



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Marcin Wysokowski
Politechnika Poznańska

Stypendysta projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Rozwój nowych nieorganiczno-organicznych materiałów chitynowych otrzymywanych w warunkach ekstremalnej syntezy biomimetycznej

Praca doktorska, realizowana jest pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Teofila Jesionowskiego, we współpracy z zagranicznym ośrodkiem badawczym (TU Bergakademie Freiberg, Niemcy), dotyczy wytwarzania nieorganiczno-organicznych, chitynowych biomateriałów hybrydowych na drodze biomineralizacji chitynowych szkieletów gąbek morskich (*Ianthella basta* oraz *Aplysina sp.*) w warunkach ekstremalnej syntezy biomimetycznej. O wyjątkowości przedsięwziętej tematyki badawczej stanowi fakt, że we wszystkich prowadzonych przeze mnie badaniach zakłada się wykorzystanie dwu- i trójwymiarowych porowatych, chitynowych szkieletów gąbek morskich *Ianthella basta* oraz *Aplysina sp.*, co pozwala wyeliminować niepożądane procesy związane z przetworzeniem biopolimeru do właściwej formy morfologicznej. Nadrzędnym celem pracy doktorskiej jest poznanie roli chityny w procesach formowania nieorganiczno-organicznych materiałów w procesach biomineralizacji. Cel realizowanej pracy doktorskiej zostanie osiągnięty przez określenie parametrów kinetycznych oraz termodynamicznych formowania biomateriałów w obecności zdefiniowanych morfologicznie matryc chitynowych oraz szeroką analizę fizykochemiczną uzyskanych biomateriałów z uwzględnieniem ich potencjału aplikacyjnego w oparciu o najnowsze techniki badawcze. Dodatkową koncepcją niniejszej pracy doktorskiej jest przeprowadzenie syntezy biokompozytów chityna-POSS w celu opracowania nowej klasy materiałów o szerokim spektrum aplikacyjnym wynikającym z połączenia unikatowych właściwości chityny oraz silsekwiksanów.

Na podstawie licznych doniesień literaturowych można stwierdzić, że biomimetyczna mineralizacja jest potężnym narzędziem w zakresie syntezy zaawansowanych materiałów charakteryzujących się kompleksową strukturą, kształtem, nano-organizacją oraz właściwościami fizykochemicznymi. Szczególnie, biomimetyczne połączenie nieorganicznych

materiałów (nanokryształów, nanocząstek) z biocząsteczkami jest ostatnio jedną z gwałtownie rozwijających się gałęzi inżynierii materiałowej, skupiającą specjalistów różnych dziedzin w celu naśladowania procesów zachodzących w przyrodzie oraz opracowania multifunkcyjnych biomateriałów dla inżynierii tkankowej, systemów dostarczania leków, materiałów fonicznych, katalizatorów oraz biosensorów. Przeważnie, biomimetyczna synteza biominerałów oparta jest na mineralizacji peptydów, protein oraz polisacharydów w warunkach otoczenia tj. 37 °C, pH 5-7. Wszystkie te biocząsteczki odgrywają kluczową rolę w procesach nukleacji, ale również zapewniają kinetyczną oraz termodynamiczną kontrolę wzrostu kryształów, dodatkowo mogą zostać wykorzystane w roli szablonów w preparatyce zróżnicowanych struktur nieorganicznych. Jednakże sytuacja ulega zmianie, gdy pod uwagę bierze się procesy biomineralizacji, które zachodzą w ekstremalnie niskich lub ekstremalnie wysokich temperaturach, w których enzymy i białka mają niską aktywność lub ulegają denaturacji. W naturze istnieje szereg przykładów biomineralizacji zachodzącej w źródłach hydrotermalnych czy podwodnych kominach hydrotermalnych, które do dnia dzisiejszego są słabo poznane. Dlatego nadrzędnym celem strategii zwanej „Extreme Biomimetics” jest poznanie mechanizmów i zasad odpowiedzialnych za formowanie biominerałów w środowiskach ekstremalnych z biologicznego punktu widzenia. Dokładne zrozumienie zasad i reguł, zarówno w aspekcie kinetycznym jak i termodynamicznym pozwoli na opracowanie metod syntezy nowatorskich biomateriałów o unikatowych właściwościach umożliwiających ich zastosowanie w biomedycynie, a także w roli adsorbentów i katalizatorów. Te niszowe warunki faworyzują wykorzystanie polisacharydów jako matryc dla procesu biomineralizacji, ponieważ większość protein ulega denaturacji w wysokiej temperaturze (90 °C) oraz niskim pH (~1,5). Dzięki charakterystycznej dla polisacharydów obecności zróżnicowanych reaktywnych grup funkcyjnych, różnorodnemu składowi chemicznemu oraz strukturalnemu, związki te odgrywają główną rolę w procesie nukleacji oraz pełnią funkcje szablonów dla depozycji minerałów w komórkach wielu organizmów żyjących w warunkach ekstremalnych. Wszystkie te czynniki są źródłem inspiracji dla wielu naukowców zajmujących się biomimetyczną syntezą zaawansowanych biomateriałów. Jednym z najbardziej rozpowszechnionych polisacharydów, ściśle związanym z procesami biomineralizacji, jest chityna. Unikatowe właściwości mechaniczne chityny odgrywają główną rolę w szkieletach wielu organizmów, w których biopolimer ten jest głównym materiałem konstrukcyjnym zapewniającym sztywność i stabilność mechaniczną nieorganiczno-organicznych szkieletów skorupiaków, okrzemek, koralowców, muszli mięczaków, oraz gąbek morskich i słodkowodnych. Z chemicznego punktu widzenia chityna jest liniowym polisacharydem zbudowanym z merów N-acetyloglukozaminowych połączonych wiązaniem β -1,4-glikozydowym, nierozpuszczalnym w większości znanych rozpuszczalników oraz charakteryzującym się stosunkową stabilnością termiczną (<360 °C), która jest głównym

czynnikiem umożliwiającym zastosowanie jej w procesach mineralizacji zachodzących w wysokich temperaturach i rozwoju nowych zaawansowanych biomateriałów w odniesieniu do założeń „Extreme Biomimetic”. Chityna jest również związkem o ogromnym znaczeniu w nowoczesnej inżynierii materiałowej, unikatowa biokompatybilność, biodegradowalność, nietoksyczny charakter pozwalają na zastosowanie tego polimeru w preparatyce nowoczesnych substytutów kości, materiałów opatrunkowych i systemów dostarczania leków. Jednakże, chityna charakteryzuje się relatywnie słabą odpornością mechaniczną, a jej nierozpuszczalność w większości znanych rozpuszczalników utrudnia przetwórstwo biopolimeru do porowatych form. Odpowiednia porowatość oraz właściwości wytrzymałościowe, obok biokompatybilności i biozgodności są jednym z kluczowych kryteriów doboru materiałów do przeprowadzenia wszczepień *in vivo*. W rozwiązaniu ww. problemów inspirację stanowią naturalnie występujące w przyrodzie chitynowo-nieorganiczne szkielety wybranych gatunków gąbek morskich charakteryzujące się wysoką wytrzymałością mechaniczną oraz rozwój biomimetyki, jako niezwykle istotnej nauki w dziedzinie projektowania nowoczesnych bioinspirowanych materiałów. Dlatego w niniejszej pracy doktorskiej zdecydowano się na innowacyjne połączenie dwóch niszowych kierunków badań opierających się na aplikacji nowych zdefiniowanych morfologicznie źródeł chityny w procesie biomineralizacji oraz zastosowania hydrotermalnych warunków syntezy nieorganiczno-organicznych nanobiomateriałów. Dodatkowo ze względu na unikatowe właściwości użytkowe hybrydowych nieorganiczno-organicznych biomateriałów chitynowych przeprowadzony zostanie szereg analiz pozwalających wyznaczyć potencjał aplikacyjny, jako potencjalnych substytutów kości, nośników enzymów, adsorbentów metali ciężkich oraz katalizatorów reakcji chemicznych.

Dostęp do nowoczesnej aparatury badawczej pozwoli na wykorzystanie szeregu fundamentalnych badań kluczowych z punktu widzenia tematyki realizowanej pracy doktorskiej

- a) Wyznaczenie parametrów kinetycznych oraz termodynamicznych procesów hydrotermalnej biomineralizacji chityny w zależności od stosowanych warunków procesowych oraz rodzaju zastosowanego mineralizatora.
- b) Ocena charakteru oddziaływań między matrycą chitynową, a fazą mineralną. W tym celu przeprowadzona zostanie szeroka analiza z wykorzystaniem najnowocześniejszych technik badawczych XPS, NMR, FTIR, HRTEM, Nano-FTIR oraz spektroskopii Ramana.
- c) Analiza termiczna zarówno wyizolowanych matryc chitynowych oraz otrzymanych nano(bio)kompozytów chityna-SiO₂, chityna-MO_x oraz chityna-POSS w oparciu o metody: termogravimetryczną (TG/DTA) i skaningową kalorymetrię różnicową (DSC). Badanie to pozwoli przede wszystkim na ocenę

stabilności termicznej uzyskiwanych biomateriałów. Umożliwi również wyznaczenie energii aktywacji rozkładu termicznego omawianych materiałów.

- d) Wyznaczenie rozkładu wielkości porów oraz powierzchni właściwej hybrydowych nieorganiczno-organicznych biomateriałów, co pozwoli określić również przydatność otrzymanych materiałów w charakterze adsorbentów wykorzystywanych w procesach oczyszczania ścieków,
- e) Określenie bioaktywności wybranych nano(bio)kompozytów w kontakcie ze sztucznym płynem ustrojowym (SBF) jako potencjalnych implantów wykorzystywanych w regeneracji tkanki kostnej oraz ocena biodegradacji wybranych biokompozytów pod wpływem lizozymu.
- f) Określenie właściwości antybakteryjnych wybranych biomateriałów

Dodatkowo podjęta tematyka badawcza zakłada preparatykę nowej generacji nano(bio)materiałów chityna-POSS oraz wnikliwą ich analizę fizykochemiczną w aspekcie poznawczym jak i aplikacyjnym.

Podsumowując założenia pracy doktorskiej mają ogromne znaczenie nie tylko poznawcze ale również pozwalają na opracowanie technik syntezy nanobiomateriałów, które będą atrakcyjne z ekonomicznego, ekologicznego a w szczególności użytkowego punktu widzenia. Szczególnie interesującym aspektem jest potencjał wykorzystania nieorganiczno-organiczne biomateriałów chitynowych o zdefiniowanej morfologii jako alternatywy dla stosowanych obecnie implantów tkanki kostnej oraz materiałów opatrunkowych.

Dodatkowo materiały będące przedmiotem realizowanej pracy doktorskiej mogą przyczynić się do opracowania nowych technologii syntezy związków chemicznych ze względu na ich potencjał katalityczny zależny od wprowadzanego tlenku. Materiały te posiadają powinowactwo do białek i mogą również stać się interesującymi nośnikami enzymów pozwalającymi na ich skuteczną immobilizację i wielokrotne wykorzystanie w procesach biotechnologicznych, co w znacznej mierze pozwoli zredukować koszty związane z obecnym zastosowaniem (drogich) biokatalizatorów i przyczyni się do poprawienia ekonomiki procesu. Ponadto, innowacyjny charakter prowadzonych prac badawczych oraz nawiązana współpraca naukowa mogą pomóc w umocnieniu pozycji Wielkopolski na tzw. europejskiej mapie infrastruktury badawczej.