Uniwersytet Jagielloński

Wydział Chemii

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Bioaktywne wielowarstwowe membrany nanocelulozowe jako potencjalne materiały opatrunkowe

Katarzyna Guzdek-Zając

Promotor: prof. dr hab. Maria Nowakowska

Promotor pomocniczy: dr hab. Joanna Lewandowska-Łańcucka

Praca wykonana

w Zespole Nanotechnologii Polimerów i Biomateriałów

Zakładu Chemii Fizycznej i Elektrochemii Wydziału Chemii UJ

Kraków 2021

Celem niniejszej pracy doktorskiej było otrzymanie wielowarstwowych materiałów bioaktywnych na bazie bionanocelulozy (BNC), potencjalnie przydatnych do sporządzenia wilgotnych, bioaktywnych opatrunków umożliwiających poprawę leczenia ran przewlekłych. Badania te wpisują się w aktualny światowy nurt poszukiwań nowych biomateriałów i projektowania nowoczesnych opatrunków. W tym kontekście, przedmiotem szczególnego zainteresowania stała się bionanoceluloza – nanomateriał produkowany przez szereg szczepów bakterii, w tym *Gluconacetobacter xylinus*. Materiał ten ma niezwykle pożądane właściwości fizykochemiczne i biologiczne. Jest on nietoksyczny, biozgodny, biodegradowalny, wytrzymały mechanicznie, rozciągliwy, formowalny, porowaty, elastyczny i niezwykle chłonny. Kontrolując warunki procesu jego biosyntezy można również modyfikować jego właściwości i dostosowywać je do specyficznych potrzeb, zależnych od planowanego zastosowania. Wysokie uwodnienie sprawia, że bionanoceluloza jest materiałem miękkim i przyjemnym w dotyku, co umożliwia kontakt ze skórą – także w miejscach jej uszkodzeń, dzięki ścisłemu przyleganiu do powierzchni. BNC nie posiada właściwości przeciwdrobnoustrojowych. Wprowadzenie w jej strukturę określonych związków organicznych lub nieorganicznych pozwala jednak na uzyskanie kompozytów o zdefiniowanych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych.

W badaniach realizowanych w ramach niniejszej pracy doktorskiej wykorzystano membrany natywnej bionanocelulozy (BNC) oraz kompozytu bionanocelulozy z karboksymetylocelulozą (BNC-CMC). Wprowadzenie karboksymetylocelulozy do pożywki bakteryjnej pozwoliło na uzyskanie grup karboksymetylowych w badanym kompozycie, co znacząco ułatwiło i rozszerzyło możliwości jego modyfikacji. W pierwszym etapie badań określono właściwości fizykochemiczne badanych materiałów, w szczególności ich morfologię, skład chemiczny powierzchni, zwilżalność i zdolność do pęcznienia. Badania te pozwoliły na zaobserwowanie znaczących różnic pomiędzy obydwoma materiałami. Wykazano, że BNC to materiał bardziej jednorodny, o wyższej absorpcji światła widzialnego (mniejszej przejrzystości), mniejszym uwodnieniu i niższej tendencji do pęcznienia niż BNC-CMC. Kompozyt BNC-CMC charakteryzuje się obecnością grup karboksymetylowych, co potwierdzono pomiarami fluorescencyjnymi. Stężenie powierzchniowe tych grup zostało określone przy użyciu testu kolorymetrycznego. Kompozyt jest także bardziej uwodniony i łatwiej pęcznieje, a badania jego struktury techniką SEM uwidaczniają obecność włókien.

W kolejnym etapie badań opracowano metodę aktywacji powierzchni membran przy użyciu (3-aminopropylo)trietoksysilanu (APS) a następnie stosując prekursory silikonowe: winylotrietoksysilan (VES) i allilotrimetoksysilan (ATMS) wytworzono na jednej z ich stron

ochronną warstwę silikonową ograniczającą proces utraty wody przez materiał (wysychania) przy jednoczesnym utrzymaniu dobrej wymiany gazowej, obojętności fizjologicznej i biokompatybilności. Przepuszczalność gazów jest jednym z ważniejszych wskaźników decydujących o komforcie stosowania i możliwym czasie użytkowania opatrunku. Wyniki literaturowe wskazują, że materiały silikonowe cechują się doskonałą przepuszczalnością gazów, w szczególności tlenu. Drugą ze stron tak przygotowanych membran BNC i BNC-CMC podano modyfikacji polegającej na kowalencyjnym przyłączeniu biomolekuł: insuliny (INS) lub heparyny (HEP), zapewniających pożądaną aktywność biologiczną materiału. Insulina, poza wpływem na obniżanie stężenia glukozy we krwi, znacząco hamuje proces rozwoju stanów zapalnych oraz skraca czas ich trwania. Ogranicza również występowanie zakażeń bakteryjnych w obrębie rany oraz wpływa stymulująco na proces tworzenia nowej tkanki. Heparyna natomiast przeciwdziała tworzeniu skrzeplin w obrębie rany oraz ogranicza stan zapalny i możliwości rozwoju infekcji.

Otrzymane materiały poddano badaniom fizykochemicznym z zastosowaniem szeregu komplementarnych metod fizykochemicznych i biologicznych - badania *in vitro* z użyciem mysich embrionalnych fibroblastów (MEF). Wykazano, że materiały te mają interesujące właściwości, w szczególności są nietoksyczne i aktywnie wspierają proliferację użytych w eksperymencie komórek fibroblastów. Stwierdzono, że wprowadzenie warstwy silikonu nie wpływa negatywnie na przeżywalność komórek, jednak ogranicza adhezję komórek do materiału, co może być korzystne w procesie terapeutycznym. Wprowadzenie biomolekuł INS i HEP poprawia namnażanie komórek MEF na badanych materiałach. Co istotne, wykazano, że sterylizacja materiałów przy użyciu promieniowania UV nie wpływa na pogorszenie ich aktywności biologicznej.

Otrzymane materiały hybrydowe mogą znaleźć zastosowanie jako bioaktywne, wilgotne opatrunki, szczególnie przydatne w leczeniu trudno gojących się ran, w tym ran cukrzycowych.