Lips, P.; Dijkstra, P. J. Biodegradable Polyesteramides. In *Biodegradable Polymers for Industrial Applications*; Smith, R., Ed.; Woodhead Publishing Ltd.: Cambridge, 2005; pp 107–139.
- Guo, K.; Chu, C. C. Synthesis, characterization, and biodegradation of copolymers of unsaturated and saturated poly(ester amide)s. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, in press.
- Chu, C. C.; Katsarava, R. Elastomeric functional biodegradable copolyester amides and copolyester urethanes. U.S. Patent 6,503,538, Jan. 7, 2003.
- Jokhadze, G.; Machaidze, M.; Panosyan, H.; Chu, C. C.; Katsarava, R. Synthesis and characterization of functional elastomeric poly(ester amide) copolymers. *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, in press.
- Guo, K.; Chu, C. C. Synthesis and characterization of novel biodegradable unsaturated poly(ester amide)/poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 3932–3944.

PEEA Synthesis, Characterization, and Biodegradation

Biomacromolecules, Vol. 8, No. 9, 2007 2861

- (30) Guo, K.; Chu, C. C. Controlled release of hydrophobic drugs from biodegradable unsaturated poly(ester amide)s/poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels. *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.*, in press.
- (31) Villuendas, I.; Inbarren, J. I.; Munoz-Guerra, S. Poly(ester amide)s derived from L-tartaric acid and amino alcohols. 1. Regic polymers. *Macromolecules* **1999**, *32*, 8015–8023.
- (32) Tsitlanadze, G.; Machaidze, M.; Kviria, T.; Djavakhishvili, N.; Chu, C. C.; Katsarava, R. Biodegradation of amino acid-based poly(ester amide)s: In vitro weight loss and preliminary in vivo studies. *J. Biomater. Sci., Polym. Ed.* **2004**, *15*, 1–24.
- (33) Guo, K.; Chu, C. C. Biodegradation study of biodegradable unsaturated poly(ester amide)s and their hydrogels. *Biomaterials*, in press.
- (34) Fan, Y. J.; Kobayashi, M.; Kise, H. Synthesis and specific biodegradation of novel polyesteramides containing amino acid residues. *J. Polym. Sci., Polym. Chem.* **2001**, *39*, 1318–1328.
- (35) Fan, Y. J.; Kobayashi, M.; Kise, H. Synthesis and biodegradation of poly(ester amide)s containing amino acid residues: Effect of the stereoisomeric composition of L- and D-phenylalanines on the enzymatic degradation of the polymers. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2002**, *40*, 385–392.
- (36) He, Y.; Qian, Z. Y.; Zhang, H. L.; Liu, X. B. Alkaline degradation behavior of polyesteramide fibers: Surface erosion. *Colloid Polym. Sci.* **2004**, *282*, 972–978.
- (37) Bezemer, J. M.; Weme, P. O.; Grijpma, D. W.; Dijkstra, P. J.; van Blitterswijk, C. A.; Feijen, J. Amphiphilic poly(ether ester amide) multiblock copolymers as biodegradable matrices for the controlled release of proteins. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *52*, 8–17.

BM070158C