



**WYDZIAŁ
CHEMICZNY**
POLITECHNIKI RZESZOWSKIEJ



Samorząd Studencki
Politechniki Rzeszowskiej



**POLITECHNIKA
RZESZOWSKA**
im. IGNACEGO ŁUKASIEWICZA

POSTER **MASTER**

KSIĘGA PLAKATÓW
ROK AKADEMICKI 2023/2024

Księga Plakatów **POSTERMASTER 2024** zawiera postery przygotowane na
IV Dyplomową Sesję Plakatową
dedykowaną studentom II roku studiów II stopnia,
którzy w roku akademickim 2023/2024
realizowali prace magisterskie na
Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej

POSTER MASTER

Gremia oceniające:

- ✓ Komitet Naukowy
- ✓ Studenci II roku studiów II stopnia Wydziału Chemicznego

Ocenie poddane zostają następujące aspekty prac:

- ✓ wartość naukową oraz oryginalności rozwiązań
- ✓ praktyczny aspekt zaproponowanych rozwiązań
- ✓ sposób prezentacji wyników badań

Komitet Naukowy:

1. dr hab. inż. Łukasz Byczyński, prof. PRz
2. dr inż. Dorota Głowacz-Czerwonka, prof. PRz
3. dr inż. Andrzej Łyskowski
4. prof. dr hab. inż. Mariusz Oleksy
5. dr inż. Dorota Naróg
6. dr hab. inż. Wojciech Piątkowski, prof. PRz
7. dr hab. inż. Marek Potoczek, prof. PRz
8. dr hab. Łukasz Uram, prof. PRz
9. Regina Gnatek FHU Ainer, Ruda łańcucka
10. Paweł Kuryło OLIMP Laboratories Sp. z o.o., Nagawczyna
11. Bożena Uryasz Fabryka Farb i Lakierów ŚNIEŻKA SA, Lubzina
12. Aneta Raś Zakłady Farmaceutyczne POLPHARMA SA, Nowa Dęba
13. Janusz Rogulski Sarzyna Chemical Sp. z o.o., Nowa Sarzyna
14. Henryk Majcherczyk SPLAST Sp. z o.o., Jedlicze

Komitet Organizacyjny:

1. dr inż. Joanna Wojturska, prof. PRz – przewodniczący
2. mgr inż. Małgorzata Gabryel-Raus – sekretarz
3. dr inż. Maciej Kisiel



**POSTER
MASTER**

Spis posterów

1. inż. Katarzyna Kisiel – Zastosowanie ekologicznych substytutów toksycznych polarnych rozpuszczalników aprotycznych w syntezie precyzyjnie zdefiniowanych polimerów o zróżnicowanej strukturze i topologii; opiekun: prof. dr hab. inż. Paweł Chmielarz
2. inż. Renata Martowicz-Podgórska – Fluwastyna i digoksyna jako repozycjonowane leki w terapii glejaka i raka wątroby. Badania in vitro; opiekun: dr hab. Łukasz Uram, prof. PRz
3. inż. Monika Sokołowska – Opracowanie metody syntezy mezogenicznej żywicy epoksydowej; opiekun: dr hab. inż. Beata Mossety-Leszczak, prof. PRz
4. inż. Sabina Suwała – Zastosowanie techniki Western Blot do wykrycia markera apoptozy – białka p53 w komórkach nowotworowych linii komórkowej DU145; opiekun: dr hab. Aleksandra Bocian, prof. PRz
5. inż. Żaneta Szymaszek – Modyfikacje dendrymerów PAMAM G4 przeznaczonych do terapii glejaka wielopostaciowego; opiekun: dr hab. Łukasz Uram, prof. PRz
6. inż. Kinga Ślusarczyk – Opracowanie biozgodnego materiału implantologicznego z wykorzystaniem technik polimeryzacji rodnikowej z przeniesieniem atomu; opiekun: prof. dr hab. inż. Paweł Chmielarz
7. inż. Magdalena Twardowska – Modyfikowane dendrymery poliamidoaminowe czwartej generacji jako nośniki do komórek raka wątroby; opiekun: dr hab. Łukasz Uram, prof. PRz
8. inż. Paulina Zając – Ciekłokrystaliczna żywica epoksydowa – opracowanie metody syntezy i charakterystyka właściwości; opiekun: dr hab. inż. Beata Mossety-Leszczak, prof. PRz

**POSTER
MASTER**



FLUWASTATYNA I DIGOKSYNA JAKO REPOZYCJONOWANE LEKI W TERAPII GLEJAKA I RAKA WĄTROBY. BADANIA IN VITRO

WPROWADZENIE

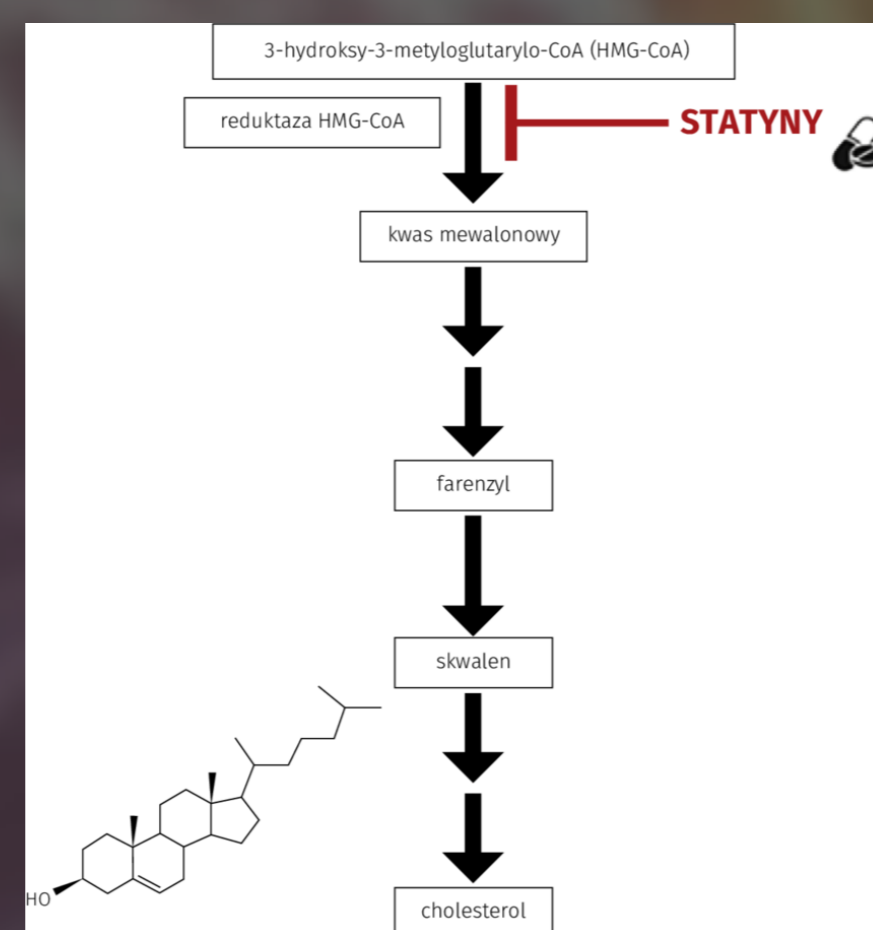
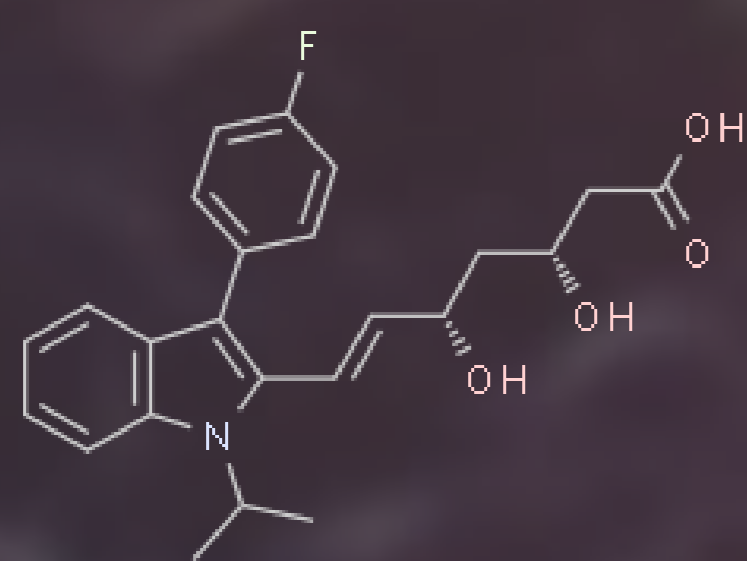
Choroby nowotworowe stanowią aktualnie jedno z największych wyzwań dla systemów opieki zdrowotnej na całym świecie. Pomimo rozwoju wielu nowoczesnych metod terapeutycznych chemioterapia wciąż stanowi podstawę leczenia w większości rodzajów nowotworów, a pacjenci narażeni są na poważne skutki uboczne. Ponadto opracowywanie innowacyjnych substancji leczniczych i wprowadzenie ich na rynek jest procesem niezwykle kosztownym oraz czasochłonnym. Obiecującą strategią, która może sprostać tym wyzwaniom, jest zmiana przeznaczenia istniejących i zatwierdzonych związków terapeutycznych, określana mianem repozycjonowania leków. Liczne badania wykazały, że niektóre leki dopuszczone do obrotu i terapii różnych chorób, wykazują pewne właściwości przeciwnowotworowe i mogą być z powodzeniem stosowane w terapii raka.

CEL PRACY

Celem pracy było zbadanie aktywności przeciwnowotworowej fluwastatyny wobec ludzkich komórek raka wątrobowokomórkowego (HepG2) oraz digoksyny wobec komórek glejaka mózgu IV stopnia (U-118 MG). Jako kontrolę w obu próbach wykorzystano unieśmiertelnione keratynocyty (HaCaT), stanowiące model komórek prawidłowych.

FLUWASTATYNA

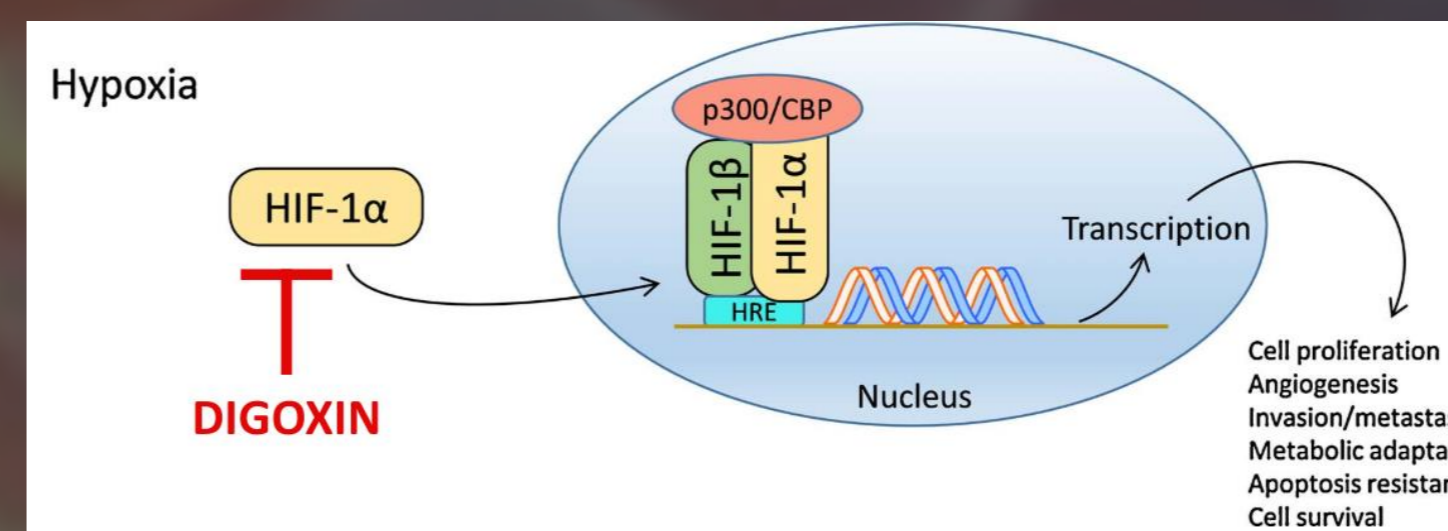
- lek należący do grupy statyn, stosowany w leczeniu hipercholesterolemii
- mechanizm działania polega na obniżaniu stężenia cholesterolu w komórkach poprzez kompetycyjne hamowanie reduktazy HMG-CoA
- badania przeprowadzone wobec różnych komórek nowotworowych wykazały, że fluwastatyna hamuje proliferację i angiogenezę oraz indukuje apoptozę i zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M
- reduktaza HMG-CoA jest obiecującym celem terapeutycznym, ponieważ ulega nadekspresji w niektórych typach nowotworów i związana jest ze zwiększonym wzrostem, proliferacją oraz migracją komórek nowotworowych



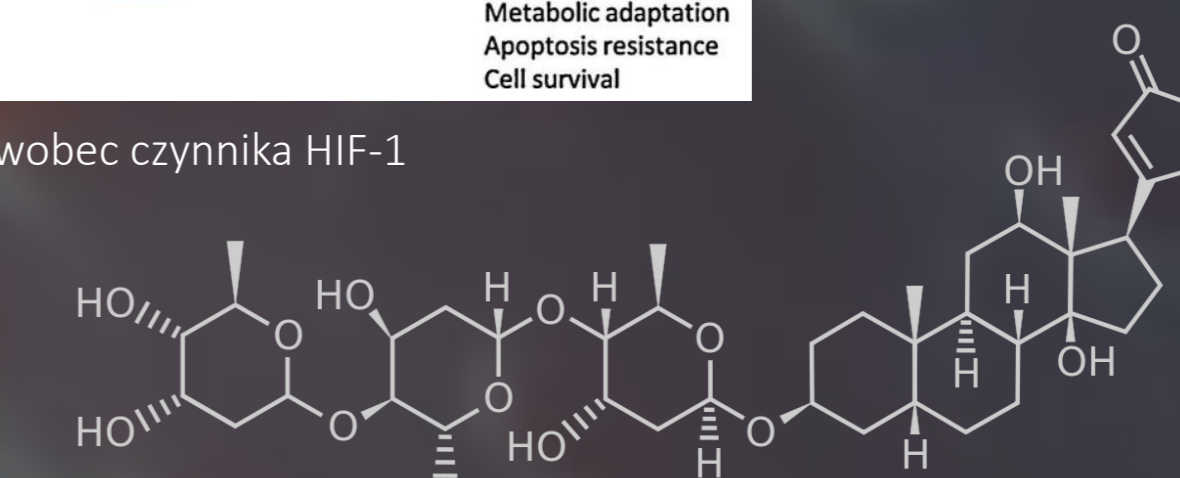
Mechanizm działania fluwastatyny

DIGOKSYNA

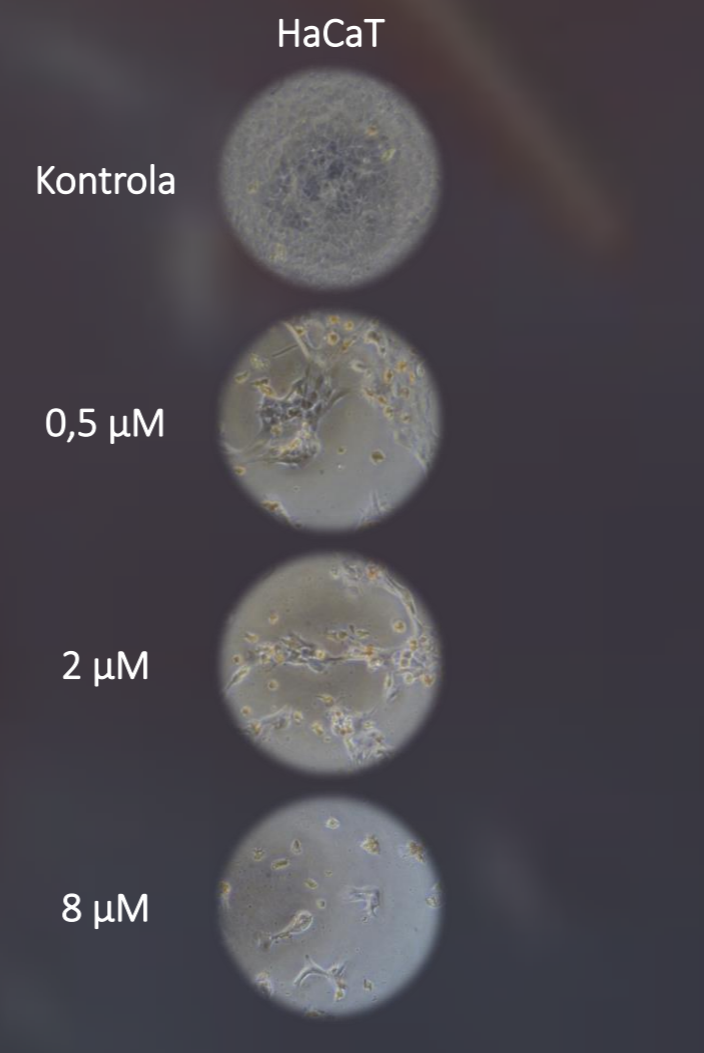
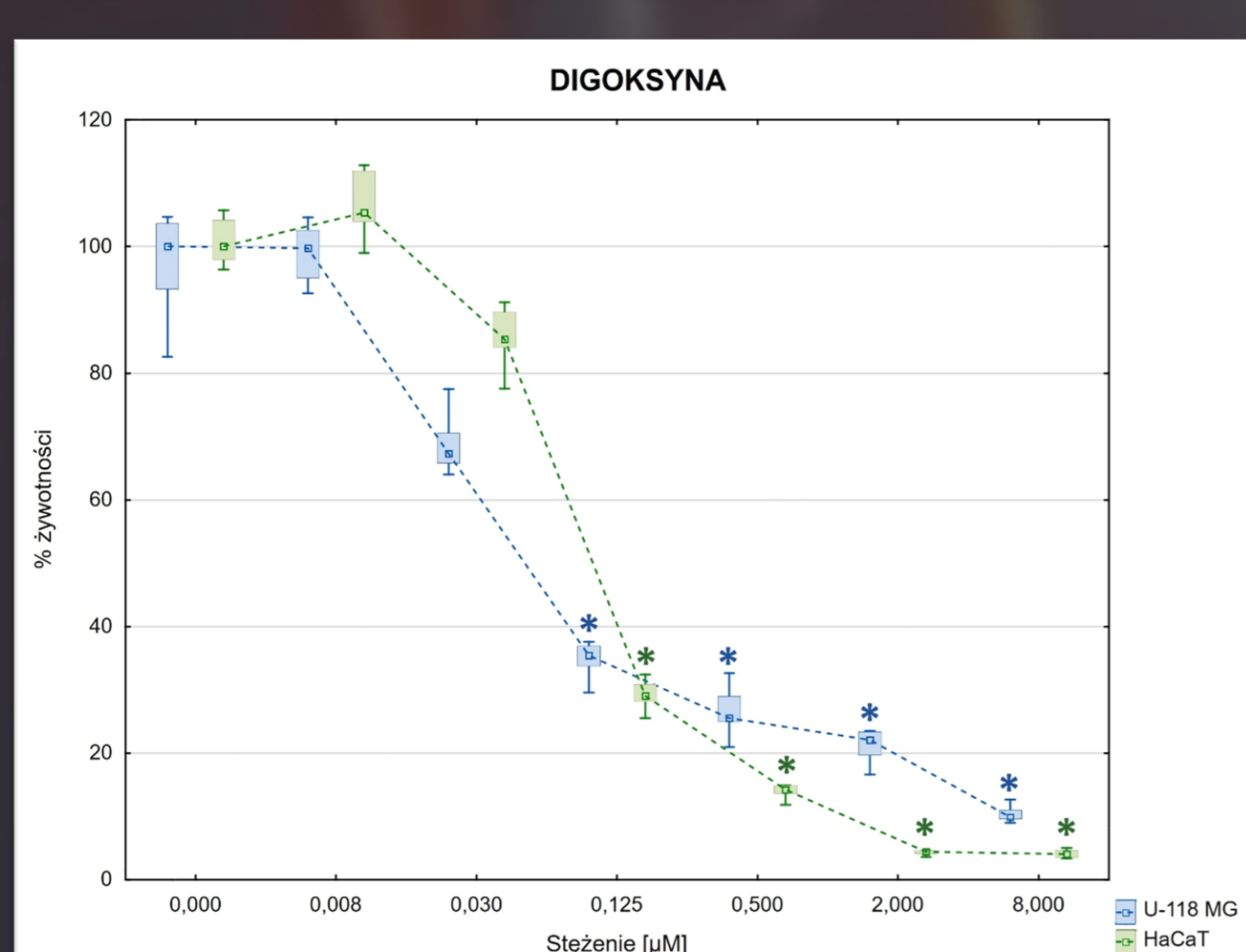
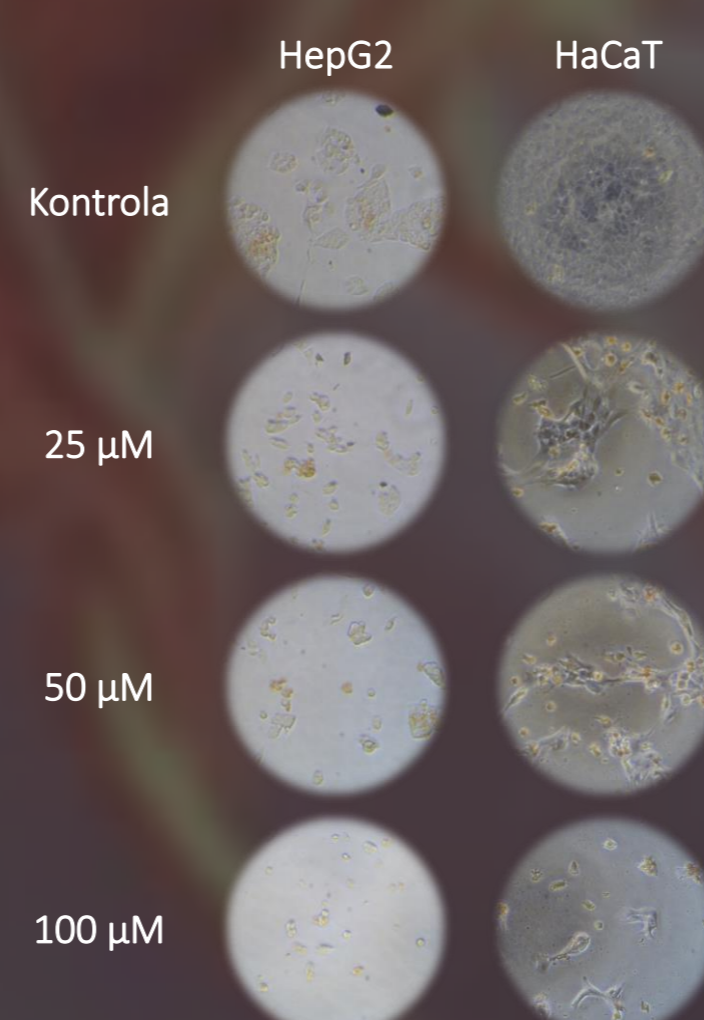
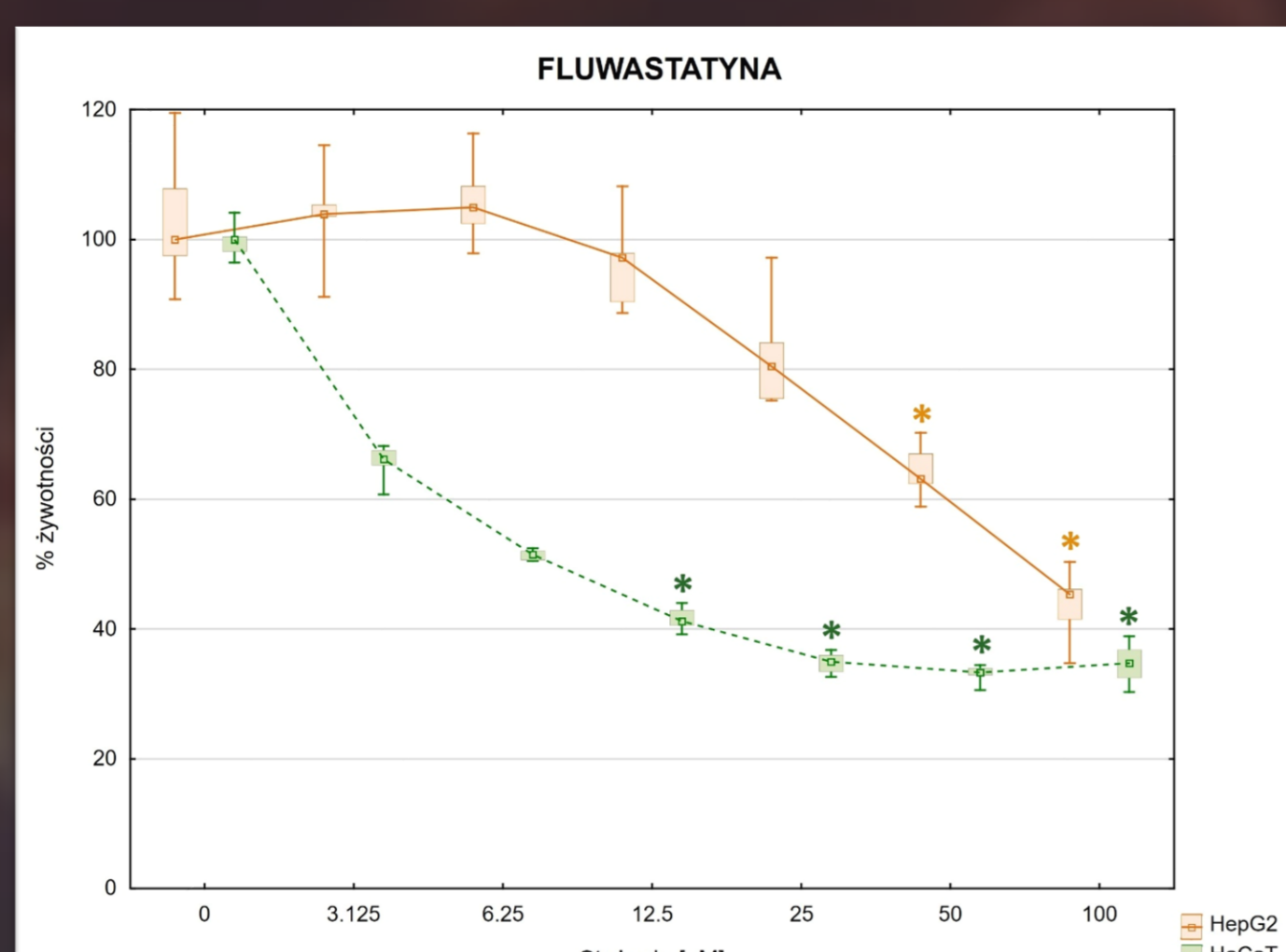
- jeden z najstarszych leków kardiologicznych
- należy do glikozydów nasercowych
- powoduje zwiększenie siły skurczu mięśnia sercowego oraz spadek częstości akcji serca
- badania wykazały, że digoksyna hamuje czynnik indukowany hipoksją 1 (HIF-1), który przyczynia się do nadmiernej proliferacji oraz angiogenezy komórek nowotworowych
- w wielu typach nowotworów zaobserwowano nadekspresję czynnika HIF-1 i związaną z tym oporność na radio- i chemioterapię



Działanie digoksyny wobec czynnika HIF-1

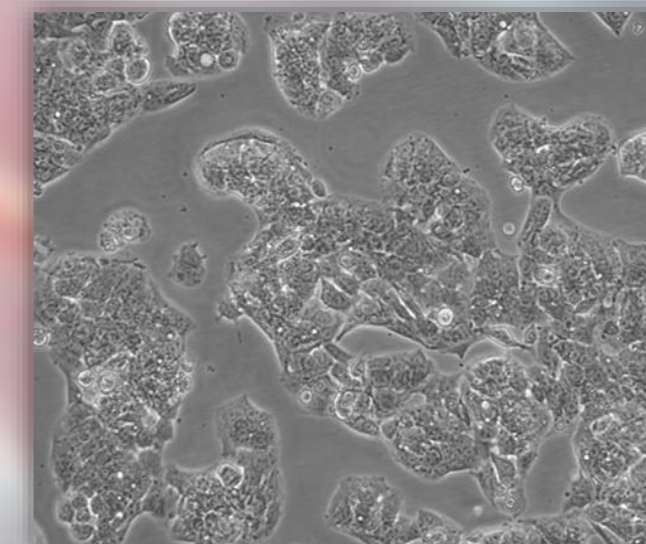


WYNIKI

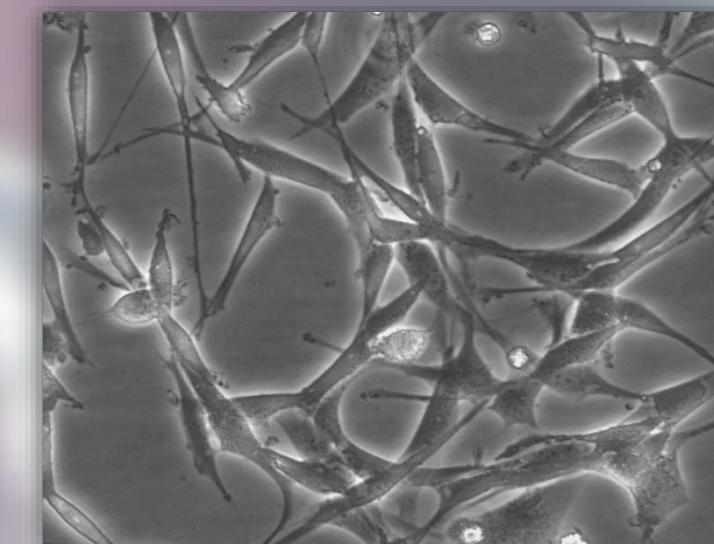


Cytotoksyczność fluwastatyny wobec komórek HepG2 i HaCaT oraz digoksyny wobec komórek U-118 MG i HaCaT po 48h inkubacji, określona za pomocą testu XTT. *p<0,05 test Kruskala-Wallis. Wyniki wzbogacono o zdjęcia mikroskopowe przedstawiające zmiany w morfologii komórek po ekspozycji na leki.

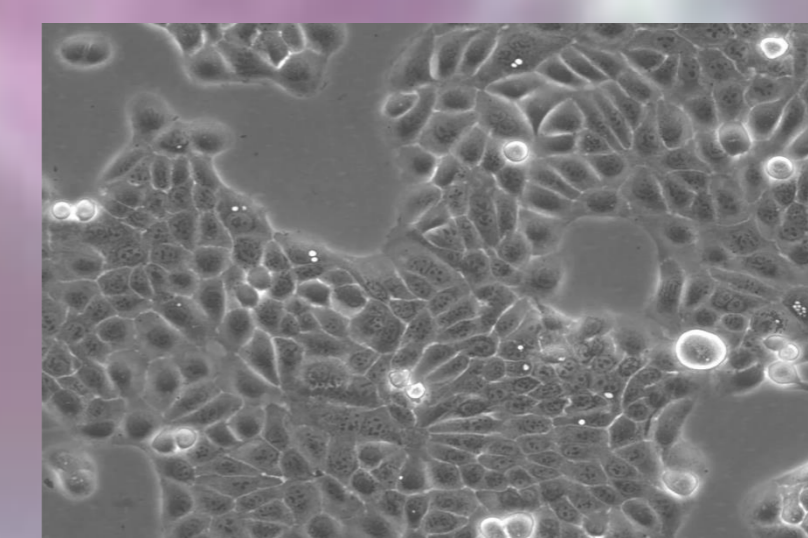
HepG2



U-118 MG



HaCaT



WNIOSKI

- ✓ Fluwastatyna i digoksyna wykazały cytotoksyczność wobec komórek raka wątroby HepG2 i glejaka mózgu U-118 MG, obniżając ich żywotność na drodze zmniejszenia aktywności enzymów mitochondrialnych, tempa proliferacji oraz powodując zmiany morfologiczne.
- ✓ W obu przypadkach bardziej wrażliwe na działanie leków były unieśmiertelnione keratynocyty, stanowiące model komórek prawidłowych.
- ✓ W celu rozwiązania problemu toksyczności wobec prawidłowych komórek organizmu oraz zwiększenia skuteczności terapii należy opracować systemy dostarczania leków bezpośrednio do nowotworu, np. dendrymery, nanocząstki metaliczne czy nanorurki węglowe.
- ✓ Leki repozycjonowane, takie jak fluwastatyna i digoksyna, mogą stanowić obiecującą strategię leczenia nowotworów.



Cel i zakres pracy:

Opracowanie nowej metody syntezy, charakterystyki właściwości ciekłokrystalicznej mezogenicznej żywicy epoksydowej oraz wykonanie próby reaktywności zsyntetyzowanej żywicy w reakcji utwardzania z wybranym czynnikiem sieciującym.

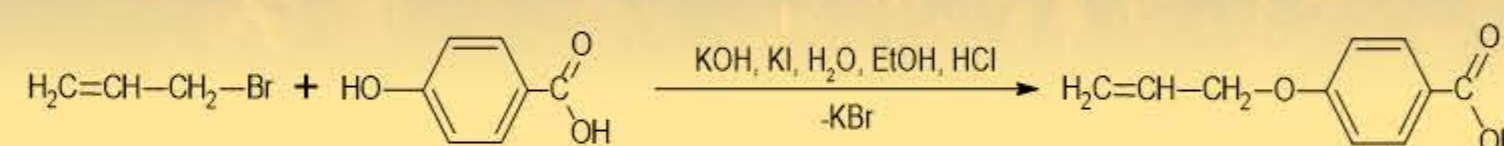
Wprowadzenie

Z powodu swoich unikalnych właściwości, żywice epoksydowe są powszechnie stosowane w energii odnawialnej i lotnictwie. Stosowane są jako kompozyty wzmacniane włóknami do produkcji turbin wiatrowych i konstrukcji części samolotów. Są one również wykorzystywane w tradycyjnych zastosowaniach, tj. farby, powłoki oraz do produkcji części elektronicznych; zwłaszcza w wyświetlaczach LCD. Zdolności do tworzenia trójwymiarowych sieci formowanych w reakcjach z dobrze dobranej utwardzaczami wpływa na ich wytrzymałość. Te usieciowane struktury decydują o właściwościach mechanicznych oraz termicznych utwardzonych LC. Posiadają one również wysoki moduł sprężystości, dobrą przyczepność i odporność chemiczną. Ich wadą natomiast jest kruchość, którą ogranicza się m.in. poprzez wprowadzenie grup mezogenicznych do sieci polimerowych. Sieciowanie ciekłokrystalicznych prekursorów epoksydowych mogą dawać właśnie takie układy. Właściwości ciekłokrystalicznych żywic epoksydowych można również modyfikować poprzez dobór warunków sieciowania i dodatek modyfikatorów.

Dzięki dobrym cechom sieci epoksydowych oraz doskonałym zaletom ciekłych kryształów jest możliwym otrzymanie ciekłokrystalicznych żywic epoksydowych (LCER).

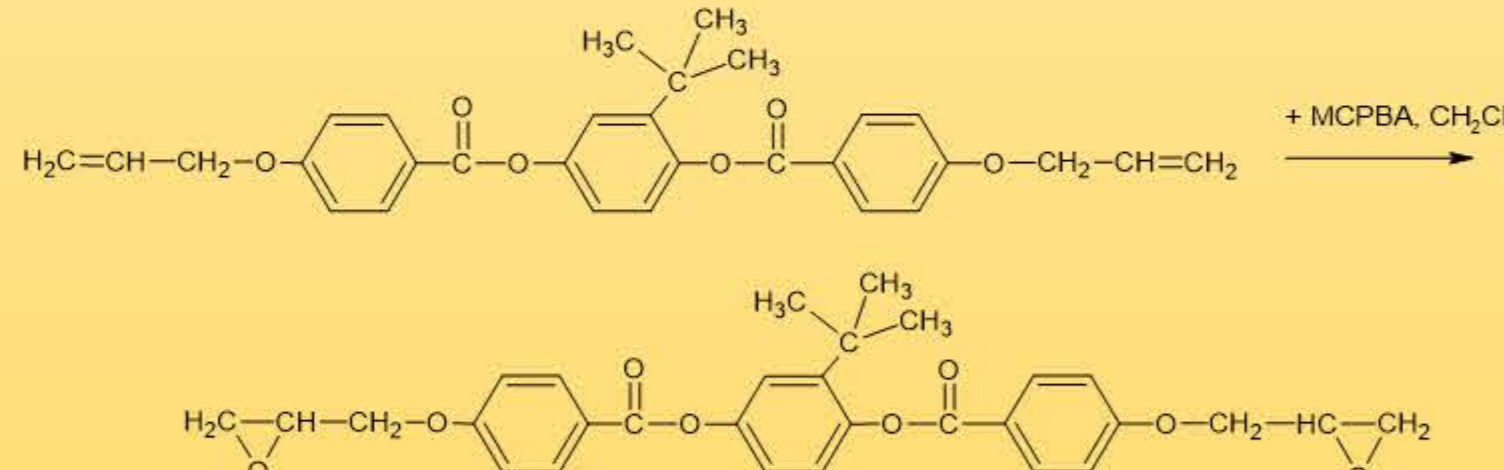
Cząsteczki w fazie ciekłokrystalicznej mogą tworzyć pewien porządek orientacyjny wzdłuż kierunku zwanego директором, natomiast jeśli cząsteczki są chiralne, mogą pojawić się spontaniczne skręcenia orientacji molekularnej. W podstawowej klasyfikacji wyróżniono trzy fazy: nematyczną, smektyczną i cholesteryczną, które charakteryzują się anizotropią. Polimery i żywice ciekłokrystaliczne w swojej strukturze posiadają sztywne struktury mezogeniczne, które są zdolne do samoorganizacji, bądź porządkowania w określonym zakresie temperatur lub pod wpływem innych czynników zewnętrznych. Posiadając takie cechy LCER są wykorzystywane jako np. powłoki inteligentne, czujniki, systemy optyczne.

1 etap: alkilowanie, synteza WD2

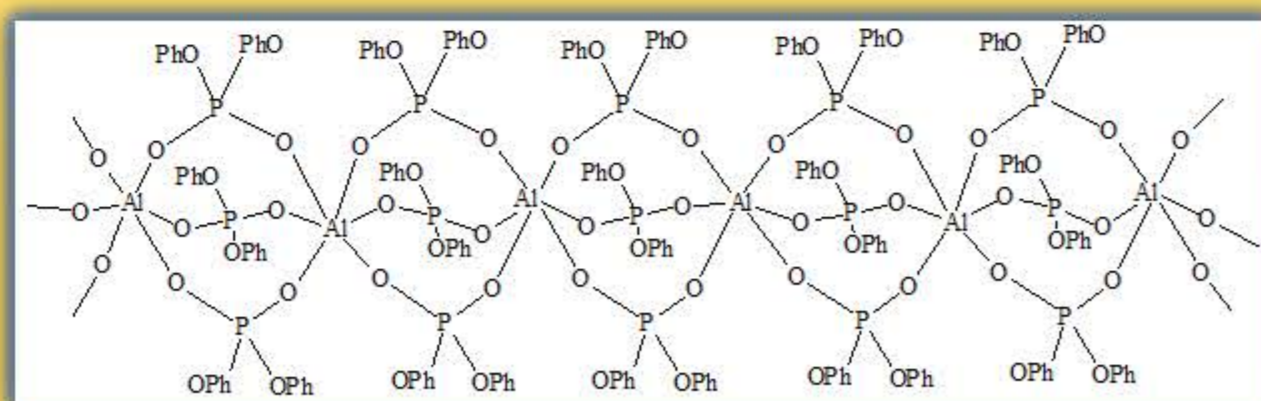


Rys. 1. Reakcja bromku allilu z kwasem *p*-hydroksybenzoowym.

2 etap: estryfikacja, synteza DAE-TBHQ MEZO II



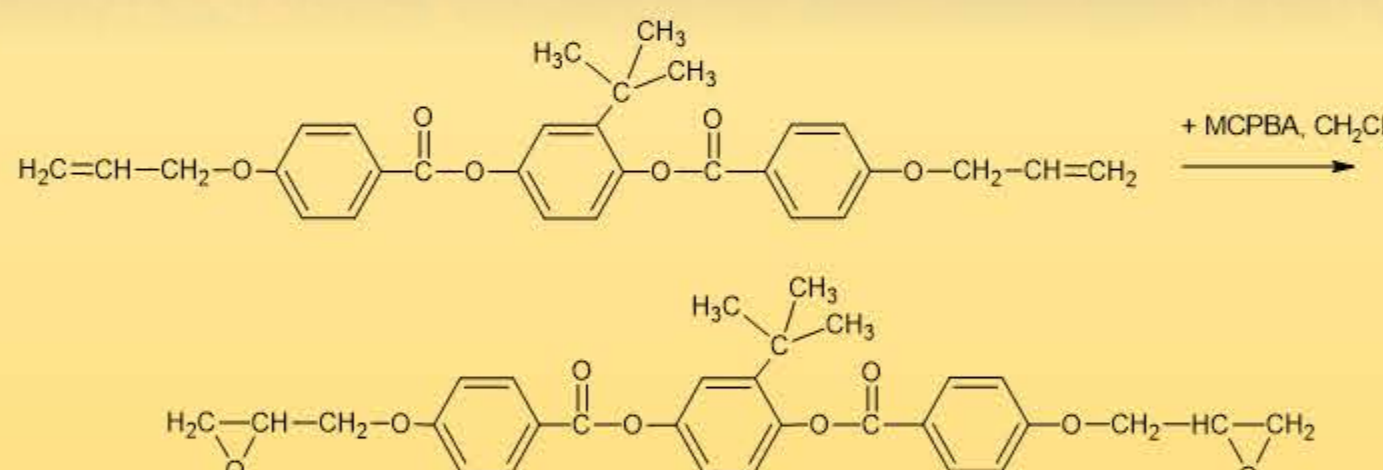
Rys. 2. Reakcja otrzymywania DAE-TBHQ MEZO II - estryfikacja WD2 z hydrochinonem



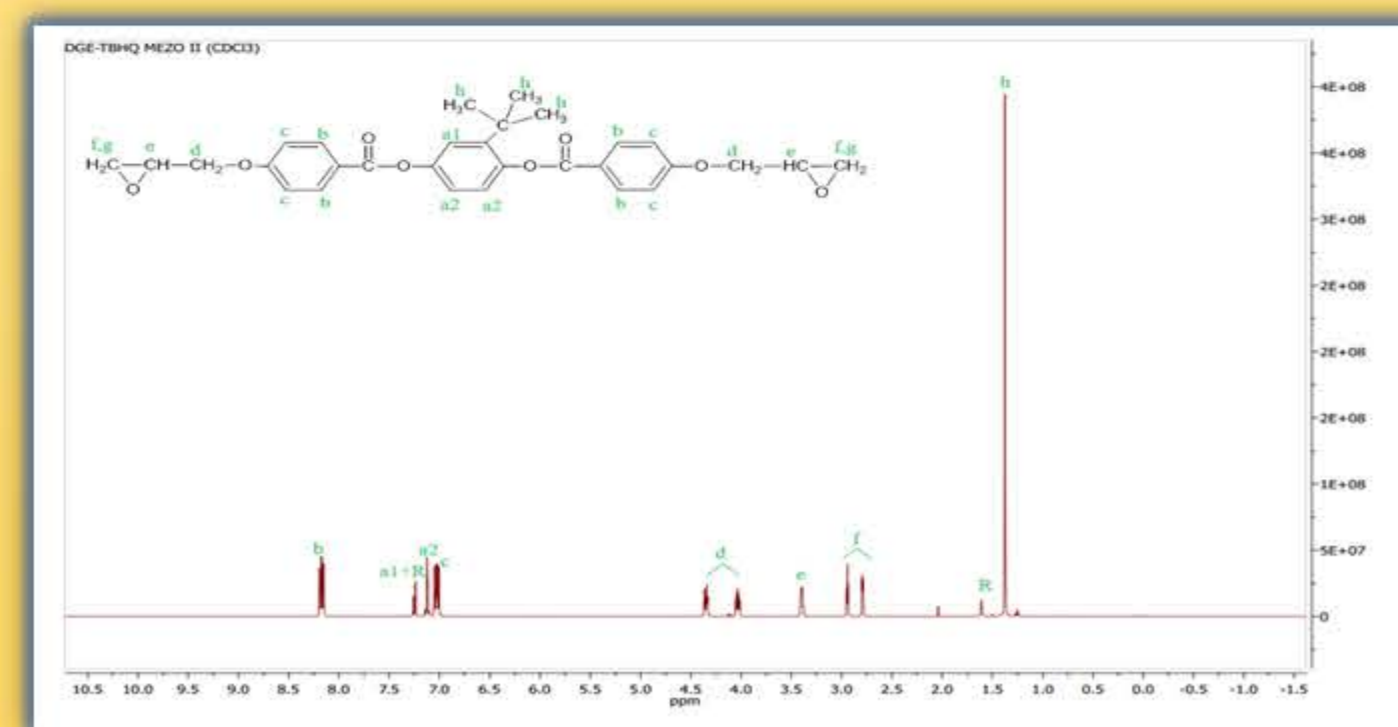
Rys. 4. Wzór strukturalny nanopretów difenylfosforanu glinu (NP).

Wyniki badań

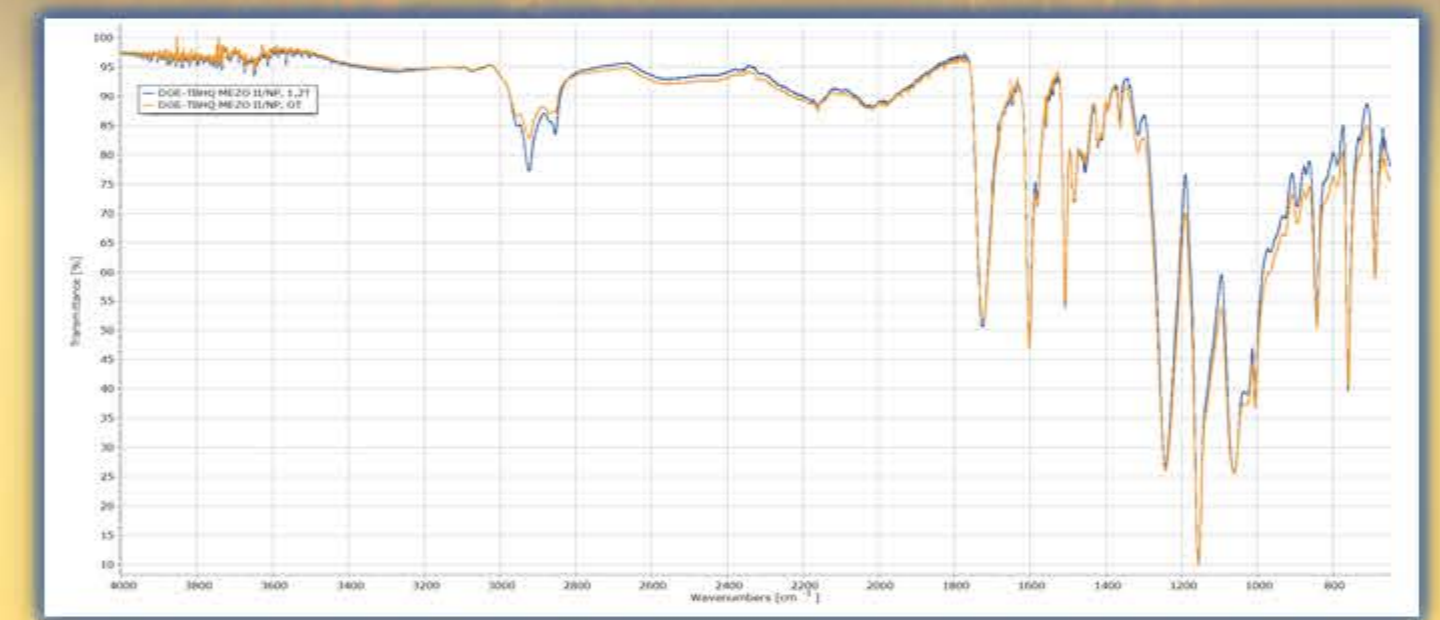
3 etap: utlenianie, synteza DGE-TBHQ MEZO II



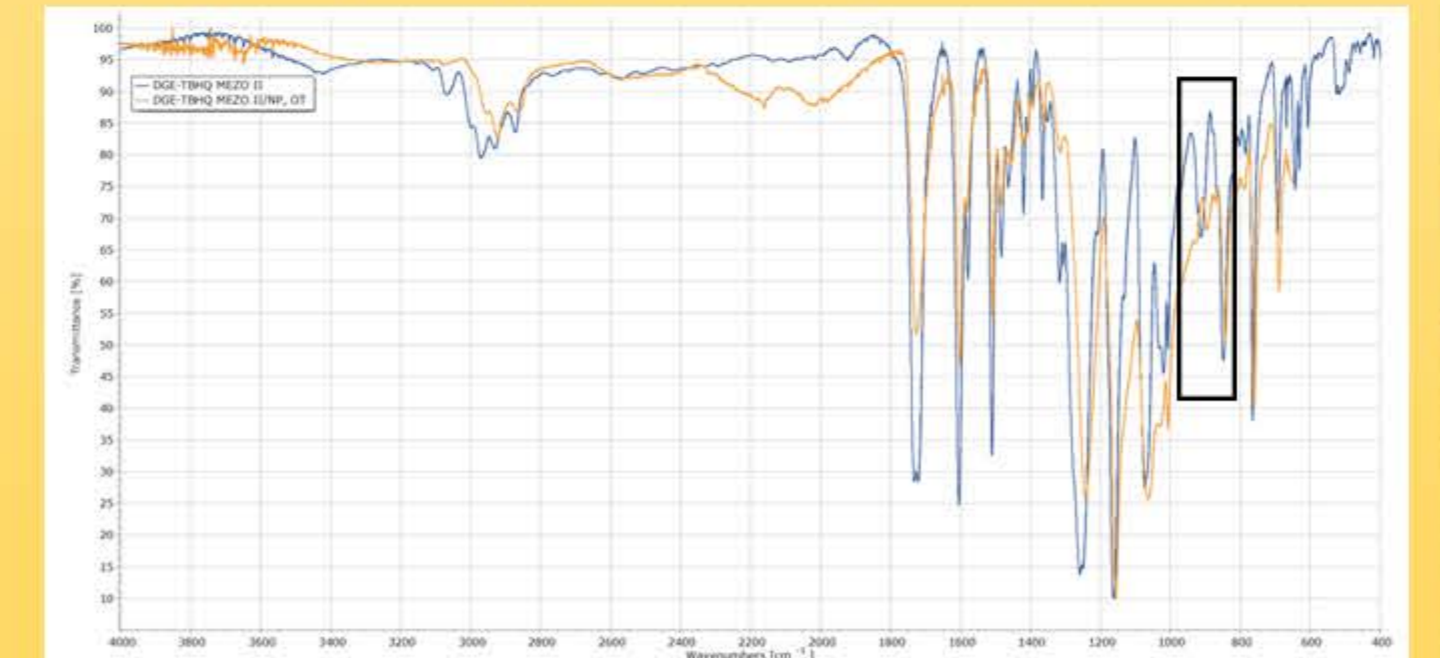
Rys. 3. Schemat syntezy DGE-TBHQ MEZO II



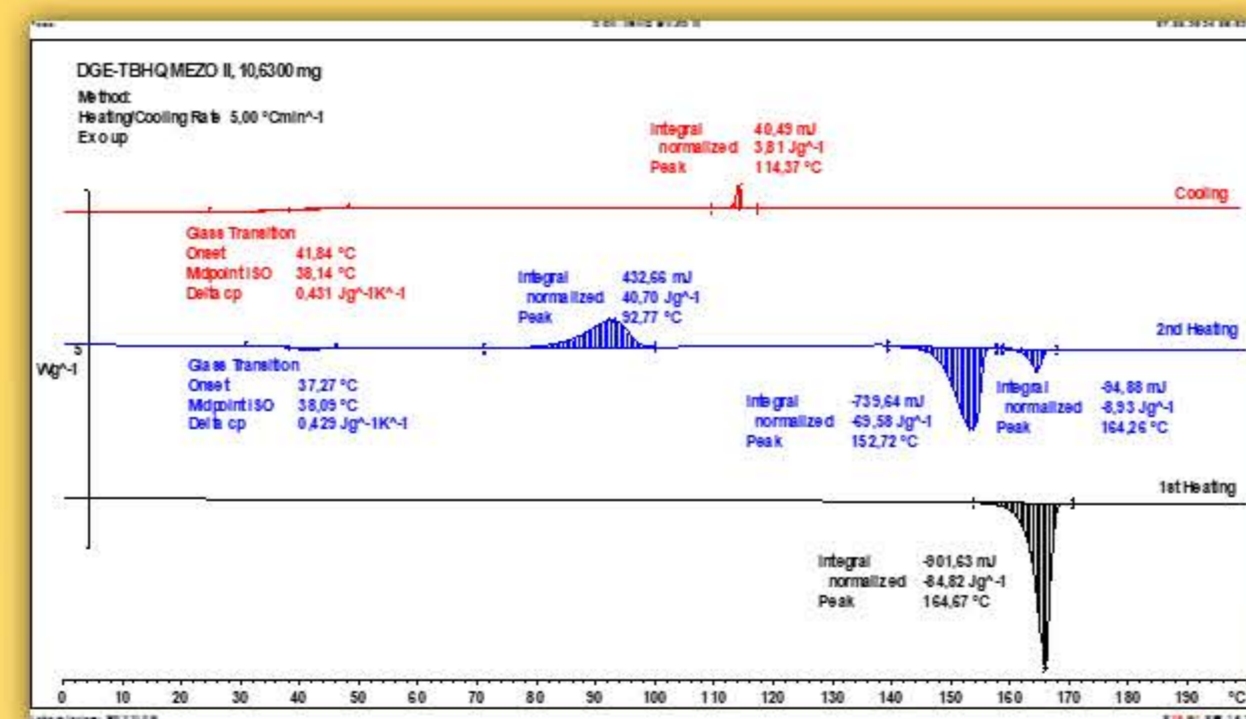
Rys. 5. Widmo ¹H-NMR DGE-TBHQ MEZO II.



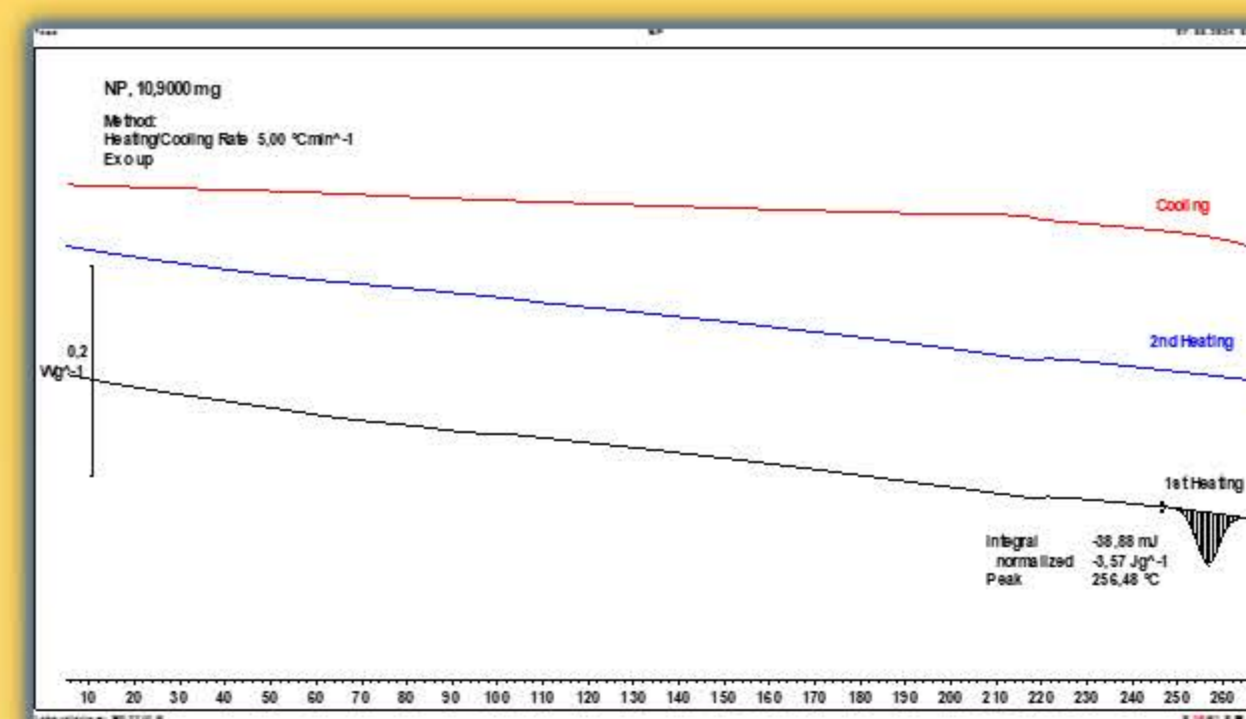
Rys. 6. Widma IR wykonane dla DGE-TBHQ MEZO II/5%NP utwardzone w polu magnetycznym i bez pola magnetycznego.



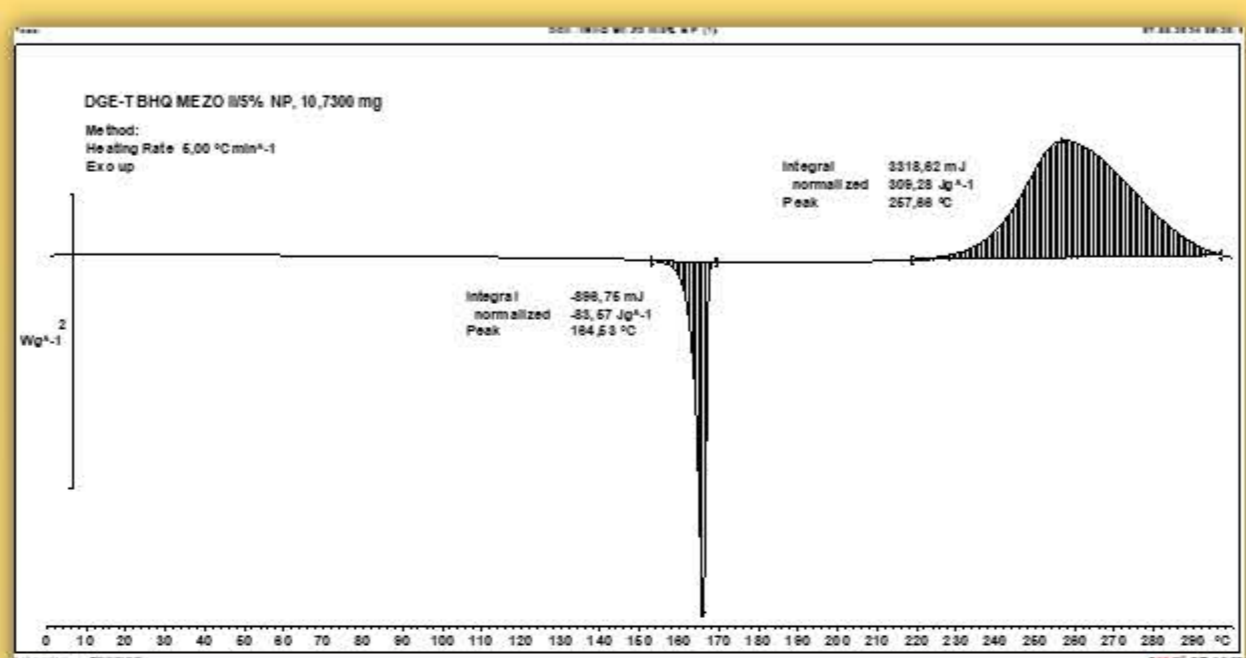
Rys. 7. Widma IR wykonane dla DGE-TBHQ MEZO II przed utwardzeniem oraz DGE-TBHQ MEZO II/5%NP utwardzone bez pola magnetycznego.



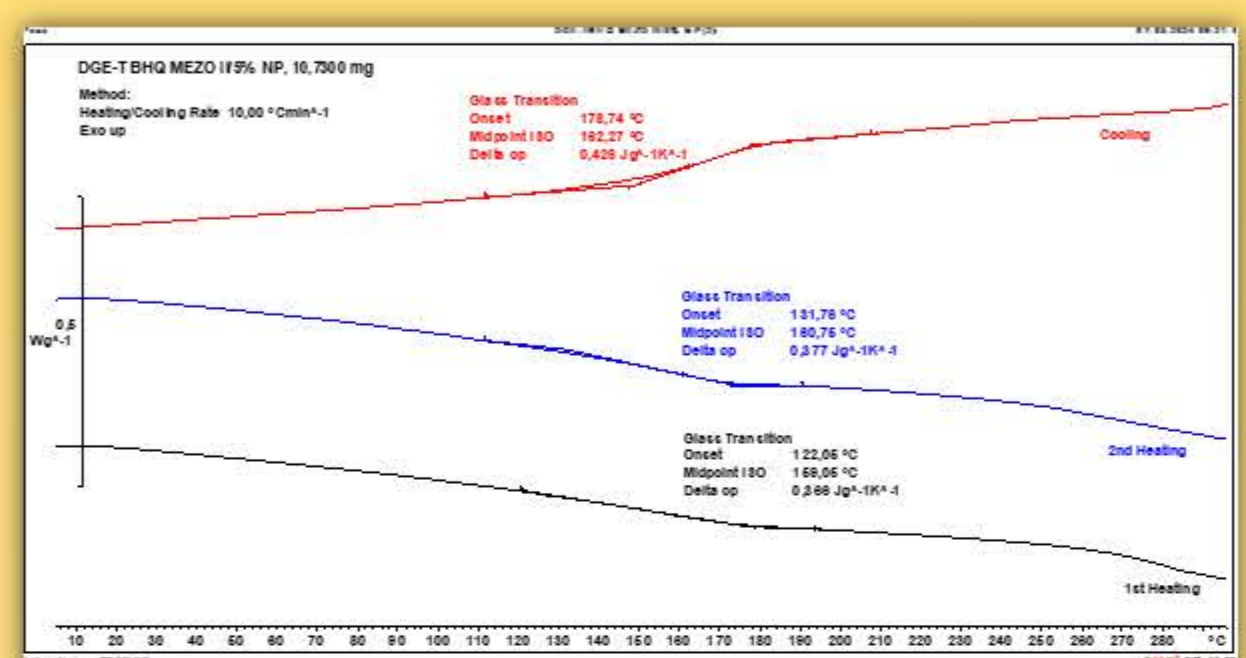
Rys. 8. Krzywe termiczne DSC żywicy DGE-TBHQ MEZO II ogrzewanej do temperatury 200°C - 1 cykl pomiarowy; szybkość zmian temperatury 5 K/min.



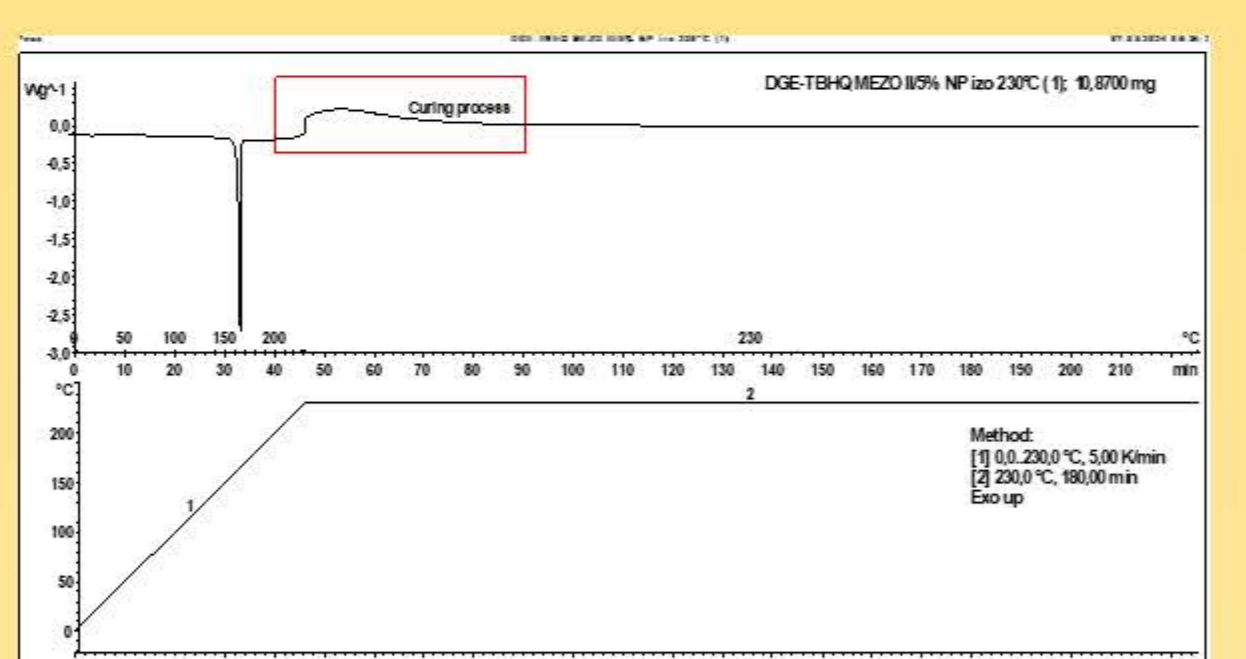
Rys. 9. Krzywe termiczne nanopretów difenylfosforanu glinu NP - 1 cykl pomiarowy; szybkość ogrzewania: 5 K/min.



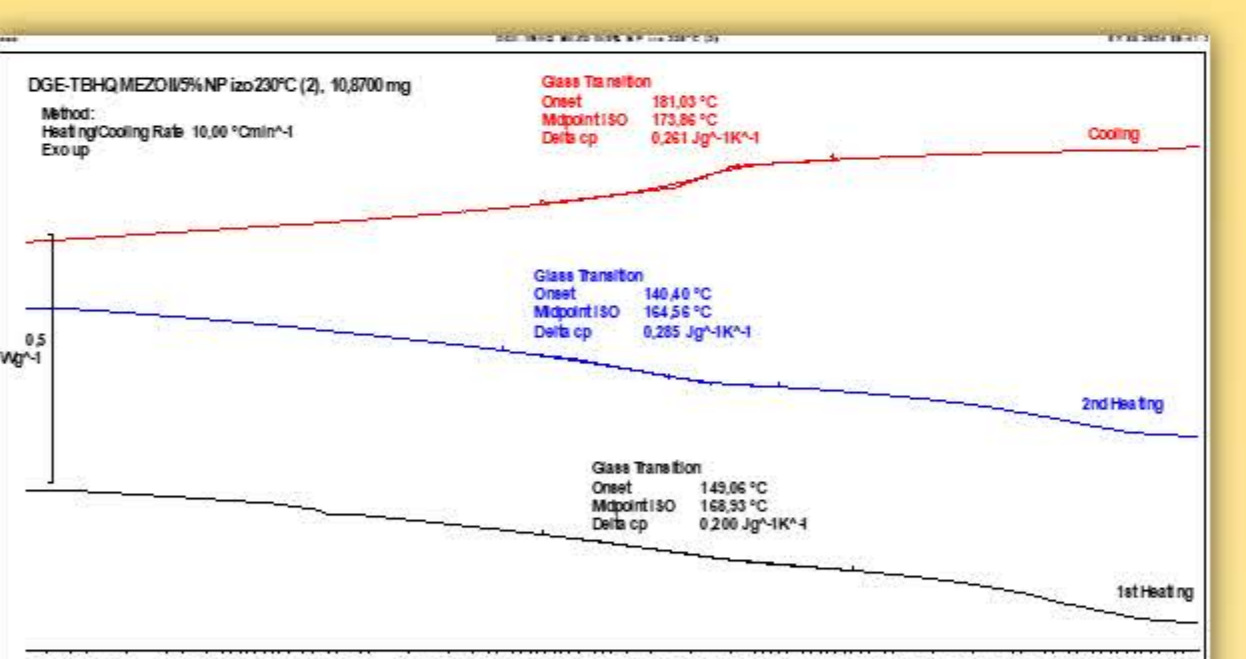
Rys. 10. Krzywa termiczna DSC kompozycji DGE-TBHQ MEZO II/5%NP - 1 cykl pomiarowy; szybkość ogrzewania: 5 K/min.



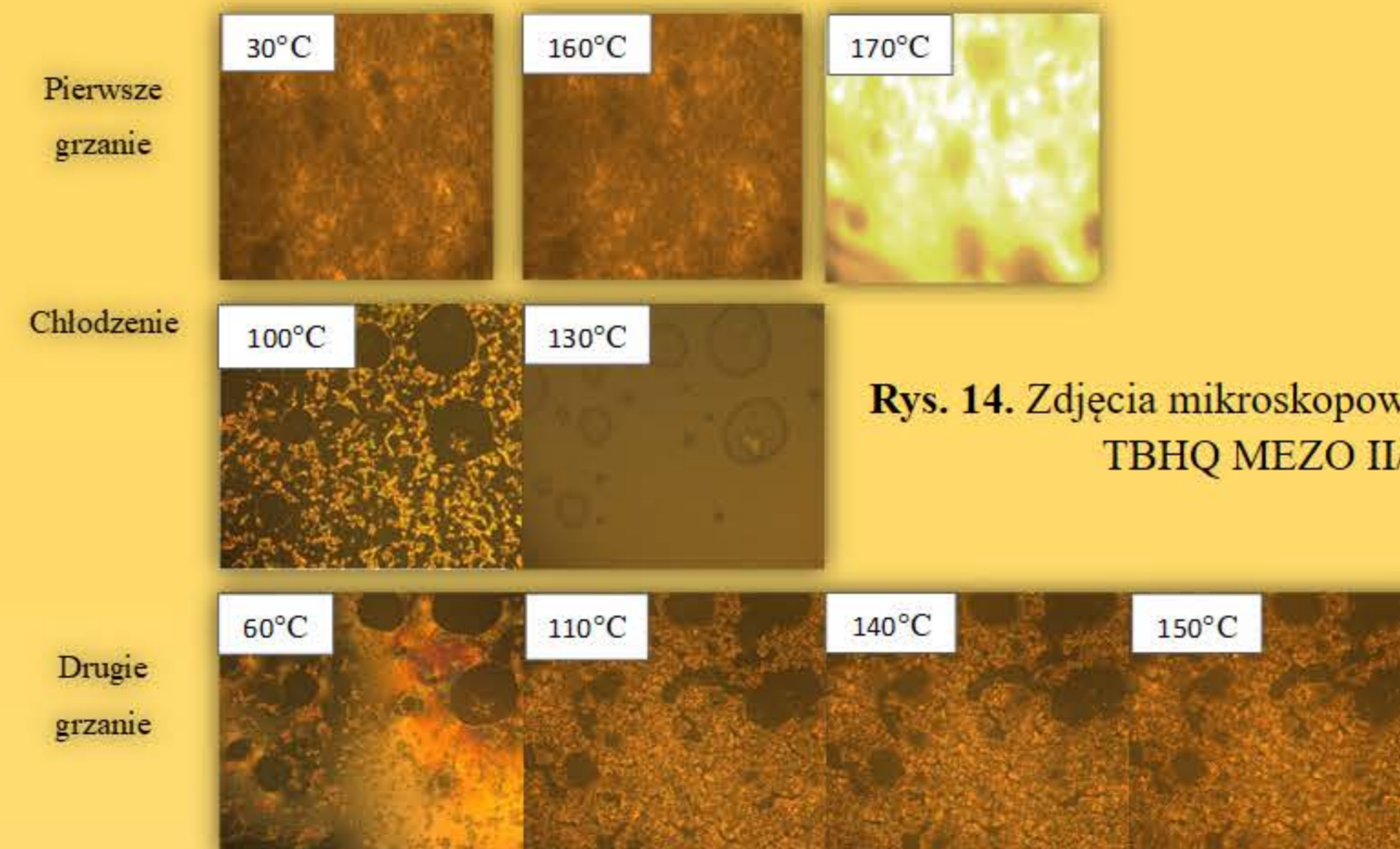
Rys. 11. Termogram DSC kompozycji DGE-TBHQ MEZO II/5%NP ogrzewanej do 300°C w pierwszym cyklu pomiarowym - 2 cykl pomiarowy; szybkość zmian temperatury 10 K/min.



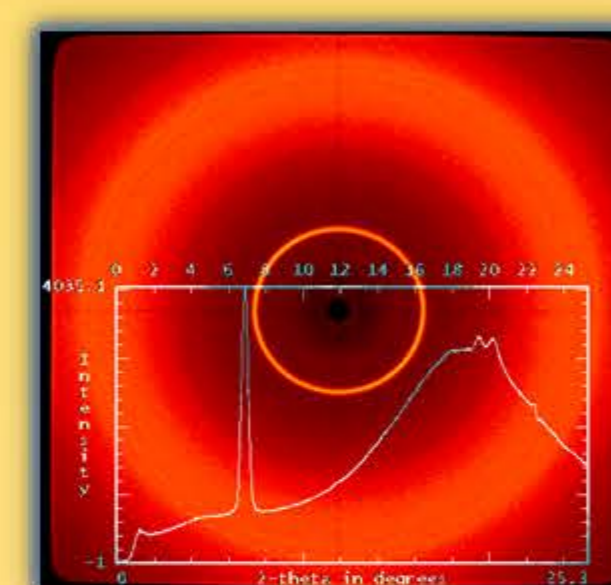
Rys. 12. Krzywa termiczna DSC kompozycji DGE-TBHQ MEZO II/5%NP dla analizy izotermicznej w 230°C prowadzonej przez 180 min.



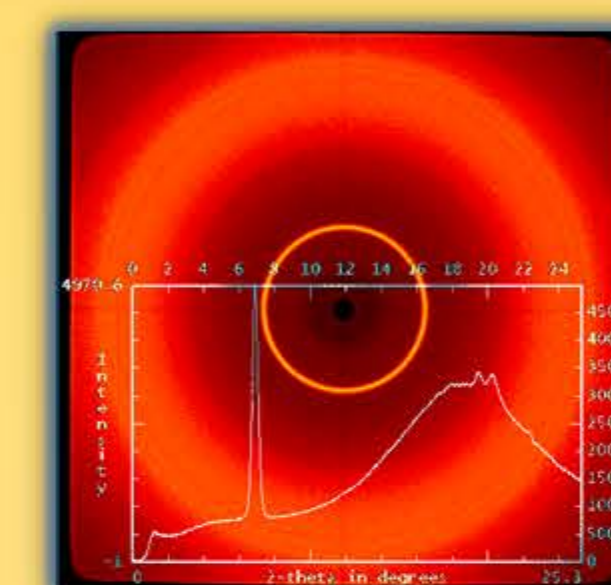
Rys. 13. Krzywe DSC kompozycji DGE-TBHQ MEZO II/5%NP po pomiarze z wygrzewaniem izotermicznym w 230°C przez 180 min (w 1 cyklu) - 2 cykl pomiarowy; szybkość ogrzewania: 10 K/min



Rys. 14. Zdjęcia mikroskopowe kompozycji DGE-TBHQ MEZO II/5%NP.



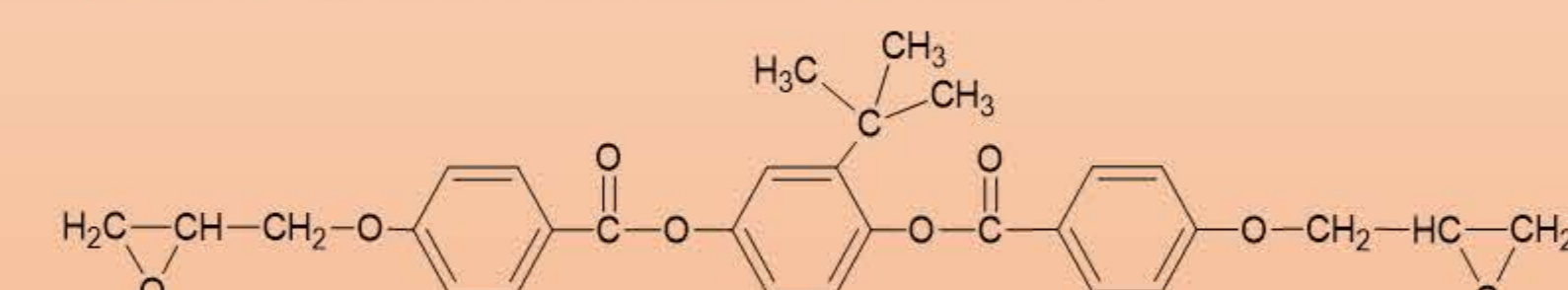
Rys. 15. Rentgenogram WAXS kompozycji DGE-TBHQ MEZO II/5%NP utwardzanej bez użycia pola magnetycznego o indukcji 0 T w temperaturze 230°C.



Rys. 16. Rentgenogram WAXS kompozycji DGE-TBHQ MEZO II/5%NP utwardzanej w polu magnetycznym o indukcji 1,2 T w temperaturze 230°C.

Podsumowanie

- W ramach pracy opracowano metodę syntezy ciekłokrystalicznej żywicy epoksydowej bis[4-(2,3-epoksypropoksy)benzoesan] 2-*tert*-butylo-1,4-fenyleno o strukturze:



- Przebadano właściwości prekursora i określono jego reaktywność z wybranym inicjatorem polimerizacji grup epoksydowych, czyli nanopretami difenylfosforanu glinu NP.

- Widmo ¹H-NMR badanego związku DGE-TBHQ MEZO II potwierdziło jego strukturę

- Podczas badania mikroskopowego prekursora DGE-TBHQ MEZO II obserwowano zachowanie się próbki w czasie ogrzewania do temperatury 170°C, chłodzenia i ponownego ogrzewania. Wyniki obserwacji i temperatury przemian fazowych były zgodne z wynikami analizy DSC.

- Stwierdzono, że dodatek nanopretów difenylfosforanu glinu NP powoduje przebieg reakcji sieciowania DGE-TBHQ MEZO II - towarzyszy temu wysoki efekt egzotermiczny zarejestrowany na krzywych termicznych DSC.

- Wyniki analizy rentgenograficznej WAXS nie wykazały uporządkowania w próbkach po utwardzeniu, charakterystycznego dla zorientowanych układów ciekłokrystalicznych.

inż. Sabina Suwała
Kierunek studiów: Biotechnologia
Opiekun pracy: dr hab. Aleksandra Bocian, prof. PRZ
Katedra Biotechnologii i Bioinformatyki

Wprowadzenie

Celem szeroko prowadzonych badań naukowych jest wykorzystanie dotychczas zgromadzonej wiedzy na temat apoptozy, aby możliwa była modyfikacja czasu życia komórek, w wyniku opracowania leków oraz terapii pozwalających ograniczyć schorzenia związane z nieprawidłową proliferacją komórek. Od 1996 roku prowadzone są badania odnoszące się do zaprogramowanej śmierci komórek w sterzu, czyli dotyczące raka gruczołu krokowego. W raku stercza bardzo ważne jest, aby wprowadzić jak największą ilość komórek nowotworowych w cykl przemian dążących do apoptozy, pomóc w tym mają środki uważane za chemoprewencyjne, czyli mające na celu zahamowanie lub odwrócenie procesu kancerogenezy u osób o wysokim ryzyku rozwoju choroby nowotworowej [1,2].

W niniejszej pracy przedstawiono etapy prowadzenia badań eksperymentalnych, na podstawie których dokonano analizy akumulacji ludzkiego białka p53, które jest związane z apoptozą w odpowiedzi na cisplatinę (CPT). Podczas przeprowadzonych badań wykorzystano technikę Western Blot, która posłużyła do monitorowania poziomu białka p53 w komórkach raka prostaty linii komórkowej DU145 i potwierdzono właściwości cytotoksyczne wykorzystanego związku.

Badany materiał

Komórki raka prostaty linii DU145

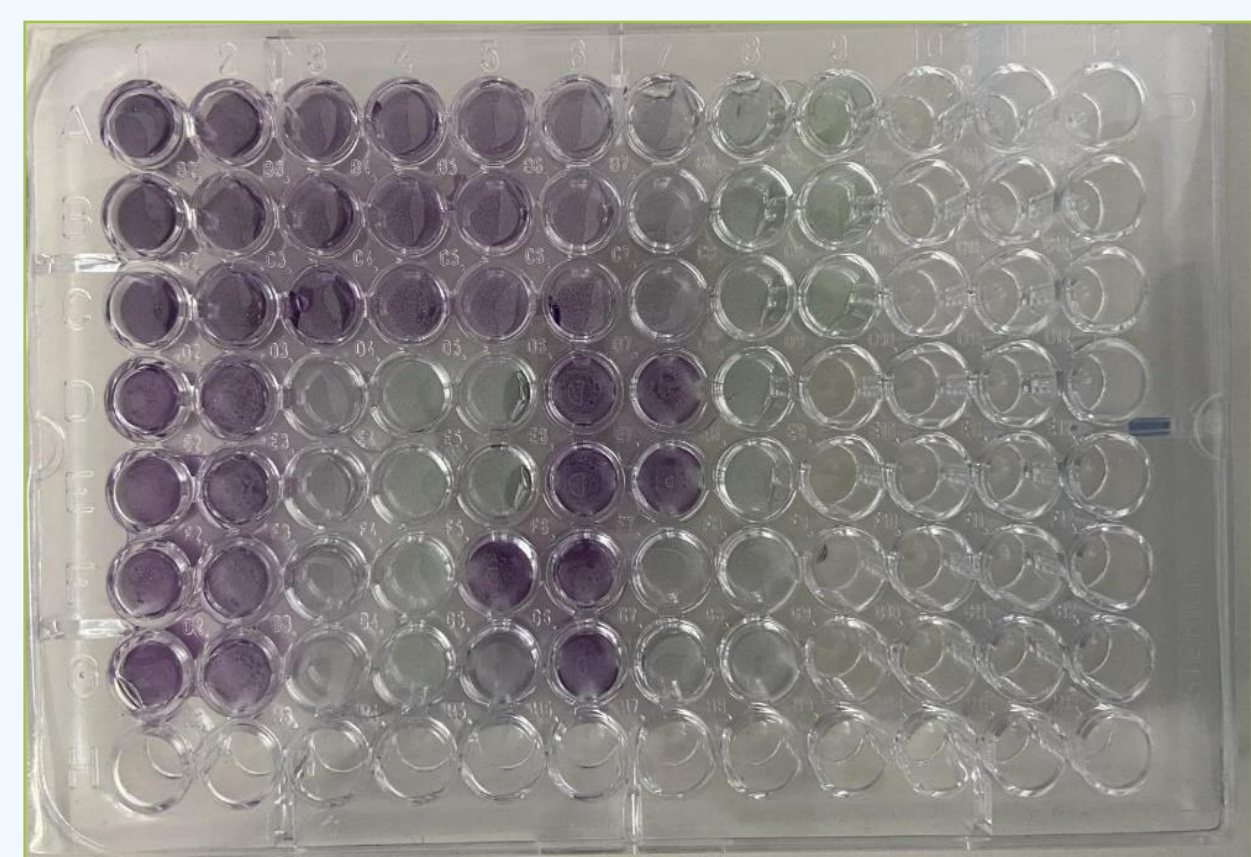


Hodowane w prawidłowych warunkach
(w pożywce (EMEM + 10% FBS))

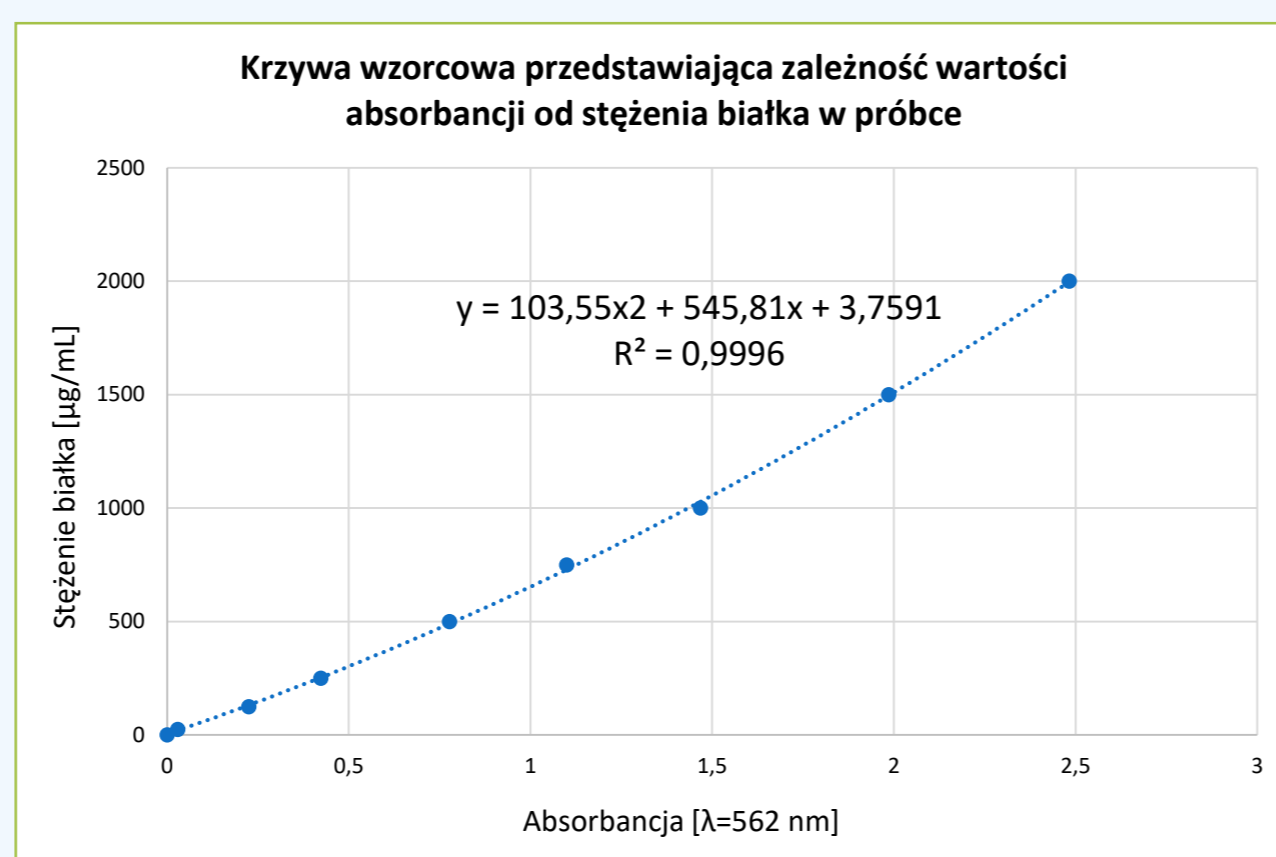
Hodowane w obecności cytotoksycznego związku o nazwie cisplatiną
(roztwór cisplatinowy w pożywce hodowlanej (EMEM + 10% FBS))

Opracowanie wyników

Ocena efektywności lizy komórek – analiza wyników absorbancji



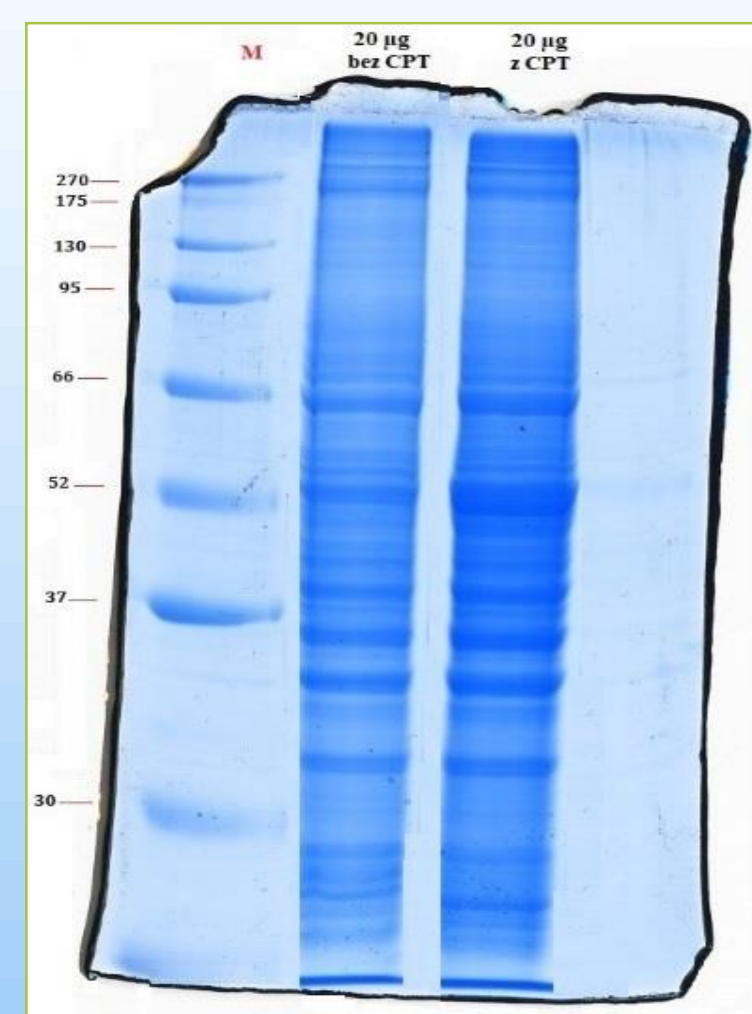
Rys. 1. Płytkę zawierającą barwne roztwory próbek wzorcowych oraz badanych



Rys. 2. Krzywa wzorcowa zależności wartości absorbancji od stężenia białka w roztworze badanym

Przeprowadzono lizę komórek, a także pomiar stężenia białka, etap ten zakończył się powodzeniem o czym świadczyła obecność białka w badanych lizatach komórkowych.

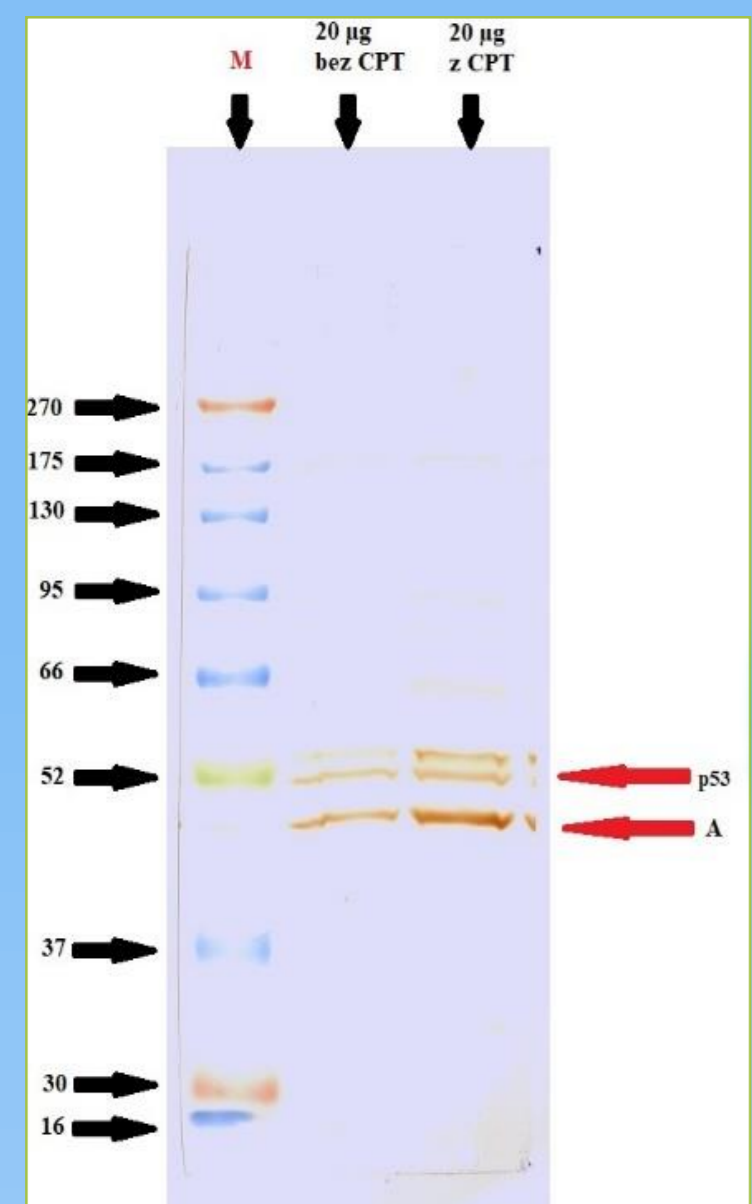
Analiza żelu po elektroforezie SDS-PAGE



Rys. 3. Żel o stężeniu akrylamidu 10%, z nałożonymi badanymi próbkami. M – marker masy w kDa; 20 µg - ilość białka z lizatu, nałożona do kieszonki żelu; *bez/z CPT – bez/z dodatkiem w lizacie cisplatinowy

- Koncepcja procedury rozdzielania metodą elektroforezy SDS-PAGE opierała się na tym, aby rozdzielić białka występujące w badanym lizacie komórkowym pod względem ich masy cząsteczkowej, aby w kolejnych etapach eksperymentu polepszyć detekcję białek o znanej masie, które są związane z apoptozą;
- Na rys. 3. przedstawiono żel o stężeniu akrylamidu 10% z nałożonymi próbkami bez/z dodatkiem w lizacie cisplatinowy;
- W wyniku rozdzielania uzyskano trzy widoczne ścieżki, z których pierwsza pochodzi od markera masy BlueEazy, którego zakres mas cząsteczkowych wynosi od 30 kDa do 270 kDa. Natomiast kolejne pochodzą od próbek badanego lizatu.

Analiza membrany nitrocelulozowej po immunodetekcji



Rys. 4. Membrana nitrocelulozowa, na której prowadzono detekcję białka p53 oraz aktyny. M - marker masy; A - aktyna; bez/z CPT – bez/z dodatkiem CPT w lizacie komórkowym

- Po zakończeniu etapu immunodetekcji otrzymano membranę nitrocelulozową (rys. 4) na której po lewej stronie znajdują się barwne prążki pochodzące od markera masy Blue Easy, natomiast w kolejnych dwóch ścieżkach znajdują się przeniesione z żelu poliakrylamidowego (rys. 3.) białka badanego lizatu;
- Na poniższej membranie, na wysokości odpowiadającej masie cząsteczkowej około 46 kDa można zauważyć prążki, które pochodzą od aktyny (zostały oznaczone „A”), która stanowiła wzorzec wewnętrzny;
- Natomiast na wysokości odpowiadającej masie cząsteczkowej około 52 kDa w obu ścieżkach można zauważyć prążek, który pochodzi od białka p53. W przypadku ścieżki, do której nałożono próbkę lizatu zawierającą CPT, widoczna jest większa intensywność prążka, co może świadczyć o właściwościach cytotoksycznych cisplatin.

Koncepcja badań

- W trakcie cyklu badań eksperymentalnych przeprowadzono procesy umożliwiające immunodetekcję białka p53 z wykorzystaniem techniki Western Blot.
- Eksperyment został zoptymalizowany w taki sposób aby możliwa była identyfikacja białek obecnych w próbkach, co było niezwykle istotne do stwierdzenia obecności białka p53, związanego z procesem apoptozy.

Badania eksperymentalne

Liza komórek linii komórkowej DU145

Pomiar stężenia białka w badanych lizatach

Elektroforeza SDS-PAGE

Elektrotransfer

Immunodetekcja z wykorzystaniem techniki Western Blot

Rys. 5. Schemat przeprowadzonego doświadczenia

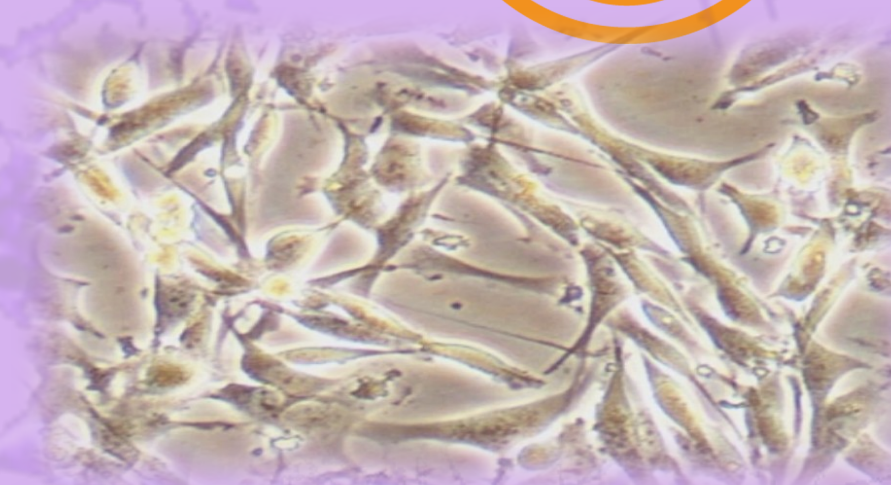
Podsumowanie i wnioski

W oparciu o przeprowadzone badania i uzyskane wyniki wysunięto następujące wnioski:

- Użycie buforu do lizy RIPA umożliwiło zlizowanie komórek nowotworowych linii DU145, co potwierdza obecność białka w badanym roztworze podczas pomiaru stężenia z wykorzystaniem dedykowanego do tego celu zestawu Pierce BCA Protein Assay Kit;
- Optymalnym żelem, podczas elektroforezy SDS-PAGE badanego lizatu komórkowego linii DU145, okazał się ten o stężeniu akrylamidu równym 10%;
- Optymalną ilością białka nakładaną do kieszonki 10% żelu podczas elektroforezy SDS-PAGE, okazała się ilość 20 µg badanego lizatu;
- Dzięki wykorzystaniu białka aktyny podczas etapu immunodetekcji można potwierdzić poprawność przeprowadzonego cyklu eksperymentalnego, świadcząc o tym uzyskany wynik, czyli jeden wyraźny prążek znajdujący się na wysokości odpowiadającej masie cząsteczkowej około 46 kDa;
- Za pomocą techniki Western Blot w analizowanym lizacie linii komórkowej DU145 udało się wykryć białko p53. Prążek pochodzący od lizatu hodowanego w obecności cisplatinowy jest wyraźniejszy aniżeli ten pochodzący od lizatu hodowanego bez obecności tej substancji, co świadczy o właściwościach cytotoksycznych wykorzystanego związku.

Literatura

- [1] Wolski, Z., & Drewa, T. APOPTOZA, CZYLI ZAPROGRAMOWANA ŚMIERĆ KOMÓRKI W NIEKTÓRYCH CHOROBAH GRUCZOŁU KROKOWEGO Artykuł opublikowany w Urologii Polskiej 2000/53/3.
- [2] Obeng, E. (2020). Apoptosis (programmed cell death) and its signals-A review. *Brazilian Journal of Biology*, 81, 1133-1143.

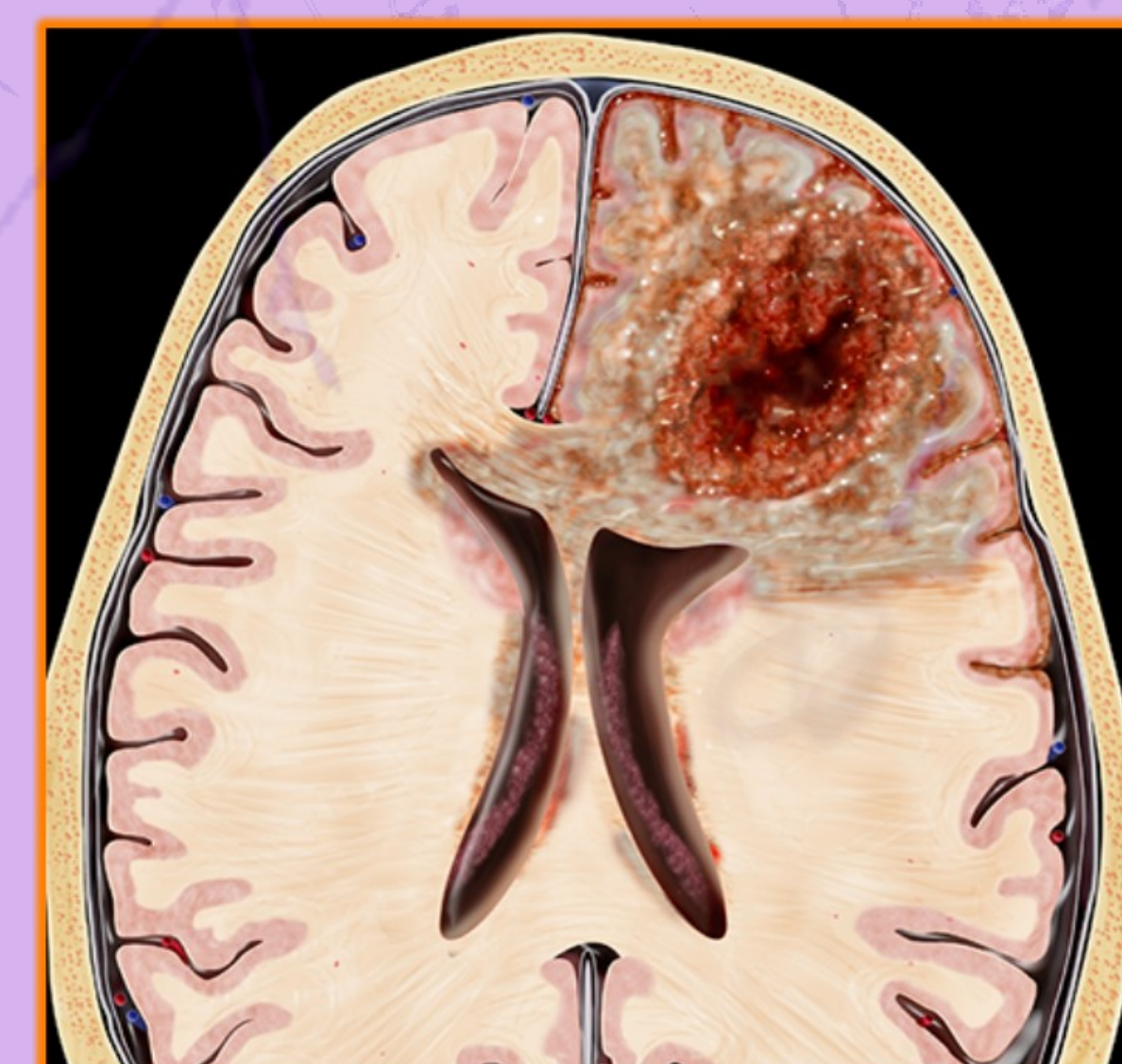


Modyfikacje dendrymerów PAMAM G4 przeznaczonych do terapii glejaka wielopostaciowego



WPROWADZENIE

Glejak wielopostaciowy IV stopnia złośliwości jest nowotworem mózgu zlokalizowanym w półkulach, pniu lub mózdzku. Charakteryzuje się polimorfizmem, anaplazją, anizokariozą, a także naciekającym wzrostem. Jest oporny na większość powszechnie znanych terapii, dlatego niezbędne jest opracowanie innowacyjnych, skutecznych metod leczenia. Jednym z rozważanych obecnie podejść jest terapia celowana z wykorzystaniem dendrymerów PAMAM jako nośników leków przeciwnowotworowych.

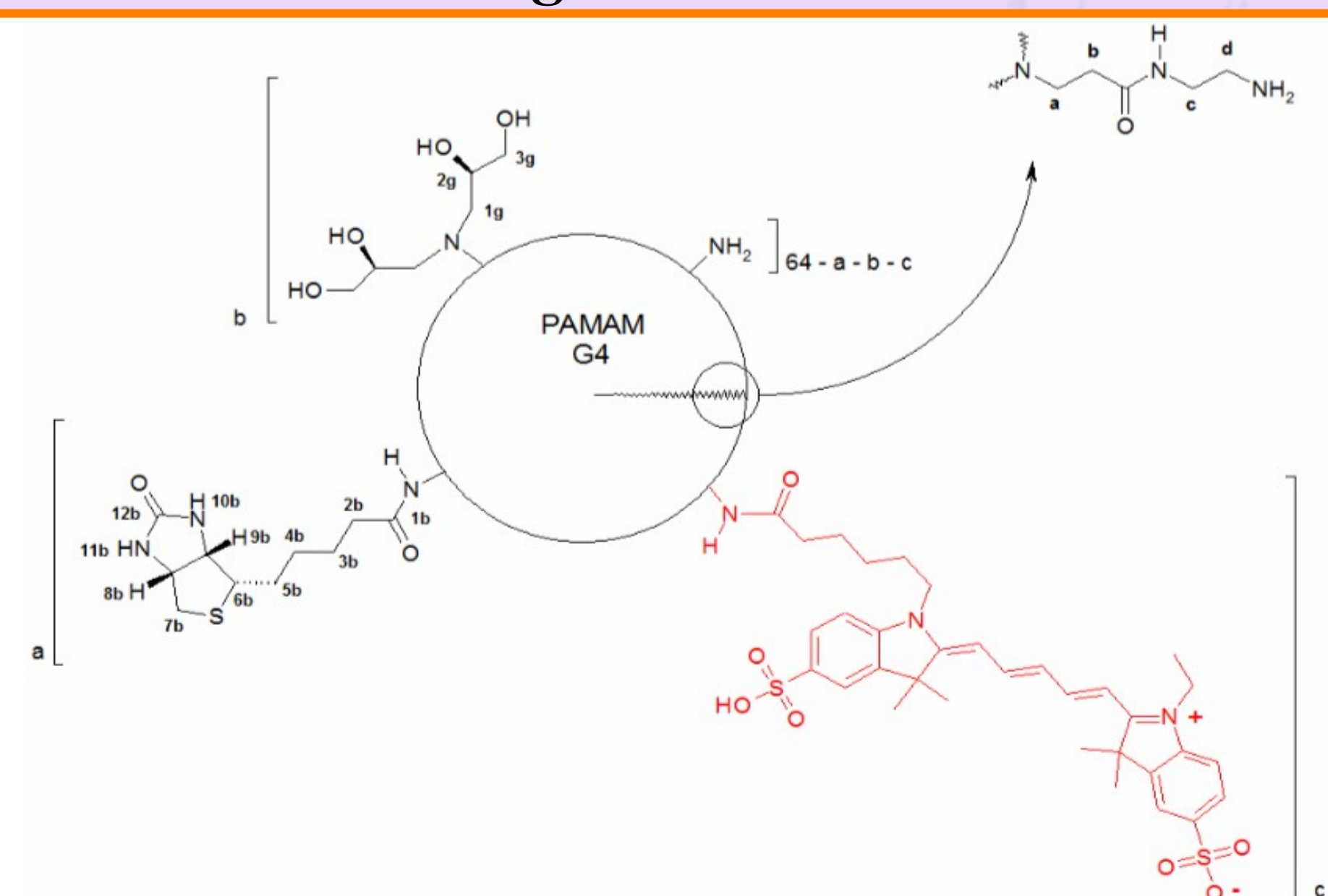


CEL PRACY

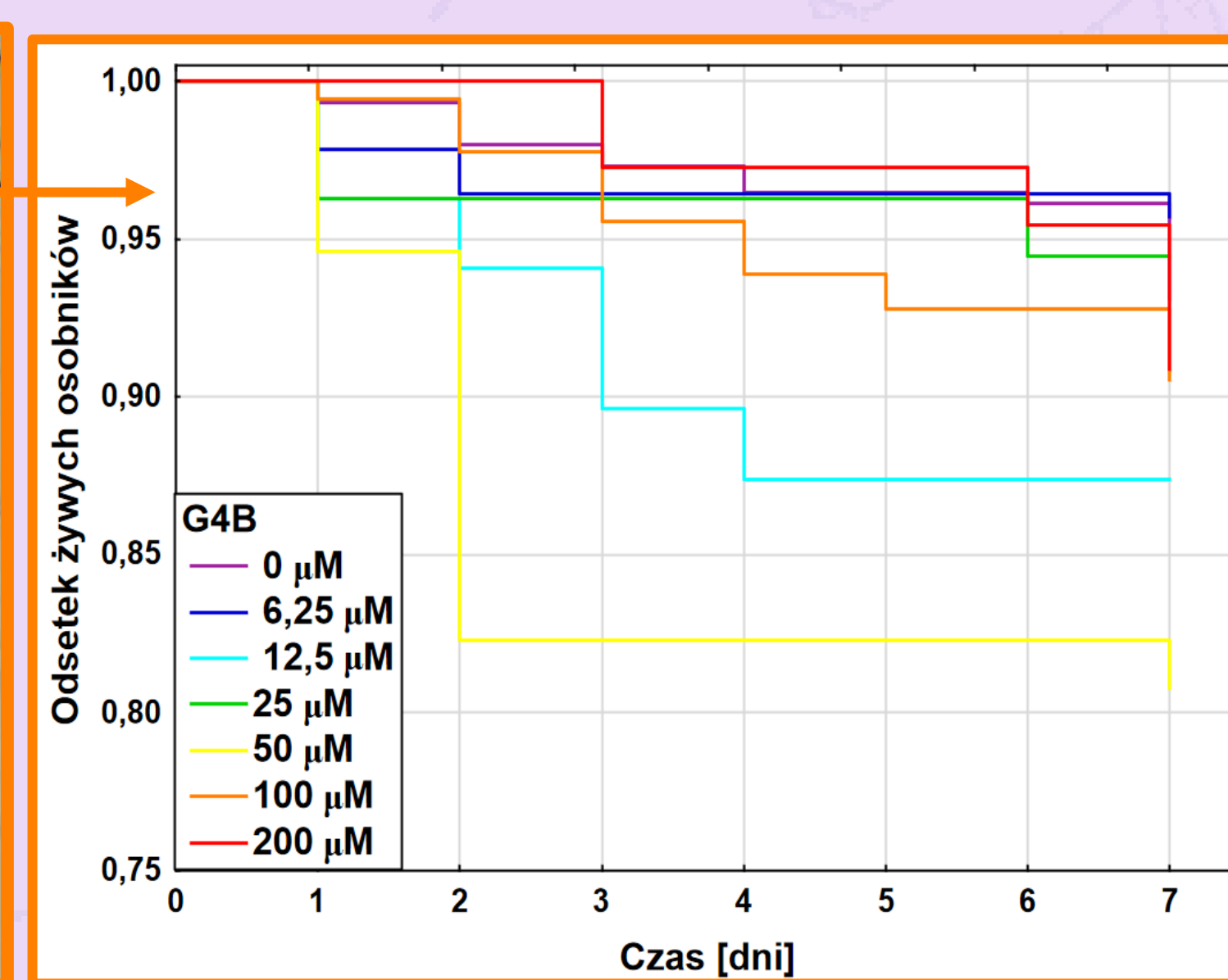
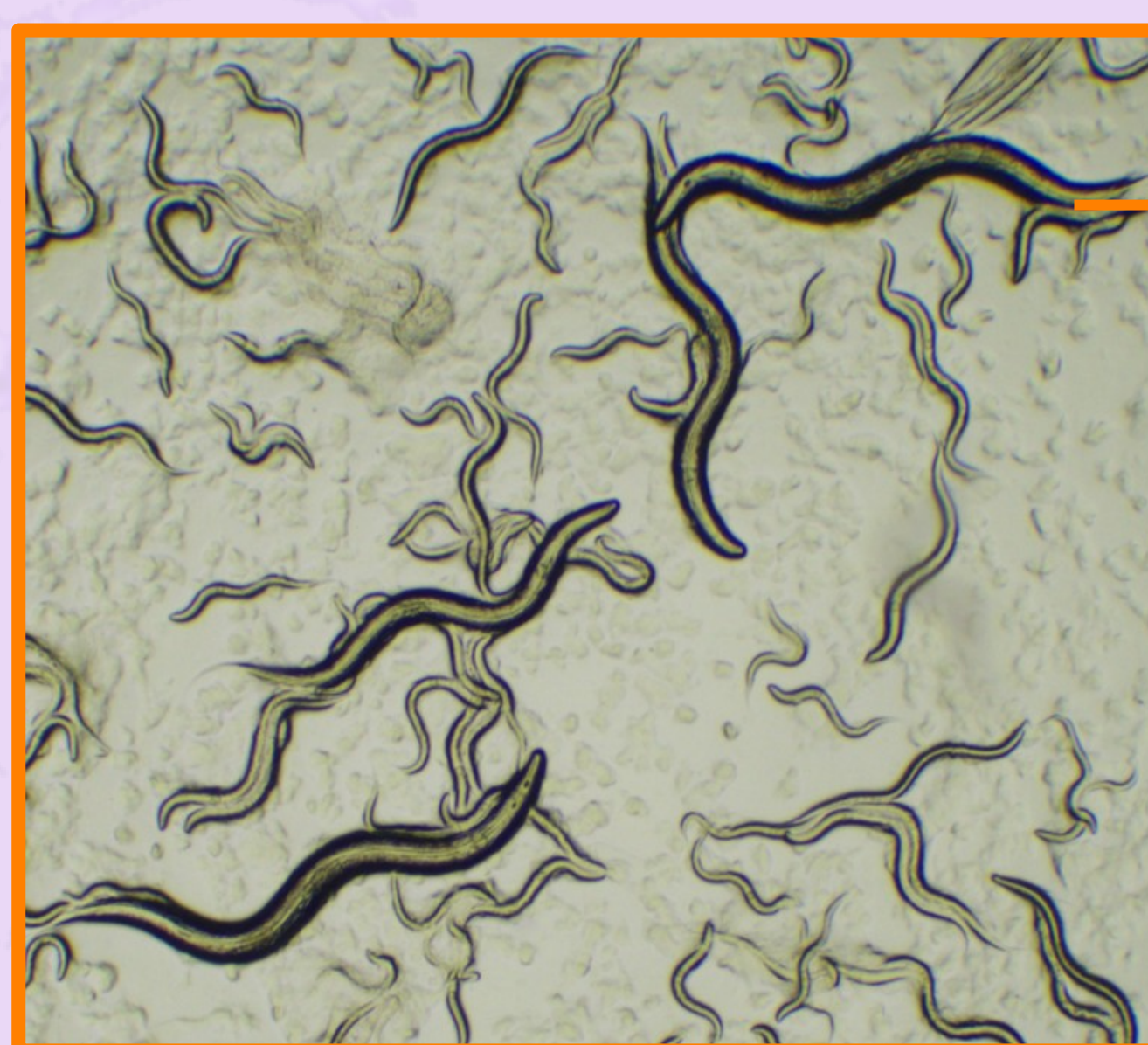
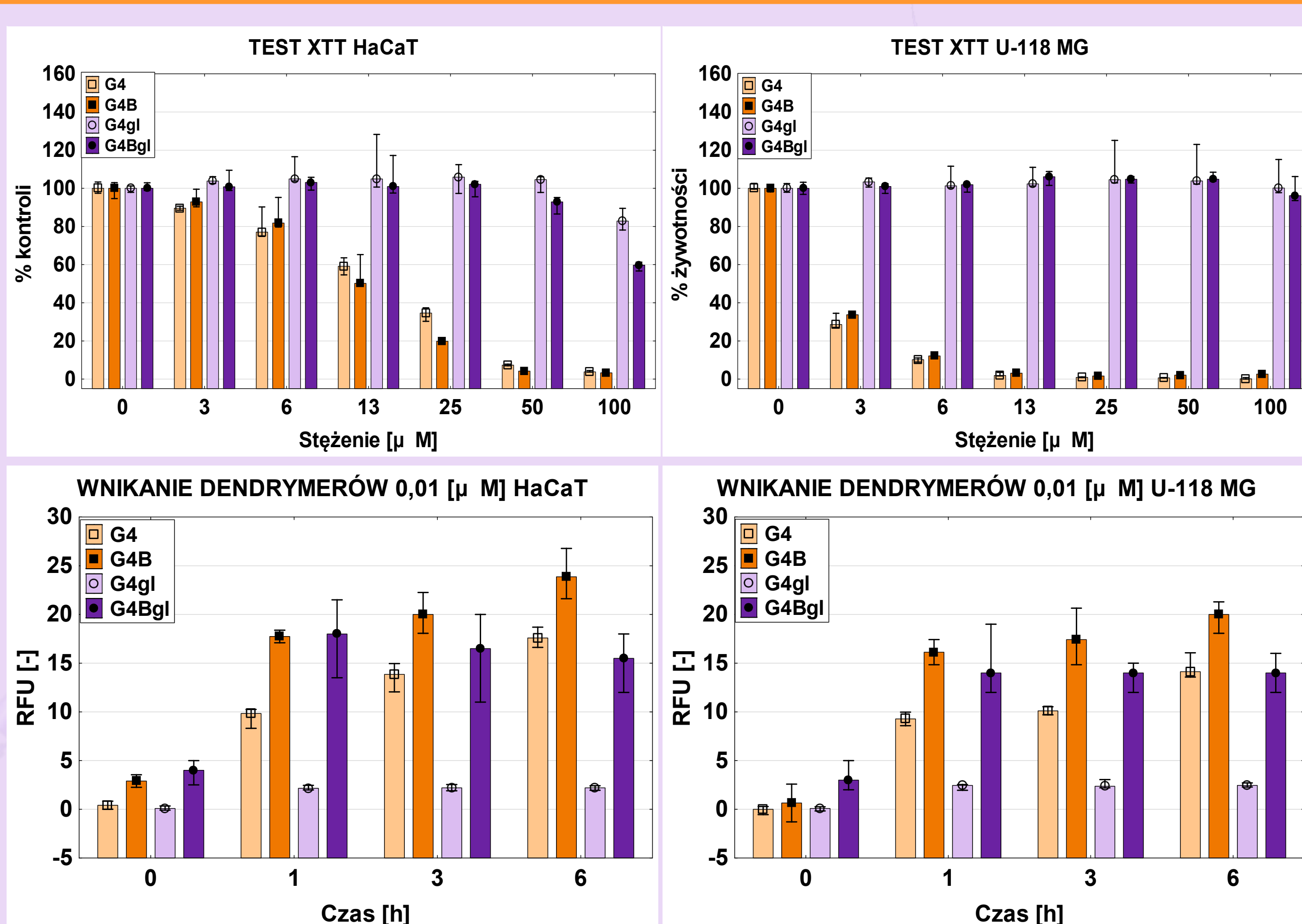
Celem pracy była analiza biotynylogowanych i/lub glicydylogowanych dendrymerów PAMAM generacji czwartej pod kątem ich wykorzystania jako nośników leków w terapii celowanej glejaka wielopostaciowego.

MATERIAŁY I METODY

Praca obejmowała wykonanie testu żywności XTT oraz analizę wnikania biotynylogowanych i/lub glicydylogowanych dendrymerów PAMAM G4 do komórek glejaka U-118 MG i porównawczo do ludzkich keratynocytów HaCaT oraz analizę toksyczności *in vivo* wobec nicienia *Caenorhabditis elegans*.



WYNIKI



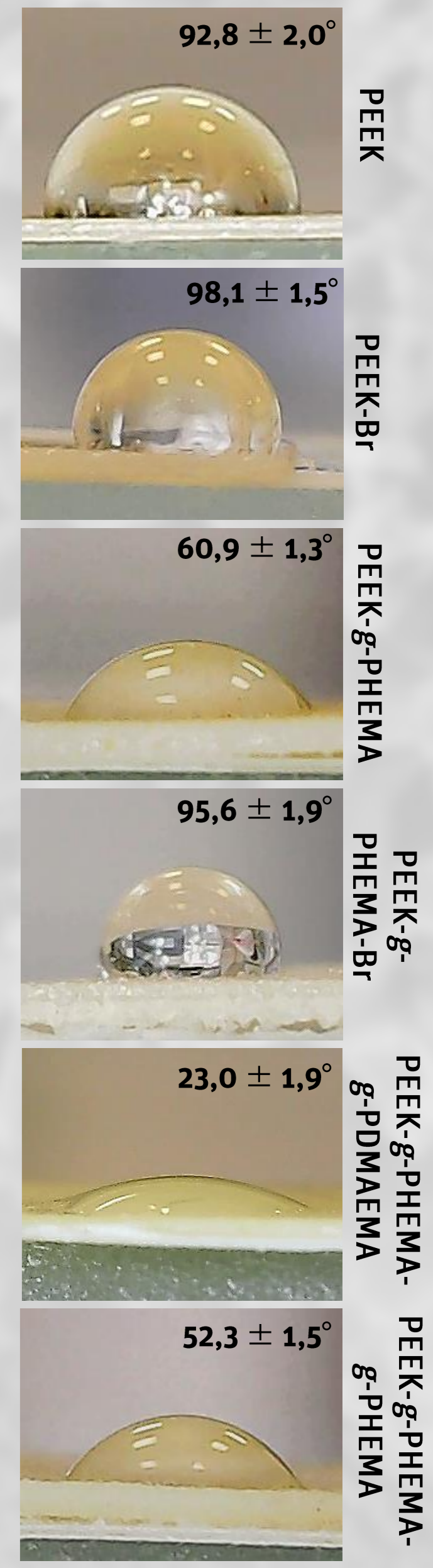
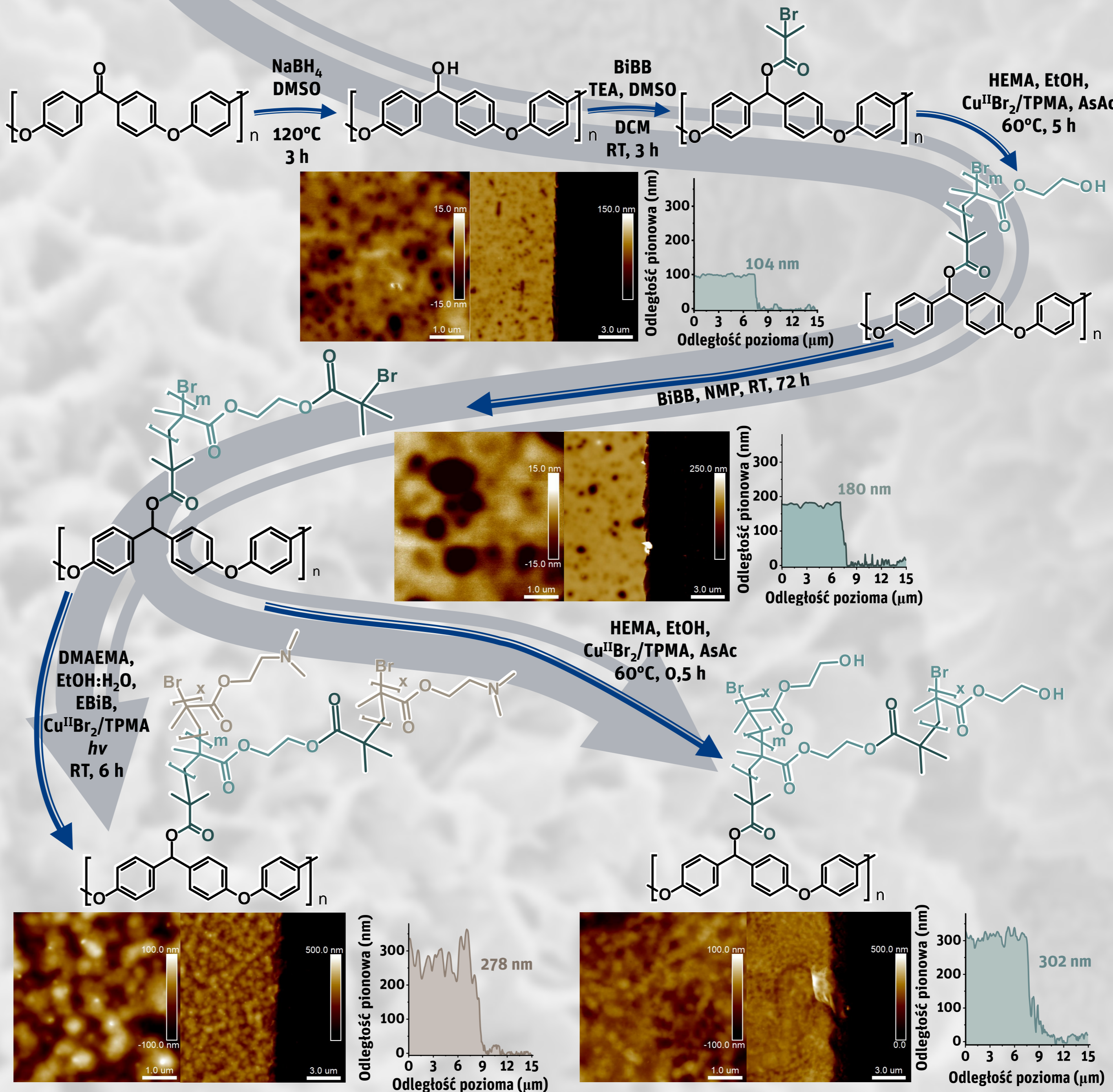
WNIOSKI

- 1) Najwyższą toksyczność *in vitro* wykazały dendrymery niemodyfikowane oraz biotynylogowane wobec komórek glejaka – GLICYDYLACJA ZWIĘKSZAŁA BIODOPATYBILNOŚĆ DENDRYMERÓW
- 2) W największym stopniu do komórek wnikają dendrymery biotynylogowane – BIOTYNYLACJA ZWIĘKSZYŁA WYCHWYT KONSTRUKTÓW PRZEZ KOMÓRKI OBU LINII
- 3) Modyfikowane dendrymery wykazały wysoką biodopatybilność *in vivo* wobec nicienia, powodując zmniejszenie żywności o maksymalnie 20%.
- 4) MODYFIKOWANE DENDRYMERY PAMAM G4 WYKAZUJĄ DUŻY POTENCJAŁ JAKO NOŚNIKI LEKÓW PRZECIWGLEJAKOWYCH.

Opracowanie biozgodnego materiału implantologicznego z wykorzystaniem technik polimeryzacji rodnikowej z przeniesieniem atomu

Inż. Kinga Ślusarczyk
Opiekun: prof. dr hab. inż. Paweł Chmielarz

Modyfikacja PEEK

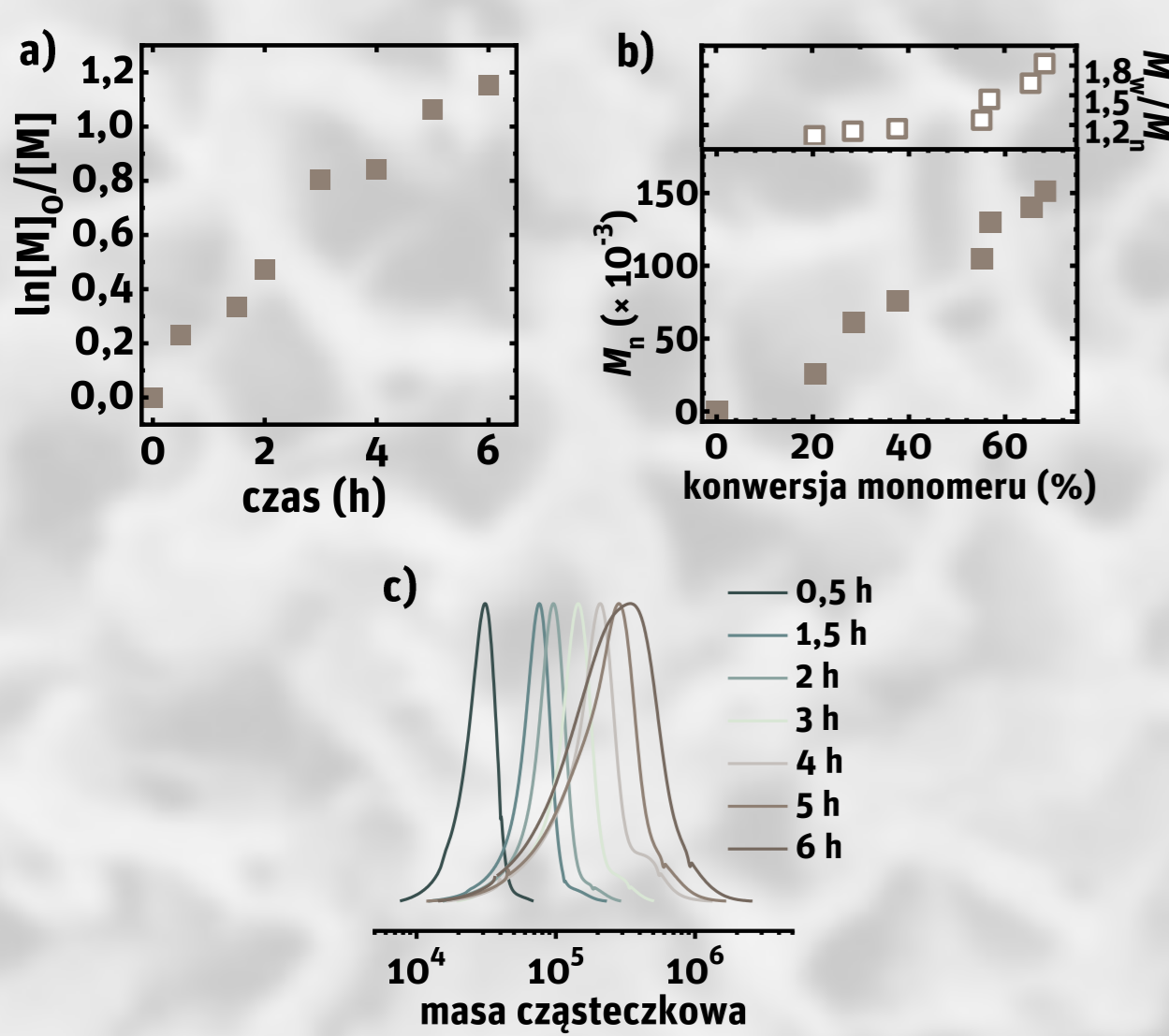


Rysunek 1. Kąty zwilżania wodą (WCA) dla materiałów na poszczególnych etapach modyfikacji. Wartość średnią oraz odchylenie obliczono dla wartości kątów dla 5 kropli.

Wstęp

Polieteroeteroketon (PEEK) jest materiałem o dużym potencjale w implantologii ze względu na swoje właściwości mechaniczne oraz gęstość zbliżoną wartością do gęstości tkanki kostnej, jednak **wysoka hydrofobowość** powierzchni wpływa na niską efektywność procesu osseointegracji oraz brak proliferacji osteoblastów na jego powierzchni, co skutkuje **niedostatecznym połączeniem implantu z otaczającymi tkankami**. Aby zwiększyć hydrofilowość materiału wykorzystywane są fizyczne lub chemiczne techniki modyfikacji powierzchni takie jak działanie plazmą, produkcja kompozytów czy pokrywanie warstwami polimerowymi.

Badanie kinetyki w roztworze

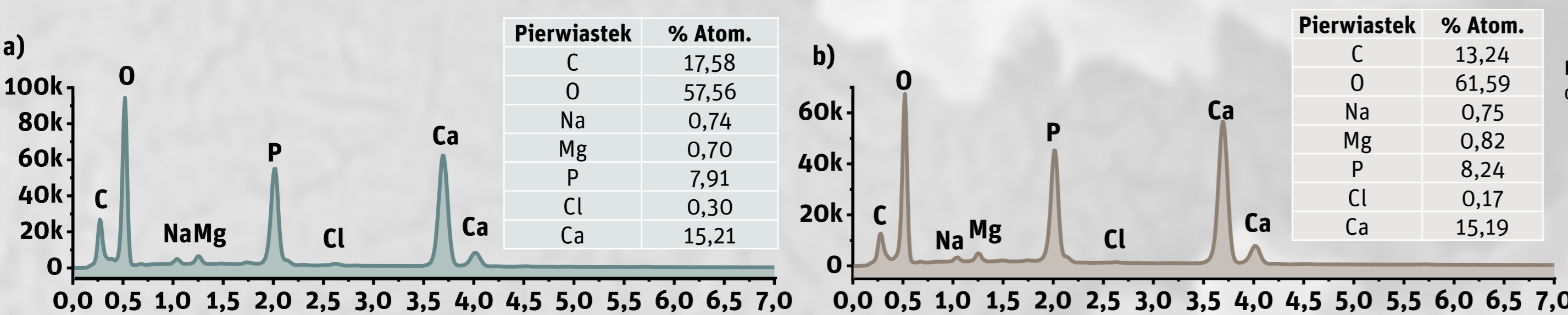


Wykres 1. (a) Półlogarytmiczny wykres zależności zmian konwersji DMAEMA w czasie podczas polimeryzacji techniką fotoATRP, (b) Zależność średnich mas cząsteczkowych oraz rozkładów mas cząsteczkowych M_w/M_n od konwersji monomeru dla syntez PDMAEMA (c) Chromatogramy GPC PDMAEMA syntezowanych w roztworze techniką podwójnie kontrolowanej fotoATRP. Analizy przeprowadzono stosując DMF z 50 mM LiCl w roli eluentu.

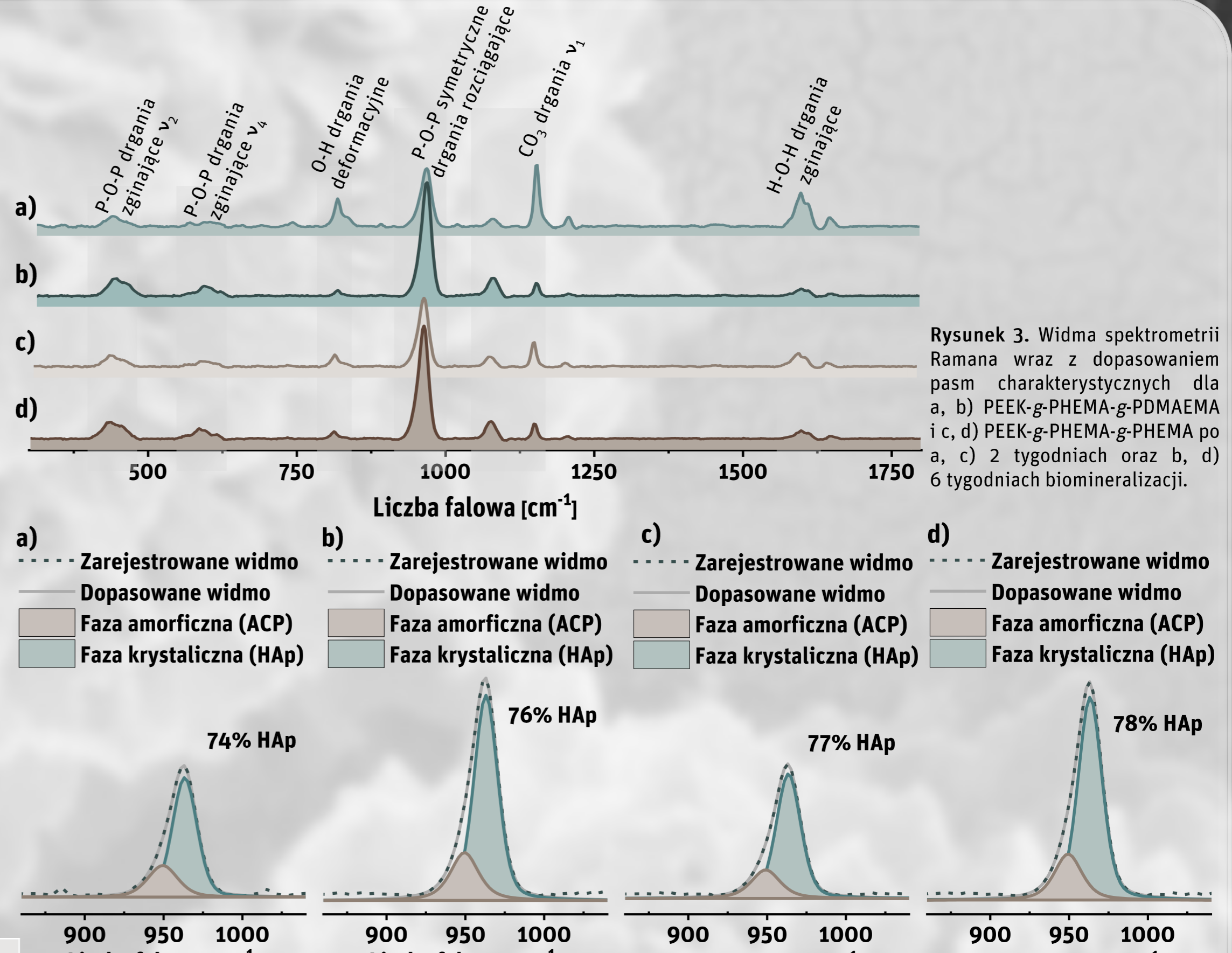
Testy biomineralizacji

Tabela 1. Zdjęcia SEM topografii powierzchni oraz przekroje materiałów hybrydowych, otrzymanych poprzez inkubację w 1xSBF.

	PEEK-g-PHEMA-g-PDMAEMA		PEEK-g-PHEMA-g-PHEMA	
2 tygodnie				
4 tygodnie				
6 tygodni				



Rysunek 2. Widma EDS i składy pierwiastkowe dla a) PEEK-g-PHEMA-g-PDMAEMA i b) PEEK-g-PHEMA-g-PHEMA po 6 tygodniach inkubacji w 1xSBF.



Rysunek 3. Widma spektrometrii Ramana wraz z dopasowaniem pasm charakterystycznych dla a, b) PEEK-g-PHEMA-g-PDMAEMA i c, d) PEEK-g-PHEMA-g-PHEMA po a, c) 2 tygodniach oraz b, d) 6 tygodniach biomineralizacji.

Rysunek 4. Analiza krystaliczności warstw mineralnych z wykorzystaniem spektroskopii Ramana dla a, b) PEEK-g-PHEMA-g-PDMAEMA i c, d) PEEK-g-PHEMA-g-PHEMA po a, c) 2 tygodniach oraz b, d) 6 tygodniach biomineralizacji.

Podsumowanie

- Hydrofobowa powierzchnia PEEK została zmodyfikowana **hydrofilowymi, rozgałęzionymi szczotkami PHEMA i PDMAEMA** o wysokościach do **300 nm** z użyciem technik SI-ATRP.
- Wysoka gęstość grup hydroksylowych oraz aminowych przyspieszyła proces osteointegracji w roztworze SBF i doprowadziła do powstania **hierarchicznej, trójwymiarowej warstwy mineralnej**, złożonej ze sferycznych elementów o nanoporowej strukturze.
- Stosunki molowe Ca/P otrzymanych hydroksyapatytów były **zbliżone do wartości teoretycznej**, co może być korzystne dla wzrostu i różnicowania się na ich powierzchni osteoblastów podczas procesu odnowy kości.

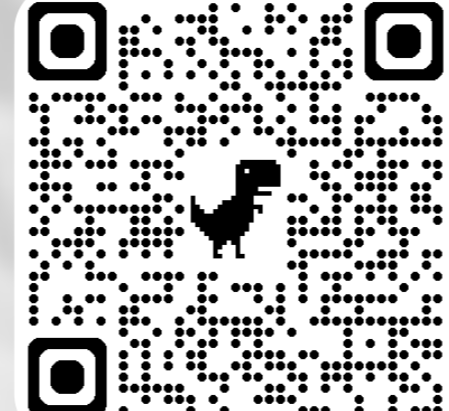
Podziękowania

Praca magisterska realizowana w ramach programu grantowego „Talenty Jutra”, finansowanego przez Fundację Empiria i Wiedza oraz Bank Gospodarstwa Krajowego (18/TALENTYJUTRA_E1/2022). Prace eksperymentalne będące przedmiotem niniejszej pracy dyplomowej współfinansowane zostały ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach konkursu SONATA BIS 10 (2020/38/E/ST4/00046) i grantu Ministerstwa Nauki Szkolnictwa Wyższego „Studentckie koła naukowe tworzą innowacje” (nr umowy: SKN/SP/569572/2023). Badania mikrospektroskopii Ramana przeprowadzono z użyciem aparatury zakupionej ze środków Unii Europejskiej w ramach Programu Operacyjnego Inteligentny Rozwój (nr grantu: POIR.04.02.00-00-0001/20).

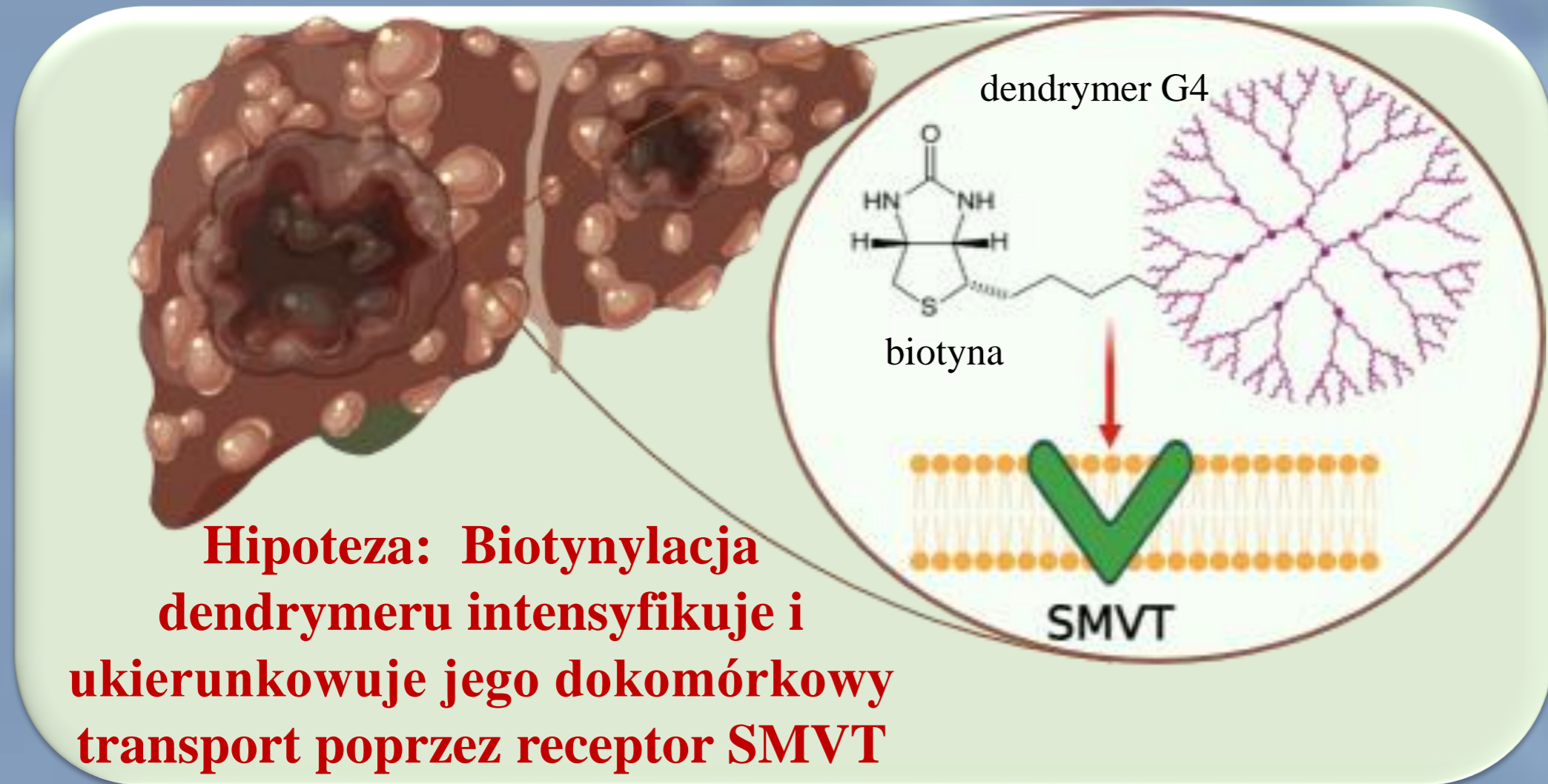
Serdечно podziękowania składam mgr Natalii Janiszewskiej, dr hab. Kamilowi Awiśkowi oraz dr hab. Joannie Raczkowskiej, prof. UJ z WFAIS Uniwersytetu Jagiellońskiego za wykonanie analiz spektroskopii Ramana, dr Kai Spilarewicz oraz dr. Karolowi Wolskiemu z Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego za wykonanie analiz SEM-EDS oraz AFM.

Literatura

K. Ślusarczyk, M. Flejszar, K. Spilarewicz, M. Wyrwał, K. Awiśk, K. Wolski, J. Raczkowska, N. Janiszewska, P. Chmielarz, *European Polymer Journal*, 210, 2024, 112953



inż. Magdalena Twardowska
Opiekun pracy: dr hab. Łukasz Uram



Hipoteza: Biotynylacja dendrymeru intensyfikuje i ukierunkowuje jego dokomórkowy transport poprzez receptor SMVT

Cel i zakres pracy

Celem pracy było zbadanie biologicznej aktywności czterech konstruktów dendrymerów PAMAM generacji czwartej (G4):

1. natywnego (G4)
 2. biotynylowanego PAMAM G4 (G4B)
 3. glicydylowanych PAMAM G4 (G4gl)
 4. biotynylowanego i glicydylowanego PAMAM G4 (G4Bgl)
- wobec komórek raka wątrobowokomórkowego (HepG2) oraz porównawczo unieśmiertnionych embrjonalnych komórek nerki (HEK293).

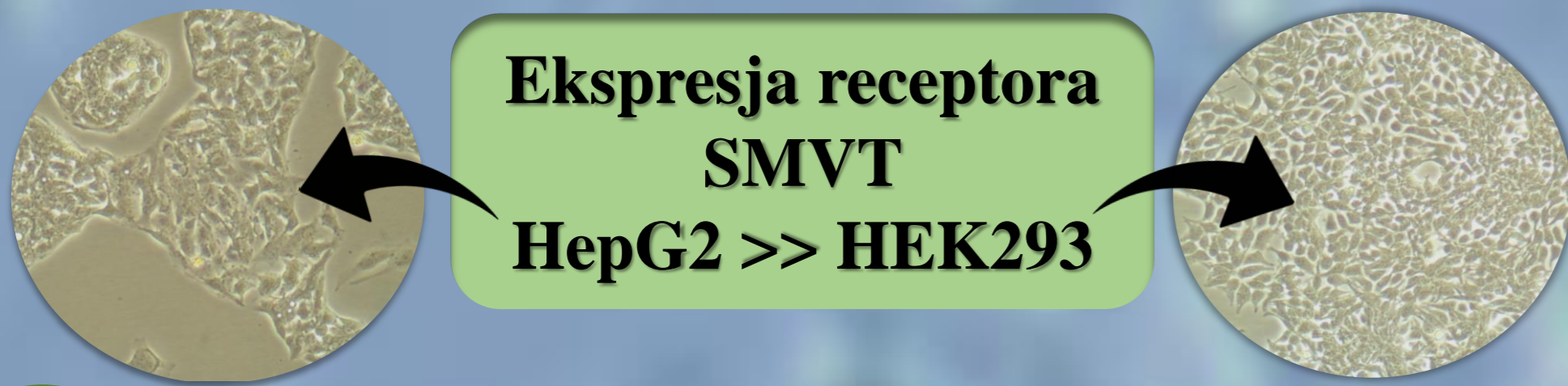
Wprowadzenie

Dendrymery poliamidoamidowe to rozgałęzione polimery, cechujące się trójwymiarową budową, o kształcie zbliżonym do kuli. Na ich końcach znajdują się grupy funkcyjne, które mogą zostać zmodyfikowane np. poprzez przyłączenie ligandu targetującego, co może specyficznie ukierunkować transport dendrymeru. **Wiadomo, że nanonośniki sprzężone z biotyną wykazują wyższą specyficzność tkankową i zwiększony wychwyty komórkowy poprzez endocytozę za pośrednictwem zależnego od sodu transportera multiwitaminowego (SMVT). Receptory te ulegają nadekspresji na powierzchni komórek raka wątroby i dlatego mogą stanowić biomarker do selektywnego celowania.** Dodatkowo glicydyllacja dendrymeru może zwiększyć biokompatybilność poprzez obniżenie ładunku powierzchniowego za sprawą grup -OH.

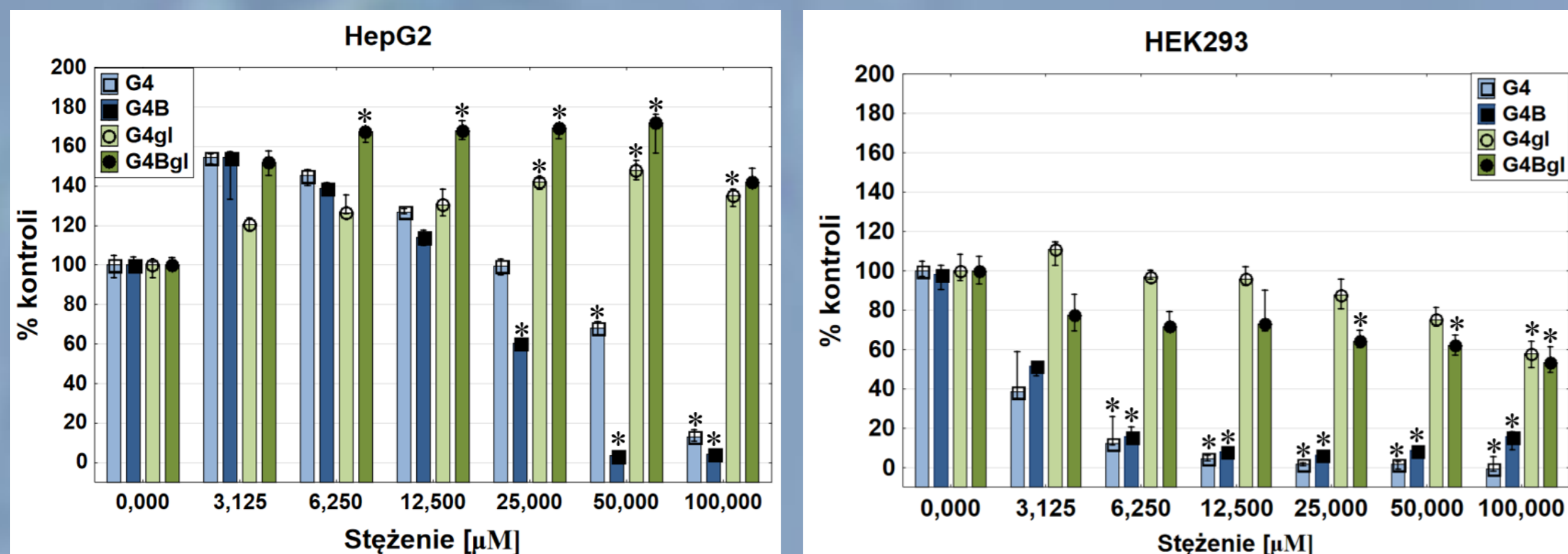
Metodyka badań

- 1 Ocena cytotoksyczności dendrymerów
- 2 Badanie proliferacji komórkowej
- 3 Analiza wnikania konstruktów do komórek
- 4 Ocena biokompatybilności wobec *Caenorhabditis elegans*

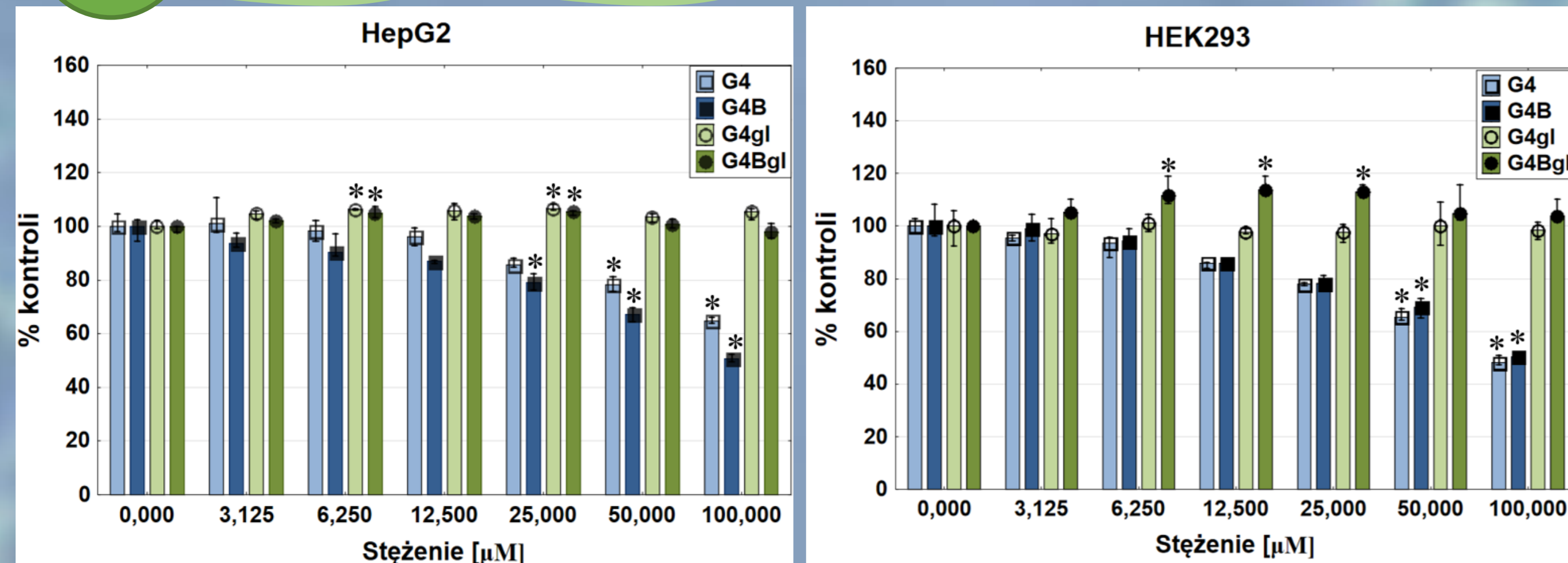
Hodowla komórek HepG2 i HEK293



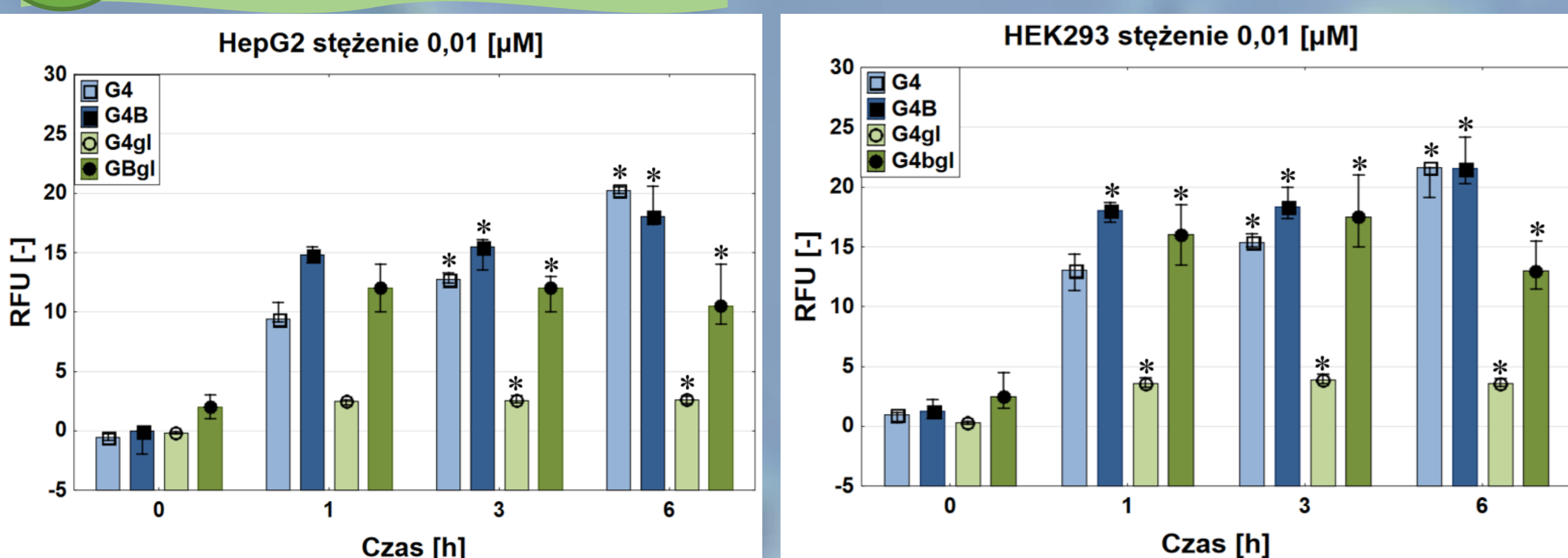
1 Cytotoksyczność:



2 Proliferacja :

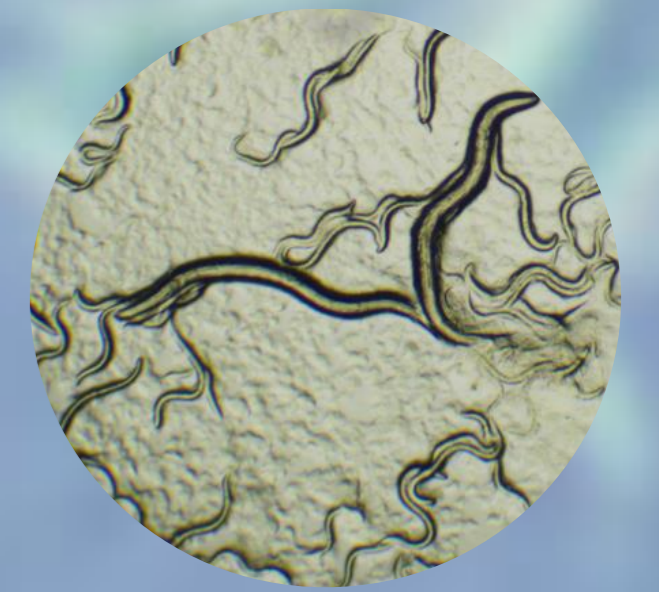


3 Wnikanie do komórek :

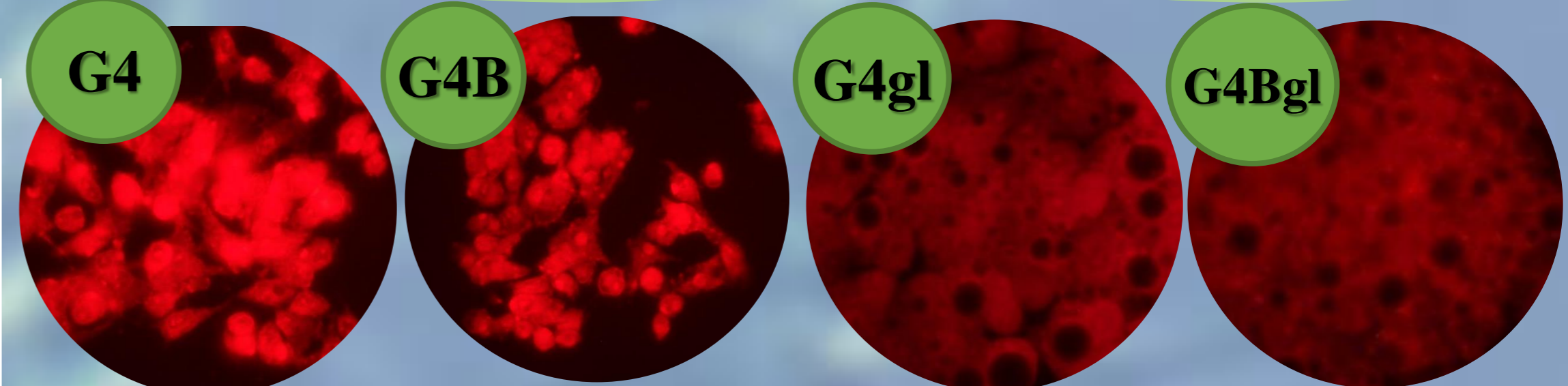


4 Biokompatybilność in vivo

Po 7-dniowej inkubacji nicieni z badanymi konstruktami: G4, G4B, G4gl, G4Bgl w żadnej próbie żywotność *C. elegans* nie spadła poniżej 80%.



Obrazy mikroskopowe komórek HepG2



Wnikają do jąder martwych komórek, łączą się z DNA

Akumulują w cytoplazmie, brak obecności w jądrach

Wnioski

Dendrimer biotynylowany wykazywał wyższy wychwyty komórkowy, efekt cytotoksyczny i antyproliferacyjny wobec komórek raka wątroby.

Glicydyllacja obniża toksyczność dendrymerów G4. Konstrukty wykazały wysoką biokompatybilność wobec prostego organizmu wielkomórkowego.

Dendrymery akumulują w odmiennych kompartmentach komórkowych.

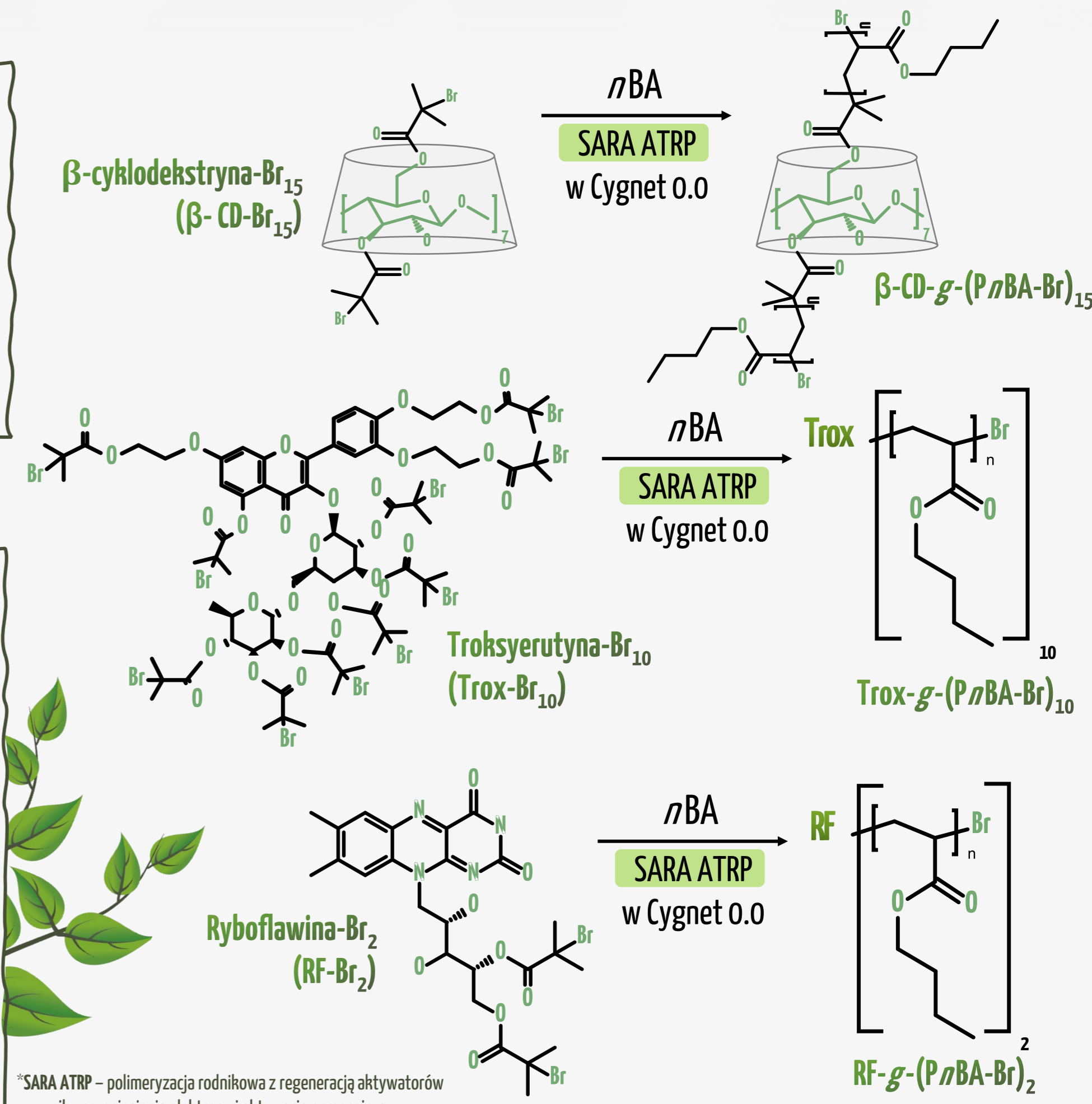
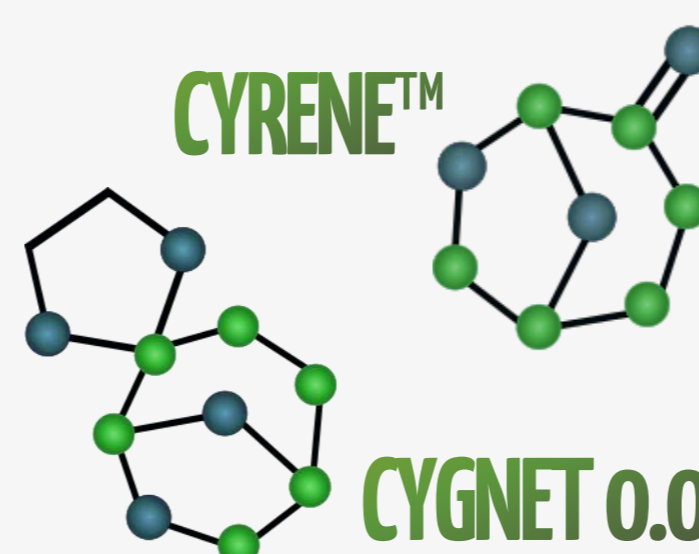
BIOTYNYLOWANY I GLICYDYLOWANY DENDRYMER WYKAZUJE POTENCJAŁ JAKO NOŚNIK W TERAPII RAKA WĄTROBY

TOKSYCZNYCH POLARNYCH ROZPUSSZCZALNIKÓW APROTYCZNYCH W SYNTYZIE PRECYZYJNIE ZDEFINIOWANYCH POLIMERÓW O ZRÓŻNICOWANEJ STRUKTURZE I TOPOLOGII

Autor: inż. Katarzyna Kisiel Opiekun: prof. dr hab. inż. Paweł Chmielarz

WPROWADZENIE

W polimeryzacji rodnikowej z przeniesieniem atomu (ATRP) używa się rozpuszczalników, które charakteryzują się wysoką toksycznością np. *N,N*-dimetyloformamid (DMF). Stosując się więc do 12 zasad zielonej chemii, opracowano procedury w rozpuszczalnikach pochodzenia naturalnego, które nie stanowią zagrożenia dla organizmów żywych i środowiska. Pochodzące z pirolizy celulozy, rozpuszczalniki dihydrolewo-glukozonon (Cyrene™) oraz jego pochodna Cygnet 0.0 zostały wykorzystane do syntez polimerów liniowych oraz rozgałęzionych o rdzeniu ryboflawiny, β-cyklodekstryny oraz troksyerutyny.



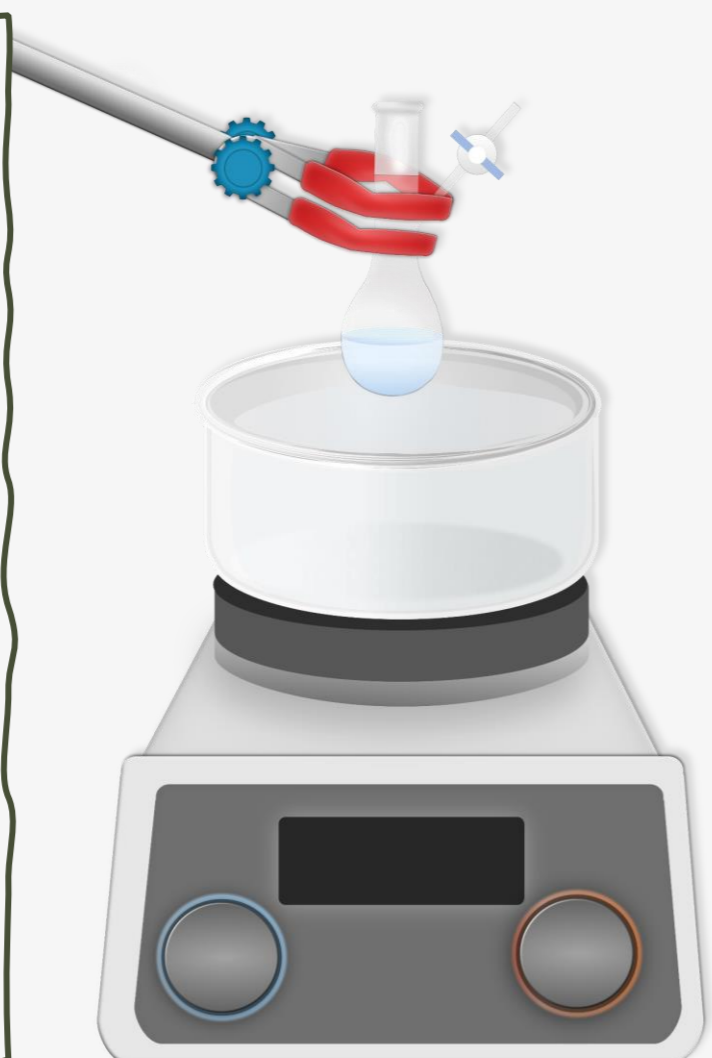
ROZPUSSZCZALNIKI STOSOWANE W ATRP

ORGANICZNE

np. *N,N*-dimetyloformamid (DMF), dichlorometan (DCM);



- wydajne z wieloma monomerami;
- ułatwiają kontrolę nad procesem;
- toksyczne, pochodzenia syntetycznego;
- podlegają ograniczeniu stosowania wg. rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1907/2006 (REACH).



WODA

- stosowana głównie do monomerów hydrofilowych;
- przyjazna ekologicznie oraz ekonomicznie;



REAKCJE UBOCZNE:

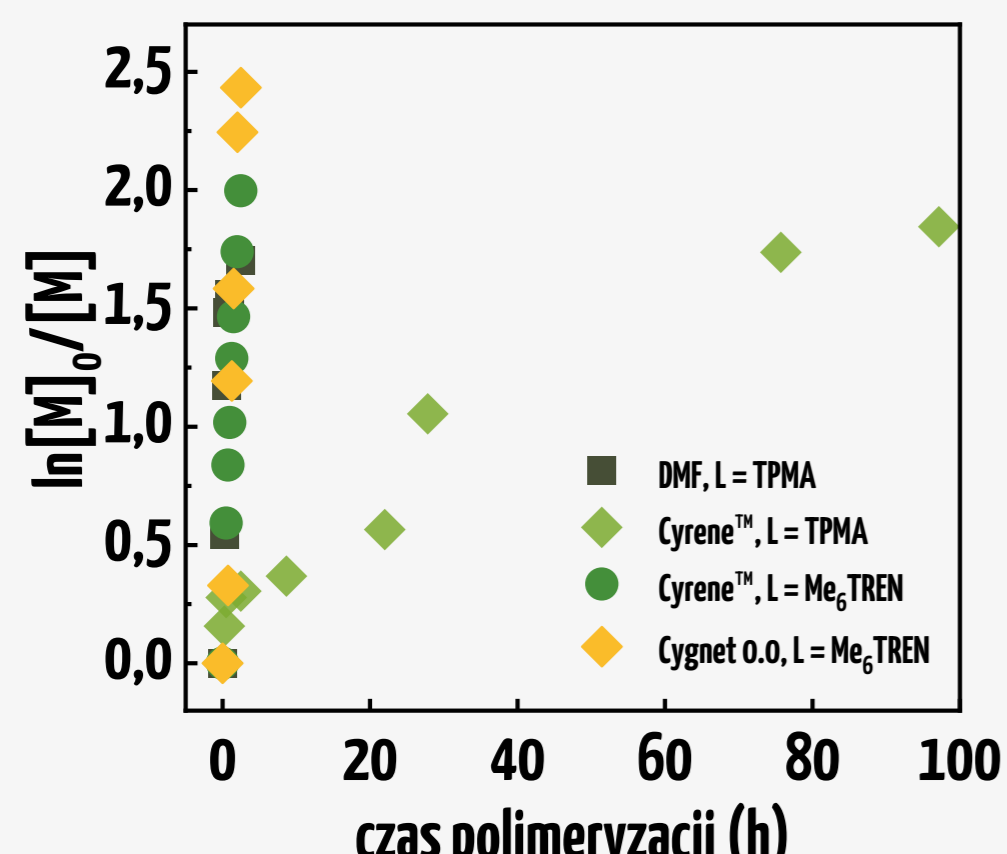
- dysproporcjonowanie kompleksu aktywatora Cu(I);
- dysocjacja halogenku z kompleksu na wyższym stopniu utlenienia;
- hydroliza inicjatora ATRP.

SYNTYZA POLIMERÓW LINIOWYCH P_nBA

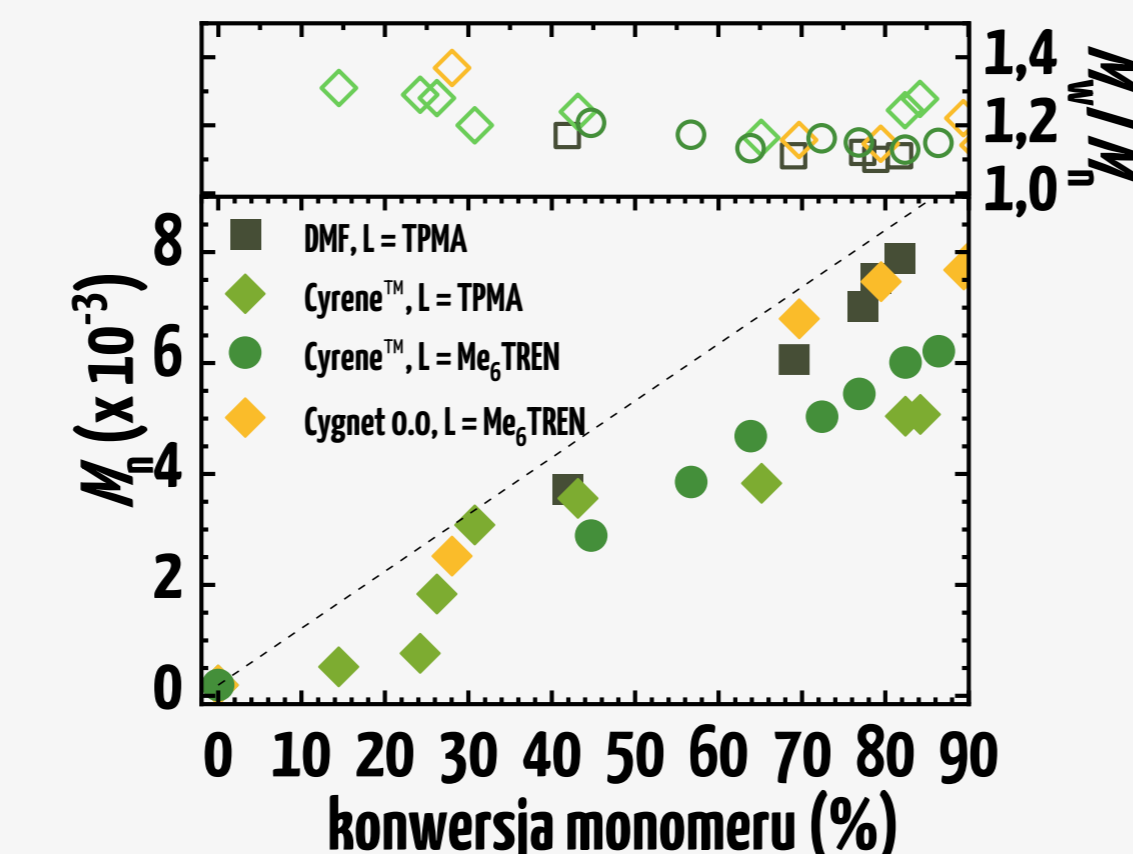
Tabela 1. Wyniki polimeryzacji akrylanu *n*-butylu techniką SARA ATRP z zastosowaniem różnego środowiska reakcji.

Lp. ^a	Rozpuszczalnik	Ligand	t [h]	Konw [%]	k _p ^{app} b	M _{n,teo} ^c [x10 ⁻³]	M _{n,app} ^d [x10 ⁻³]	M _w /M _n ^d	f _{eff} ^e [%]
1	DMF	TPMA	2,0	80	1,041	123	112	1,11	112
2	Cyrene™	TPMA	97,2	84	0,022	88	51	1,28	174
3	Cyrene™	Me ₆ TREN	2,5	86	0,896	91	62	1,15	146
4	Cygnet 0.0	Me ₆ TREN	2,5	90	0,621	95	80	1,14	119

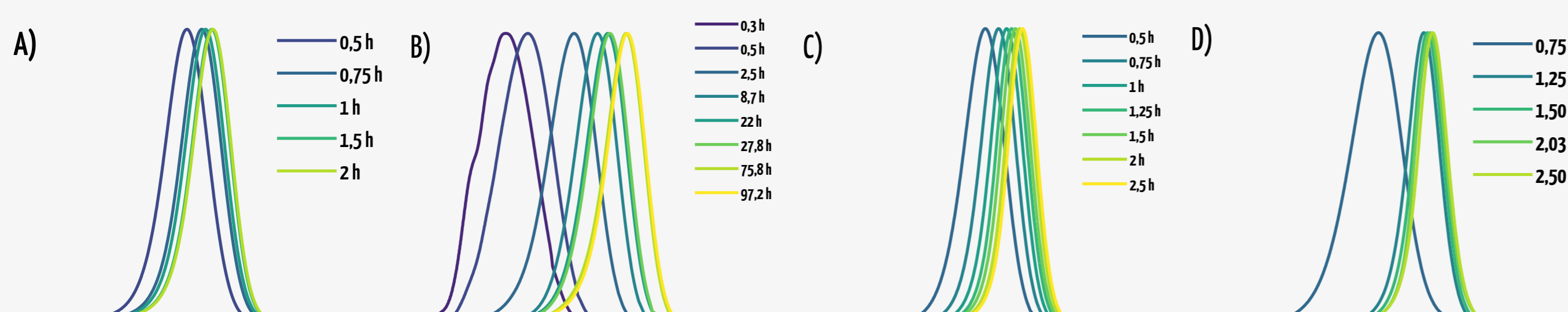
^aOgólne warunki reakcji: T = 50°C (dla pozycji 1-3), T = 75°C (dla pozycji 4); [Cu/L]₀ = 300 ppm; DP_{teo} = 80 (dla pozycji 2-4), DP_{teo} = 120 (dla pozycji 1), V_{calh} = 4 mL; atmosfera argonu; [nBA]₀ = 50% v/v; SARA ATRP z metaliczną miedzią: d = 0,1 cm, l = 4 cm; S/V = 0,318 cm⁻¹; [nBA]₀ = 3,46 M; ^bKonwersję monomeru oraz pozorną stałą szybkości propagacji (k_p^{app}) określono za pomocą analizy ¹H NMR, porównując powierzchniowe sygnałów wzorca (DMF, rozpuszczalnik) z powierzchniowymi sygnałami pochodzącymi od monomeru; Stała szybkości pierwszego rzędu została obliczona na podstawie współczynnika nachylenia krzywej ln([M]₀/[M]) = kt; ^cM_{n,teo} = ([nBA]₀/[inicjator]₀) × konwersja × M_{nBA} + M_{EBIB}; ^dPozorną liczbowo średnią masę cząsteczkową polimeru (M_n) i M_w/M_n określono za pomocą GPC; ^eWydajność inicjowania, f_{eff} = (M_{n,teo}/M_{n,app}) × 100%.



Rysunek 1. Wykres kinetyki pierwszego rzędu zależności logarytmu naturalnego konwersji monomeru od czasu polimeryzacji.



Rysunek 2. Wykres zależności liczbowo średniej masy cząsteczkowej M_n oraz rozrzutu mas cząsteczkowych M_w/M_n od konwersji monomeru.



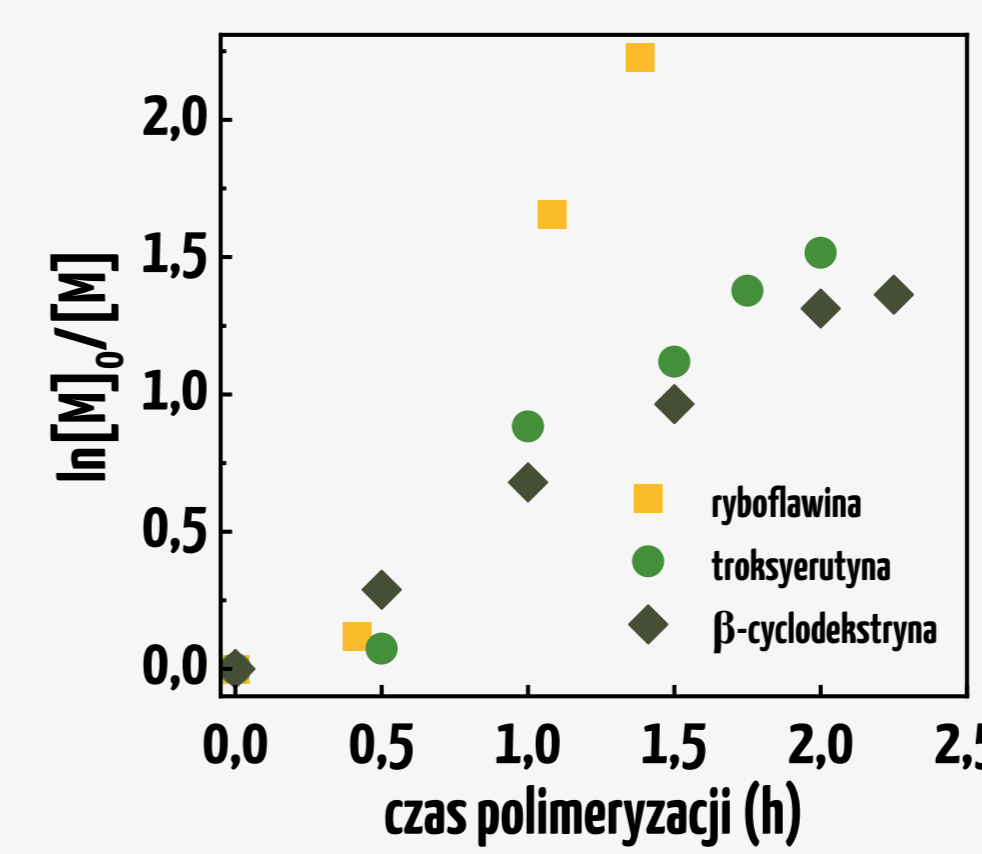
Rysunek 3. Wyniki GPC syntez poli(nBA) techniką SARA ATRP dla reakcji z zastosowaniem: A) DMF (L = TPMA); B) Cyrene™ (L = TPMA); C) Cyrene™ (L = Me₆TREN); D) Cyrene 0.0 (L = Me₆TREN).

SYNTYZA POLIMERÓW ROZGAŁĘZIONYCH

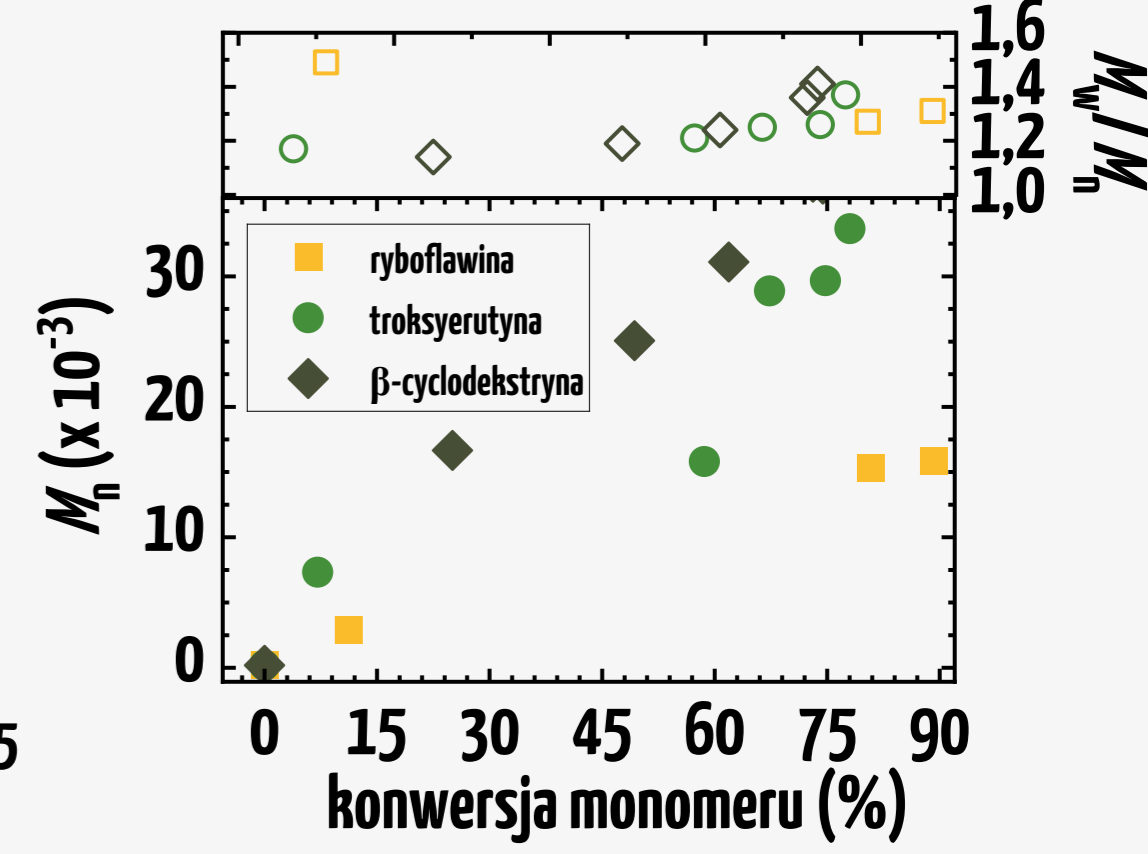
Tabela 2. Wyniki polimeryzacji akrylanu *n*-butylu techniką SARA ATRP w celu otrzymania polimerów rozgałęzionych w Cygnet 0.0.

Lp. ^a	Inicjator	t [h]	Konw [%]	k _p ^{app} b	M _{n,teo} ^c [x10 ⁻³]	M _{n,app} ^d [x10 ⁻³]	M _w /M _n ^d
1	RF-Br ₂	1,38	89	1,510	19,0	15,9	1,31
2	Trox-Br ₁₀	2,00	78	0,761	82,2	33,7	1,37
3	β-CD-Br ₁₅	2,25	74	0,634	118,7	37,1	1,41

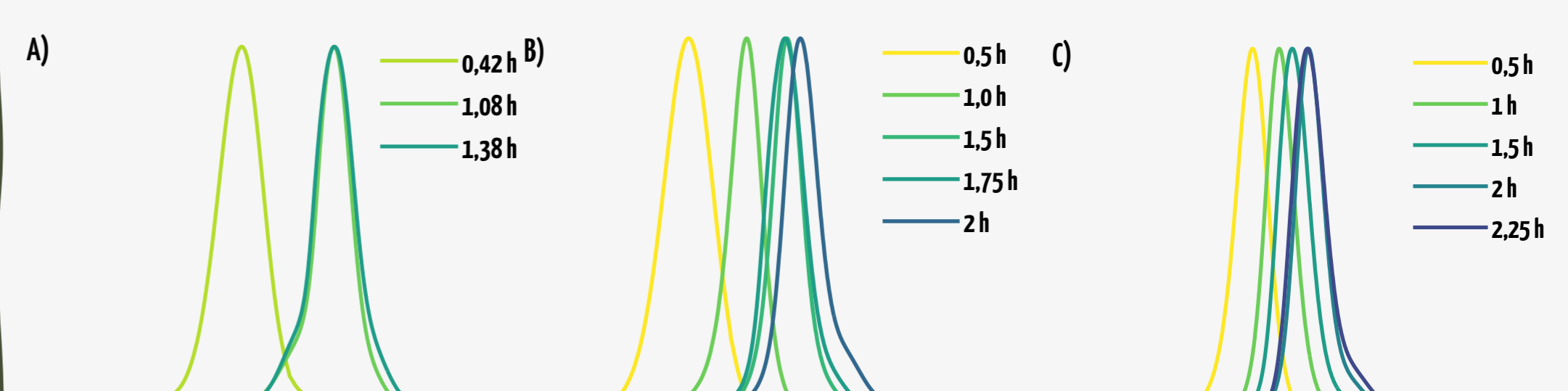
^aOgólne warunki reakcji: T = 75°C; V_{calh} = 3 mL dla pozycji 1, V_{calh} = 4 mL dla pozycji 2 i 3; atmosfera argonu; [nBA]₀ = 50% v/v; dla pozycji 1: [nBA]₀ = 3,48 M, [RF-Br₂]₀ = 0,0217 M obliczone dla 2 miejsc inicjacji, pozycja 2: [nBA]₀ = 3,48 M, [Trox-Br₁₀]₀ = 0,0043 M obliczone dla 10 miejsc inicjacji, oraz pozycja 3: [nBA]₀ = 3,47 M [β-CD-Br₁₅]₀ = 0,0029 M obliczone dla 15 miejsc inicjacji; [nBA]₀/[inicjator]₀/[Cu^{II}Br₂/Me₆TREN]₀ = 80 (na jeden łańcuch/rozgałęzienie)/1/0,008. SARA ATRP z metaliczną miedzią: d = 0,1 cm, l = 4 cm; ^bKonwersja monomeru oraz pozorną stałą szybkości propagacji (k_p^{app}) zostały wyznaczone poprzez analizę ¹H NMR; ^cM_{n,teo} = ([nBA]₀/[inicjator]₀) × konwersja × M_{monomer} + M_{inicjator}; ^dM_n oraz M_w/M_n określono za pomocą GPC.



Rysunek 4. Wykres kinetyki pierwszego rzędu zależności logarytmu naturalnego konwersji monomeru od czasu polimeryzacji.



Rysunek 5. Wykres zależności M_n oraz M_w/M_n od konwersji monomeru dla polimerów rozgałęzionych syntezowanych techniką SARA ATRP z zastosowaniem Cygnet 0.0.



Rysunek 6. Wyniki GPC dla syntez P_nBA metodą SARA ATRP w rozpuszczalniku Cygnet 0.0 z użyciem makroinicjatora: A) ryboflawiny, B) troksyerutyny, oraz C) β-cyklodekstryny.

BIBLIOGRAFIA

Wyniki opisane w pracy magisterskiej zostały opublikowane w artykule:
Zaborniak I, Klamut M, Warne CM, Kisiel K, Niemiec M, Błoniarczyk P, Pellis A, Matyjaszewski K, Chmielarz P, *Controlled Polymer Synthesis Toward Green Chemistry: Deep Insights into Atom Transfer Radical Polymerization in Biobased Substitutes for Polar Aprotic Solvents*, ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2024, 12, 12, 4933–4945.

PODZIĘKOWANIA

Praca magisterska zrealizowana została w ramach grantów finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki w ramach programów: SONATA BIS 10 (2020/38/E/ST4/00046) pt. „Witamina B2 jako skuteczny inicjator, fotoaktywator i zmiatacz tlenu w ekonomicznej i uproszczonej syntezie zaawansowanych materiałów polimerowych technikami ATRP” oraz PRELUDIUM 19 (2020/37/N/ST4/01991) pt. „Synteza szczotek polimerowych wrażliwych na zmiany pH o rdzeniu troksyerutyny metodami ATRP ze zredukowaną ilością katalizatora”.

WNIOSKI

Przeprowadzone badania pozwoliły jednoznacznie potwierdzić możliwość zastosowania rozpuszczalników pochodzenia celulozowego: Cyrene™, oraz jego pochodnej Cygnet 0.0 w syntezach prowadzonych techniką SARA ATRP. W przypadku syntezy w Cyrene™ kluczowy okazał się dobór odpowiedniego ligandu stabilizującego kompleks katalityczny, co pozwoliło zredukować występowanie reakcji ubocznych. Dodatkowo zweryfikowano możliwość wykorzystania tych rozpuszczalników do syntez polimerów rozgałęzionych otrzymując wąski rozrzut mas cząsteczkowych polimerów oraz liniową zależność liczbowo średniej masy cząsteczkowej od konwersji monomeru, potwierdzając kontrolowany charakter syntezy.

PARTNER KONKURSU

Fundacja Rozwoju Politechniki Rzeszowskiej
im. Ignacego Łukasiewicza



POSTER
MASTER