

BIOMATERIAŁY HYBRYDOWE NA BAZIE ZWIĄZKÓW KRZEMU

HYBRID BIOMATERIALS BASED ON SILICON COMPOUNDS

Łukasz John

*Wydział Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
e-mail: lukasz.john@uwr.edu.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Organiczno-nieorganiczne biokompozyty polisiloksanowe
2. Projektowanie biomateriałów hybrydowych o potencjalnym zastosowaniu w hipertermii
3. Biomateriały na bazie funkcjonalizowanych klatkowych związków krzemu

Uwagi końcowe

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane



Dr hab. Łukasz John, prof. UW jest absolwentem Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego (2004), gdzie uzyskał z wyróżnieniem stopień doktora nauk chemicznych (2008) oraz stopień doktora habilitowanego (2018). Jego główne zainteresowania naukowe skupiają się na chemii związków krzemu w kontekście syntezy funkcjonalnych organiczno-nieorganicznych materiałów hybrydowych (bazujących głównie na wielościennej oligomerycznych silseskwioxanach POSS, silseskwioxanach typu *double-decker* DDSQ i polisiloksanach) oraz nowej klasy ligandów dla chemii koordynacyjnej. Jego prace naukowe wielokrotnie nagradzane były promocją artykułu na okładkach czasopism, m.in. *Dalton Transactions*, *Chemistry – A European Journal* czy *New Journal of Chemistry*. W latach 2009–2010, dzięki stypendium Rządu Francuskiego, odbył staż podoktorski w Uniwersytecie Blaise Pascal w Clermont-Ferrand (Francja) w grupach badawczych prof. Jean-Marie Nédélec'a i prof. Edouarda Jallota. Obecnie kieruje Zespołem Chemii Biomateriałów oraz Pracownią Technologii Chemicznej w macierzystej jednostce. Laureat licznych nagród naukowych i wyróżnień, m.in. dwukrotnie Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, *SCOPUS-Perspektywy Young Researcher Award*, Narodowego Centrum Nauki (granty SONATA, OPUS), Wrocławskiego Oddziału Polskiej Akademii Nauk. W latach 2011–2012 był członkiem Rady Młodych Naukowców w Ministerstwie Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Jako promotor pomocniczy wypromował dwóch doktorów (2017, 2016), a obecnie sprawuje opiekę nad sześcioma Kandydatkami do stopnia naukowego.



<https://orcid.org/0000-0003-1160-2480>

ABSTRACT

Biomaterials based on silicon compounds are considered ideal building blocks of hybrid materials due to their unique structures and excellent performance. This review article highlights the selected achievements published by the Biomaterials Chemistry Research Group led by Professor Łukasz John, working at the Faculty of Chemistry, University of Wrocław, Poland. Paper deals with specific issues in the field of polysiloxanes and cage-like silsesquioxane-based hybrid materials, ranging from monomer functionalization and materials preparation to biomedical applications and tissue engineering. The findings reported in the original papers are summarized, and the challenges and prospects in the biomaterials field are also discussed for further development and exploitation.

Keywords: biomaterials, silicon chemistry, polysiloxanes, cage-type silsesquioxanes POSSs, tissue engineering

Słowa kluczowe: biomateriały, chemia krzemu, polisiloksany, klatkowe silseskwioxany POSS, inżynieria tkankowa

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

DMEM	– analog płynu biologicznego (z ang. <i>Dulbecco Modified Eagle Medium</i>)
EDS	– mikroanaliza rentgenowska
EGDMA	– dimetakrylan glikolu etylenowego
FBS	– bydlęca surowica płodowa (z ang. <i>Fetal Bovine Serum</i>)
FDA	– Agencja Żywności i Leków (z ang. <i>Food and Drug Administration</i>)
FT-IR	– spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera
GC-MS	– chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrem masowym
HEMA	– 2-hydroksyetylometakrylan
HR-MS	– wysokorozdzielcza spektrometria mas
ICP	– atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukowanej (z ang. <i>Inductively Coupled Plasma</i>)
ISO	– Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna (z ang. <i>International Organization for Standardization</i>)
JCPD	– baza krystalograficzna (z ang. <i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>)
KK	– kontrola komórkowa
NHOst	– prawidłowa linia ludzkich fibroblastów
NMR	– spektroskopia magnetycznego rezonansu jądowego
OAc	– grupa octanowa
OAS	– okta(3-aminopropyl)silsekwioxan
OBM	– suplementowane medium hodowlane
OR	– grupa alkoksylowa
pH	– indykator kwasowości
PIXE-RBS	– protonowa analiza fluorescencyjna promieni X z razeฟอร์ดowskim rozpraszaniem wstecznym (z ang. <i>Particle Induced X Ray Emission Spectroscopy - Rutherford Backscattering Spectrometry</i>)
POSS	– poliedryczny (wielościenny) oligomeryczny silsekwioxan (z ang. <i>Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane</i>)
PXRD	– rentgenowska dyfraktometria proszkowa (z ang. <i>Powder X-Ray Diffraction</i>)
RSiX ₃	– trójfunkcyjny silan
SAED	– dyfrakcja elektronowa z wybranego obszaru w TEM
SAV	– stosunek powierzchni właściwej do objętości (z ang. <i>Surface area/volume ratio</i>)
SEM	– skaningowy mikroskop elektronowy
SRB	– sulforodamina B
T ₈ , T ₁₀ , T ₁₂	– oznaczenia klatkowych silsekwioxanów, w których narożach jest odpowiednio 8, 10 i 12 atomów krzemu
TCA	– kwas trichlorooctowy
TEM	– transmisyjny mikroskop elektronowy
TEOS	– tetraetoksylian
TEVS	– trietoksywinylosilan
TMSPMA	– 3-(trimetoksyililo)propylometakrylan
δ	– sigma, przesunięcie chemiczne

WPROWADZENIE

W ostatnich latach, po okresie intensywnej pracy w obszarze chemii koordynacyjnej i metaloorganicznej dotyczącej modelowych układów katalitycznych i prekursorów molekularnych dla złożonych materiałów tlenkowych, moje zainteresowania naukowe przesunęły się w stronę związków krzemu. Poszukiwania te odnoszą się do efektywnej syntezy nowych układów oraz ich potencjalnego zastosowania na pograniczu chemii, biologii i inżynierii materiałowej. Unikatowość tej tematyki na Wydziale Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego, stała się przyczyną powołania Zespołu Chemii Biomateriałów, którego jestem kierownikiem.

Mimo że krzem znajduje się w 14. grupie układu okresowego, to charakter wiązań oraz właściwości jego związków odbiegają od typowych dla analogicznych związków węgla. Do trwałych termodynamicznie wiązań typowych dla związków krzemu zalicza się mostki siloksanowe --Si--O--Si-- , podczas gdy połączenia krzemowe --Si--Si--Si-- nie tworzą trwałych układów. W przypadku związków węgla w szeregu alkanów sytuacja jest odwrotna, ponieważ łańcuchy węglowe --C--C--C-- są trwałe termodynamicznie, a połączenia typu --C--O--C-- w większości przypadków wykazują mniejszą stabilność (tutaj do wyjątków można zaliczyć między innymi eter dietylowy). Podobnie jest w przypadku form cyklicznych, gdzie trwałymi termodynamicznie są odpowiednio te z jednostkami budulcowymi Si--O i pierścienie węglowe; przykładem trwałego pierścienia z połączeniem --C--O--C-- jest tetrahydrofuran. W związkach krzemu preferowane są wiązania kowalencyjne spolaryzowane, natomiast w związkach węgla występują kowalencyjne, mało spolaryzowane wiązania typu sigma, powstające na skutek nałożenia odpowiednich orbitali atomowych. W związkach krzemu w tworzeniu wiązania Si--O bierze udział niezapełniony orbital atomowy $3d$ krzemu. Z kolei, w tworzeniu wielokrotnych wiązań pomiędzy atomami węgla uczestniczą również orbitale molekularne typu π powstające na skutek nakładania się orbitali atomowych p . Ponadto, wiązanie Si--H jest reaktywne i podatne na hydrolizę. Z kolei zhybrydowane wiązanie $\text{C(sp}^3\text{)--H}$ w szeregu alkanów wykazuje dużą trwałość. Za podobieństwa związków węgla i krzemu należy uznać: (I) tworzenie bogatej gamy połączeń związanych z prostymi, rozgałęzionymi lub pierścieniowymi sekwencjami --C--C--C-- i --Si--O--Si-- , (II) tetraedryczną geometrię atomów krzemu i węgla, (III) zdolność do tworzenia układów oligo- i polimerycznych, (IV) uleganie samorzutnym przemianom w zmieniających się warunkach zewnętrznych, i (V) naturalne występowanie w przyrodzie licznych związków tych pierwiastków [1,2].

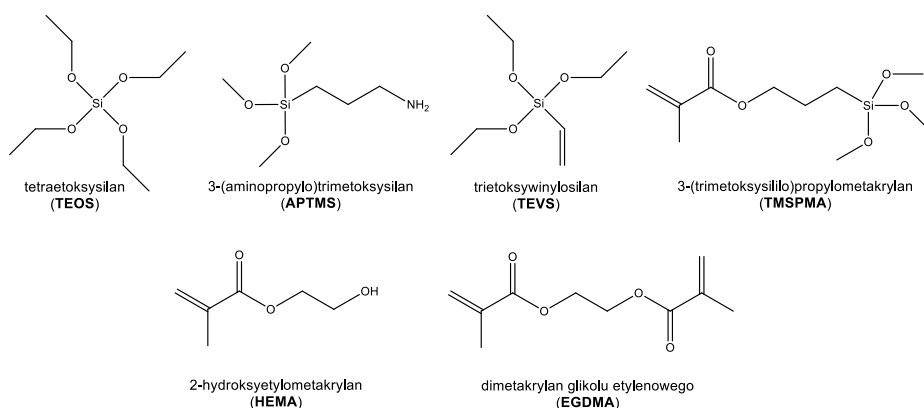
Prace Zespołu Chemii Biomateriałów koncentrują się, m.in. na wybranych aspektach chemii i zastosowaniach funkcjonalizowanych kompozytów polisiloksanowych oraz wielościennych oligomerycznych silseskwioksanów w kierunku otrzymywania „skrojonych na miarę” biomateriałów hybrydowych. Obecnie, definicja biomateriału odnosi się do substancji pochodzenia naturalnego lub syntetycznego, które zostały zaprojektowane tak, aby przybrać formę (same lub w ramach bardziej złożonego

układu) zdolną do kontrolowanej interakcji z układami biologicznymi. Biomateriały o ściśle zdefiniowanych właściwościach mają niezaprzeczalny wpływ na szereg interdyscyplinarnych obszarów badań z pogranicza biologii, chemii, fizyki i inżynierii materiałowej, a także ogromne oddziaływanie na szeroko pojęte zdrowie człowieka.

1. ORGANICZNO–NIEORGANICZNE BOKOMPOZYTY POLISILOKSANOWE

W ostatniej dekadzie, badania i odkrycia w zakresie organiczno–nieorganicznych biomateriałów hybrydowych opartych na związkach krzemu zostały zintensyfikowane [3]. Z początkiem XXI wieku szczególnym zainteresowaniem zaczęły cieszyć się biomateriały trzeciej generacji, które indukują odbudowę i regenerację uszkodzonej tkanki, same ulegając z czasem resorpcji [4].

Będąc zainspirowanymi doniesieniami dotyczącymi biomateriałów najnowszej generacji, podjęliśmy badania nad kompozytami żoł–żelowymi bazującymi na związkach krzemu i dopuszczonymi przez Agencję Żywności i Leków, FDA (z ang. *Food and Drug Administration*) polimerami (Rysunek 1).

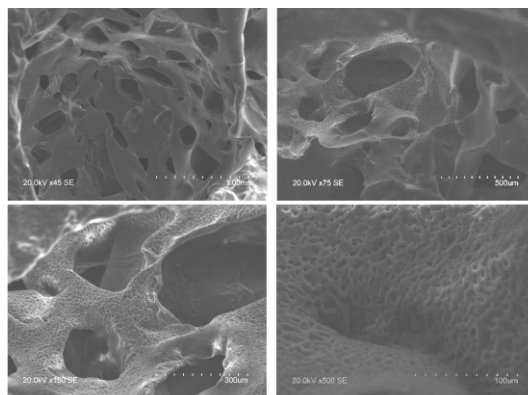


Rysunek 1. Związki stosowane przy projektowaniu makroporowatych biomateriałów hybrydowych
Figure 1. Compounds used in the design of macroporous hybrid biomaterials

Wykorzystanie monomeru **TMSPMA** do modyfikowania ramion bocznych POSS szerzej omówiono w rozdziale 3. zatytułowanym „*Biomateriały na bazie funkcjonalizowanych klatkowych związków krzemu*”. Natomiast, związki **TEVS** i **HEMA** zostały użyte w badaniach nad organiczno–nieorganicznymi materiałami hybrydowymi domieszkowanymi ważnymi z punktu widzenia osteogenezy (kościotwórczości) jonami, tj. Ca^{2+} , PO_4^{3-} i Sr^{2+} .

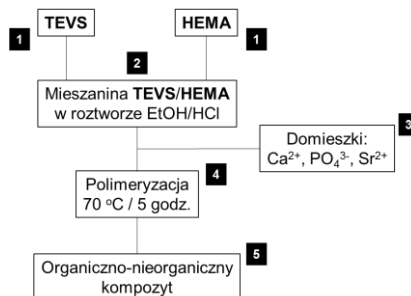
HEMA jest monomerem, który posiada wiązanie podwójne zdolne do polimeryzacji oraz grupę hydroksylovą, dzięki której może tworzyć połączenia

sieciujące. Należy on do grupy materiałów termoutwardzalnych i jest bezpieczny dla zdrowia człowieka (jest stosowany m.in. przy wytwarzaniu soczewek kontaktowych). Z kolei **TEVS**, oprócz grupy winylowej, posiada grupy alkoksylowe $\equiv\text{Si-OEt}$, które ulegając hydrolizie tworzą grupy silanolowe $\equiv\text{Si-OH}$ uczestniczące w wymianie jonów i umożliwiające krystalizację związków nieorganicznych na amorficznej powierzchni żelu. Ponadto, grupy te ulegając kondensacji i polikondensacji tworzą sieć ugrupowań siloksanowych Si-O-Si stanowiących platformę dla rusztowań tkankowych. Na Rysunku 2 pokazano obrazy SEM otrzymanych układów makroporowatych [5,6].



Rysunek 2. Obrazy SEM otrzymanych przykładowych rusztowań hybrydowych [5]
Figure 2. SEM images of the obtained sample hybrid scaffolds [5]

Organiczno–nieorganiczne materiały hybrydowe otrzymano w procesie żoł–żel poprzez zmieszanie monomerów **HEMA** i **TEVS** z odpowiednimi domieszkami (Schemat 1). Oznaczenia kompozytów, stosunki monomerów oraz ilości domieszek zamieszczono w Tabeli 1.



Schemat 1. Ogólny schemat otrzymywania organiczno–nieorganicznych kompozytów na bazie związków krzemu

Scheme 1. General flow chart for the preparation of organic–inorganic composites based on silicon compounds

Domieszki jonów zostały dobrane tak, aby: (I) inicjowały krystalizację soli fosforanów wapnia oraz ich pochodnych hydroksylowych i węglanowych (jony Ca^{2+} i PO_4^{3-}), (II) opracowany kompozyt wykazywał działanie antyosteoporotyczne (rola jonów Sr^{2+}). Jony strontu pełnią istotną rolę w osteogenezie i stosowane są z powodzeniem (głównie w postaci ranelinianu strontu, leku wpływającego na odbudowę tkanki kostnej przez bezpośrednie oddziaływanie na osteoblasty), pobudzając tworzenie tkanki oraz hamując jej resorpcję [5-7].

Tabela 1. Skład przykładowych kompozytów [5,6]

Table 1. Composition of exemplary composites [5,6]

Kompozyt	TEVS/HEMA	Ca^{2+} [%]	PO_4^{3-} [%]	Sr^{2+} [%]	Uwagi	Domieszki
1THC	1:9	25,0	0,00	0,00	Biominieryzowana w DMEM	Ca^{2+}
1THCP		15,0	12,5		Biominieryzowana w DMEM	Ca^{2+} , PO_4^{3-}
1HCP	1:4	15,0	12,5	0,00	Biominieryzowana w DMEM	Ca^{2+} , PO_4^{3-}
1HCP_H					Pokryta hydroksyapatytem	
1HCPP					Brak biomineralizacji w DMEM	
1HCPS	1:4	15,0	12,5	10,0	Biominieryzowana w DMEM	Ca^{2+} , Sr^{2+} , PO_4^{3-}
1HCPS_H					Pokryta hydroksyapatytem	
1HCPS					Brak biomineralizacji w DMEM	

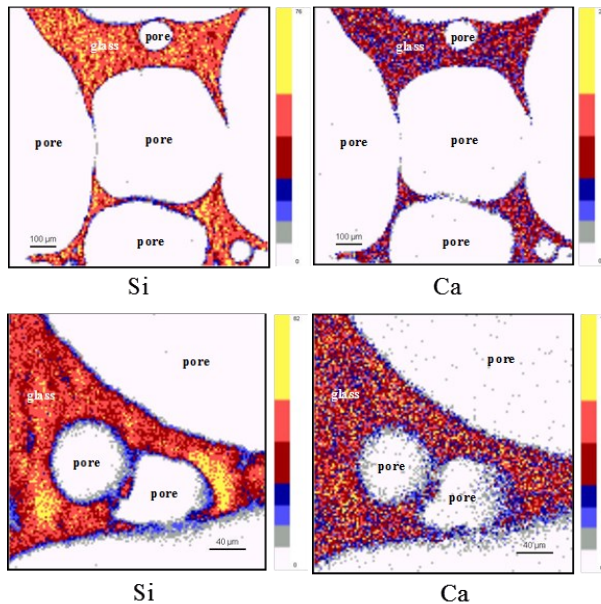
Mechanizm działania jonów Sr^{2+} w kości nie został do końca poznany, ale postuluje się, że receptory jonów wapnia w niektórych typach komórek mogą być przez nie aktywowane, czego rezultatem jest uruchomienie mechanizmów przekąźnikowych w organizmie i transdukcji sygnałów w komórkach [8].

Opracowane organiczno–nieorganiczne materiały hybrydowe poddane były testom biomineralizacji w analogu płynów biologicznych DMEM (z ang. *Dulbecco Modified Eagle Medium*). DMEM jest płynem powszechnie stosowanym w hodowlach komórkowych i oprócz ważnych z punktu widzenia osteogenezy jonów (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-}) posiada również m.in. węglowodany, aminokwasy i witaminy. Testy biomineralizacji miały na celu analizę składu soli mineralnych krystalizujących na styku powierzchni materiału hybrydowego i płynu biologicznego w funkcji czasu ekspozycji [9]. Próbkę inkubowane były w stałej temperaturze (37°C) stosując metodę statyczną [5,6,10,11].

Zmiany stężenia jonów w płynie inkubacyjnym, w którym umieszczono materiały kompozytowe śledzono za pomocą spektrometrii ICP. Analiza wyników wykazała duże zmiany stężenia jonów Ca^{2+} , Si^{4+} i PO_4^{3-} w funkcji czasu. Jony wapnia i fosforanowe(V) zaczynają dyfundować z materiału do płynu tuż po umieszczeniu

próbek w DMEM. W przypadku próbek **1THC** i **1THCP** stężenie jonów Ca^{2+} osiąga równowagę po ok. 70. godzinach inkubacji – stężenia wyniosły odpowiednio 110,40 i 35,65 mg/dm^3 dla próbki domieszkowanej jonami wapnia oraz jonami wapnia i fosforanowymi(V) ($[\text{Ca}^{2+}] = 67,97 \text{ mg}/\text{dm}^3$ w wyjściowym roztworze DMEM). W przypadku kompozytu **1THC** stężenie jonów Ca^{2+} malało w funkcji czasu. Z kolei, ich mniejsze stężenie w próbce **1THCP** jest spowodowane wytrącaniem na powierzchni styku bogatych w jony wapnia soli nieorganicznych, co również wpływa na wyższą koncentrację jonów krzemu. Na uwalnianie jonów Si^{4+} ma również wpływ wbudowanie jonów PO_4^{3-} w strukturę materiału **1THCP**. Dla **1THCP**, większość jonów wapnia wytrąca się na powierzchni kompozytu, z jednoczesnym spadkiem stężenia jonów PO_4^{3-} w roztworze DMEM. Ponadto, możliwa jest również substytucja jonów PO_4^{3-} przez inne aniony obecne w płynie biologicznym, np. węglanowe CO_3^{2-} . Stężenie jonów fosforanowych(V) w roztworze po 70. godzinach inkubacji wyniosło 48,32 mg/dm^3 dla **1THCP** ($[\text{PO}_4^{3-}] = 30,94 \text{ mg}/\text{dm}^3$ w wyjściowym płynie DMEM). W przypadku próbki **1THC** praktycznie nie obserwuje się żadnych fluktuacji stężenia jonów PO_4^{3-} w płynie. Z kolei, dla próbek **1THC** i **1THCP** widoczny jest wzrost stężenia jonów Si^{4+} w czasie w płynie DMEM. Po 70. godzinach inkubacji stężenie tych jonów wyniosło 19,63 i 70,62 mg/dm^3 dla **1THC** i **1THCP** ($[\text{Si}^{4+}] = 0,11 \text{ mg}/\text{dm}^3$ w wyjściowym roztworze DMEM) [5]. Uwalnianie jonów krzemu z biokompozytu jest efektem pożądanym i oczekiwanym od biomateriałów najnowszej generacji, gdyż stanowią one czynnik odżywczy w metabolizmie kości. Wiele badań sugeruje, że jony Si^{4+} odbudowują i odżywiają tkankę kostną na różne sposoby, włączając w to procesy mineralizacji kości, zjawiska sprzyjające deponowaniu jonów Ca^{2+} i PO_4^{3-} w kościach, obniżają liczbę osteoklastów, które powodują destrukcję kości, a jednocześnie wpływają na gromadzenie się komórek osteoblastów, czyli przyczyniają się pośrednio do regeneracji tkanki twardej [12]. Podobne zmiany w stężeniach i przebieg krzywych stężenia jonów Ca^{2+} , PO_4^{3-} i Si^{4+} w funkcji czasu obserwuje się dla kompozytów **1HCP** oraz **1HCPS**, który dodatkowo zawiera jony strontu. Zmiany stężenia tych jonów w funkcji czasu były nieznaczne, a ich stężenie w płynie DMEM po 170. godzinach inkubacji wyniosło ok. 32 mg/dm^3 [6]. Identyfikacji soli nieorganicznych, które powstały na powierzchni kompozytów podczas inkubacji w płynie biologicznym dokonano m.in. za pomocą spektroskopii FT–IR i analizy proszkowej PXRD. Należą do nich przede wszystkim hydroksyapatyt ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), który jest głównym składnikiem budulcowym kości oraz inne istotne z punktu widzenia osteogenezy sole, m.in. węglan wapnia, siarczan(VI) magnezu, itp. Krystalizacja hydroksyapatytu rozpoczyna się już w pierwszych godzinach inkubacji (po 30. minutach widać pierwsze piki dyfrakcyjne, które przypisano tej soli). Z czasem jony fosforanowe(V) są w nieznacznym stopniu wymieniane przez aniony węglanowe

[5,6]. Warto również podkreślić, że zmiany stężenia jonów w płynie biologicznym w momencie inkubacji badanych kompozytów pozostają w zgodności z mechanizmem wymiany jonowej w tego typu układach zaproponowanym przez Hencha, który sugeruje wytrącanie soli fosforanowych(V) i ich pochodnych na styku dwóch faz [9,13]. Pytanie jakie można tutaj zadać dotyczy sposobu migracji jonów w materiale porowatym, ściślej wewnątrz porów. W tym celu posłużyliśmy się prostym tlenkowym, makroporowatym (pory o wielkości poniżej 500 μm) układem modelowym o składzie $\text{SiO}_2\text{--CaO}$ (75-25 %wag.), który otrzymano metodą zól-żel. Dla otrzymanego modelowego bioszkl'a wyznaczono tzw. mapy dystrybucji poszczególnych jonów obrazujące ich rozmieszczenie we fragmentach materiału inkubowanego w płynie biologicznym DMEM w różnych odstępach czasu. Wyznaczenie map możliwe było dzięki zastosowaniu protonowej analizy fluorescencyjnej promieni X z razefordowskim rozpraszaniem wstecznym (PIXE-RBS, z ang. *Particle Induced X Ray Emission Spectroscopy – Rutherford Backscattering Spectrometry*). Na Rysunku 3 przedstawiono dystrybucję jonów krzemu i wapnia w materiale przed procesem biomineralizacji [14].

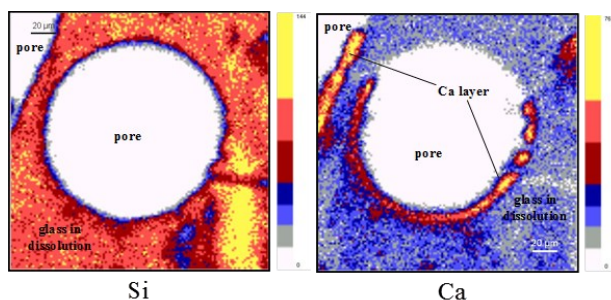


Rysunek 3. Mapy dystrybucji jonów obrazujące stężenie jonów krzemu i wapnia przed inkubacją w płynie DMEM [14]

Figure 3. Ion distribution maps showing the concentration of silicon and calcium ions before incubation in DMEM fluid [14]

Rozmieszczenie tych jonów jest jednorodne, co zazwyczaj obserwuje się w przypadku materiałów otrzymywanych metodą zól-żel. Na mapach chemicznych

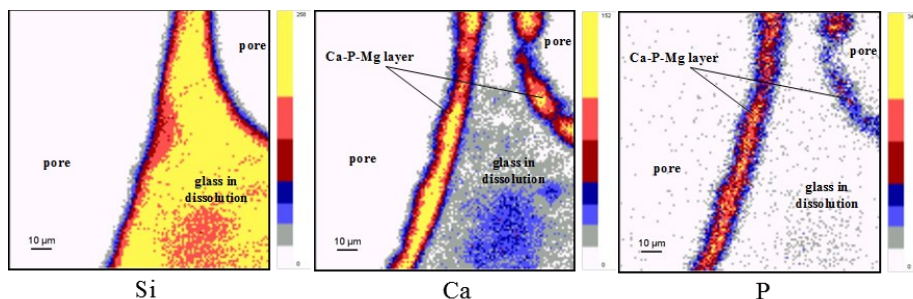
widoczne są pory o rozmiarze od 10 do 800 μm . Zaledwie po 30. minutach przebywania $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ w płynie biologicznym, na mapach dystrybucji jonów widoczne jest tworzenie na powierzchni porów warstw o grubości 5 μm wzbogaconych o jony Ca^{2+} (Rysunek 4) [14].



Rysunek 4. Mapy dystrybucji jonów obrazujące stężenia wapnia i krzemu po 30-minutowej inkubacji w płynie DMEM [14]

Figure 4. Ion distribution maps showing calcium and silicon concentrations after 30-minute incubation in DMEM [14]

Z kolei Rysunek 5 przedstawia mapy chemiczne po okresie 2. dni inkubacji materiału w płynie DMEM. Można na nich zaobserwować materiał $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ w środkowej części map i dwa makropory. Rdzeń materiału składa się głównie z jonów krzemu, podczas gdy powierzchnie warstw wyściełających wnętrza porów składają się z jonów wapnia i fosforu. Grubość powstałej warstwy Ca-P wynosi 10 μm , dzięki czemu na tym etapie, pory o rozmiarach powyżej 30 μm są puste (otwarte światło porów) [14].



Rysunek 5. Mapy dystrybucji jonów rusztowania $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ po 2 dniach inkubacji w płynie DMEM [14]

Figure 5. Ion distribution maps of the $\text{SiO}_2\text{-CaO}$ scaffold after 2 days of incubation in DMEM [14]

Jak wynika z Rysunków 3–5, mapy obrazujące rozmieszczenie jonów bezpośrednio związane ze stężeniami poszczególnych jonów, podlegały ciągłym zmianom (Tabele 2 i 3) [14].

Tabela 2. Zmiany stężenia jonów krzemu i wapnia (%wag.) wyznaczone dla wewnętrznych warstw SiO_2 - CaO w funkcji czasu ekspozycji materiału w płynie DMEM [14]

Table 2. Changes in the concentration of silicon and calcium ions (wt.%) determined for the internal SiO_2 - CaO layers as a function of the exposure time of the material in the DMEM fluid [14]

Jon	0 min.	15 min.	30 min.	1 godz.	6 godz.	12 godz.	1 dzień	2 dni
Si	35,18 ± 0,79	36,12 ± 0,85	36,14 ± 0,94	37,26 ± 0,94	37,90 ± 0,98	42,23 ± 0,94	42,69 ± 1,12	42,83 ± 0,96
Ca	14,91 ± 0,47	13,54 ± 0,50	13,23 ± 0,64	11,54 ± 0,56	11,62 ± 0,61	3,15 ± 0,20	1,04 ± 0,26	1,51 ± 0,10

Tabela 3. Zmiany stężenia jonów krzemu, wapnia, fosforu i magnezu (%wag.) wyznaczone dla powierzchni porów w SiO_2 - CaO w funkcji czasu ekspozycji materiału w płynie DMEM [14]

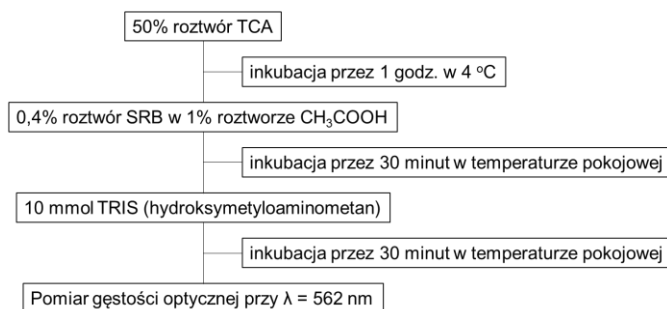
Table 3. Changes in the concentration of silicon, calcium, phosphorus and magnesium ions (wt.%) determined for the pore surface in SiO_2 - CaO as a function of the exposure time of the material in the DMEM fluid [14]

Jon	0 min.	15 min.	30 min.	1 godz.	6 godz.	12 godz.	1 dzień	2 dni
Si	35,18 ± 0,79	14,80 ± 0,75	12,78 ± 0,79	11,32 ± 0,41	5,92 ± 0,47	5,19 ± 0,23	3,99 ± 0,23	2,49 ± 0,20
Ca	14,91 ± 0,47	42,97 ± 1,89	45,77 ± 1,70	46,47 ± 1,26	49,23 ± 1,83	56,18 ± 1,33	53,70 ± 1,41	47,26 ± 1,26
P				0,37 ± 0,11	0,38 ± 0,15	0,39 ± 0,10	4,03 ± 0,95	5,80 ± 0,29
Mg								0,42 ± 0,05

Podczas ekspozycji próbek w płynie biologicznym, stężenie jonów krzemu wzrosło z 35,18 do 42,83% po 2. dniach, natomiast wapnia w tym samym czasie zmalało z 14,91 do 1,51%. Z analizy wyników widać, że w pierwszym etapie dochodzi do szybkiej wymiany pomiędzy jonami Ca^{2+} z materiału i H^+ z roztworu DMEM. Stężenie jonów wapnia w materiale gwałtownie spada w ciągu pierwszych 12. godzin ekspozycji w płynie. Wymiana ta jest gwałtowna i towarzyszy jej destrukcja sieci krzemowej, która stopniowo „rozpuszcza się”. Z kolei stężenie jonów zmierzone na powierzchni rusztowania potwierdzają przebieg reakcji zachodzących na granicy dwóch faz (Tabela 3). Po 15. minutach inkubacji, powierzchnia porów zubożona jest o jony krzemu i jednocześnie wzbogacana o Ca^{2+} . Powstawanie bogatej w jony wapnia warstwy spowodowane jest ich dyfuzją z wnętrza materiału do jego peryferii. Ponadto, po 1. godzinie ekspozycji w płynie biologicznym, pojawiają się ślady jonów fosforanowych(V) z DMEM, które wbudowywane są w powstającą warstwę mineralną na granicy faz i ich stężenie rośnie z czasem. Po 2. dniach inkubacji obserwuje się również ślady wbudowanych do powierzchni styku materiału i płynu śladowych ilości jonów Mg^{2+} (Rysunek 5, Tabela 3), które pochodzą z DMEM. Tworzenie warstwy Ca-P-Mg świadczy o zachodzącym procesie bioaktywnym wewnątrz makroporowatego rusztowania. Po dwóch dniach zanurzenia materiału w płynie biologicznym, stężenia jonów Ca^{2+} i PO_4^{3-} wynosiły odpowiednio 47,26 i 5,80%, co daje stosunek Ca/P równy 1,67, który dokładnie odpowiada temu w hydroksyapatycie $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [14]. Można zaryzykować stwierdzenie, że gdyby dodać do modelowego układu SiO_2 - CaO komponent w postaci P_2O_5 tworząc

bioszko trójskładnikowe $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, proces tworzenia hydroksyapatytu na powierzchni porów byłby jeszcze szybszy.

Niezwykle ważnym aspektem badań związanych z oceną bioaktywności materiałów są testy cytotoksyczności i przeżywalności komórek kościotwórczych, oraz obserwacja adhezji fibroblastów i osteoblastów do powierzchni zaprojektowanych układów. Badania analizy przeżywalności komórek w obecności biokompozytów hybrydowych przeprowadzono na referencyjnej linii prawidłowej, fibroblastach mysich – Balb/3T3. Do testów tych wybrano kompozyty **1THC** i **1THCP**, które wcześniej biomineralizowano w płynie biologicznym DMEM. Pierwszym etapem badań było przygotowanie komórek do doświadczenia i założenie testu. Komórki hodowano w płynie DMEM wzbogaconym w 10% bydlęcą surowicę płodową (FBS) oraz 1% mieszaninę L–glutaminy–penicyliny–streptomycyny. Komórki w fazie logarytmicznego wzrostu wysiano na płytkę 12–dołkową w ilości 100. tysięcy komórek na dołek, a następnie inkubowano w temperaturze 37°C (w atmosferze wzbogaconej w 5% CO_2) przez 24 godziny. Drugiego dnia, po przytwierdzeniu komórek do podłoża, wymieniono płyn hodowlany na świeży i nad komórkami umieszczono biokompozyty hybrydowe **1THC** oraz **1THCP**. W celu zbadania efektu cytotoksycznego biokompozytów hybrydowych, płytki umieszczano w inkubatorze na 24, 48 oraz 72. godziny. Po upływie tego czasu, 3., 4. i 5. dnia od momentu założenia płytek wykonywano test SRB, czyli pomiar przeżywalności komórek z wykorzystaniem sulforodaminy B. SRB jest anionowym barwnikiem, który wiąże się z podstawowymi aminokwasami białek komórkowych barwiąc komórki na kolor ciemnoróżowy. Oznaczanie aktywności cytotoksycznej w tym teście prowadzi się na podstawie pomiaru całkowitej ilości białka komórkowego, która jest wprost proporcjonalna do ilości żywych komórek po przeprowadzeniu testu. Podstawą tego badania jest elektrostatyczne wiązanie się sulforodaminy do białek w odpowiednim pH, zależnym od składu jakościowego aminokwasów, po wcześniejszym utrwaleniu komórek kwasem trichlorooctowym (TCA). Procedurę wykonania testu SRB przedstawiono na Schemacie 2 [5].

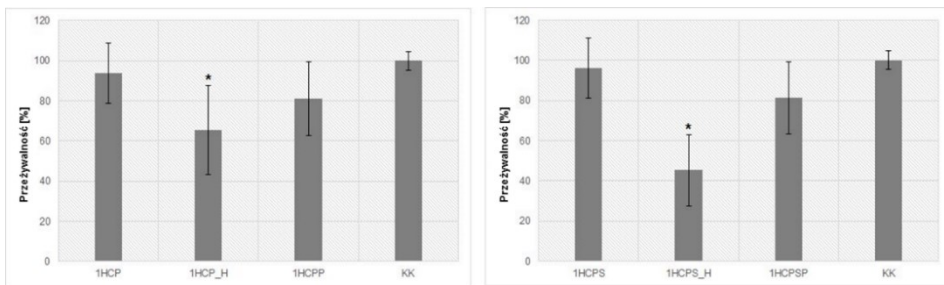


Schemat 2. Procedura wykonania testu SRB

Scheme 2. Procedure for performing the SRB test

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano wpływ biokompozytów hybrydowych na przeżywalność komórek Balb/3T3. Wyniki jednoznacznie wykazały, że materiały te nie wykazują cytotoksyczności. W obu przypadkach nie obserwowano obumierania komórek, a wręcz przeciwnie – komórki fibroblastów przetrwały okres inkubacji na materiale trwający 72. godziny [5].

Z kolei oceny cytotoksyczności organiczno–nieorganicznych materiałów hybrydowych na ludzkiej linii osteoblastów wykonano dla próbek **1HCP**, **1HCP_H**, **1HCPP**, **1HCPS**, **1HCPS_H**, **1HCPSP** (Tabela 1). Hodowla prawidłowej linii ludzkich osteoblastów NHOst prowadzona była w medium hodowlanym OBM suplementowanym 10% FBS, 0,1% kwasem askorbinowym, a także 0,1% gentamycyną. Badania wykonano na linii NHOst będącą między 5. a 7. pasażem. Przeżywalność komórek NHOst badano za pomocą testów SRB (Schemat 2). Komórki NHOst inkubowano 72. godziny w obecności badanych materiałów. Kontrolę stanowiły komórki NHOst bez obecności biomateriałów. Na podstawie przeprowadzonych badań zaobserwowano wyższą przeżywalność komórek NHOst w obecności **1HCP** oraz **1HCPS** w porównaniu do komórek hodowanych w obecności takich samych rusztowań, ale dodatkowo pokrytych syntetycznym hydroksyapatytem. Analiza wyników wykazała istotne statystycznie zahamowanie przeżywalności komórek NHOst pod wpływem działania rusztowań **1HCP_H** oraz **1HCPS_H** względem kontroli (Rysunek 6) [6].

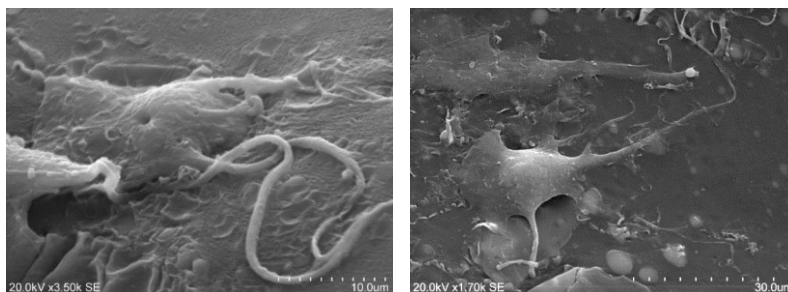


Rysunek 6. Przeżywalność komórek NHOst w obecności organiczno–nieorganicznych rusztowań po okresie 72–godzinnej inkubacji. Po stronie lewej: **1HCP**, **1HCP_H**, **1HCPP**, a po stronie prawej: **1HCPS**, **1HCPS_H**, **1HCPSP**. Kontrolę stanowiły komórki NHOst bez badanych materiałów hybrydowych. * $p < 0.05$ vs. kontrola komórek (KK) [6]

Figure 6. Viability of NHOst cells in the presence of organic-inorganic scaffolds after the period 72-hour incubation. Left: **1HCP**, **1HCP_H**, **1HCPP**, and Right: **1HCPS**, **1HCPS_H**, **1HCPSP**. The control constitute NHOst cells without the tested hybrid materials. * $p < 0.05$ vs. cell control (KK) [6]

W kolejnym etapie badań, w celu zobrazowania przy użyciu skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), komórki hodowano na materiałach biokompozytowych przez 20 dni, po trzech uprzednich nakropieniach komórek na badane materiały makroporowate. Obserwacja za pomocą SEM po 20. dniach

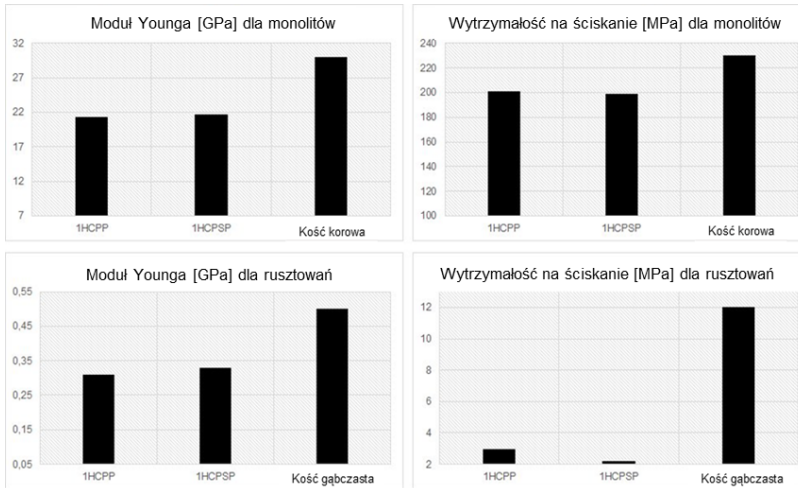
hodowli komórek NHOst na biokompozytach hybrydowych **1HCPS** potwierdziła, że komórki te adherują do powierzchni badanego materiału (Rysunek 7). Na przedstawionych obrazach można zauważyć, że komórki osteoblastów przytwierdzone są do podłoża za pomocą licznych wypustek. Materiał ten nie jest toksyczny dla komórek NHOst [6].



Rysunek 7. Obrazy SEM komórek NHOst na rusztowaniu **1HCPS** po 20. dniach hodowli [6]

Figure 7. SEM images of NHOst cells on the **1HCPS** scaffold after 20 days of culture [6]

W badaniach oceniano wpływ sześciu różnych rusztowań hybrydowych **1HCP**, **1HCP_H**, **1HCPP**, **1HCPS**, **1HCPS_H**, **1HCPS_P** na przeżywalność linii komórkowej NHOst podczas 72-godzinnej inkubacji. Wyniki wskazują, że materiały **1HCP** i **1HCPS** nie wykazują znaczącego, negatywnego wpływu na przeżywalność komórek NHOst. Z kolei, kompozyty **1HCP_H** oraz **1HCPS_H**, posiadające na powierzchni syntetyczny hydroksyapatyt, istotnie hamują przeżywalność komórek NHOst (* $p < 0.05$). Przeżywalność wyniosła w tym przypadku odpowiednio 65% oraz 45%. Z kolei, rusztowania **1HCPP** i **1HCPS_P** również wykazują hamujący wpływ na komórki NHOst, ale zahamowanie wyniosło jedynie około 20% w porównaniu do kontroli. Natomiast, wyniki testów SRB pokazały, że materiały **1HCP** oraz **1HCPS** nie mają negatywnego wpływu na przeżywalność linii komórkowej NHOst. Z tego powodu mogą być wykorzystane w przyszłych eksperymentach, gdyż nie powodują toksycznego wpływu na badane komórki. Obrazowanie SEM rusztowań **1HCPS** wykazało, że komórki są w stanie nie tylko przeżyć, ale także przytwierdzać się oraz rosnąć na badanych materiałach, wskazując że makroporowaty kompozyt zawierający domieszki ważnych z punktu widzenia osteogenezy jonów, tj. Ca^{2+} , Sr^{2+} i PO_4^{3-} , okazał się najlepszym, w badaniach *in vitro*, materiałem [6].



Rysunek 8. Właściwości mechaniczne rusztowań 1HCPP i 1HCPSP [6]
 Figure 8. Mechanical properties of 1HCPP and 1HCPSP scaffolds [6]

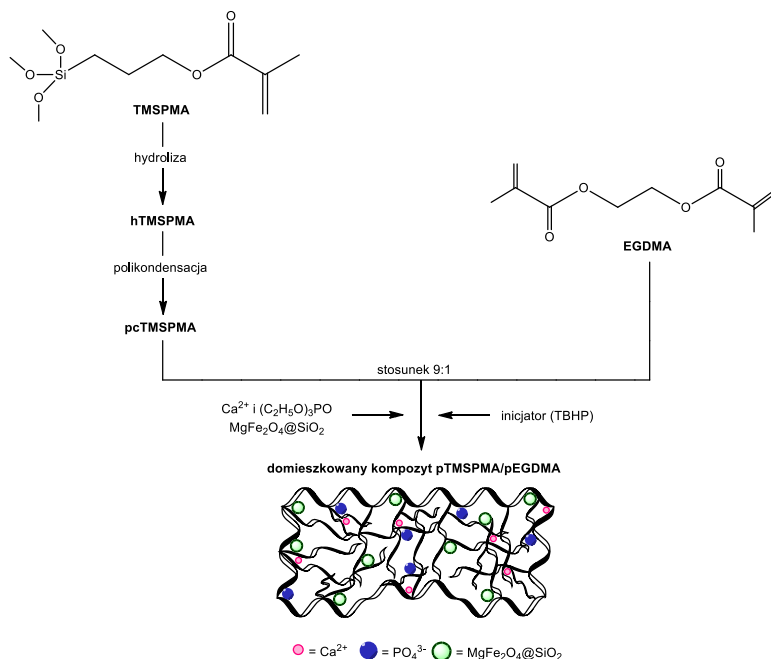
Ponadto, wyznaczenie podstawowych parametrów związanych z właściwościami mechanicznymi (moduł Younga, wytrzymałość na ściskanie dla monolitów i rusztowań) potwierdziło duży potencjał opracowanych materiałów w aspekcie zastosowań w inżynierii tkankowej kości (Rysunek 8). Wszystkie opisane w niniejszym artykule biomateriały mogą być zastosowane do tworzenia trójwymiarowych makroporowatych rusztowań tkankowych i dla wszystkich zaproponowanych rozwiązań zastosowano analogiczną metodologię. Dokładny sposób wytwarzania takich struktur został opisany w rozdziale 3. zatytułowanym „*Biomateriały na bazie funkcjonalizowanych klatkowych związków krzemu*”.

2. PROJEKTOWANIE BIOMATERIAŁÓW HYBRYDOWYCH O POTENCJALNYM ZASTOSOWANIU W HIPERTERMII

Do opracowywanych przez Zespół Chemii Biomateriałów układów wprowadzono również nanocząstki magnetyczne oparte na spinelu $MgFe_2O_4$, które będą mogły być użyte w terapii termalnej, stanowiącej jedną z najwłaściwszych przy leczeniu pierwotnych nowotworów złośliwych kości (mięsaków kości). W tym celu opracowaliśmy metodę syntezy biokompozytu na bazie 3-(trimetoksylilo)-propylometakrylanu (TMSPMA) i dimetakrylanu glikolu etylenowego (EGDMA) [11]. Monomery te zostały użyte ze względu na powszechne zastosowanie przy wytwarzaniu szeregu biomateriałów, takich jak materiały dentystyczne, soczewki kontaktowe, sztuczna skóra, nośniki leków, itp. [15]. Ponadto, z chemicznego punktu widzenia stanowią użyteczne czynniki modyfikujące, na przykład EGDMA może być użyty w wolnorodnikowych reakcjach sieciowania, a TMSPMA jako efektywny

czynnik funkcjonalizujący klatkowe związki krzemu, co zostanie uzasadnione w dalszej części artykułu. Dodatkowo, **TMSPMA** posiada grupy alkoksylowe na atomie krzemu, co jest wykorzystywane przy wytwarzaniu organiczno–nieorganicznych (nano)materiałów hybrydowych. Obecna w strukturze **TMSPMA** grupa $-\text{Si}(\text{OMe})_3$ w reakcjach zol–żel jest przekształcana w jednostki silanolowe $-\text{Si}(\text{OH})_3$, które w wyniku dalszej polikondensacji tworzą sieci krzemowe [11].

Synteza kompozytu **pTMSPMA/pEGDMA** została przedstawiona na Schemacie 3. Przed syntezą kompozytu, **TMSPMA** poddano hydrolizie, a następnie polikondensacji. Reakcja hydrolizy prowadzona była w środowisku kwasu octowego, który zapobiegał degradacji wiązania estrowego. Otrzymana silanolowa pochodna jest termodynamicznie stabilna w $\text{pH} = 4$. W warunkach tych nie tworzą się oligomery, a równowaga reakcji jest przesunięta w kierunku tworzenia silanoli. Warto również podkreślić, że reakcja hydrolizy nie może być prowadzona w obecności mocnych kwasów, np. HCl , ponieważ prowadzi to do rozerwania wiązania $\text{Si}-\text{O}$. Otrzymany w ten sposób **pcTMSPMA** przed właściwą reakcją jest odgazowywany, a następnie użyty w reakcji z **EGDMA** w stosunku stechiometrycznym 9 : 1. Stosunek ten jest kluczowy przy późniejszym tworzeniu rusztowania tkankowego na wymywalnym porożeniu, ponieważ przy innej stechiometrii (np. 1 : 1 lub 1 : 9) tworzona sieć jest zbyt miękka i krucha [11].



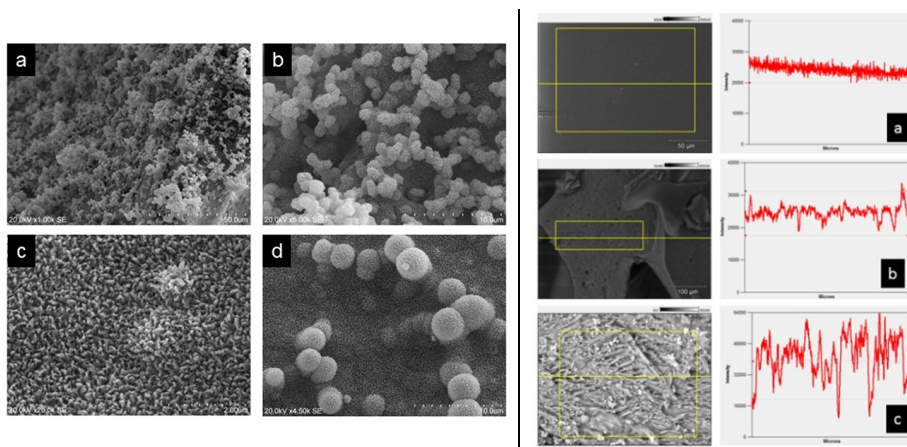
Schemat 3. Synteza kompozytu **pTMSPMA/pEGDMA** [11]

Schemat 3. Synthesis of **pTMSPMA/pEGDMA** composite [11]

Po reakcji kompozyt nie zawiera grup metoksylowych. Bazując na danych literaturowych można stwierdzić, że powstały heteropolimer posiada sekwencje izotaktyczne, ataktyczne i syndiotaktyczne [16]. Jest oczywistym fakt, że polimeryzacja rodnikowa prowadzona w roztworze pomiędzy dwoma różnymi monomerami jest dużo bardziej skomplikowana, niż analogiczne reakcje homopolimeryzacji [17]. Jak pokazano na Schemacie 3., syntezowany biokompozyt może być również domieszkowany dichlorkiem wapnia lub fosforanem(V) trietylu, które są źródłem jonów Ca^{2+} i PO_4^{3-} . Obie formy kompozytu, mianowicie domieszkowana i bez domieszek nieorganicznych, są amorficzne co może sugerować, że podczas syntezy jony te zostały wbudowane w sieć polimerową i będą mogły zostać uwolnione w czasie degradacji matrycy lub przemieścić na granicę faz tworząc na powierzchni styku hydroksyapatyt i jego pochodne [11,18].

Powierzchnia otrzymanego kompozytu **pTMSPMA/pEGDMA** może być również modyfikowana, w celu utworzenia materiału dogodnego m.in. dla adhezji, różnicowania i wzrostu komórek, wymiany jonów, przyłączania czynników wzrostu, itp. Modyfikacje te mogą być przeprowadzane na różnym etapie syntezy biomateriału. Wykazano, że na przykład „chropowatość” powierzchni może być modyfikowana na drodze krystalizacji hydroksyapatytu lub jego pochodnej węglanowej (Rysunek 9) [11]. Przeprowadzono również wstępne badania degradacji hydrolitycznej i termicznej biokompozytu **pTMSPA/pEGDMA**. Po 48-godzinnej ekspozycji kompozytu w wodzie destylowanej jego masa nieznacznie wzrasta (o ok. 1,7%). Analiza GC-MS cieczy po inkubacji wykazała obecność 3-(trihydroksysililo)propylometakrylanu oraz nieznaczne ilości fragmentów silanolowych z przyłączoną grupą *tert*-butoksylową. Degradację również przeprowadzono w płynie DMEM mierząc stężenie jonów Si^{4+} . Stężenie to rosło w czasie, co wskazuje na powolny rozkład sieci polimerowej zawierającej te jony. Wymywanie Si^{4+} obserwuje się od początku ekspozycji w DMEM zarówno dla kompozytu nie zawierającego związków nieorganicznych, jak i domieszkowanego jonami Ca^{2+} i PO_4^{3-} , co uważa się za pozytywną odpowiedź materiału z punktu widzenia zastosowań biologicznych [11].

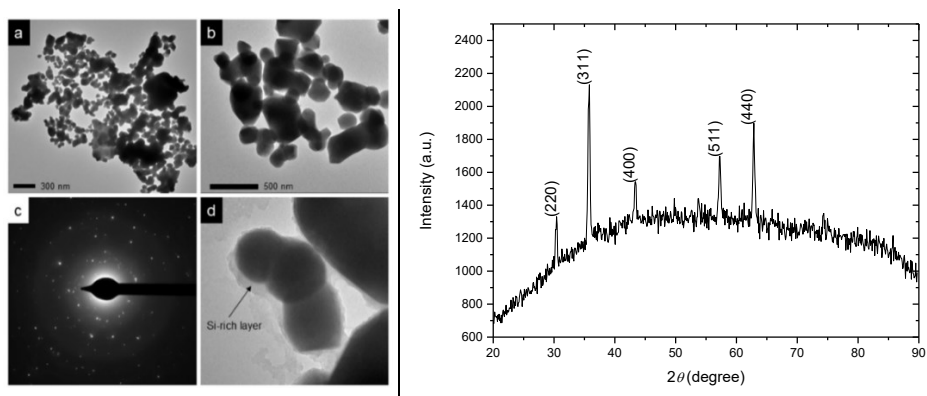
Krzem stanowi składnik odżywczy dla odnawiających się zdrowych fragmentów kości, włączając w to mineralizację, zmniejszenie liczby komórek osteoklastów, jednocześnie wpływając na zwiększenie aktywności osteoblastów [12]. Ponadto, zanurzony materiał nie zmienia pH środowiska inkubacji, co jest wymogiem normy ISO (PN-EN ISO 10993-12) i warunkiem koniecznym stawianym implantom przeznaczonym dla organizmów żywych (PN-EN ISO 10993-5). Dodatkowo, biokompozyt może być sterylizowany termicznie, a jego stabilność termiczna wynosi aż 200°C [11].



Rysunek 9. Po lewej: Obrazy SEM powierzchni kompozytu **pTMSPMA/pEGDMA** pokrytego warstwą syntetycznego hydroksyapatytu (a, b) i jego węglanowej pochodnej (c, d). Po prawej: Histogramy prezentujące różnice w „chropowatości” powierzchni **pTMSPMA/pEGDMA** dla: (a) monolitu, (b) rusztowania bez modyfikacji powierzchni oraz (c) rusztowania pokrytego hydroksyapatytem [11]

Figure 9. On the left: SEM images of the surfaces of the **pTMSPMA/pEGDMA** composite covered with a layer of synthetic hydroxyapatite (a, b) and its carbonate derivative (c, d). On the right: the histograms presenting differences in the 'roughness' of the surfaces of **pTMSPMA/pEGDMA** for (a) monolith, (b) scaffold without the modification of surface, and also (c) scaffold covered with hydroxyapatite [11]

Do kompozytu **pTMSPMA/pEGDMA** wprowadzono również nanocząstki **MgFe₂O₄** o wielkości od 80 do 110 nm (Rysunek 10) [11].



Rysunek 10. Po lewej: Obrazy TEM nanocząstek **MgFe₂O₄** (a, b), widmo SAED (c) i **MgFe₂O₄** pokryty warstwą krzemionki **MgFe₂O₄@SiO₂** (d). Po prawej: Widmo proszkowe (PXR) otrzymanego nano-**MgFe₂O₄** analogiczne do widma bazowego (JCPD 88–1935) [11]

Figure 10. On the left: The TEM images of the **MgFe₂O₄** nanoparticles (a, b), the SAED spectrum (c) and **MgFe₂O₄** covered with a layer of silicon dioxide **MgFe₂O₄@SiO₂** (d). On the right: powder spectrum (PXR) of the obtained nano-**MgFe₂O₄** analogical to the base spectrum (JCPD 88–1935) [11]

Mieszany tlenek otrzymano w reakcji w fazie stałej z użyciem Fe_2O_3 i $4\text{MgCO}_3 \cdot \text{Mg}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ w temperaturze 1100°C prowadzonej przez 2 dni w atmosferze powietrza. Po reakcji, surowy proszek przemyto 1M kwasem octowym w celu usunięcia nadmiaru węglanu magnezu, jaki powstaje podczas reakcji. Otrzymany materiał nie zawiera zanieczyszczeń tlenkiem żelaza(III) $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, którego można oczekiwać prowadząc reakcję w stosunkowo niskiej temperaturze. Struktura otrzymanego złożonego tlenku została potwierdzona za pomocą PXR, FT-IR i analizatorem składu TEM-EDS [11].

Dwuskładnikowy tlenek MgFe_2O_4 przed wprowadzeniem do **pTMSMA/pEGDMA** został pokryty warstwą krzemionki za pomocą metody Stöbera. Metoda ta polega na hydrolizie i kondensacji tetraetoksyilanu **TEOS** na powierzchni nanocząstek w środowisku $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ w obecności niewielkich ilości amoniaku pełniącego rolę katalizatora procesu zól-żel. Tak powstała amorficzna powłoka zawiera liczne grupy hydroksylowe, które odpowiedzialne są za efektywniejsze zakotwiczenie $\text{MgFe}_2\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ do matrycy polimerowej. Na Rysunku 10d pokazana jest powstała warstwa krzemowa otaczająca nanotlenek. Przyłączenie w ten sposób $\text{MgFe}_2\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ do kompozytu nie tylko zapobiega wymyciu tlenku podczas degradacji sieci polimerowej, ale również zwiększenie stosunku powierzchni właściwej w jednostce objętości wpływa na „efektywność” powstałego nano-układu magnetycznego. Zjawisko to wpływa między innymi na zmniejszenie/wyeliminowanie agregacji (nanocząstki są rozseparowane), obecność dodatkowych efektów powierzchniowych (nie zawsze pozytywnych w aspekcie zastosowań medycznych) oraz fluktuacji termicznych momentów magnetycznych, które mają największy negatywny wpływ na właściwości magnetyczne powstałego złożonego materiału. Czynniki te mają decydujący wpływ na zwiększenie toksycznego efektu powstałego materiału, stąd niezwykle ważnym było otoczenie nanotlenku warstwą krzemionki, stanowiącej swoistą warstwę ochronną [11].

Otrzymany spinel otoczony warstwą krzemionki został dodany do biokompozytu tworząc potencjalny materiał do celów termicznej apoptozy komórek nowotworowych kości. Obecny w nim Fe_2O_3 stanowi składnik magnetyczny, natomiast MgO dodatkową ochronę antybakteryjną i przeciwzapalną. Terapia hipertermiczna przy użyciu nanocząstek magnetycznych stanowi komplementarną strategię w leczeniu onkologicznym. Jest to metoda nieinwazyjna, która niszczy komórki nowotworowe w podwyższonej temperaturze wywołanej przez działanie zmiennego pola magnetycznego, nie wywołując szkód komórkom zdrowym. Zsyntezowany nanokrystaliczny $\text{MgFe}_2\text{O}_4@ \text{SiO}_2$ posiada właściwości superparamagnetyczne. Wartość indukcji magnetycznej, która osiągana jest po nasyceniu magnetycznym materiału, wynosi 0,2 emu/g. Wartość ta jest na tyle duża aby zapobiegać interakcjom magnetycznym po odłączeniu zewnętrznego pola magnetycznego, co jest ogromną zaletą w aplikacjach medycznych. Z kolei, wartość

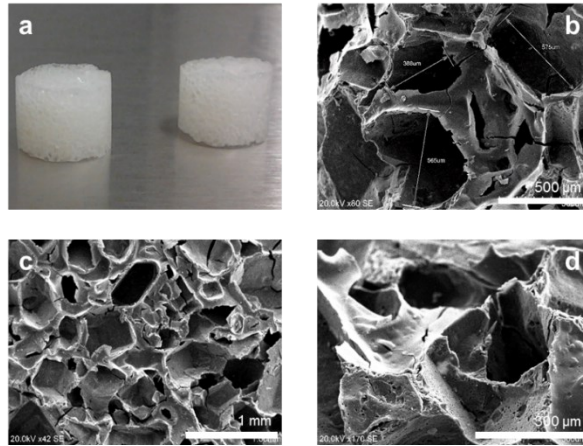
siły koercji, czyli niezbędnej dawki zewnętrznego pola magnetycznego niezbędnego do rozmagnesowania układu, wynosi 2 Oe. Nanocząstki magnetyczne w porównaniu do konwencjonalnych materiałów magnetycznych w skali makro, wykazują mniejsze nasycenie magnetyczne, dzięki czemu mają dużo większą „aktywność magnetyczną” w małych polach magnetycznych. Dla otrzymanego materiału parametr ten wynosi ok. 28 emu/g i jest mniejszy dzięki obecności amorficznej niemagnetycznej krzemionkowej powłoki o wielkości 1–2 nm (z ang. *magnetic dead layer*). Ponadto, materiał dzięki wąskiej pętli histerezy, wykazuje polaryzację magnetyczną analogiczną jak dla materiałów konwencjonalnych. W każdym cyklu magnetycznym, materiały magnetyczne wykazują pewne straty magnetyczne, które są proporcjonalne do powierzchni ich pętli histerezy. Dlatego, jeśli nanocząstki magnetyczne zostaną umieszczone w określonym miejscu, np. w kości człowieka, w obecności zmiennego pola magnetycznego podnoszą temperaturę otoczenia do ok. 40–43°C, co warunkuje śmierć komórek rakowych, nie wpływając negatywnie na zdrowie [11].

3. BIOMATERIAŁY NA BAZIE FUNKCJONALIZOWANYCH KLATKOWYCH ZWIĄZKÓW KRZEMU

W ostatnich latach kowalencyjne materiały hybrydowe cieszą się ogromnym i rosnącym zainteresowaniem. Spośród bogatej grupy tego typu związków, szczególne miejsce zajmują dobrze zdefiniowane związki krzemu o strukturze zamkniętej klatki i ogólnym wzorze $(RSiO_{3/2})_n$ (gdzie: R = H, rozmaite grupy organiczne; $n = 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18$). Związki te powstają w wyniku hydrolizy i następującej po niej kondensacji trójfunkcyjnych silanów $RSiX_3$ (gdzie: X = Cl, OR, OAc, NH_2 , itp.) w obecności kwasowych lub zasadowych katalizatorów. O ile grupa alkilowa tworząca wiązanie C–Si jest inerta w reakcji hydrolizy, to grupa sililowa jest labilna i tworzy sieć siloksanową Si–O–Si. Tego typu silany łatwo ulegają hydrolizie tworząc grupy silanolowe Si–OH, które w dalszych etapach kondensują tworząc siloksanową klatkę. Występuje wiele rodzajów klatek krzemowych, takich jak T_8 , T_{10} , T_{12} , itd., które zawierają odpowiednio 8, 10 i 12 atomów krzemu. Największym zainteresowaniem cieszą się jednak klatkowe oktasilokswoksany T_8 , które są dobrze rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych. Do związków tych można przyłączać różnorodne organiczne grupy boczne, które warunkują strukturalne i fizykochemiczne właściwości powstających materiałów hybrydowych. Kowalencyjnie związane z rdzeniem krzemowym boczne ramiona, stanowią labilne grupy umożliwiające prowadzenie na nich różnorodnych reakcji chemicznych i stanowią efektywne bloki budulcowe dla wysublimowanych struktur supramolekularnych [19-21].

Wielościenne oligomeryczne silokswoksany (POSS) stanowią tę klasę związków krzemowych, które mogą być również funkcjonalizowane w kierunku

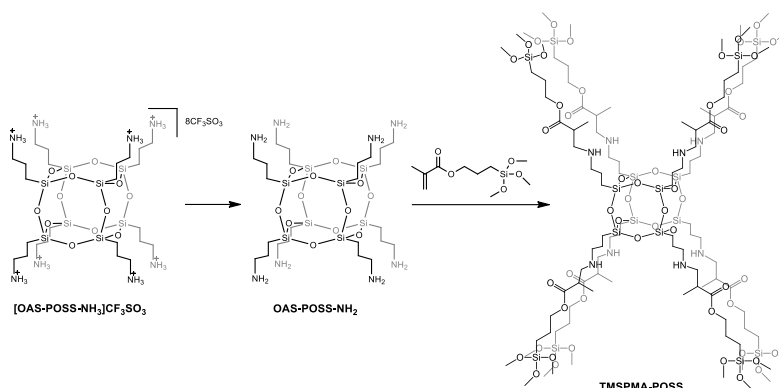
otrzymania biomateriałów przeznaczonych dla inżynierii tkankowej. POSS z przyłączonymi grupami metakrylanowymi oraz ich pochodnymi są jednym z pierwszych przykładów tego typu hybrydowych kopolimerów [22]. Celem prowadzonych badań było opracowanie prostej i szybkiej metody otrzymywania porowatego rusztowania tkankowego (z ang. *porous scaffold*) dla zastosowań w inżynierii tkankowej kości (Rysunek 11).



Rysunek 11. Zaprojektowane porowate rusztowanie tkankowe (a) i jego obrazy SEM (b-d) [23]
 Figure 11. Designed porous tissue scaffold (a) and its SEM images (b-d) [23]

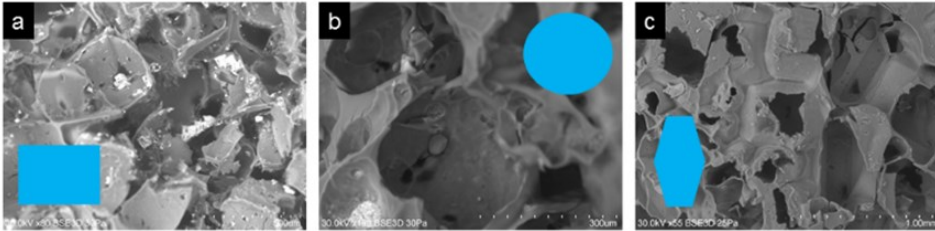
W badaniach użyto **TMSPMA** jako czynnika modyfikującego okta(3-aminopropyl)oktasilsekwioksan, **OAS-POSS-NH₂** (wychodząc z jego soli triflatowej [**OAS-POSS-NH₃**]**CF₃SO₃**) (Schemat 4) [23]. Zaletą takiego układu jest to, że dzięki obecności grup metoksylowych -OMe na łańcuchach bocznych możliwe jest jego użycie w metodzie zol-żel. Na widmie ²⁹Si NMR powstałego w wyniku reakcji związku **TMSPMA-POSS** widoczne są dwa symetryczne sygnały: od rdzenia krzemowego Si₈O₁₂ przy przesunięciu chemicznym $\delta = -66,2$ ppm oraz fragmentów -Si(OMe)₃ przy -42,8 ppm.

Obecność grup Si(OMe)₃ umożliwiła przeprowadzenie reakcji (poli)kondensacji hydrolytycznej, w wyniku której powstaje sieć stanowiąca platformę dla trójwymiarowego rusztowania [23].

Schemat 4. Synteza związku **TMSPMA-POSS** [23]Schemat 4. Synthesis of **TMSPMA-POSS** compound [23]

Trójwymiarowe porowate rusztowanie zostało otrzymane metodą wmywania porogenu jakim był cukier (metodę wmywania porogenu zastosowano przy otrzymywaniu wszystkich organiczno–nieorganicznych biomateriałów hybrydowych opisanych w niniejszym artykule) [5,6,11,23,24]. W tym celu cukier umieszczony w kształtkach nasycano zolem. Następnie materiał żelowano w temperaturze 40°C, a powstały żel poddano starzeniu przez 3 dni. Po otrzymaniu elastycznego żelu porogen został wymyty na drodze wypłukiwania w łaźni z wodą destylowaną w temperaturze 60°C. Postęp wmywania cukru monitorowano za pomocą testu Molisch’a [25]. Po całkowitym wymyciu porogenu, powstały materiał poddano termicznej kondensacji otrzymując twarde i odtwarzalne rusztowanie makroporowate (**pTMSPMA-POSS**, Rysunek 11a). Porogen dodatkowo domieszkowany był węglanem amonu (2 %wag.). Przeprowadzone badania wykazały, że dodatek węglanu amonu, po rozkładzie do $CO_{2(g)}$ i $NH_{3(g)}$, powoduje powstawanie na powierzchni materiału „chropowatości” rzędu 0,2–7 μm (rola amoniaku), ułatwiającej adhezję komórek [26], a także zapewnia utworzenie otwartych porów o wielkości 150–600 μm (rola ditlenku węgla), co umożliwia migrację i osiedlanie komórek w głębi implantu i wzrost naczyń krwionośnych (waskularyzację). Cukier wytworzył makropory o wielkości, która dodatkowo umożliwia transport czynników odżywczych, wymianę jonów i przyłączanie białek, w tym białek wzrostu [27]. Otrzymany materiał **pTMSPMA-POSS** jest stabilny termicznie do ok. 360°C. W analizie nie obserwowano żadnych przejść fazowych, co może dostarczyć informacji na temat wyboru form sterylizacji materiału przed badaniami *in vitro* i *in vivo*. Dla porównania materiał wykonany jedynie ze spolimeryzowanego 3–(trimetoksylilo)propylometakrylanu (**pTMSPMA**) wykazuje stabilność termiczną do ok. 250°C [23]. Warto również dodać, że w zależności od potrzeb, kształt i wielkość porów makroporowatego rusztowania może być modyfikowana w zależności od użytego porogenu. Jak

wykazano dla kompozytu **pTMSPMA/pEGDMA** jako porogenów można, zamiast cukru, alternatywnie użyć chlorku sodu (pory o wielkości 100–300 μm) lub chlorku amonu (20–200 μm) (Rysunek 12) [11].



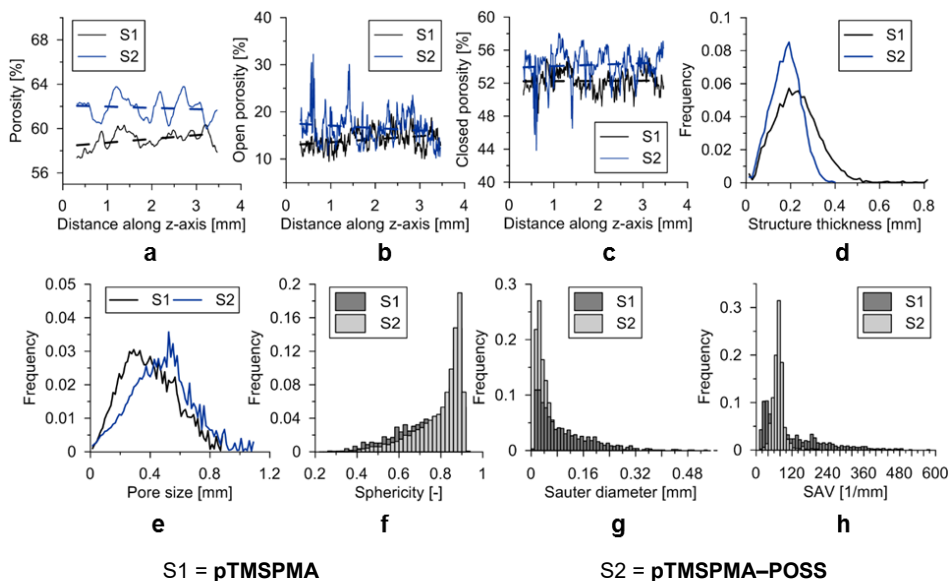
Rysunek 12. Obrazy SEM rusztowań tkankowych na bazie **pTMSPMA/pEGDMA** powstałych przy użyciu różnych porogenów: (a) NaCl, (b) NH_4Cl i (c) cukier [11]

Figure 12. SEM images of tissue scaffolds based on **pTMSPMA/pEGDMA** formed with the use of various porogens: (a) NaCl, (b) NH_4Cl and (c) sugar [11]

Dla otrzymanego rusztowania wykonano również serię analiz mikrostrukturalnych w celu wyznaczenia jego parametrów geometrycznych i mechanicznych, które warunkują ewentualne użycie materiału jako implantu ubytków kostnych. W badaniach tych użyto próbek materiału hybrydowego w postaci rusztowań oraz monolitów z **pTMSPMA–POSS**, a jako próbki odniesienia stosowano rusztowania i monolity wykonane z **pTMSPMA** [23].

Na Rysunku 13 zostały przedstawione pomiary porowatości w funkcji wysokości próbek. Z wykresów widać, że materiał hybrydowy **pTMSPMA–POSS** wykazuje większą porowatość aniżeli próbka odniesienia **pTMSPMA**; materiały posiadają stałą porowatość w całej objętości. Rozrzut wielkości porów dla **pTMSPMA–POSS** wynosi od 300 do 800 μm , z maksimum przypadającym na ok. 500 μm . Z kolei sferyczność porów dla jednego i drugiego materiału jest zbliżona i wynosi ok. 0,8, co oznacza że pory są niemal sferyczne. Rusztowanie polimerowe **pTMSPMA** zawiera również nieliczne duże pory, odbiegające wielkością znacznie od pozostałych, podczas gdy **pTMSPMA–POSS** posiada pod tym względem strukturę homogeniczną z obecnością dużej ilości mniejszych porów [23].

Dodatkowo rozrzut stosunku powierzchni właściwej do objętości (SAV), który jest niezwykle istotnym parametrem z punktu widzenia adhezji komórek do ścian porów, dla obu próbek jest wyraźnie inny, tj. dla **pTMSPMA** wynosi 75 mm^{-1} z dużą wariancją wyników, a dla **pTMSPMA–POSS** średnia wartość SAV wynosi 122 mm^{-1} i cechuje ją wąska zmienność wyników. Średnie wartości parametrów graficznie przedstawionych na Rysunku 13 zestawiono w Tabeli 4. Z kolei na Rysunku 14 zobrazowano trójwymiarową rekonstrukcję oraz przykładowe zdjęcia przekrojów dla dwóch typów rusztowań [23].



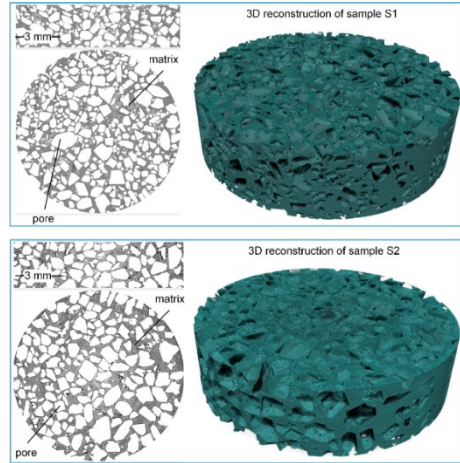
Rysunek 13. (a) Zmiany porowatości wzdłuż osi z, (b) zmiany otwartej porowatości wzdłuż osi z, (c) zmiany porowatości zamkniętej wzdłuż osi z, (d) rozrzut grubości struktury, (e) rozrzut wielkości porów, (f) rozrzut sferyczności porów, (g) rozrzut wielkości porów wyznaczony metodą Sauter'a i (h) rozrzut stosunku powierzchni właściwej do objętości porów [23]

Figure 13. (a) Porosity changes along the z-axis of the specimens, (b) open porosity changes along the z-axis of the specimens, (c) closed porosity changes along the z-axis of the specimens, (d) structure thickness distribution, (e) pore size (equivalent spherical diameter) distribution, (f) pore shape (sphericity) distribution, (g) surface area/volume ratio of pore distribution [23]

Tabela 4. Zestawienie średnich wartości parametrów strukturalnych otrzymanych rusztowań [23]
Table 4. Collation of average values of the structural parameters of the obtained scaffolds [23]

Próbka	Porowatość [%]	Otwarta porowatość [%]	Zamknięta porowatość [%]	Średni rozmiar porów [μm]	Średnia sferyczność porów	SAV [mm ⁻¹]
pTMSPMA	50,34	49,57	1,52	390	0,76	75,6
pTMSPMA-POSS	57,68	57,38	0,70	480	0,80	122,2

Dla otrzymanych materiałów wyznaczono również średnie wartości modułu Younga, twardości oraz wytrzymałości na ściskanie. Wyniki analiz zestawiono w Tabeli 5. Materiał hybrydowy w postaci makroporowatego rusztowania posiada większy moduł Younga i twardość, niż polimerowa próbka referencyjna. Z kolei, większą wytrzymałość na ściskanie posiada próbka rusztowania polimerowego; sytuacja odwrotnie wygląda w przypadku monolitów, gdzie większą wytrzymałość wykazuje układ hybrydowy [23].



Rysunek 14. Zdjęcia przekrojów próbek oraz rekonstrukcja 3D rusztowań (S1 = pTMSPMA; S2 = pTMSPMA-POSS) [23]

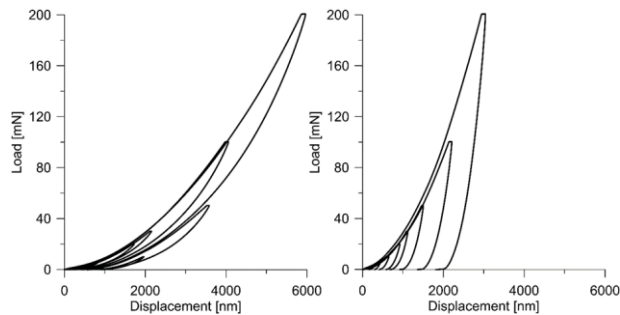
Figure 14. Image of the cross sections of samples, and also 3D reconstruction of scaffolds (S1 = pTMSPMA; S2 = pTMSPMA-POSS) [23]

Tabela 5. Średnie wartości modułu Younga, twardości oraz wytrzymałości na ściskanie [23]

Table 5. Average values of Young's modulus, hardness, and compressive strength [23]

Próbka	Moduł Younga [GPa]	Twardość [GPa]	Wytrzymałość na ściskanie [MPa]	
	Rusztowanie	Rusztowanie	Rusztowanie	Monolit
pTMSPMA	$3,91 \pm 0,34$	$0,46 \pm 0,08$	$0,82 \pm 0,22$	$1,2 \pm 0,16$
pTMSPMA-POSS	$4,36 \pm 0,57$	$0,57 \pm 0,13$	$0,21 \pm 0,03$	$1,8 \pm 0,05$

Należy również podkreślić, że ciekawą cechą otrzymanego rusztowania hybrydowego pTMSPMA-POSS jest zaskakująco wysoka elastyczność jego struktury. Dodatkowo mechaniczna deformacja tego materiału jest niemal w 100% odwracalna. Na Rysunku 15 pokazano stopień odkształcania (test nanoindentacji) materiału hybrydowego w funkcji przyłożonej siły oraz zestawiono go z danymi dla zęba ludzkiego [23].

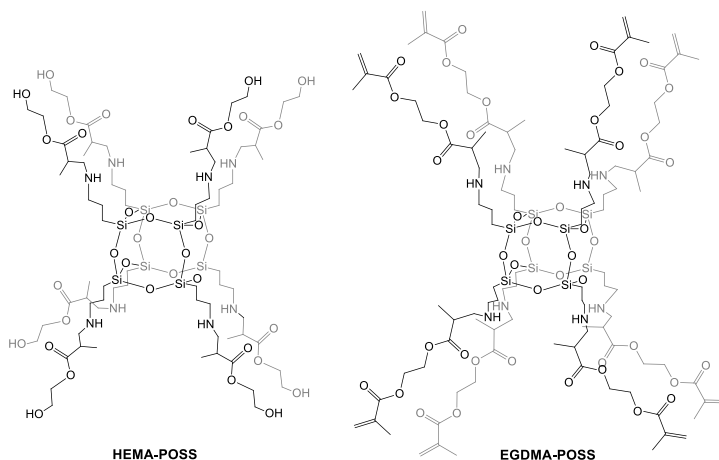


Rysunek 15. Krzywe odkształcania pTMSPMA-POSS (wykres lewy) i zęba ludzkiego (wykres prawy) [23]

Figure 15. Deformation curves of pTMSPMA-POSS (left diagram) and a human tooth (right diagram) [23]

Zestawienie modułu elastyczności oraz innych wyznaczonych parametrów mechanicznych otrzymanego organiczno–nieorganicznego materiału hybrydowego **pTMSPMA–POSS** z innymi materiałami opisanymi w literaturze i parametrami wyznaczonymi dla tkanek ludzkich pokazuje ogromny potencjał opracowanego układu w aspekcie potencjalnego zastosowania w inżynierii tkanek twardych [23,28].

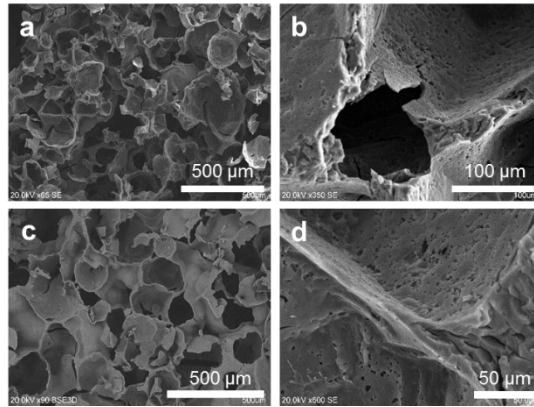
Związek wyjściowy **OAS–POSS–NH₂** był również z sukcesem funkcjonalizowany za pomocą monomerów **HEMA** i **EGDMA** otrzymując odpowiednio **HEMA–POSS** i **EGDMA–POSS** (Rysunek 16) [24].



Rysunek 16. Struktury klatek silseskwioxanowych sfunkcjonalizowanych za pomocą **HEMA** i **EGDMA** [19,24]

Figure 16. Structures of silsesquioxane cages functionalized by **HEMA** and **EGDMA** [19,24]

Na widmach ²⁹Si NMR **HEMA–POSS** i **EGDMA–POSS** widoczny jest jeden symetryczny sygnał przy przesunięciu $\delta = -66$ ppm, oczekiwany dla alkilopodstawionych klatek typu T₈; jednocześnie wykluczono obecność analogów T₁₀ i T₁₂. Struktury związków potwierdzono również spektrometrią mas HR–MS. Ponadto, podobnie jak dla związku **TMSPMA–POSS**, również **HEMA–POSS** i **EGDMA–POSS** użyto do otrzymania makroporowatych rusztowań tkankowych w analogiczny sposób (Rysunek 17) [24].



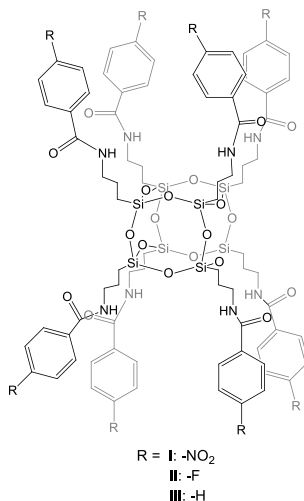
Rysunek 17. Obrazy SEM dal rusztowań utworzonych przez **pHEMA-POSS** (a, b) i **pEGDMA-POSS** (c, d) [24]

Figure 17. SEM images for scaffolds formed by **pHEMA-POSS** (a, b) and **pEGDMA-POSS** (c, d) [24]

Wielościennie oligomeryczne silseskwioksany mogą również pełnić rolę systemów dostarczających leki, jako ciekawa alternatywa dla rozgałęzionych, usieciowanych polimerów, układów bazujących na dendrymerach lub micelach. Motywacją do tego typu badań było ciągłe poszukiwanie w literaturze nieskomplikowanych, bardziej efektywnych i tańszych rozwiązań. Do zalet potencjalnych koniugatów lek-POSS można zaliczyć: (I) silną tendencję do tworzenia supramolekularnych sieci budulcowych, które są w stanie związać/zaadsorbować małe cząsteczki [17], (II) możliwość wykluczenia wad związanych z bezpośrednim, doustnym dawkowaniem substancji farmakologicznie czynnych, jak: niska rozpuszczalność, negatywny wpływ na śluzówkę żołądka, ograniczona biodystrybucja, niska selektywność, szybka dezaktywacja leku i rozkład w warunkach *in vivo* [29], (III) niską toksyczność klatkowych związków krzemu i skuteczną absorpcję komórkową [30], (IV) rozmiar w skali nano, (V) możliwość precyzyjnego zaplanowania struktury w odróżnieniu od micelarnych, dendrymerycznych i polimerowych koniugatów, w których ilość zaadsorbowanego lub związanego leku bywa często przypadkowa oraz występuje niebezpieczeństwo uwięzienia cząsteczek leku w rozgałęzionej strukturze nośnika (zjawisko niepożądanego kapsułkowania leku).

Otrzymane wcześniej w naszym zespole badawczym pochodne amidowe-POSS [31] (Rysunek 18) posłużyły w niniejszych poszukiwaniach jako układy modelowe nośników dla cząsteczek paracetamolu i ibuprofenu. Analiza zaproponowanych układów wykazała, że cząsteczki nanonośników po uwolnieniu w warunkach fizjologicznych substancji farmakologicznie czynnych ulegają

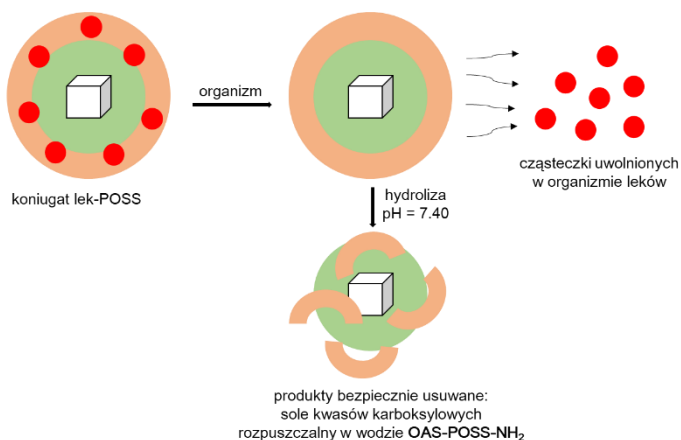
hydrolizie w $\text{pH} = 7,40$ do nietoksycznych soli kwasów karboksylowych i rozpuszczalnego w wodzie związku **OAS-POSS-NH₂**, które mogą bezpiecznie być wydalone z organizmu (Rysunek 19) [32].



Rysunek 18. Pochodne amidowe POSS stosowane w badaniach nad modelowymi nośnikami substancji farmakologicznie czynnych

Figure 18. Amide derivatives of POSS applied in studies into the model carriers of pharmacologically-active substances

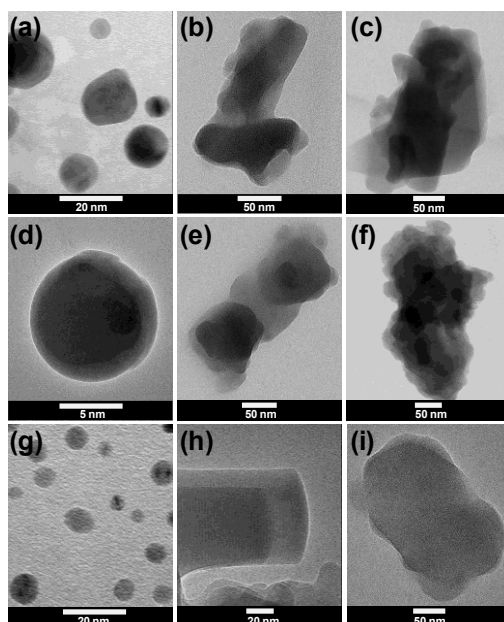
W strukturze pochodnych amidowych **I-III** terminalne grupy posiadają możliwość oddziaływania z cząsteczkami leków na drodze wiązań wodorowych, halogenowych i słabych oddziaływań typu π . Największa ilość leku (zarówno dla paracetamolu, jak i ibuprofenu) jest związana z pochodną **III**, dla której efektywność związania leku (z ang. *nanoparticle entrapment efficiency*) z nośnikiem sięga rzędu 65%.



Rysunek 19. Idea działania koniugatu lek-POSS [32]

Figure 19. Idea of the functionalization of the drug-POSS conjugate [32]

Połączenie leku z nośnikiem ma wpływ na morfologię układu (Rysunek 20). Jak wykazano wcześniej [33] cząstki nośnika **I-III** posiadają morfologię sferyczną, a wielkość odseparowanych nanocząstek mieści się w przedziale 5–10 nm. Po zakotwiczeniu leku, układy wykazują tendencję do agregacji, powstałe układy przyjmują kształt cylindryczny (Rysunek 20h), a ich wielkość szacowana jest na ok. 100 nm [32]. Warto tutaj podkreślić, że zgodnie z danymi literaturowymi oraz z punktu widzenia potencjalnych zastosowań *in vivo* wielkość układów dostarczających leki powinna wynosić poniżej 200 nm [33]. Utworzenie cylindrycznej morfologii sugerować może samoorganizację powstających koniugatów na skutek tworzących się oddziaływań pomiędzy cząsteczkami leków, a bocznymi ramionami nośnika. Obecność paracetamolu i ibuprofenu na nośniku została potwierdzona m.in. za pomocą analizy EDS oraz PXRD [32].



Rysunek 20. Obrazy HR-TEM: (a) związek **III**, (b) koniugat **III-paracetamol**, (c) koniugat **III-ibuprofen**, (d) związek **I**, (e) koniugat **I-paracetamol**, (f) koniugat **I-ibuprofen**, (g) związek **II**, (h) koniugat **II-paracetamol** oraz (i) koniugat **II-ibuprofen** [32]

Figure 20. HR-TEM images: (a) compound **III**, (b) conjugate **III-paracetamol**, (c) conjugate **III-ibuprofen**, (d) compound **I**, (e) conjugate **I-paracetamol**, (f) conjugate **I-ibuprofen**, (g) compound **II**, (h) conjugate **II-paracetamol**, and also (i) conjugate **II-ibuprofen** [32]

Proces uwalniania leków z nośnika śledzony był za pomocą molekularnej spektroskopii elektronowej UV-Vis. Badania wykazały, że najwięcej leku uwalnianego jest z układu **III-paracetamol** i **III-ibuprofen** (ok. 45%), następnie **I- i II-ibuprofen** (35%), a najmniej z **I- i II-paracetamol** (ok. 18%) [32]. Większa

ilość uwalnianego leku z koniugatu **III** wynika ze słabszych oddziaływań substancji czynnej i nośnika. Ramiona boczne w związku **III** nie posiadają dodatkowych podstawników w pozycji *para* pierścienia aromatycznego i jedynie „zerwanie” wiązań wodorowych powoduje uwolnienie cząsteczek leku. W przypadku pochodnych **I** i **II**, które już posiadają dodatkowe podstawniki w pozycji *para*, cząsteczki substancji aktywnej są dodatkowo związane za pomocą oddziaływań typu wiązanie halogenowe oraz oddziaływania C–H···O lub N···O, co skutkuje podobnym profilem uwalniania w przypadku tych dwóch nośników [32,34]. Przebieg uwalniania dla paracetamolu i ibuprofenu jest logarytmiczny i typowy dla nanoporowatych oraz nanocylindrycznych struktur [35]. Otrzymane w wyniku badań nanonośniki uwalniają substancje farmakologicznie czynne w określonym pH środowiska. Wykazano, że uwalnianie nie odbywa się przy pH neutralnym lub w środowisku kwaśnym (jakie występuje w sokach żołądkowych), ale lekko zasadowym, jakie panuje np. w jelitach czy w komórkach [32,34].

UWAGI KOŃCOWE

Od wielu lat biomateriały bazujące na związkach krzemu i pochodnych metakrylanowych stanowią obiecującą grupę układów do zastosowań medycznych. Obecnie zainteresowanie tego typu biomateriałami przeżywa swoisty renesans, czego dowodem są liczne doniesienia literaturowe publikowane w prestiżowych czasopismach naukowych o charakterze interdyscyplinarnym z pogranicza chemii, biologii i pokrewnych dziedzin. W niniejszym artykule omówiono wycinek tematów realizowanych w Zespole Chemii Biomateriałów Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. W niniejszym opracowaniu podsumowałem wyniki prowadzonych badań związanych z chemią wybranych związków krzemu i ich potencjalnych zastosowań jako biomateriały nowej generacji dla inżynierii tkankowej. Za najważniejsze osiągnięcia wynikające z zaprezentowanych wyników uważam: (I) opracowanie kompozytowego biomateriału **1HCPS** na bazie krzemu o strukturze makroporowatego rusztowania domieszkowanego ważnymi, z punktu widzenia osteogenezy, jonami (Ca^{2+} , Sr^{2+} i PO_4^{3-}), dla którego wyniki badań cytotoksyczności, adhezji i przeżywalności komórek osteoblastów oraz właściwości mechaniczne są wyróżniające spośród podobnych materiałów opisanych do tej pory w literaturze naukowej; (II) określenie mechanizmu wymiany jonów wewnątrz struktury makroporowatej skutkującej krystalizacją hydroksyapatytu na granicy faz układ modelowy/osocze; (III) opracowanie nowatorskiego materiału hybrydowego **pTMSMA-POSS** dla inżynierii tkankowej kości bazującego na klatkowym silseskwioxanie typu T_8 zmodyfikowanym za pomocą 3-(trimetoksy-sililo)-propylometakrylanu o konkurencyjnych właściwościach mikrostrukturalnych; (IV) opracowanie metody wytwarzania i modyfikacji rusztowań tkankowych za pomocą

m.in. węglanu amonu wpływającą na topografię powierzchni makroporów sprzyjającą adhezji i osiedlaniu komórek; (V) opracowanie biomateriału hybrydowego o potencjalnym zastosowaniu w terapii termalnej.

PODZIĘKOWANIE

Składam serdeczne podziękowania współpracownikom, których praca eksperymentalna przysłużyła się do powstania prac oryginalnych, które omówiono w niniejszym artykule. Szczególne podziękowania kieruję do swoich wychowanków – dr. Mateusza Janety i dr Marty Podgórskiej (z domu Bałtrukiewicz).

Zaprezentowane wyniki badań realizowane były w ramach dwóch grantów finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (SONATA 2013/09/D/ST8/03995 oraz OPUS 2016/23/B/ST5/01480).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] Shriver & Atkins Inorganic Chemistry, Oxford University Press, 2006.
- [2] M. Handke, Krystalochemia krzemianów, Wydawnictwo AGH, Kraków, 2008.
- [3] M. Vallet-Regí, M. Colilla, B. González, Chem. Soc. Rev., 2011, **40**, 596.
- [4] W. Craelius, Science, 2002, **295**, 1018.
- [5] Ł. John, M. Bałtrukiewicz, P. Sobota, R. Brykner, Ł. Cwynar-Zajac, P. Dzięgiel, Mater. Sci. Eng. C, 2012, **32**, 1849.
- [6] Ł. John, M. Podgórska, J.-M. Nedelec, Ł. Cwynar-Zajac, P. Dzięgiel, Mater. Sci. Eng. C, 2016, **68**, 117.
- [7] W. Xue, J.J. Moore, H.L. Hosick, S. Bose, A. Bandyopadhyay, W.W. Lu, K.M.C. Cheung, K.D.K. Luk, J. Biomed. Res. A, 2006, **79A**, 804.
- [8] J.P. Marie, Curr. Opin. Pharmacol., 2005, **5**, 633.
- [9] Ł. John, Wiad. Chem., 2012, **66**, 21.
- [10] A. Ramila, M. Vallet-Regí, Biomaterials, 2001, **22**, 2301.
- [11] Ł. John, M. Janeta, S. Szafert, Mater. Sci. Eng. C, 2017, **78**, 901.
- [12] C.D. Seaborn, F.H. Nielsen, Biol. Trace Elem. Res., 2002, **89**, 251.
- [13] L.L. Hench, J.K. West, Chem. Rev., 1990, **90**, 33.
- [14] E. Jallot, J. Lao, Ł. John, J. Soulié, P. Moretto, J.-M. Nedelec, ACS Appl. Mater. Interfaces, 2010, **2**, 1737.
- [15] H. Bai, F. Walsh, B. Gludovatz, B. Delattre, C. Huang, Y. Chen, A.P. Tomsia, R.O. Richie, Adv. Mater., 2016, **28**, 50.
- [16] J. Du, Y. Chen, Macromolecules, 2004, **37**, 6322.
- [17] Y. Kotani, M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, Macromolecules, 1996, **29**, 6979.
- [18] H.S. Mansur, H.S. Costa, A.A.P. Mansur, M. Pereira, Mater. Sci. Eng. C, 2012, **32**, 404.
- [19] Ł. John, Mater. Sci. Eng. C, 2018, **88**, 172.
- [20] A. Kowalewska, Curr. Org. Chem., 2017, **21**, 1243.
- [21] M. Janeta, Ł. John, J. Ejfler, S. Szafert, Dalton Trans., 2016, **45**, 12312.
- [22] V. Raus, E. Čadová, L. Starovoytova, M. Janata, Macromolecules, 2014, **47**, 7311.
- [23] Ł. John, M. Janeta, M. Rajczakowska, J. Ejfler, D. Łydźba, S. Szafert, RSC Adv., 2016, **6**, 66037.
- [24] Ł. John, M. Janeta, S. Szafert, New. J. Chem., 2018, **42**, 39.
- [25] J.H. Foulger, J. Biol. Chem., 1931, **92**, 345.

-
- [26] C. Larsson, P. Thomsen, J. Lausmaa, M. Rodahl, B. Kasemo, L.E. Ericson, *Biomaterials*, 1994, **15**, 1062.
- [27] G. Wang, L. Zheng, H. Zhao, J. Miao, C. Sun, H. Liu, Z. Huang, X. Yu, J. Wang, X. Tao, *ACS. Appl. Mater. Interfaces*, 2011, **3**, 1692.
- [28] K. Rezwan, Q.Z. Chen, J.J. Blaker, A.R. Boccaccini, *Biomaterials*, 2006, **27**, 3413.
- [29] T.M. Allen, P.R. Cullis, *Science*, 2004, **303**, 1818.
- [30] A. Janaszewska, K. Gradzińska, M. Marcinkowska, B. Klajnert-Maculewicz, W.A. Stańczyk, *Materials*, 2015, **8**, 6062.
- [31] M. Janeta, Ł. John, J. Ejfler, S. Szafert, *Chem. Eur. J.*, 2014, **20**, 15966.
- [32] Ł. John, M. Malik, M. Janeta, S. Szafert, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 8394.
- [33] H. Maeda, J. Wu, T. Sawa, Y. Matsumura, K. Hori, *J. Control. Release*, 2000, **65**, 271.
- [34] W.-Y. Qian, D.-M. Sun, R.-R. Zhu, X.-L. Du, H. Liu, S.-L. Wang, *Int. J. Nanomedicine*, 2012, **7**, 5781.
- [35] M.S. Aw, M. Kurian, D. Losic, *Biomater. Sci.*, 2013, **2**, 10.

Praca wpłynęła do Redakcji 6 kwietnia 2022 r.

